

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 579 502**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2009 E 09767568 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.03.2016 EP 2300037**

54 Título: **Coagonistas de receptores de glucagón/GLP-1**

30 Prioridad:

**03.07.2008 US 78168 P**  
**12.05.2009 US 177476 P**  
**17.06.2008 US 73269 P**  
**20.08.2008 US 90412 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**11.08.2016**

73 Titular/es:

**INDIANA UNIVERSITY RESEARCH AND  
TECHNOLOGY CORPORATION (100.0%)**  
**351 West 10th Street**  
**Indianapolis, IN 46202, US**

72 Inventor/es:

**DIMARCHI, RICHARD D.;**  
**SMILEY, DAVID L.;**  
**DIMARCHI, MARIA;**  
**CHABENNE, JOSEPH;**  
**DAY, JONATHAN;**  
**PATTERSON, JAMES y**  
**WARD, BRIAN, C.**

74 Agente/Representante:

**PONTI SALES, Adelaida**

**ES 2 579 502 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

Coagonistas de receptores de glucagón/GLP-1

- 5 **[0001]** El pre-proglucagón es un polipéptido precursor de 158 aminoácidos que se procesa en diferentes tejidos para formar un conjunto de diferentes péptidos derivados de proglucagón, incluyendo glucagón, péptido similar al glucagón-1 (GLP-1), péptido similar al glucagón 2 (GLP-2) y oxintomodulina (OXM), que están involucrados en una amplia variedad de funciones fisiológicas, incluyendo homeostasis de la glucosa, la secreción de insulina, el vaciado gástrico, y el crecimiento intestinal, así como la regulación de la ingesta de alimentos. El glucagón es un péptido de 10  
29 aminoácidos que corresponde a los aminoácidos 33 a 61 de pre-proglucagón, mientras que el GLP-1 se produce como un péptido de 37 aminoácidos que corresponde a los aminoácidos 72 a 108 de pre-proglucagón. GLP-1 (7-36) amida o GLP-1 (7-37) ácido son formas biológicamente potentes de GLP-1, que demuestran actividad esencialmente equivalente en el receptor de GLP-1.
- 15 **[0002]** La hipoglucemia aparece cuando los niveles de glucosa en la sangre baja demasiado para proporcionar suficiente energía para las actividades del organismo. En los adultos o niños mayores de 10 años, la hipoglucemia es rara excepto como un efecto secundario del tratamiento de la diabetes, pero puede ser el resultado de otros medicamentos o enfermedades, deficiencias hormonales o enzimáticas, o tumores. Cuando la glucosa en la sangre comienza a caer, el glucagón, una hormona producida por el páncreas, señala al hígado para descomponer el glucógeno y liberar glucosa, haciendo que los niveles de glucosa en la sangre se eleven hacia un nivel normal. Por lo tanto, el papel más reconocido de glucagón en la regulación de la glucosa es contrarrestar la acción de la insulina y mantener los niveles de glucosa en la sangre. Sin embargo, para los diabéticos, esta respuesta del glucagón a la hipoglucemia puede verse afectada, por lo que es más difícil para los niveles de glucosa volver a la normalidad.
- 25 **[0003]** La hipoglucemia es un evento potencialmente mortal que requiere atención médica inmediata. La administración de glucagón es una medicación establecida para el tratamiento de la hipoglucemia aguda y puede restaurar los niveles normales de glucosa en cuestión de minutos de la administración. Cuando el glucagón se utiliza en el tratamiento médico agudo de hipoglucemia, se solubiliza una forma cristalina de glucagón con un tampón de ácido diluido y la solución se inyecta por vía intramuscular. Si bien este tratamiento es eficaz, la metodología es engorrosa y peligrosa para alguien que está semiconsciente. Por consiguiente, existe una necesidad de un análogo de glucagón que mantenga o supere el rendimiento biológico de la molécula parental pero es suficientemente soluble y estable, en condiciones fisiológicas pertinentes, que pueda preformularse como una solución lista para la inyección.
- 30 **[0004]** Además, se sugiere a los diabéticos que mantengan niveles de glucosa casi normales en sangre para retrasar o prevenir complicaciones microvasculares. El logro de este objetivo generalmente requiere un tratamiento intensivo con insulina. En el esfuerzo para lograr este objetivo, los médicos han detectado un aumento sustancial de la frecuencia y la gravedad de la hipoglucemia en sus pacientes diabéticos. Por consiguiente, se necesitan mejores productos farmacéuticos y metodologías para el tratamiento de la diabetes que sean menos propensos a inducir hipoglucemia que las terapias de insulina actuales.
- 35 **[0005]** GLP-1 tiene diferentes actividades biológicas en comparación con el glucagón. Sus acciones incluyen la estimulación de la síntesis y secreción de insulina, la inhibición de la secreción de glucagón, y la inhibición de la ingesta de alimentos. Se ha demostrado que GLP-1 reduce la hiperglucemia (niveles elevados de glucosa) en los diabéticos. La exendina-4, un péptido del veneno de lagarto que comparte una identidad de aminoácidos del 50% con GLP-1, activa el receptor de GLP-1 y del mismo modo se ha demostrado que reduce la hiperglucemia en los diabéticos.
- 45 **[0006]** También hay pruebas de que GLP-1 y exendina-4 pueden reducir la ingesta de alimentos y promover la pérdida de peso, un efecto que sería beneficioso no sólo para los diabéticos, sino también para los pacientes que sufren de obesidad. Los pacientes con obesidad tienen un mayor riesgo de diabetes, hipertensión, hiperlipidemia, enfermedad cardiovascular y enfermedades del aparato locomotor.
- 50 **[0007]** La solicitud de patente de Estados Unidos N° 2006/0003935 publicada da a conocer péptidos que actúan como agonistas del receptor de GLP-1 y antagonistas del receptor de glucagón y sus métodos farmacológicos de uso. La referencia describe análogos de glucagón que se pueden acilar en la posición 20, 24, 31, o 32, pero no divulga la acilación o alquilación en la posición 10 de un análogo de glucagón para aumentar la actividad en el receptor de GLP-1.
- 55 **[0008]** Por consiguiente, sigue habiendo una necesidad de métodos alternativos y preferiblemente mejorados para el tratamiento de la diabetes y la obesidad.
- 60

## DESCRIPCIÓN RESUMIDA

- 65 **[0009]** La presente invención se refiere a un péptido de glucagón según se define en el conjunto de reivindicaciones.

[0010] La presente invención también se refiere a un conjugado, dímero o péptido de fusión que comprende un péptido similar al glucagón como se define en el conjunto de reivindicaciones.

[0011] La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica tal como se define en el conjunto de reivindicaciones.

[0012] La presente invención se refiere además a un péptido similar al glucagón para utilizar en el tratamiento de la diabetes o la reducción de la ganancia de peso o la inducción de la pérdida de peso tal como se define en el conjunto de reivindicaciones.

[0013] Tal como se describe en el presente documento, se proporcionan análogos de agonistas de glucagón de alta potencia que también exhiben una mayor actividad en el receptor de glucagón, y en otras realizaciones presentan una mayor estabilidad biofísica y/o solubilidad acuosa. Además, según otro aspecto de la invención, se proporcionan análogos de agonistas de glucagón que han perdido la selectividad del glucagón nativo para el receptor de glucagón frente al receptor de GLP-1, y por lo tanto representan coagonistas de los dos receptores. Las modificaciones de aminoácidos seleccionados dentro de los análogos de glucagón pueden controlar la actividad relativa del análogo en el receptor de GLP-1 frente al receptor de glucagón. Por lo tanto, otro aspecto de la invención proporciona análogos de coagonistas de glucagón que tienen una mayor actividad en el receptor de glucagón frente al receptor de GLP-1, análogos de coagonistas de glucagón que tienen una actividad aproximadamente equivalente en los dos receptores, y análogos de coagonistas de glucagón que tienen una mayor actividad en el receptor de GLP-1 frente al receptor de glucagón. La última categoría de coagonista puede diseñarse para exhibir poca o ninguna actividad en el receptor de glucagón, y sin embargo conservar la capacidad de activar el receptor de GLP-1 con la misma o mejor potencia que el GLP-1 nativo. Cualquiera de estos análogos también puede incluir modificaciones que confieren una mayor estabilidad biofísica y/o solubilidad acuosa.

[0014] Los análogos de glucagón que demuestran coagonismo en los receptores de glucagón y GLP-1 son ventajosos para varias aplicaciones. En primer lugar, el uso de glucagón para tratar la hipoglucemia puede compensar los niveles bajos de glucosa en la sangre y dar lugar a niveles excesivos de glucosa en la sangre. Si se administra un coagonista de receptores de glucagón/GLP-1, la estimulación adicional de GLP-1 puede amortiguar el efecto agonista del glucagón para evitar excesivos niveles de glucosa en sangre resultante del tratamiento de la hipoglucemia.

[0015] Además, tal como se describe en el presente documento, los análogos de coagonista de glucagón de la invención pueden usarse para controlar la hiperglucemia, o para inducir la pérdida de peso o prevenir la ganancia de peso, cuando se administran solos o en combinación con otros tratamientos anti-diabéticos o anti-obesidad. Otro compuesto que induce la pérdida de peso es la oxintomodulina, una hormona digestiva natural que se encuentra en el intestino delgado (ver Diabetes 2005; 54: 2390-2395). La oxintomodulina es un péptido de 37 aminoácidos que contiene la secuencia de 29 aminoácidos del glucagón (es decir, SEQ ID NO: 1), seguido de la extensión carboxi terminal de 8 aminoácidos de la SEQ ID NO: 27 (KRNRNNIA). Aunque se contempla en el presente documento que los análogos de glucagón descritos en este documento opcionalmente pueden estar unidos a esta extensión carboxi terminal de 8 aminoácidos (SEQ ID NO: 27), algunas realizaciones también contemplan específicamente análogos y usos de los análogos que carecen de los 8 aminoácidos en el extremo carboxi contiguos de la SEQ ID N°: 27.

[0016] Los compuestos pueden personalizarse mediante modificaciones de aminoácidos para regular la actividad de GLP-1 del péptido, y por lo tanto los análogos de glucagón de la presente se pueden adaptar para el tratamiento de una afección o enfermedad particular. Más particularmente, se proporcionan análogos de glucagón en el presente documento, en los que cada análogo muestra un nivel relativo característico de la actividad en los respectivos receptores de glucagón y GLP-1. Por ejemplo, se pueden hacer modificaciones a cada péptido para producir un péptido similar al glucagón que tiene en cualquier lugar de al menos aproximadamente 1% (incluyendo al menos aproximadamente 1,5%, 2%, 5%, 7%, 10%, 20%, 30%, 40 %, 50%, 60%, 75%, 100%, 125%, 150%, 175%) a aproximadamente 200% o más actividad en el receptor de GLP-1 con respecto al GLP-1 nativo y en cualquier lugar de al menos aproximadamente 1% (incluyendo alrededor de 1,5%, 2%, 5%, 7%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 75%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200% , 250%, 300%, 350%, 400%, 450%) a aproximadamente 500% o más actividad en el receptor de glucagón en relación con el glucagón nativo. En algunas realizaciones, los péptidos similares al glucagón descritos en este documento presentan no más de aproximadamente 100%, 1000%, 10000%, 100000%, o 1000000% de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón. En algunas realizaciones, los péptidos similares al glucagón descritos en este documento presentan no más de aproximadamente 100%, 1000%, 10000%, 100000%, o 1000000% de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1. La secuencia de aminoácidos del glucagón nativo es SEQ ID NO: 1, la secuencia de aminoácidos de GLP-1 (7-36) amida es SEQ ID NO: 52, y la secuencia de aminoácidos de GLP-1 (7-37) ácido es SEQ ID NO: 50. En realizaciones de ejemplo, un péptido similar al glucagón puede exhibir al menos 10% de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón y al menos 50% de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1, o al menos 40% de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón y al menos 40% de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1, o al menos 60% de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón y al menos 60% de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1.

**[0017]** La selectividad de un péptido similar al glucagón para el receptor de glucagón frente al receptor de GLP-1 se puede describir como la proporción relativa de actividad de glucagón/GLP-1 (la actividad del péptido en el receptor de glucagón en relación con glucagón nativo, dividida por la actividad del péptido en el receptor de GLP-1 en relación al GLP-1 nativo). Por ejemplo, un péptido similar al glucagón que presenta un 60% de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón y 60% de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1 tiene una proporción 1:1 de actividad de glucagón/GLP-1. Las proporciones de ejemplo de la actividad de glucagón/GLP-1 incluyen aproximadamente 1:1, 1,5:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1 o 10:1, o aproximadamente 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, o 1:1,5. Como ejemplo, una proporción de actividad de glucagón/GLP-1 de 10:1 indica una selectividad 10 veces mayor para el receptor de glucagón en comparación con el receptor de GLP-1. Del mismo modo, una proporción de actividad de GLP-1/glucagón de 10:1 indica una selectividad de 10 veces para el receptor de GLP-1 en comparación con el receptor de glucagón.

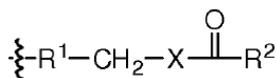
**[0018]** Según una realización, se proporcionan análogos de glucagón con mayor potencia y, opcionalmente, mejores solubilidad y estabilidad. En una realización, el aumento de la potencia del glucagón es proporcionada por una modificación de aminoácido en la posición 16 del glucagón nativo (SEQ ID NO: 1). A modo de ejemplo no limitativo, dicha mayor potencia puede ser proporcionada por la sustitución de la serina de origen natural en la posición 16 por ácido glutámico o por otro aminoácido cargado negativamente que tiene una cadena lateral con una longitud de 4 átomos, o como alternativa con uno cualquiera de glutamina, ácido homoglutámico, o ácido homocisteico, o un aminoácido cargado que tiene una cadena lateral que contiene al menos un heteroátomo, (por ejemplo, N, o, S, P) y con una longitud de cadena lateral de aproximadamente 4 (o 3-5) átomos. En una realización, el agonista de glucagón con mayor potencia comprende un péptido de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 o un análogo de agonista glucagón de la SEQ ID NO: 5. Según una realización, se proporciona una proteína análogo de glucagón con mayor potencia en el receptor de glucagón en relación con el glucagón de tipo salvaje, en el que el péptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10, en el que el péptido similar al glucagón conserva su selectividad por el receptor de glucagón en relación a los receptores de GLP-1.

**[0019]** La actividad del receptor de glucagón se puede reducir, mantener o aumentar mediante una modificación de aminoácido en la posición 3, por ejemplo, sustitución de la glutamina de origen natural en la posición 3. En una realización, la sustitución del aminoácido en la posición 3 por un aminoácido ácido, básico, o hidrófobo (ácido glutámico, ornitina, norleucina) se ha demostrado que reduce sustancialmente o destruye la actividad del receptor de glucagón. Los análogos que están sustituidos por, por ejemplo, ácido glutámico, ornitina, o norleucina tienen aproximadamente 10% o menos de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón, por ejemplo aproximadamente 1 a 10%, o aproximadamente 0,1 a 10%, o más de aproximadamente el 0,1%, pero menos de aproximadamente 10%, a la vez que muestra al menos 20% de la actividad de GLP-1 en el receptor de GLP-1. Por ejemplo, los análogos de ejemplo descritos en el presente documento tienen aproximadamente 0,5%, aproximadamente el 1% o aproximadamente el 7% de la actividad de glucagón nativo, a la vez que exhiben al menos 20% de la actividad de GLP-1 en el receptor de GLP-1.

**[0020]** En otra realización, la glutamina de origen natural en la posición 3 del péptido similar al glucagón puede estar sustituido por un análogo de glutamina sin una pérdida sustancial de actividad en el receptor de glucagón, y en algunos casos, con un aumento de la actividad del receptor de glucagón. Por ejemplo, un péptido similar al glucagón que comprende un análogo de glutamina en la posición 3 puede presentar aproximadamente 5%, aproximadamente el 10%, aproximadamente el 20%, aproximadamente el 50%, o aproximadamente el 85% o más de la actividad de glucagón nativo (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) en el receptor de glucagón. En algunas realizaciones, un péptido similar al glucagón que comprende un análogo de glutamina en la posición 3 puede presentar aproximadamente el 20%, aproximadamente el 50%, aproximadamente el 75%, aproximadamente el 100%, aproximadamente 200% o aproximadamente 500% o más la actividad de un péptido similar al glucagón correspondiente que tiene la misma secuencia de aminoácidos que el péptido que comprende el análogo de glutamina, excepto por el aminoácido modificado en la posición 3 (por ejemplo, SEQ ID NO: 601 o la SEQ ID NO: 602) en el receptor de glucagón. En algunas realizaciones, un péptido similar al glucagón que comprende un análogo de glutamina en la posición 3 presenta una mayor actividad en el receptor de glucagón, pero la mayor actividad no es más de 1000%, 10000%, 100000%, o 1.000.000% de la actividad del glucagón nativo o de un péptido similar al glucagón correspondiente que tiene la misma secuencia de aminoácidos que el péptido que comprende el análogo de glutamina, excepto por el aminoácido modificado en la posición 3.

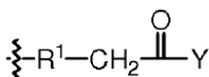
**[0021]** En algunas realizaciones, el análogo de glutamina es un aminoácido de origen natural o no natural que comprende una cadena lateral de la Estructura I, II o III:

5



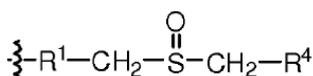
Estructura I

10



Estructura II

15



Estructura III

20

25 en las que R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>0-3</sub> o heteroalquilo C<sub>0-3</sub>; R<sup>2</sup> es NHR<sup>4</sup> o alquilo C<sub>1-3</sub>; R<sup>3</sup> es alquilo C<sub>1-3</sub>; R<sup>4</sup> es H o alquilo C<sub>1-3</sub>; X es NH, O, o S; e Y es NHR<sup>4</sup>, SR<sup>3</sup>, o OR<sup>3</sup>. En algunas realizaciones, X es NH o Y es NHR<sup>4</sup>. En algunas realizaciones, R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>0-2</sub> o heteroalquilo C<sub>1</sub>. En algunas realizaciones, R<sup>2</sup> es NHR<sup>4</sup> o alquilo C<sub>1</sub>. En algunas realizaciones, R<sup>4</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>. En realización de ejemplo, se proporciona un aminoácido que comprende una cadena lateral de la estructura I en la que, R<sup>1</sup> es CH<sub>2</sub>-S, X es NH, y R<sup>2</sup> es CH<sub>3</sub> (acetamidometilo-cisteína, C (Acm)); R<sup>1</sup> es CH<sub>2</sub>, X es NH, y R<sup>2</sup> es CH<sub>3</sub> (ácido acetildiaminobutanoico, Dab (Ac)); R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>0</sub>, X es NH, R<sup>2</sup> es NHR<sup>4</sup>, y R<sup>4</sup> es H (ácido carbamoildiaminopropanoico, Dap (urea)); o R<sup>1</sup> es CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, X es NH, y R<sup>2</sup> es CH<sub>3</sub> 3 (acetilornitina, Orn (Ac)). En realizaciones de ejemplo, se proporciona un aminoácido que comprende una cadena lateral de la Estructura II en la que, R<sup>1</sup> es CH<sub>2</sub>, Y es NHR<sup>4</sup>, y R<sup>4</sup> es CH<sub>3</sub> (metilglutamina, Q (Me)); en ejemplos de realización, se proporciona un aminoácido que comprende una cadena lateral de la estructura III en la que, R<sup>1</sup> es CH<sub>2</sub> y R<sup>4</sup> es H (metionina-sulfóxido, M(O)); en realizaciones específicas, el aminoácido en la posición 3 está sustituido por Dab (Ac) Por ejemplo, los agonistas de glucagón pueden comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 595, SEQ ID NO: 601 SEQ ID NO: 603, SEQ ID NO: 604, SEQ ID NO: 605, y SEQ ID NO: 606.

35

40 **[0022]** En otra realización, se proporcionan análogos de glucagón con una potencia aumentada o retenida en el receptor de glucagón en relación con el péptido similar al glucagón nativo, pero que también han aumentado en gran medida la actividad en el receptor de GLP-1. El glucagón normalmente tiene aproximadamente el 1% de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1, mientras que el GLP-1 normalmente tiene menos de aproximadamente 0,01% de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón. Se proporciona una mayor actividad en el receptor de GLP-1 mediante la sustitución del ácido carboxílico del aminoácido C-terminal por un grupo de carga neutra, tal como una amida o éster. En una realización, estos análogos de glucagón comprenden una secuencia de SEQ ID NO: 20 en el que el aminoácido carboxi terminal tiene un grupo amida en lugar del grupo ácido carboxílico que se encuentra en el aminoácido nativo. Estos análogos de glucagón tienen una fuerte actividad, en ambos receptores de glucagón y GLP-1, y por lo tanto actúan como coagonistas en ambos receptores. Según una realización, se proporciona un coagonista del receptor de glucagón y GLP-1 en el que el péptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 20, en el que el aminoácido en la posición 28 es Asn o Lys y el aminoácido en la posición 29 es Thr-amida.

50

55 **[0023]** La mayor actividad en el receptor de GLP-1 también se proporciona mediante la estabilización de la estructura de hélice alfa en la porción C-terminal de glucagón (alrededor de los aminoácidos 12-29), a través de la formación de un puente intramolecular entre las cadenas laterales de dos aminoácidos que están separados por tres aminoácidos intermedios, es decir, un aminoácido en la posición "i" y un aminoácido en la posición "i + 4", en el que i es cualquier número entero entre 12 y 25, por dos aminoácidos intermedios, es decir, un aminoácido en la posición "j" y un aminoácido en la posición "j + 3", en el que j es cualquier número entero entre 12 y 27, o por seis aminoácidos intermedios, es decir, un aminoácido en la posición "k" y un aminoácido en la posición "k + 7", en el que k es cualquier número entero entre 12 y 22. En realizaciones de ejemplo, el puente o enlazador es de aproximadamente 8 (o aproximadamente 7-9) átomos de longitud y se forma entre las cadenas laterales de aminoácidos en las las posiciones 12 y 16, o en las posiciones 16 y 20, o en las posiciones 20 y 24, o en las posiciones 24 y 28. Las cadenas laterales de estos aminoácidos pueden estar unidas entre sí a través de enlaces no covalentes, por ejemplo, enlaces de hidrógeno o interacciones iónicas, tales como la formación de puentes de sal, o por enlaces covalentes.

65

**[0024]** Según una realización, se proporciona un agonista de glucagón que comprende un péptido similar al glucagón de la SEQ ID NO: 20, en el que un anillo de lactama está formado entre las cadenas laterales de un residuo de lisina, que se encuentra en la posición 12, 20 o 28, y un residuo de ácido glutámico, que se encuentra en la posición 16 o 24, en el que los dos aminoácidos del péptido similar al glucagón, cuyas cadenas laterales participan en la formación del anillo de lactama, están espaciados una de otra por tres aminoácidos intermedios. Según una realización, el análogo de glucagón con lactama comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18. En una realización, el aminoácido carboxi terminal del péptido con lactama comprende un grupo amida o un grupo éster en lugar del ácido carboxílico terminal. En una realización, un péptido similar al glucagón de la SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, y SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18 comprende además un aminoácido adicional unido covalentemente al extremo carboxi terminal de la SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 o SEQ ID NO: 18. En una realización adicional, se proporciona un péptido similar al glucagón que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 69 que comprende además un aminoácido adicional unido covalentemente al extremo carboxi terminal de la SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 69. En una realización, el aminoácido en la posición 28 es asparagina o lisina y el aminoácido en la posición 29 es treonina.

**[0025]** En algunas realizaciones específicas, la estabilización de la estructura de hélice alfa en la porción C-terminal del péptido agonista de glucagón se consigue a través de la formación de un puente intramolecular covalente que no es un puente de lactama. Por ejemplo, los métodos de unión covalentes adecuados (es decir, medios de formación de un puente intramolecular covalente) incluyen uno cualquiera o más de metátesis de olefinas, ciclación a base de lantionina, puente disulfuro o formación de puentes que contienen azufre modificados, uso de grupos de  $\alpha,\omega$ -diaminoalcano, la formación de puentes de átomos metálicos, y otros medios de ciclación de péptidos, se utilizan para estabilizar la hélice alfa.

**[0026]** La mayor actividad en el receptor de GLP-1 también se proporciona mediante la estabilización de la estructura de hélice alfa en la porción C-terminal del péptido similar al glucagón (alrededor de los aminoácidos 12-29) mediante la introducción de uno o más aminoácidos  $\alpha,\alpha$ -disustituidos en las posiciones que retienen la actividad deseada. En algunos aspectos, la estabilización de la hélice alfa se lleva a cabo de esta manera sin la introducción intencionada de un puente intramolecular, tal como un puente de sal o enlace covalente. Dichos péptidos pueden ser considerados en el presente documento como un péptido que carece de un puente intramolecular. En aspectos específicos, la estabilización de la hélice alfa se logra mediante la introducción de uno o más aminoácidos  $\alpha,\alpha$ -disustituidos sin la introducción de un puente covalente intramolecular, por ejemplo, un puente de lactama, un puente disulfuro. Dichos péptidos pueden ser considerados en el presente documento como un péptido que carece de un puente intramolecular covalente. En algunas realizaciones, uno, dos, tres, cuatro o más de las posiciones 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24 o 29 de un péptido similar al glucagón están sustituidas por un aminoácido  $\alpha,\alpha$ -disustituido. Por ejemplo, la sustitución de la posición 16 del péptido similar al glucagón por ácido amino isobutírico (AIB) aumenta la actividad de GLP-1, en ausencia de un puente de sal o lactama. En algunas realizaciones, una, dos, tres o más de las posiciones 16, 20, 21 o 24 están sustituidos por AIB.

**[0027]** La mayor actividad en los receptores de GLP-1 y el glucagón para péptidos análogos de glucagón que carecen de un puente intramolecular (por ejemplo, un puente intramolecular covalente) se proporciona mediante la adición de un grupo acilo o alquilo a la cadena lateral del aminoácido en la posición 10 del péptido. En algunos aspectos, el grupo acilo o alquilo no es de origen natural en un aminoácido. En aspectos específicos, el grupo acilo o alquilo es no nativo a cualquier aminoácido de origen natural. En algunas realizaciones, el grupo acilo es un grupo acilo graso, por ejemplo, un grupo acilo graso C4 a C30. Por ejemplo, en este documento se proporciona un péptido análogo de glucagón que carece de un puente intramolecular covalente que comprende AIB en la posición 16 y un grupo acilo graso C14, C16, o C18 o unido covalentemente a un residuo de Lys en la posición 10. También se proporciona un péptido análogo de glucagón que carece de un puente intramolecular (por ejemplo, un puente intramolecular covalente) que comprende AIB en las posiciones 2 y 16 y un grupo acilo graso C14, C16 o C18 unido covalentemente a un residuo de Lys en la posición 10. Dichos péptidos de análogo de glucagón acilados que carecen de un puente intramolecular (por ejemplo, un puente intramolecular covalente) se puede pegar tal como se describe adicionalmente en este documento.

**[0028]** Una mejora adicional en la actividad de GLP-1 y la actividad de glucagón para péptidos análogos de glucagón acilados que carecen de un puente intramolecular (por ejemplo, un puente intramolecular) se puede lograr mediante la incorporación de un espaciador entre el grupo acilo o alquilo y la cadena lateral del aminoácido en la posición 10. Según algunas realizaciones, el espaciador (por ejemplo, un aminoácido, un dipéptido, un tripéptido, un espaciador bifuncional hidrófilo, o un espaciador bifuncional hidrófobo) es de 3 a 10 átomos (por ejemplo, 6 a 10 átomos de) de longitud. Según ciertas realizaciones específicas, la longitud total del espaciador y grupo acilo o alquilo es de 14 a 28 átomos, por ejemplo, 17 a 28, 19 a 26 átomos, de 19 a 21 átomos. Los espaciadores adecuados para los propósitos de aumentar la actividad de GLP-1 y la actividad de glucagón para péptidos acilados o alquilados que carecen de un puente intramolecular (por ejemplo, un puente intramolecular covalente) se describen adicionalmente en este documento.

**[0029]** Por ejemplo, en este documento se proporciona un péptido similar al glucagón no nativo que difiere de SEQ ID NO: 1 por no más de 10 modificaciones de aminoácidos, que comprende un grupo acilo o grupo alquilo, en el que el grupo acilo o alquilo está unido a un espaciador y el espaciador está unido a la cadena lateral de un aminoácido en la posición 10 del péptido similar al glucagón, en el que, cuando dicho péptido similar al glucagón carece de un resto hidrófilo, por ejemplo, PEG, dicho péptido similar al glucagón exhibe al menos 20% (por ejemplo, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 98%, al menos 99%, aproximadamente el 100%, aproximadamente el 150%, aproximadamente el 200%, aproximadamente el 400%, aproximadamente el 500% o más) de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1. En algunas realizaciones, el péptido similar al glucagón presenta al menos 0,5% (por ejemplo, al menos 1%, al menos 2%, al menos 3%, al menos 4%, al menos 5%, al menos 10%, al menos 20%) de la actividad del glucagón nativo en el receptor de glucagón, cuando el péptido similar al glucagón carece de un resto hidrófilo, por ejemplo, PEG. En algunas realizaciones, los péptidos similares al glucagón descritos anteriormente pueden exhibir cualquiera de las actividades anteriormente indicadas y no más de 1000%, 10000%, 100000%, o 1.000.000% de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón. En algunas realizaciones, los péptidos similares a glucagón descritos anteriormente pueden exhibir cualquiera de las actividades anteriormente indicadas y no más de 1000%, 10000%, 100000%, o 1.000.000% de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1.

**[0030]** La mayor actividad en el receptor de GLP-1 también es proporcionada por una modificación de aminoácidos en la posición 20. En una realización, la glutamina en la posición 20 se sustituye por otro aminoácido hidrófilo que tiene una cadena lateral que está cargada o tiene una capacidad de enlaces de hidrógeno, y tiene al menos aproximadamente 5 (o aproximadamente 4-6) átomos de longitud, por ejemplo, lisina, citrulina, arginina, u ornitina.

**[0031]** Cualquiera de las modificaciones descritas anteriormente que aumentan o disminuyen la actividad del receptor de glucagón y que aumentan la actividad del receptor de GLP-1 se pueden aplicar de forma individual o en combinación. Las combinaciones de las modificaciones que aumentan la actividad del receptor de GLP-1 pueden proporcionar una mayor actividad de GLP-1 que cualquiera de tales modificaciones tomadas de forma individual. Por ejemplo, se dan a conocer en el presente documento análogos de glucagón que comprenden modificaciones en la posición 16, en la posición 20, y en el grupo de ácido carboxílico C-terminal, opcionalmente con un enlace covalente entre los aminoácidos en las posiciones 16 y 20; análogos de glucagón que comprenden modificaciones en la posición 16 y en el grupo de ácido carboxílico C-terminal; análogos de glucagón que comprenden modificaciones en las posiciones 16 y 20, opcionalmente con un enlace covalente entre los aminoácidos en las posiciones 16 y 20; y análogos de glucagón que comprenden modificaciones en la posición 20 y en el grupo de ácido carboxílico C-terminal; opcionalmente con la condición de que el aminoácido en la posición 12 no es Arg; u opcionalmente con la condición de que el aminoácido en la posición 9 no es Glu.

**[0032]** Otras modificaciones en la posición 1 o 2, como se describe en el presente documento, pueden aumentar la resistencia del péptido a la escisión por la dipeptidil peptidasa IV (DPP IV). Por ejemplo, el aminoácido en la posición 2 puede estar sustituido por D-serina, D-alanina, valina, glicina, N-metil serina, N-metil alanina, o ácido aminoisobutírico. Alternativamente, o además, el aminoácido en la posición 1 puede estar sustituido por D-histidina, desaminohistidina, hidroxilo-histidina, acetil-histidina, homo-histidina, N-metil histidina, alfa-metil histidina, ácido imidazol acético, o ácido alfa, alfa-dimetil imidiazol acético (DMIA).

**[0033]** Se observó que las modificaciones en la posición 2 (por ejemplo, AIB en la posición 2) y en algunos casos modificaciones en la posición 1 pueden reducir la actividad de glucagón, a veces de manera significativa; sorprendentemente, esta reducción en la actividad del glucagón puede ser restaurada por la estabilización de la hélice alfa en la porción C-terminal de glucagón, por ejemplo, a través de un enlace covalente entre los aminoácidos en las posiciones "i" y "i + 4", por ejemplo, 12 y 16, 16 y 20, o 20 y 24. En algunas realizaciones, este enlace covalente es un puente de lactama entre un ácido glutámico en la posición 16 y una lisina en la posición 20. En algunas realizaciones, este enlace covalente es un puente intramolecular diferente a un puente lactama. Por ejemplo, los métodos de unión covalente adecuados incluyen uno cualquiera o más de metátesis de olefinas, ciclación a base de lantionina, puente disulfuro o la formación de puentes que contienen azufre modificados, el uso de grupos  $\alpha, \omega$ -diaminoalcano, la formación de puentes de átomos metálicos, y otros medios de ciclación de péptidos.

**[0034]** Los péptidos similares a glucagón con actividad de GLP-1 que contienen una sustitución no conservadora de His en la posición 1 por un aminoácido grande, aromático (por ejemplo, Tyr) pueden retener la actividad de GLP-1 a condición de que la hélice alfa se estabilice a través de un puente intramolecular, por ejemplo, a través de un enlace covalente entre los aminoácidos en las posiciones "i" e "i + 4", por ejemplo, 12 y 16, 16 y 20, o 20 y 24. En algunas realizaciones, este enlace covalente es un puente lactama entre un ácido glutámico en la posición 16 y una lisina en la posición 20. En algunas realizaciones, este enlace covalente es un puente intramolecular que no es un puente lactama. Por ejemplo, los métodos de unión covalente adecuados incluyen uno cualquiera o más de metátesis de olefinas, ciclación a base de lantionina, puente disulfuro o la formación de puentes que contienen azufre modificados, el uso de grupos  $\alpha, \omega$ -diaminoalcano, la formación de puentes de átomos metálicos, y otros medios de ciclación de péptidos.

**[0035]** En otras realizaciones de ejemplo, cualquiera de los compuestos anteriores se puede modificar aún más para mejorar la estabilidad mediante la modificación del aminoácido en la posición 15 de la SEQ ID NO: 1 para reducir la degradación del péptido con el tiempo, especialmente en tampones ácidos o alcalinos.

5 **[0036]** En otra realización, la solubilidad de los péptidos similares a glucagón descritos en este documento se ha mejorado mediante el enlace covalente de un resto hidrófilo al péptido. En una realización, el resto hidrófilo es una  
10 cadena de polietilenglicol (PEG), opcionalmente unida al péptido en una o más de las posiciones 16, 17, 21, 24, 29, dentro de una extensión C-terminal, o en el aminoácido C-terminal. En algunas realizaciones, el aminoácido nativo en esa posición se sustituye por un aminoácido que tiene una cadena lateral adecuada para la reticulación con  
15 restos hidrófilos para facilitar la unión del resto hidrófilo al péptido. En otras realizaciones, se añade un aminoácido modificado para comprender un grupo hidrófilo al péptido en el aminoácido C-terminal. En una realización el péptido coagonista comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 y SEQ ID NO: 19, en el que la cadena lateral de un residuo de aminoácido en una de las posiciones 16, 17, 21 o 24 de dicho péptido similar al glucagón comprende además una cadena de polietilenglicol que tiene un peso molecular seleccionado entre el intervalo de aproximadamente 500 a aproximadamente 40.000 Daltons. En una realización, la cadena de polietilenglicol tiene un peso molecular seleccionado entre el intervalo de aproximadamente 500 a aproximadamente 5000 Daltons. En otra realización, la cadena de polietilenglicol tiene un peso molecular de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 20.000 Daltons. En aún otras realizaciones de ejemplo, la cadena de polietilenglicol tiene un  
20 peso molecular de aproximadamente 20.000 a aproximadamente 40.000 Daltons.

**[0037]** En otra realización, la solubilidad de cualquiera de los análogos de glucagón anteriores se puede mejorar mediante sustituciones y/o adiciones de aminoácidos que introducen un aminoácido cargado en la porción C-terminal del péptido, preferiblemente en una posición C-terminal a la posición 27 de SEQ ID NO: 1. Opcionalmente,  
25 pueden introducirse uno, dos o tres aminoácidos cargados dentro de la porción C-terminal, preferiblemente C-terminal a la posición 27. Según una realización, el aminoácido o aminoácidos nativos en las posiciones 28 y/o 29 están sustituidos por aminoácidos cargados, y/o en una realización adicional de uno a tres aminoácidos cargados también se añaden al extremo C-terminal del péptido. En realizaciones de ejemplo, uno, dos o todos los aminoácidos cargados están cargados negativamente. Las modificaciones adicionales, por ejemplo, las sustituciones conservadoras, se pueden realizar en el péptido similar a glucagón que permite que se retenga la actividad de glucagón. En una realización, se proporciona un análogo del péptido de SEQ ID NO: 20 en el que el análogo difiere de SEQ ID NO: 20 en 1 a 2 sustituciones de aminoácidos en las posiciones 17-26, y en una realización el análogo difiere del péptido de SEQ ID NO: 20 en una sustitución de aminoácido en la posición 20.

35 **[0038]** Según algunas realizaciones, los péptidos similares a glucagón descritos en este documento están modificados mediante el truncamiento del extremo C-terminal por uno o dos residuos de aminoácidos. Tales péptidos similares a glucagón modificados, tal como se muestra en el presente documento, retienen la actividad y potencia similar en el receptor de glucagón y receptor de GLP-1. A este respecto, los péptidos similares a glucagón pueden comprender aminoácidos 1-27 o 1-28 del péptido glucagón nativo (SEQ ID NO: 1), opcionalmente con  
40 cualquiera de las modificaciones adicionales que se describen en este documento.

**[0039]** Según una realización, los péptidos similares al glucagón descritos en este documento se modifican mediante la adición de un segundo péptido al extremo terminal carboxi del péptido similar al glucagón, por ejemplo, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 o SEQ ID NO: 28. En una realización, un péptido similar al glucagón que tiene una  
45 secuencia de péptido seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, y SEQ ID NO: 69 está unido covalentemente a través de un enlace peptídico a un segundo péptido, en donde el segundo péptido comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28. En una realización adicional, en péptidos similares a glucagón que comprenden la extensión C-terminal, la treonina en la posición 29 del péptido similar al glucagón nativo se reemplaza por una glicina. Un análogo de glucagón que tiene una sustitución de glicina por treonina en la posición 29 y que comprende la extensión carboxi terminal de la SEQ ID NO: 26 es cuatro veces más potente en el receptor de GLP-1 que el glucagón nativo modificado para comprender la extensión carboxi terminal de la SEQ ID NO: 26. La potencia en el receptor de GLP-1 se puede aumentar aún más mediante una sustitución de alanina por arginina  
50 nativa en la posición 18.

**[0040]** Cualquiera de los péptidos similares a glucagón descritos en este documento pueden ser modificados para comprender un grupo acilo o grupo alquilo, por ejemplo, un grupo acilo o grupo alquilo C4 a C30. En algunos aspectos, el grupo grupo acilo o alquilo es no nativo a cualquier aminoácido de origen natural. La acilación o alquilación pueden aumentar la vida media de los péptidos similares a glucagón en circulación. La acilación o alquilación pueden retrasar ventajosamente el inicio de la acción y/o extender la duración de la acción en los receptores de glucagón y/o GLP-1 y/o mejorar la resistencia a las proteasas, tales como DPP-IV. Como se muestra en este documento, la actividad en el receptor de glucagón y el receptor de GLP-1 del péptido similar al glucagón se mantiene, o sustancialmente mejora, después de la acilación. Además, la potencia de los péptidos similares a glucagón acilados era comparable a las versiones no aciladas de los péptidos similares a glucagón, o sustancialmente mejorada. Los péptidos similares a glucagón pueden estar acilados o alquilados en la misma  
65

posición de aminoácido donde se une un resto hidrófilo, o en una posición de aminoácido diferente. En algunas realizaciones, la invención proporciona un péptido similar al glucagón modificado para comprender un grupo acilo o un grupo alquilo unido covalentemente al aminoácido en la posición 10 del péptido similar al glucagón. El péptido similar al glucagón puede comprender adicionalmente un espaciador entre el aminoácido en la posición 10 del péptido similar al glucagón y el grupo grupo acilo o alquilo. En algunas realizaciones, el grupo acilo es un ácido graso o ácido biliar o sal del mismo, por ejemplo un ácido graso de C4 a C30, un ácido graso de C8 a C24, ácido cólico, un alquilo de C4 a C30, un alquilo de C8 a C24, o un grupo alquilo que comprende un resto esteroide de un ácido biliar. El espaciador es cualquier resto con grupos reactivos adecuados para la unión de grupos acilo o alquilo. En realizaciones de ejemplo, el espaciador comprende un aminoácido, un dipéptido, un tripéptido, un espaciador bifuncional hidrófilo, o un espaciador bifuncional hidrófobo. En algunas realizaciones, el espaciador se selecciona del grupo que consiste en: Trp, Glu, Asp, Cys y un espaciador que comprende  $\text{NH}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$ , en donde m es cualquier número entero de 1 a 6 y n es cualquier número entero de 2 a 12. Dichos péptidos similares al glucagón acilados o alquilados también pueden comprender además un resto hidrófilo, opcionalmente un polietilenglicol. Cualquiera de los péptidos similares a glucagón anteriores puede comprender dos grupos acilo o dos grupos alquilo, o una combinación de los mismos.

**[0041]** Por lo tanto, tal como se describe en el presente documento, se proporcionan análogos de glucagón o análogos coagonistas de glucagón de alta potencia que también exhiben una mejor solubilidad y/o estabilidad. Un análogo de glucagón de alta potencia de ejemplo muestra al menos aproximadamente 200% de la actividad del glucagón nativo en el receptor de glucagón, y opcionalmente es soluble a una concentración de al menos 1 mg/ml a un pH entre 6 y 8, o entre 6 y 9, o entre 7 y 9 (por ejemplo, pH 7), y retiene opcionalmente al menos 95% del péptido original (por ejemplo 5% o menos del péptido original es degradado o eliminado) después de 24 horas a 25°C. Como otro ejemplo, un análogo coagonista de glucagón de ejemplo muestra más de aproximadamente 40% o más de aproximadamente 60% de actividad, tanto en el receptor de glucagón como en el receptor de GLP-1 (en una relación entre aproximadamente 1:3 y 3:1, o entre aproximadamente 1:2 y 2:1), es opcionalmente soluble a una concentración de al menos 1 mg/ml a un pH entre 6 y 8 o entre 6 y 9, o entre 7 y 9 (por ejemplo, pH 7), y opcionalmente retiene al menos 95% del péptido original después de 24 horas a 25°C. Otro análogo co-agonista de glucagón de ejemplo muestra aproximadamente 175% o más de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón y aproximadamente 20% o menos de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1, es opcionalmente soluble a una concentración de al menos 1 mg/ml a un pH entre 6 y 8 o entre 6 y 9, o entre 7 y 9 (por ejemplo, pH 7), y retiene opcionalmente al menos 95% del péptido original después de 24 horas a 25°C. Aún otro análogo co-agonista de glucagón de ejemplo muestra aproximadamente 10% o menos de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón y al menos aproximadamente 20% de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1, es opcionalmente soluble en una concentración de al menos 1 mg/ml a un pH entre 6 y 8 o entre 6 y 9, o entre 7 y 9 (por ejemplo, pH 7), y retiene opcionalmente al menos 95% del péptido original después de 24 horas a 25°C. Aún otro análogo co-agonista de glucagón de ejemplo muestra aproximadamente 10% o menos, pero por encima de 0,1%, 0,5% o 1% de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón y al menos aproximadamente 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% o más de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1, es opcionalmente soluble a una concentración de al menos 1 mg/ml a un pH entre 6 y 8 o entre 6 y 9, o entre 7 y 9 (por ejemplo, pH 7), y, opcionalmente, retiene al menos 95% del péptido original después de 24 horas a 25°C. En algunas realizaciones, los péptidos similares a glucagón exhiben no más de aproximadamente 100%, 1000%, 10000%, 100000%, o 1.000.000% de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1. En algunas realizaciones, tales análogos de glucagón retienen al menos 22, 23, 24, 25, 26, 27 o 28 de los aminoácidos de origen natural en las posiciones correspondientes en el glucagón nativo (por ejemplo, tienen 1-7, 1-5 o 1-3 modificaciones relativas al glucagón de origen natural).

**[0042]** Cualquiera de los siguientes péptidos se excluye de los compuestos de la invención, aunque cualquiera de los siguientes péptidos que comprenden una o más modificaciones en los mismos como se describen en el presente documento, que presentan la actividad de GLP-1 o coagonista deseada, composiciones farmacéuticas, kits, y métodos de tratamiento que utilizan estos compuestos, pueden ser incluidos en la descripción: el péptido de SEQ ID NO: 1 con una sustitución [Arg12] y con una amida C-terminal; El péptido de SEQ ID NO: 1 con sustituciones [Arg12, Lys20] y con una amida C-terminal; El péptido de SEQ ID NO: 1 con sustituciones [Arg12, Lys24] y con una amida C-terminal; El péptido de SEQ ID NO: 1 con sustituciones [Arg12, Lys29] y con una amida C-terminal; El péptido de SEQ ID NO: 1 con una sustitución [Glu9]; El péptido de SEQ ID NO: 1 que carece de His1, con sustituciones [Glu9, Glu16, Lys29] y amida C-terminal; El péptido de SEQ ID NO: 1 con sustituciones [Glu9, Glu16, Lys29] y con una amida C-terminal; El péptido de SEQ ID NO: 1 con sustituciones [Lys13, Glu17] unidas a través de puente de lactama y con una amida C-terminal; El péptido de SEQ ID NO: 1 con sustituciones [Lys17, Glu21] unidas a través de puente de lactama y con una amida C-terminal; El péptido de SEQ ID NO: 1 que carece de His1 con sustituciones [Glu20, Lys24] unidas a través de puente de lactama.

**[0043]** Según una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende cualquiera de los nuevos péptidos similares a glucagón descritos en este documento, preferiblemente estéril y preferiblemente a un nivel de pureza de al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95 %, 96%, 97%, 98% o 99%, y un diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones pueden contener un péptido similar al glucagón en una concentración de al menos A, en donde A es 0,001 mg/ml, 0,01 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml, 5 mg/ml, 6 mg/ml, 7 mg/ml, 8 mg/ml, 9 mg/ml, 10 mg/ml, 11 mg/ml, 12 mg/ml, 13 mg/ml, 14 mg/ml,

15 mg/ml, 16 mg/ml, 17 mg/ml, 18 mg/ml, 19 mg/ml, 20 mg/ml, 21 mg/ml, 22 mg/ml, 23 mg/ml, 24 mg/ml, 25 mg/ml o superior. En otras realizaciones, dichas composiciones pueden contener un péptido similar a glucagón en una concentración de como máximo B, donde B es 30 mg/ml, 25 mg/ml, 24 mg/ml, 23, mg/ml, 22 mg/ml, 21 mg/ml, 20 mg/ml, 19 mg/ml, 18 mg/ml, 17 mg/ml, 16 mg/ml, 15 mg/ml, 14 mg/ml, 13 mg/ml, 12 mg/ml, 11 mg/ml 10 mg/ml, 9 mg/ml, 8 mg/ml, 7 mg/ml, 6 mg/ml, 5 mg/ml, 4 mg/ml, 3 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml, o 0,1 mg/ml. En algunas realizaciones, las composiciones pueden contener un péptido similar al glucagón en un intervalo de concentración de A a B mg/ml, por ejemplo, de 0,001 a 30,0 mg/ml. En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden soluciones acuosas que se esterilizan y se almacenan opcionalmente dentro de varios recipientes. Los compuestos descritos en este documento se pueden utilizar según una realización para preparar soluciones preformuladas lista para la inyección. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden un polvo liofilizado. Las composiciones farmacéuticas se pueden envasar adicionalmente como parte de un kit que incluye un dispositivo desechable para la administración de la composición a un paciente. Los envases o kits pueden estar marcados para su almacenamiento a temperatura ambiente o a temperatura refrigerada.

**[0044]** Según una realización, se proporciona un método para aumentar rápidamente el nivel de glucosa o el tratamiento de la hipoglucemia usando una composición acuosa preformulada de péptidos similares a glucagón. El método comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de una solución acuosa que comprende un nuevo péptido similar a glucagón modificado de la presente descripción. En una realización, el péptido similar al glucagón se pegila en la posición 21 o 24 del péptido similar al glucagón y la cadena de PEG tiene un peso molecular de aproximadamente 500 a aproximadamente 5000 Daltons. En una realización, la solución de glucagón modificado se preenvasa en un dispositivo que se utiliza para administrar la composición al paciente que sufre de hipoglucemia.

**[0045]** Según una realización se proporciona un método mejorado para regular los niveles de glucosa en sangre en pacientes dependientes de insulina. El método comprende las etapas de administrar insulina en una cantidad terapéuticamente eficaz para el control de la diabetes y administrar un nuevo péptido similar al glucagón modificado de la presente descripción en una cantidad terapéuticamente eficaz para la prevención de la hipoglucemia, en el que dichas etapas de administración se llevan a cabo en menos de doce horas una de la otra. En una realización el péptido similar al glucagón y la insulina se coadministran como una sola composición, en el que el péptido similar al glucagón se pegila con una cadena de PEG que tiene un peso molecular seleccionado entre el intervalo de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 40.000 Daltons

**[0046]** En otra realización, se proporciona un método para inducir la parálisis temporal del tracto intestinal. El método comprende la etapa de administrar uno o más de los péptidos similares al glucagón descritos en este documento a un paciente.

**[0047]** El síndrome metabólico, también conocido como síndrome metabólico X, síndrome de resistencia a la insulina o síndrome de Reaven, es un trastorno que afecta a más de 50 millones de estadounidenses. El síndrome metabólico se caracteriza típicamente por una agrupación de al menos tres o más de los siguientes factores de riesgo: (1) la obesidad abdominal (tejido graso excesivo en y alrededor del abdomen), (2) la dislipidemia aterogénica (trastornos de grasa en la sangre incluyendo niveles altos de triglicéridos, bajo colesterol HDL y alto colesterol que aumentan la acumulación de placa en las paredes de las arterias), (3) la presión arterial elevada, (4) resistencia a la insulina o intolerancia a la glucosa, (5) estado protrombótico (por ejemplo, alto fibrinógeno o inhibidor-1 del activador de plasminógeno en sangre), y (6) estado proinflamatorio (por ejemplo, la proteína C reactiva elevada en la sangre). Otros factores de riesgo pueden incluir el envejecimiento, desequilibrio hormonal y la predisposición genética.

**[0048]** El síndrome metabólico se asocia con un aumento en el riesgo de enfermedad coronaria y otros trastornos relacionados con la acumulación de placa vascular, tal como un accidente cerebrovascular y enfermedad vascular periférica, que se refiere como enfermedades cardiovascular aterosclerótica (ASCVD). Los pacientes con síndrome metabólico pueden pasar de un estado de resistencia a la insulina en sus primeras etapas a diabetes de tipo II total con mayor riesgo de ASCVD. Sin pretender estar ligado por ninguna teoría en particular, la relación entre la resistencia a la insulina, el síndrome metabólico y la enfermedad vascular puede implicar uno o más mecanismos patogénicos simultáneos, incluyendo alteración de la vasodilatación estimulada por la insulina, la reducción asociada con la resistencia a la insulina en la disponibilidad de NO debido al aumento del estrés oxidativo, y anomalías en las hormonas derivada de adipocitos, tales como la adiponectina (Lteif y Mather, Can J. Cardiol 20 (supl B): 66B-76B (2004)).

**[0049]** Según el Panel de Tratamiento de Adultos del Programa de Educación de Colesterol Nacional (ATP III) del 2001, cualquiera de tres de las siguientes características en el mismo individuo cumplen los criterios de síndrome metabólico: (a) la obesidad abdominal (circunferencia de cintura de más de 102 cm en los hombres y más de 88 cm en las mujeres); (b) los triglicéridos séricos (150 mg/dl o superior); (c) el colesterol HDL (40 mg/dl o más bajo en los hombres y 50 mg/dl o menor en las mujeres); (d) la presión arterial (130/85 o más); y (e) de glucosa en sangre en ayunas (110 mg/dl o superior). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), un individuo que tiene niveles altos de insulina (una glucemia en ayunas elevada o una glucosa sola después de comida) con al menos dos de los siguientes criterios cumple con los criterios de síndrome metabólico: (a) la obesidad abdominal (relación cintura a cadera superior a 0,9, un índice de masa corporal de al menos 30 kg/m<sup>2</sup>, o una medida de cintura de más de 37 pulgadas); (b) panel de colesterol que muestra un nivel de triglicéridos de al menos 150 mg/dl o un colesterol HDL

menor que 35 mg/dl; (c) la presión arterial de 140/90 o más, o en tratamiento para la presión arterial alta). (Mathur, Ruchi, "Metabolic Syndrome", ed. Shiel, Jr., William C., MedicineNet.com, 11 de mayo de 2009).

**[0050]** Para los propósitos de este documento, si una persona cumple con los criterios de uno o ambos de los criterios establecidos por el Panel de Tratamiento de Adultos del Programa de Educación de Colesterol Nacional o la OMS, ese individuo es considerado como afectado por el síndrome metabólico.

**[0051]** Sin estar ligado a ninguna teoría particular, los péptidos similares al glucagón descritos en este documento son útiles para tratar el síndrome metabólico. Por consiguiente, se describe en el presente documento un método para prevenir o tratar el síndrome metabólico, o la reducción de uno, dos, tres o más factores de riesgo de los mismos, en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un péptido de glucagón descrito en el presente documento en una cantidad eficaz para prevenir o tratar el síndrome metabólico, o el factor de riesgo de los mismos.

**[0052]** La enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD) se refiere a un amplio espectro de enfermedad hepática que va desde el hígado graso simple (esteatosis), a la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), a cirrosis (cicatrización irreversible avanzada del hígado). Todas las etapas de NAFLD tienen en común la acumulación de grasa (infiltración grasa) en las células hepáticas (hepatocitos). El hígado graso simple es la acumulación anormal de un cierto tipo de grasa, triglicéridos, en las células hepáticas con ninguna inflamación o cicatrización. En NASH, la acumulación de grasa se asocia con grados variables de inflamación (hepatitis) y la cicatrización (fibrosis) del hígado. Las células inflamatorias pueden destruir las células del hígado (necrosis hepatocelular). En los términos "esteatohepatitis" y "esteatonecrosis", esteato se refiere a la infiltración de grasa, hepatitis refiere a la inflamación en el hígado, y la necrosis se refiere a las células hepáticas destruidas. NASH en última instancia puede conducir a la cicatrización del hígado (fibrosis) y a continuación la cicatrización avanzada irreversible (cirrosis). La cirrosis causada por NASH es la última etapa y la más grave en el espectro de hígado graso no alcohólico. (Mendler, Michel, "Hígado graso: enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH)," ed Schoenfield, Leslie J., MedicineNet.com 29 de agosto, 2005.).

**[0053]** La enfermedad hepática alcohólica, o enfermedad hepática inducida por el alcohol abarca tres enfermedades hepáticas patológicamente distintas relacionadas o causadas por el consumo excesivo de alcohol: hígado graso (esteatosis), hepatitis crónica o aguda, y la cirrosis. La hepatitis alcohólica puede ir desde una hepatitis leve, con pruebas anormales de laboratorio siendo la única indicación de enfermedad, disfunción hepática severa con complicaciones tales como ictericia (piel amarilla causada por la retención de bilirrubina), encefalopatía hepática (disfunción neurológica causada por insuficiencia hepática), ascitis (acumulación de líquido en el abdomen), varices esofágicas sangrantes (venas varicosas en el esófago), coagulación anormal de la sangre y coma. Histológicamente, la hepatitis alcohólica tiene un aspecto característico, con degeneración globular de los hepatocitos, inflamación con neutrófilos y, a veces cuerpos de Mallory (agregaciones anormales de proteínas de filamentos intermedios celulares). La cirrosis se caracteriza anatómicamente por nódulos generalizados en el hígado combinado con fibrosis. (Worman, Howard J., "Enfermedad hepática alcohólica", sitio web de la Universidad de Columbia Medical Center).

**[0054]** Sin estar ligado a ninguna teoría particular, los péptidos similares al glucagón descritos en este documento son útiles para el tratamiento de la enfermedad hepática alcohólica, NAFLD, o en cualquier etapa de la misma, incluyendo, por ejemplo, esteatosis, esteatohepatitis, hepatitis, inflamación hepática, NASH, cirrosis, o sus complicaciones. Por consiguiente, aquí se describe un método para prevenir o tratar la enfermedad hepática alcohólica, hígado graso no alcohólico, o en cualquier etapa del mismo, en un sujeto que comprende administrar a un sujeto un péptido de glucagón descrito en el presente documento en una cantidad eficaz para prevenir o tratar la enfermedad hepática alcohólica, hígado graso no alcohólico, o la etapa de los mismos. Tales métodos de tratamiento incluyen la reducción en uno, dos, tres o más de los siguientes: contenido de grasa en el hígado, la incidencia o la progresión de la cirrosis, la incidencia de carcinoma hepatocelular, los signos de inflamación, por ejemplo, niveles anormales de enzimas hepáticas (por ejemplo, aspartato aminotransferasa AST y/o alanina aminotransferasa ALT o LDH), la ferritina sérica elevada, bilirrubina sérica elevada y/o signos de fibrosis, por ejemplo, los niveles elevados de TGF-beta. En realizaciones preferidas, los péptidos similares al glucagón se utilizan para tratar a los pacientes que han progresado más allá de hígado graso simple (esteatosis) y muestran signos de inflamación o hepatitis. Tales métodos pueden dar como resultado, por ejemplo, la reducción de AST y/o los niveles de ALT.

**[0055]** En otra realización adicional, se proporciona un método de tratamiento de la hiperglucemia, o un método para reducir el aumento de peso o la inducción de la pérdida de peso, que consiste en administrar una cantidad eficaz de una solución acuosa que comprende un péptido similar al glucagón como se describe en el presente documento. En una realización, cualquier método comprende administrar una cantidad eficaz de una composición que comprende un agonista de glucagón seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 y SEQ ID NO: 19. En otra realización, el método comprende administrar una cantidad eficaz de una composición que comprende un agonista de glucagón, en el que el agonista de glucagón comprende un péptido similar al glucagón seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, y SEQ ID NO:

69, en el que el aminoácido 29 del péptido similar al glucagón está unido a un segundo péptido a través de un enlace peptídico, y dicho segundo péptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 o SEQ ID NO: 28. En realizaciones adicionales, se proporcionan métodos de tratamiento de la diabetes que implican coadministrar una dosis convencional o una dosis reducida de insulina y un péptido similar al glucagón descrito en el presente documento. También se proporcionan métodos de tratamiento de la diabetes con un péptido similar al glucagón descrito en el presente documento, sin coadministración de insulina.

**[0056]** En otro aspecto, se dan a conocer en el presente documento métodos novedosos para el tratamiento de la hiperglicemia y métodos novedosos para la disminución de apetito o inducción de la pérdida de peso corporal que implican la administración de una molécula coagonista de GLP-1/glucagón (incluyendo sales farmacéuticamente aceptables de la misma) que activa tanto el receptor de glucagón como el receptor de GLP-1. Agonismo, es decir, la activación, de los receptores de glucagón y GLP-1 proporciona una mejora inesperada en comparación con el agonismo de GLP-1 solo en el tratamiento de la hiperglicemia. Por lo tanto, la adición de agonismo de glucagón proporciona un efecto aditivo o sinérgico inesperado, u otro beneficio o beneficios clínicos inesperados. La administración con una dosis convencional de insulina, una dosis reducida de insulina, o sin insulina se contempla según tales métodos. El agonismo del receptor de glucagón también tiene un efecto beneficioso inesperado en comparación con el agonismo de GLP-1 solo en la inducción de la pérdida de peso o prevención del aumento de peso.

**[0057]** Las moléculas coagonista de glucagón/GLP-1 incluyen péptidos similares a glucagón tal como se describen en el presente documento, análogos de GLP-1 que activan los receptores de GLP-1 y glucagón, fusiones de glucagón y GLP-1, o fusiones de análogos de glucagón y análogos de GLP-1, o derivados químicamente modificados de los mismos. Alternativamente, un compuesto que activa el receptor de glucagón puede ser coadministrado con un compuesto que activa el receptor de GLP-1 (por ejemplo, un análogo de GLP-1, un análogo de exendina-4, o sus derivados). La coadministración de un análogo agonista de glucagón con un análogo agonista de GLP-1 también se contempla en el presente documento.

**[0058]** Tales métodos para el tratamiento de la hiperglicemia y/o para disminuir el apetito o inducir la pérdida de peso corporal incluyen la administración de un análogo de glucagón con una modificación en la posición 12 (por ejemplo, Arg12), opcionalmente en combinación con modificaciones en la posición 16 y/o 20. Los métodos descritos en este documento también incluyen la administración de análogos de glucagón que comprenden un puente intramolecular entre las cadenas laterales de dos aminoácidos dentro de la región de los aminoácidos 12 y 29 que están separados por tres aminoácidos intermedios, por ejemplo, las posiciones 12 y 16, las posiciones 13 y 17 (por ejemplo, Lys13 Glu17 o Glu13 Lys17), las posiciones 16 y 20, las posiciones 17 y 21 (por ejemplo, Lys17 Glu 21 o Glu17 Lys 21), las posiciones 20 y 24, o las posiciones 24 y 28, con la condición opcional de que el aminoácido en la posición 9 no es Glu, y que incluye opcionalmente una amida o éster C-terminal.

**[0059]** Según una realización, se excluyen de tales moléculas coagonistas de glucagón/GLP-1 cualquier análogo de glucagón o análogo de GLP-1 de la técnica anterior que se sabe que es útil en dicho método. En otra realización, los péptidos descritos en la Patente de Estados Unidos N° 6.864.069 que actúan como un agonista de GLP-1 y como un antagonista de glucagón para el tratamiento de la diabetes también se excluyen como moléculas coagonistas de glucagón/GLP-1. En otra realización, se excluye el uso de antagonistas de glucagón para tratar la diabetes, tales como los antagonistas descritos en Unson et al., J. Biol. Chem., 264: 789-794 (1989), Ahn et al, J. Med. Chem., 44: 3109-3116 (2001), y Sapse et al., Mol. Med., 8 (5): 251-262 (2002). En una realización adicional, la oxintomodulina o un análogo de glucagón que contiene los 8 aminoácidos C-terminales de la oxintomodulina (SEQ ID NO: 27) también están excluidos como moléculas coagonistas de glucagón/GLP-1.

**[0060]** Se espera que tales métodos para tratar la hiperglicemia sean útiles para una variedad de tipos de hiperglicemia, incluyendo la diabetes, la diabetes mellitus tipo I, diabetes mellitus tipo II, o diabetes gestacional, ya sea dependiente de insulina o no dependiente de la insulina, y reducción de las complicaciones de la diabetes, incluyendo la nefropatía, retinopatía y enfermedad vascular. Se espera que tales métodos para reducir el apetito o inducir la pérdida de peso corporal sean útiles en la reducción de peso corporal, la prevención del aumento de peso, o el tratamiento de la obesidad de varias causas, incluyendo la obesidad inducida por fármacos, y reducción de las complicaciones asociadas con la obesidad, incluyendo enfermedad vascular (enfermedad de la arteria coronaria, accidente cerebrovascular, enfermedad vascular periférica, isquemia de reperfusión, etc.), hipertensión, inicio de la diabetes tipo II, hiperlipidemia y enfermedades musculoesqueléticas.

**[0061]** Todos los métodos terapéuticos, composiciones farmacéuticas, kits y otras realizaciones similares descritas en el presente documento contemplan que el uso del término análogos de glucagón incluye todas las sales o ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

##### **[0062]**

La figura 1 es un gráfico de barras que representa la estabilidad de glucagón Cys<sup>21</sup>maleimidoPEG<sub>5K</sub> a 37°C incubado durante 24, 48, 72, 96, 144 y 166 horas, respectivamente.

La figura 2 representa los datos generados a partir de análisis de HPLC de glucagón Cys<sup>21</sup>maleimidoPEG<sub>5K</sub> a pH 5 incubado a 37°C durante 24, 72 o 144 horas, respectivamente.

La figura 3 representa los datos que muestran la inducción de AMPc mediada por el receptor por análogos de glucagón. Más particularmente, la figura 3A compara la inducción del receptor de glucagón por análogos de glucagón E16, K20 ●, E15, E16 ▲, E16, K20 ▼, E15, E16 ◀, E16 ▶ y gluc-NH<sub>2</sub> ■

Las figuras 4A y 4B representan los datos que muestran la inducción de AMPc mediada por el receptor por análogos de glucagón. Más particularmente, la figura 4A compara la inducción del receptor de glucagón por análogos de glucagón gluc-NH<sub>2</sub> ●, E16Gluc-NH<sub>2</sub> ▲, E3, E16 gluc-NH<sub>2</sub> , Orn3, E16 gluc-NH<sub>2</sub> ◀ y Nle3, E16 gluc-NH<sub>2</sub> ▶ con respecto al glucagón nativo ■, mientras que la figura 4B compara la inducción del receptor de GLP-1 por los análogos de glucagón Gluc-NH<sub>2</sub> ●, E16 Gluc-NH<sub>2</sub> ▲, E3, E16Gluc-NH<sub>2</sub> , Orn3, E16 Gluc -NH<sub>2</sub> ◀ y Nle3, E16 Gluc-NH<sub>2</sub> ▶ con respecto al GLP-1 nativo■.

Las figuras 5A y 5B representan los datos que muestran la inducción de AMPc mediada por el receptor por análogos de glucagón. Más particularmente, la figura 5A compara la inducción del receptor de glucagón por análogos de glucagón (E16, K20 Gluc-NH<sub>2</sub> ● (5 nM, solución madre), E15, E16 Gluc-NH<sub>2</sub> ▲ (5 nM, solución madre), E16, K20 Gluc-NH<sub>2</sub> ▼ (10 nM, solución madre), E15, E16 Gluc-NH<sub>2</sub> [◀] (10 nM, solución madre) y E16 Gluc-NH<sub>2</sub> ▶ con relación al glucagón-NH<sub>2</sub> ([■]), mientras que la figura 5B compara la inducción del receptor de GLP-1 por los análogos de glucagón (E16, K20 Gluc-NH<sub>2</sub> ●, E15, E16 Gluc-NH<sub>2</sub> A y E16 Gluc-NH<sub>2</sub> , ▶ relativos de GLP-1 (■) y glucagón-NH<sub>2</sub> (□).

Las figuras 6A y 6B representan los datos que muestran la inducción de AMPc mediada por el receptor por análogos de glucagón. Más particularmente, la figura 6A compara la inducción del receptor de glucagón por análogos de glucagón (Gluc-NH<sub>2</sub> ●, K12E16-NH<sub>2</sub> lactama A, E16K20-NH<sub>2</sub> lactama ▼, K20E24-NH<sub>2</sub> lactama ◀ y E24K28-NH<sub>2</sub> lactama ▶) con respecto al glucagón (■), mientras que la figura 6B compara la inducción del receptor de GLP-1 por los análogos de glucagón (Gluc-NH<sub>2</sub> ●, K12E16-NH<sub>2</sub> lactama ▲, E16K20-NH<sub>2</sub> lactama ▼, K20E24-NH<sub>2</sub> lactamas ◀ y E24K28-NH<sub>2</sub> lactama ▶) en relación con GLP-1 (■).

Las figuras 7A y 7B representan los datos que muestran la inducción de AMPc mediada por el receptor por análogos de glucagón. Más particularmente, la figura 7A compara la inducción del receptor de glucagón por análogos de glucagón (Gluc-NH<sub>2</sub> ●, E16 Gluc-NH<sub>2</sub>, A, K12, E16 Gluc-NH<sub>2</sub> lactama ▼, E16, K20 Gluc-NH<sub>2</sub>◀ y E16, K20 Gluc-NH<sub>2</sub> lactama ▶) con respecto al glucagón (■), mientras que la figura 7B compara la inducción del receptor de GLP-1 por los análogos de glucagón (Gluc-NH<sub>2</sub> ●, E16 Gluc-NH<sub>2</sub>, ▲, K12, E16 Gluc-NH<sub>2</sub> lactama ▼, E16, K20 Gluc-NH<sub>2</sub> ◀ y E16, K20 Gluc-NH<sub>2</sub> lactama ▶) en relación con el GLP-1 (■).

Las figuras 8A-8F representan los datos que muestran la inducción de AMPc de AMPc mediada por el receptor por análogos de glucagón en el receptor de glucagón (figuras 8A, 8C y 8E) o el receptor de GLP-1 (figuras 8B, 8C y 8F) en el que hE = ácido homoglutámico y hC = ácido homocisteico.

Las figura 9A y 9B representan los datos que muestran la inducción de AMPc mediada por el receptor por análogos de glucagón GLP (17 a 26), en los que las posiciones de aminoácidos 17 a 26 de glucagón nativo (SEQ ID NO: 1) se han sustituido por los aminoácidos de las posiciones 17-26 de GLP-1 nativo (SEQ ID NO: 50). Más particularmente, la figura 9A compara la inducción del receptor de glucagón por los análogos de glucagón GLP (17 a 26) designados y la figura 9B compara la inducción del receptor de GLP-1 por los análogos de glucagón GLP (17 a 26) designados.

Las figuras 10A-E son gráficos que proporcionan datos in vivo que demuestran la capacidad de los péptidos similares al glucagón de la presente invención para inducir la pérdida de peso en ratones inyectados por vía subcutánea con las cantidades indicadas de los respectivos compuestos. Los identificadores de secuencia para el péptido similar al glucagón que aparece en las figuras 10A -10E son los siguientes, para la figura 10A: Quimera 2 Aib2 C24 PEG de 40K (SEQ ID NO: 486), Aib2 C24 Quimera 2 40K lactama (SEQ ID NO: 504) y Aib2 E16 K20 Gluc-NH<sub>2</sub> Lac 40K (SEQ ID NO: 528); figura 10B: Aib2 C24 Chi 2 lactama 40K (SEQ ID NO: 504), DMIA1 C24 Qui 2 lactama 40K (SEQ ID NO: 505), quimera 2 DMIA1 C24 40K (SEQ ID NO: 519), y quimera 2 Aib2 C24 40K ( SEQ ID NO: 486), en el que el número al final de la secuencia designa la dosis utilizada, ya sea 70 o 350 nmol/kg; figura 10C: AIB2 con lactama C24 40K (SEQ ID NO: 504), AIB2 E16 K20 con lactama C24 40K (SEQ ID NO: 528), DMIA1 E16 K20 con lactama C24 40K (SEQ ID NO: 510), DMIA1 E16 K20 con lactama CEX 40K (SEQ ID NO: 513) y DMIA1 E16 K20 sin lactama CEX 40K (SEQ ID NO: 529); figura 10D: AIB2 con lactama C24 40K (SEQ ID NO: 504), AIB2 E16 K20 con lactama C24 40K (SEQ ID NO: 528), DMIA1 E16 K20 con lactama C24 40K (SEQ ID NO: 510) y DMIA1 E16 K20 con lactama/Cex C24 40K (SEQ ID NO: 513), en el que el número al final de la secuencia designa la dosis utilizada, ya sea 14 o 70 nmol/kg/semana; figura 10E: AIB2 sin lactama C24 40K (SEQ ID NO: 486), Qui 2 AIB2 C24 CEX 40K (SEQ ID NO: 533), AIB2 E16 A18 K20 C24 40K (SEQ ID NO: 492), AIB2 sin lactama CEX G29 C40 40K (SEQ ID NO: 488), AIB2 sin lactama CEX C40 C41-2 (SEQ ID NO: 532), AIB2 sin lactama CEX C24 C40 2 (SEQ ID NO: 531) y AIB2 sin lactama C24 60K (SEQ ID NO: 498), en el que la designación de 40K o 60K representa el peso molecular de la cadena de polietileno unida al péptido similar al glucagón.

Las figuras 11 a 13 son gráficos que proporcionan datos in vivo que demuestran la capacidad de los péptidos similares a glucagón acilados para inducir la pérdida de peso (Figura 11), reducir la ingesta de alimentos (Figura 12), y reducir los niveles de glucosa en sangre (Figura 13) en ratones inyectados por vía subcutánea con las cantidades indicadas de los compuestos.

Las Figuras 14A y 14B representan datos que muestran la inducción de AMPc mediada por receptor de glucagón y GLP-1, respectivamente, por análogos de glucagón.

La Figura 15 representa un gráfico de glucosa en la sangre (mg/dl) en función del tiempo (minutos) en ratones DIO tratados con 2 nmol/kg de vehículo solamente (triángulos), Quimera-2 AIB<sup>2</sup>, K<sup>10</sup>- C8 Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (cuadrados en

blanco), o una quimera-2 AIB<sup>2</sup>, K<sup>10</sup>-C16 Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (triángulos invertidos), seguido de estimulación con glucosa 15 minutos después de la administración del péptido.

La Figura 16 representa un gráfico de glucosa en la sangre (mg/dl) en función del tiempo (minutos) en ratones DIO tratados con 20 nmol/kg de vehículo solamente (triángulos), Quimera-2 AIB<sup>2</sup>, K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (cuadrados en blanco), o una quimera-2 AIB<sup>2</sup>, K<sup>10</sup>-C16 Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (triángulos invertidos), seguido de estimulación con glucosa 15 minutos después de la administración del péptido.

La Figura 17 representa un gráfico de glucosa en la sangre (mg/dl) en función del tiempo (minutos) en ratones DIO tratados con 70 nmol/kg de vehículo solamente (triángulos invertidos), Quimera-2 AIB<sup>2</sup>, K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (triángulos en blanco), quimera-2 AIB<sup>2</sup>, K<sup>10</sup>-C16 Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (diamantes), o quimera 2-AIB<sup>2</sup>, Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (cuadrados abiertos), seguido de estimulación con glucosa 15 minutos después de la administración del péptido.

La Figura 18 representa un gráfico de glucosa en la sangre (mg/dl) en función del tiempo (minutos) en ratones DIO tratados con 70 nmol/kg de vehículo solamente (triángulos invertidos), Quimera-2 AIB<sup>2</sup>, K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (triángulos en blanco), quimera-2 AIB<sup>2</sup>, K<sup>10</sup>-C16 Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (diamantes), o quimera 2-AIB<sup>2</sup>, Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (cuadrados abiertos), seguido de estimulación con glucosa 24 horas después de la administración del péptido.

La Figura 19 representa un gráfico del cambio en el peso corporal (%) en función del tiempo (días) en ratones DIO tratados con 15 o 70 nmol/kg de vehículo solamente (diamantes con línea continua); Quimera-2 AIB<sup>2</sup>, Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (15 nmol/kg, diamantes en blanco con línea de puntos; 70 nmol/kg, triángulos en blanco con línea continua); Quimera-2 AIB<sup>2</sup>, K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (15 nmol/kg, triángulo sólido con línea de puntos; 70 nmol/kg, triángulo sólido con línea continua); Quimera-2 AIB<sup>2</sup>, K<sup>10</sup>-C16 Cys<sup>24</sup>-40kD PEG (15 nmol/kg, triángulo invertido con línea de puntos; 70 nmol/kg; triángulo invertido con línea continua).

La Figura 20 representa un gráfico del cambio total en el peso corporal (%) en ratones 14 días después de las inyecciones QW de 10, 20, 40, o 80 nmol/kg de péptido A K<sup>10</sup>-C<sub>14</sub> o 20 nmol/kg Quimera-2 AIB<sup>2</sup> K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD o un vehículo de control

La Figura 21 representa un gráfico de los niveles de glucosa en sangre (mg/dl) en respuesta a una inyección de glucosa de los ratones inyectados con 10, 20, 40, o 80 nmol/kg de péptido AK<sup>10</sup>-C<sub>14</sub> o 20 nmol/kg Quimera -2 AIB<sup>2</sup> K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD o un vehículo de control 24 horas antes de la inyección de glucosa.

La Figura 22 representa un gráfico del cambio total en el peso corporal (%) de los ratones inyectados con el control del vehículo, liraglutida, (C16) glucagón amida,  $\gamma$ E- $\gamma$ E-C16 glucagón amida, AA-C16 glucagón amida, o  $\beta$ A $\beta$ A-C16 glucagón amida en la dosis indicada.

La Figura 23 representa un gráfico de la masa de grasa (g), medida en el día 7 del estudio de los ratones inyectados con el control del vehículo, liraglutida, (C16) glucagón amida,  $\gamma$ E- $\gamma$ E-C16 glucagón amida, AA-C16 glucagón amida, o  $\beta$ A $\beta$ A-C16 glucagón amida en la dosis indicada.

La Figura 24 representa un gráfico del cambio de la glucosa en sangre (mg/dl; niveles del día 7 menos niveles del Día 0) de los ratones inyectados con el control del vehículo, liraglutida, (C16) glucagón amida,  $\gamma$ E- $\gamma$ E-C16 glucagón amida, AA-C16 glucagón amida, o  $\beta$ A $\beta$ A-C16 glucagón amida en la dosis indicada.

La Figura 25 representa un gráfico de la elipticidad de residuos promedio en función de longitud de onda (nm) para el péptido X-PEG o péptido Y-PEG en fosfato 10 mM (pH 5,9) con o sin TFE al 10%.

La Figura 26 representa un gráfico del % AMPc producido en respuesta a la unión de glucagón, GLP-1, péptido X, péptido X-PEG, péptido Y, o péptido Y-PEG a receptor de glucagón (izquierda) o receptor de GLP-1 (derecha) en función de la concentración de péptido (nM).

La figura 27 representa una colección de gráficos que demuestran los efectos in vivo sobre A) el peso corporal, B) masa grasa, C) ingesta de alimentos, y D) niveles de glucosa en sangre en ayuno en ratones obesos tratados inducidos por dieta durante una semana con el control del vehículo, Péptido X-PEG, o péptido Y-PEG. Más específicamente, la figura 27A representa un gráfico del % de cambio en el peso corporal (BW) en función del tiempo (días), la figura 27B representa un gráfico del % de cambio en la masa grasa medida en el día 7 (en comparación con las mediciones iniciales de masa grasa), la Figura 27C representa un gráfico de la ingesta total de alimentos (g) durante el transcurso del estudio, medida en el día 7, y la figura 27D representa un gráfico del cambio de la glucosa en sangre (mg/dL) medida en el día 7 (en comparación con los niveles iniciales de glucosa en sangre).

La Figura 28 representa una colección de gráficos que demuestran los efectos in vivo sobre el peso corporal (Figuras 28A y 28C) y niveles de glucosa en sangre en ayuno (Figuras 28B y 28D) en ratones tratados con el péptido X-PEG (Figuras 28A y 28B) o péptido Y-PEG (Figuras 28C y 28D) a dosis variables (nmol/kg/semana).

La figura 29 representa una colección de gráficos que muestran los efectos in vivo en A) peso corporal (BW), B) masa grasa corporal, C) ingesta global de alimentos, D) gasto de energía, E) cociente respiratorio, F) actividad locomotora, G) glucemia en sangre en ayunas, H) tolerancia a la glucosa, y I) los niveles totales de insulina en plasma en ratones obesos inducidos por la dieta tratados durante un mes con un vehículo de control, péptido X-PEG, o péptido Y-PEG.

La Figura 30 representa una colección de gráficos que muestran los efectos in vivo en la semana 3 en mediciones colorimétricas de A) ingesta de alimentos, b) gasto total de energía, C) cociente respiratorio total, D) actividad locomotora, E) actividad total locomotora, F) área bajo la curva IPGTT, G) niveles plasmáticos de péptido C, H) expresión de pliegue de PEPCK/HPRT, e I) niveles de expresión del pliegue de G6P/HPRT ratones obesos inducidos por la dieta tratados durante un mes con un vehículo de control, péptido X-PEG, o péptido Y-PEG.

La Figura 31 representa una colección de gráficos que muestran los efectos in vivo en plasma de A) colesterol, B) colesterol FPLC, C) triglicéridos, D) leptina, E) resistina, y F) de adiponectina en ratones obesos inducidos por la dieta tratados durante un mes con un vehículo de control, péptido X-PEG, o péptido Y-PEG.

La Figura 32 representa una colección de gráficos que muestran los efectos in vivo sobre A) niveles de expresión de BAT UCP-1 y B) tejido adiposo blanco reflejado por la fosforilación de la lipasa sensible a hormona (pHSL) en ratones tratados con un vehículo de control, péptido X-PEG, o péptido Y-PEG.

La Figura 33 representa una colección de gráficos que muestran los efectos in vivo de un vehículo de control, péptido X-PEG, o péptido Y-PEG en ratas DIO sobre A) el peso corporal y B) la masa de grasa. La Figura 33C representa un gráfico de la expresión relativa de CD68 con respecto a TF1B evaluada cuantitativamente mediante RT-PCR a tiempo real en tejido adiposo epididimal aislado de ratones tratados durante dos semanas con el péptido Y-PEG, péptido X-PEG, o vehículo. Los datos se presentan como la expresión relativa de ARNm de CD68 normalizada para la expresión de ARNm de TF1B y expresado como media  $\pm$  SEM.

Las figuras 34A a 34F representan una colección de gráficos que muestran los efectos in vivo sobre el peso corporal (BW; 34A y 34B), masa grasa (34C), ingesta de alimentos (34D), y los niveles de glucosa en sangre (34E y 34F) en ratones knocked-out de GLP-1-R tratados con un vehículo de control, péptido X-PEG, o péptido y-PEG.

Las figuras 35A a 35C representan una serie de gráficos que muestran los efectos in vivo sobre el peso corporal (35A), glucosa en sangre (35B), y la masa grasa (35C) en ratones DIO tratados con vehículo de control, péptido V, o péptido U.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA

**[0063]** La presente invención se refiere a un péptido similar al glucagón según se define en el conjunto de reivindicaciones.

La presente invención también se refiere a un conjugado, dímero o péptido de fusión que comprende un péptido similar al glucagón según se define en el conjunto de reivindicaciones.

La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica según se define en el conjunto de reivindicaciones.

La presente invención se refiere además a un péptido similar al glucagón para el uso en el tratamiento de la diabetes o la reducción del aumento de peso o la inducción de la pérdida de peso según se define en el conjunto de reivindicaciones.

#### DEFINICIONES

**[0064]** Al describir y reivindicar la invención, se utilizará la siguiente terminología según las definiciones establecidas a continuación.

**[0065]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándar, tales como una solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones, tales como una emulsión de aceite/agua o agua/aceite y diversos tipos de agentes humectantes. El término también abarca cualquiera de los agentes aprobados por una agencia reguladora del gobierno federal de los EE.UU. o listados en la Farmacopea de los EE.UU. para su uso en animales, incluyendo seres humanos.

**[0066]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales de compuestos que retienen la actividad biológica del compuesto parental, y que no son biológicamente o de otra manera indeseables. Muchos de los compuestos descritos en este documento son capaces de formar sales ácidas y/o básicas debido a la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a los mismos.

**[0067]** Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables se pueden preparar a partir de bases inorgánicas y orgánicas. Las sales derivadas de bases inorgánicas, incluyen, a modo de ejemplo solamente, sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, pero sin limitación, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias.

**[0068]** Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables pueden prepararse a partir de ácidos inorgánicos y orgánicos. Las sales derivadas de ácidos inorgánicos incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares. Las sales derivadas de ácidos orgánicos incluyen ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido plúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-tolueno-sulfónico, ácido salicílico, y similares.

**[0069]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "tratamiento" incluye la profilaxis del trastorno o afección específica, o alivio de los síntomas asociados con un trastorno o afección específica y/o prevención o eliminación de dichos síntomas. Por ejemplo, tal como se utiliza en el presente documento, el término "tratamiento de la diabetes" se referirá en general a la alteración de los niveles de glucosa en sangre en la dirección de los niveles normales y puede incluir aumentar o disminuir los niveles de glucosa en sangre dependiendo de una situación determinada.

**[0070]** Tal como se utiliza en el presente documento, una cantidad "eficaz" o una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un péptido de glucagón se refiere a una cantidad no tóxica pero suficiente del péptido para proporcionar el efecto deseado. Por ejemplo, un efecto deseado sería la prevención o el tratamiento de la hipoglucemia, tal como se mide,

por ejemplo, por un aumento en el nivel de glucosa en sangre. Un efecto deseado alternativo para los péptidos de glucagón de la presente descripción incluiría el tratamiento de la hiperglucemia, por ejemplo, medida por un cambio en el nivel de glucosa en sangre cerca de lo normal, o la inducción de la pérdida de peso/prevenición del aumento de peso, por ejemplo, medidos por la reducción en el peso corporal o prevenir o reducir un aumento en el peso corporal, o normalización de la distribución de grasa corporal. La cantidad que es "eficaz" variará de un sujeto a otro, dependiendo de la edad y el estado general de la persona, el modo de administración, y similares. Por lo tanto, no siempre es posible especificar una "cantidad eficaz" exacta. Sin embargo, una cantidad "eficaz" apropiada en cualquier caso individual puede ser determinada por un experto normal en la técnica usando experimentación de rutina.

[0071] El término "parenteral" significa no a través del canal alimentario, sino por alguna otra ruta, tal como subcutánea, intramuscular, intraespinal, o intravenosa.

[0072] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "purificado" y términos similares se refieren al aislamiento de una molécula o compuesto en una forma que está sustancialmente libre de contaminantes normalmente asociados con la molécula o compuesto en un medio nativo o natural. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "purificado" no requiere pureza absoluta; más bien, se pretende como una definición relativa. El término "polipéptido purificado" se utiliza aquí para describir un polipéptido que se ha separado de otros compuestos incluyendo, pero no limitado a, moléculas de ácidos nucleicos, lípidos e hidratos de carbono.

[0073] El término "aislado" requiere que el material de referencia se extraiga de su medio original (por ejemplo, el medio natural si es de origen natural). Por ejemplo, un polinucleótido de origen natural presente en un animal vivo no se aísla, pero el mismo polinucleótido, separado de algunos o todos los materiales coexistentes en el sistema natural, está aislado.

[0074] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "péptido" abarca una secuencia de 3 o más aminoácidos y típicamente menos de 50 aminoácidos, en el que los aminoácidos son aminoácidos de origen natural o no natural. Los aminoácidos de origen no natural se refieren a aminoácidos que no se producen naturalmente in vivo pero que, sin embargo, se pueden incorporar en las estructuras peptídicas descritas aquí.

[0075] Tal como se utiliza en el presente documento, los términos "polipéptido" y "proteína" son términos que se utilizan indistintamente para referirse a un polímero de aminoácidos, sin tener en cuenta la longitud del polímero. Típicamente, polipéptidos y las proteínas tienen una longitud de polímero que es mayor que la de "péptidos".

[0076] Un "péptido similar al glucagón" tal como se utiliza en el presente documento, incluye cualquier péptido que comprende, ya sea la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, o cualquier análogo de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, incluyendo sustituciones, adiciones, deleciones o modificaciones después de la traducción de aminoácidos (por ejemplo, metilación, acilación, alquilación, ubiquitinación, enlace covalente intramolecular, tal como la formación de puente de lactama, PEGilación, y similares) del péptido, donde el análogo estimula la actividad del receptor de glucagón o GLP-1, por ejemplo, medida por la producción de AMPc utilizando el ensayo descrito en el Ejemplo 14.

[0077] El término "agonista de glucagón" se refiere a un complejo que comprende un péptido similar al glucagón que estimula la actividad del receptor de glucagón, por ejemplo, medida por la producción de AMPc utilizando el ensayo descrito en el Ejemplo 14.

[0078] Tal como se usa en el presente documento un "análogo de agonista de glucagón" es un péptido similar al glucagón que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15, o un análogo de una secuencia de tal manera que se ha modificado para incluir una o más sustituciones conservadoras de aminoácidos en una o más de las posiciones 2, 5, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 27, 28 o 29.

[0079] Tal como se utiliza en el presente documento una "modificación" de aminoácido se refiere a una sustitución, adición o deleción de un aminoácido, e incluye la sustitución con o adición de cualquiera de los 20 aminoácidos que se encuentran comúnmente en las proteínas humanas, así como aminoácidos atípicos o no naturales. A lo largo de la solicitud, todas las referencias a una posición de aminoácido particular por número (por ejemplo, posición 28) se refieren al aminoácido en esa posición en el glucagón nativo (SEQ ID NO: 1) o la posición de aminoácido correspondiente en cualquiera de los análogos del mismo. Por ejemplo, una referencia en este documento a "posición 28" significaría la posición correspondiente 27 para un análogo de glucagón en la que el primer aminoácido de SEQ ID NO: 1 ha sido eliminado. Del mismo modo, una referencia en este documento a "posición 28" significaría la posición correspondiente 29 para un análogo de glucagón en el cual un aminoácido ha sido añadido antes del extremo N-terminal de SEQ ID NO: 1. Las fuentes comerciales de aminoácidos atípicos incluyen Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI), ChemPep Inc. (Miami, FL) y Genzyme Pharmaceuticals (Cambridge, MA). Los aminoácidos atípicos se pueden comprar de proveedores comerciales, sintetizarse de novo, o modificarse o derivarse químicamente de otros aminoácidos.

**[0080]** Tal como se usa en el presente documento un "coagonista de glucagón" es un péptido similar al glucagón que presenta actividad en el receptor de glucagón de al menos aproximadamente 10% a aproximadamente 500% o más con respecto al glucagón nativo y también exhibe actividad en el receptor de GLP-1 de aproximadamente al menos 10% a aproximadamente 200% o más con respecto al GLP-1 nativo.

**[0081]** Tal como se usa en el presente documento una "molécula coagonista de glucagón/GLP-1" es una molécula que presenta actividad en el receptor de glucagón de al menos aproximadamente 10% con respecto al glucagón nativo y también exhibe actividad en el receptor de GLP-1 de al menos aproximadamente 10% con respecto al GLP-1 nativo.

**[0082]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "glucagón nativo" se refiere a un péptido que consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 1, y el término "GLP-1 nativo" es un término genérico que designa GLP-1 (7-36) amida (que consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 52), GLP-1 (7-37) ácido (que consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 50) o una mezcla de estos dos compuestos. Tal como se usa en este documento, una referencia general a "glucagon" o "GLP-1" en ausencia de cualquier designación adicional se pretende que signifique glucagón nativo o GLP-1 nativo, respectivamente.

**[0083]** Tal como se utiliza en el presente documento, una "sustitución" de aminoácido se refiere a la sustitución de un residuo de aminoácido por un residuo de aminoácido diferente.

**[0084]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "sustitución conservadora de aminoácidos" se define aquí como los intercambios dentro de uno de los siguientes cinco grupos:

I. Residuos alifáticos pequeños, no polares o ligeramente polares:

Ala, Ser, Thr, Pro, Gly;

II. Residuos polares cargados negativamente y sus amidas:

Asp, Asn, Glu, Gln;

III. Residuos polares cargados positivamente:

His, Arg, Lys; Ornitina (Orn)

IV. Residuos alifáticos grandes, no polares:

Met, Leu, Ile, Val, Cys, norleucina (Nle), homocisteína

V. Residuos aromáticos grandes:

Phe, Tyr, Trp, acetil fenilalanina

**[0085]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término general "cadena de polietilenglicol" o "cadena de PEG", se refiere a mezclas de polímeros de condensación de óxido de etileno y agua, en una cadena ramificada o lineal, representada por la fórmula general  $H(OCH_2CH_2)_nOH$ , en la que n es al menos 9. En ausencia de cualquier caracterización adicional, el término pretende incluir polímeros de etilenglicol con un peso molecular total promedio seleccionado en el intervalo de 500 a 40.000 Daltons. "Cadena de polietilenglicol" o "cadena de PEG" se utiliza en combinación con un sufijo numérico para indicar el peso molecular promedio aproximado de los mismos. Por ejemplo, PEG-5000 se refiere a polietilenglicol que tiene un peso molecular promedio total de aproximadamente 5000.

**[0086]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "pegilado" y términos similares se refieren a un compuesto que ha sido modificado de su estado nativo mediante la unión de una cadena de polietilenglicol al compuesto. Un "análogo de glucagón pegilado" es un análogo de glucagón que tiene una cadena de PEG unida covalentemente al análogo de glucagón.

**[0087]** Tal como se utiliza en el presente documento, una referencia general a un péptido pretende abarcar péptidos que tienen los extremos amino y carboxilo modificados. Por ejemplo, una cadena de aminoácidos que comprende un grupo amida en lugar del ácido carboxílico terminal pretende estar abarcado por una secuencia de aminoácidos que designa los aminoácidos estándar.

**[0088]** Tal como se utiliza en el presente documento, un "enlazador" es un enlace, molécula o grupo de moléculas que une dos entidades separadas entre sí. Los enlazadores pueden proporcionar el espaciado óptimo de las dos entidades, o pueden suministrar adicionalmente un enlace lábil que permite que las dos entidades estén separadas entre sí. Los enlaces lábiles incluyen grupos fotoescindibles, grupos lábiles a ácidos, grupos lábiles a bases y grupos escindibles por enzimas.

**[0089]** Tal como se utiliza en el presente documento, un "dímero" es un complejo que comprende dos subunidades unidas covalentemente entre sí a través de un enlazador. El término dímero, cuando se utiliza en ausencia de cualquier calificador, abarca tanto homodímeros como heterodímeros. Un homodímero comprende dos subunidades idénticas, mientras que un heterodímero comprende dos subunidades que difieren, aunque las dos subunidades son sustancialmente similares entre sí.

**[0090]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "ácido amino cargado" se refiere a un aminoácido que comprende una cadena lateral que está cargada negativamente (es decir, desprotonada) o cargada

positivamente (es decir, protonada) en solución acuosa a pH fisiológico. Por ejemplo, aminoácidos cargados negativamente incluyen ácido aspártico, ácido glutámico, ácido cisteico, ácido homocisteico, y ácido homoglutámico, mientras que los aminoácidos cargados positivamente incluyen arginina, lisina e histidina. Los aminoácidos cargados incluyen los aminoácidos cargados entre los 2 aminoácidos que se encuentran habitualmente en proteínas humanas, así como aminoácidos atípicos o no naturales.

**[0091]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "aminoácido ácido" se refiere a un aminoácido que comprende un segundo grupo ácido, incluyendo, por ejemplo, un grupo ácido sulfónico o ácido carboxílico.

**[0092]** El término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo lineal o ramificado que contiene el número indicado de átomos de carbono. Alquilos de ejemplo se incluyen metilo, etilo, y grupos propilo lineales.

**[0093]** El término "heteroalquilo" se refiere a un hidrocarburo lineal o ramificado que contiene el número indicado de átomos de carbono y al menos un heteroátomo en el esqueleto de la estructura. Los heteroátomos adecuados para los propósitos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, N, S, y O.

#### REALIZACIONES

**[0094]** La divulgación proporciona péptidos similares al glucagón con una actividad aumentada o disminuida en el receptor de glucagón, o el receptor de GLP-1, o en ambos receptores. La divulgación también proporciona péptidos similares al glucagón con selectividad alterada para el receptor de glucagón frente al receptor de GLP-1.

**[0095]** El aumento de la actividad en el receptor de glucagón es proporcionada por una modificación de aminoácido en la posición 16 de glucagón nativo (SEQ ID NO: 1) tal como se describe en el presente documento.

**[0096]** El aumento o mantenimiento de la actividad en el receptor de glucagón también es proporcionado por una modificación de aminoácido en la posición 3 de glucagón nativo con un análogo de glutamina (por ejemplo, Dab(Ac)).

**[0097]** La actividad reducida en el receptor de glucagón es proporcionada, por ejemplo, por sustitución del aminoácido en la posición 3 por un aminoácido ácido, básico, o hidrófobo tal como se describe en el presente documento.

**[0098]** El aumento de la actividad en el receptor de GLP-1 es proporcionado por la sustitución del ácido carboxílico del aminoácido C-terminal por un grupo de carga neutra, tal como una amida o éster.

**[0099]** El aumento de la actividad en el receptor de GLP-1 es proporcionado por modificaciones que estabilizan la hélice alfa en la porción C-terminal de glucagón (por ejemplo, alrededor de los residuos 12 a 29). En algunas realizaciones, tales modificaciones permiten la formación de un puente intramolecular entre las cadenas laterales de los dos aminoácidos que están separados por tres aminoácidos intermedios, por ejemplo, las posiciones 12 y 16, o 16 y 20, o 20 y 24, tal como se describe en el presente documento. En otras realizaciones, tales modificaciones incluyen modificaciones por inserción o sustitución que introducen uno o más aminoácidos  $\alpha,\alpha$ -disustituidos, por ejemplo AIB en una o más de las posiciones 16, 20, 21 o 24.

**[0100]** El aumento de la actividad en los receptores de GLP-1 y glucagón para los péptidos que carecen de un puente intramolecular, por ejemplo, un puente intramolecular covalente, se proporciona mediante la unión covalente de un grupo acilo o alquilo a la cadena lateral del aminoácido en la posición 10 de el péptido, en el que el grupo acilo o alquilo es no nativo al aminoácido en la posición 10. Un aumento adicional de la actividad en los receptores de GLP-1 y glucagón para tales péptidos que carecen de un puente intramolecular, por ejemplo, un puente intramolecular covalente, se puede conseguir mediante la incorporación de un espaciador entre el grupo acilo o alquilo y la cadena lateral del aminoácido en la posición 10. Los espaciadores adecuados se describen en el presente documento e incluyen, pero no se limitan a, espaciadores que tienen de 3 a 10 átomos de longitud.

**[0101]** El aumento de la actividad en el receptor de GLP-1 se proporciona por una modificación de aminoácido en la posición 20 tal como se describe en el presente documento.

**[0102]** El aumento de la actividad en el receptor de GLP-1 se proporciona en análogos de glucagón que comprenden la extensión C-terminal de la SEQ ID NO: 26. La actividad de GLP-1 en dichos análogos que comprenden SEQ ID NO: 26 se puede aumentar aún más mediante la modificación del aminoácido en la posición 18, 28 o 29, o en la posición 18 y 29, tal como se describe en el presente documento.

**[0103]** La restauración de la actividad de glucagón que se ha reducido por modificaciones de aminoácidos en las posiciones 1 y 2 es proporcionada por un enlace covalente entre las cadenas laterales de los dos aminoácidos que están separadas por tres aminoácidos intermedios, por ejemplo, las posiciones 12 y 16, o 16 y 20, o 20 y 24, tal como se describe en el presente documento.

**[0104]** Un aumento más modesto de la potencia de GLP-1 se proporciona modificando el aminoácido en la posición 10 para ser Trp.

**[0105]** Cualquiera de las modificaciones descritas anteriormente que aumentan o disminuyen la actividad del receptor de glucagón y que aumentan la actividad del receptor de GLP-1 se pueden aplicar de forma individual o en combinación. Cualquiera de las modificaciones descritas anteriormente también se puede combinar con otras modificaciones que confieren otras propiedades deseables, tales como aumento de la solubilidad y/o estabilidad y/o duración de la acción. Alternativamente, cualquiera de las modificaciones descritas anteriormente se puede combinar con otras modificaciones que no afectan sustancialmente a la solubilidad o estabilidad o actividad.

Modificaciones de ejemplo incluyen, pero no se limitan a:

(A) mejora de la solubilidad, por ejemplo, mediante la introducción de uno, dos, tres o más aminoácidos cargados a la porción C-terminal de glucagón nativo, preferiblemente en una posición C-terminal a la posición 27. Dicho aminoácido cargado se puede introducir mediante la sustitución de un aminoácido nativo por un aminoácido cargado, por ejemplo, en las posiciones 28 ó 29, o alternativamente mediante la adición de un aminoácido cargado, por ejemplo, después de la posición 27, 28 o 29. En realizaciones de ejemplo, uno, dos, tres o todos los aminoácidos cargados están cargados negativamente. En otras realizaciones, uno, dos, tres o todos los aminoácidos cargados están cargados positivamente. Tales modificaciones aumentan la solubilidad, por ejemplo, proporcionan al menos 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 25 veces, 30 veces o más solubilidad relativa al glucagón nativo a un pH determinado entre aproximadamente 5,5 y 8, por ejemplo, pH 7, cuando se mide después de 24 horas a 25°C.

(B) aumento de la solubilidad y la duración de la acción o la vida media en circulación mediante la adición de un resto hidrófilo, tal como una cadena de polietilenglicol, tal como se describe en el presente documento, por ejemplo en la posición 16, 17, 20, 21, 24 o 29, o en el aminoácido C-terminal del péptido.

(C) Aumento, mediante la modificación del ácido aspártico en la posición 15, por ejemplo, por delección o sustitución con ácido glutámico, ácido homoglutámico, ácido cisteico o ácido homocisteico. Tales modificaciones pueden reducir la degradación o la escisión en un pH dentro del intervalo de 5,5 a 8, por ejemplo, reteniendo al menos 75%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% del péptido original después de 24 horas a 25°C.

(D) aumento de la estabilidad por modificación de la metionina en la posición 27, por ejemplo, por sustitución por leucina o norleucina. Tales modificaciones pueden reducir la degradación oxidativa. La estabilidad también se puede aumentar mediante modificación de la Gln en la posición 20 o 24, por ejemplo, por sustitución por Ala, Ser, Thr, o AIB. Tales modificaciones pueden reducir la degradación que se produce a través de la desamidación de Gln. La estabilidad puede aumentarse mediante la modificación de Asp en la posición 21, por ejemplo, por sustitución por Glu. Tales modificaciones pueden reducir la degradación que se produce a través de la deshidratación de Asp para formar una succinimida cíclica intermedio seguido de isomerización a iso-aspartato.

(E) aumento de la resistencia a la dipeptidil peptidasa IV (DPP IV) por modificación del aminoácido en la posición 1 o 2 tal como se describe en este documento.

(F) sustituciones adiciones o delecciones conservadoras o no conservadoras, que no afectan a la actividad, por ejemplo, sustituciones conservadoras en una o más de las posiciones 2, 5, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 27, 28 o 29; delecciones en una o más de las posiciones 27, 28 o 29; o una delección del aminoácido 29 combinada opcionalmente con una amida o éster C-terminal en lugar del grupo ácido carboxílico C-terminal;

(G) adición de extensiones C-terminal tal como se describe en el presente documento;

(H) aumento de la vida media en circulación y/o extensión de la duración de la acción y/o retraso del inicio de la acción, por ejemplo, a través de la acilación o alquilación del péptido similar al glucagón, tal como se describe en este documento o;

(I) homodimerización o heterodimerización tal como se describe en el presente documento.

**[0106]** En realizaciones de ejemplo, el péptido similar al glucagón puede comprender un total de 1, hasta 2, hasta 3, hasta 4, hasta 5, hasta 6, hasta 7, hasta 8, hasta 9, o hasta 10 modificaciones de aminoácido con respecto a la secuencia de glucagón nativo.

**[0107]** Otras modificaciones incluyen la sustitución de His en la posición 1 por un aminoácido grande, aromático (por ejemplo, Tyr, Phe, Trp o amino-Phe);

Ser en la posición 2 por Ala;

sustitución de Tyr en la posición 10 por Val o Phe ;

sustitución de Lys en la posición 12 por Arg;

sustitución de Asp en la posición 15 por Glu;

sustitución de Ser en la posición 16 por Thr o AIB.

**[0108]** Una realización descrita en este documento se refiere a un agonista de glucagón que se ha modificado con respecto al péptido de tipo salvaje de His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser- Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr (SEQ ID NO: 1) para mejorar la potencia del péptido en el receptor de glucagón. Sorprendentemente, los solicitantes han descubierto que la serina que normalmente se encuentra en la posición 16 del glucagón nativo (SEQ ID NO: 1) se puede sustituir por ciertos aminoácidos ácidos para mejorar la potencia de glucagón, en términos de su capacidad para estimular la síntesis de AMPc en un modelo de ensayo in vitro validado (véase el ejemplo 14). Más particularmente, esta sustitución mejora la potencia del análogo al menos 2 veces, 4 veces, 5 veces, y hasta 10 veces más en el receptor de glucagón. Esta sustitución también mejora la

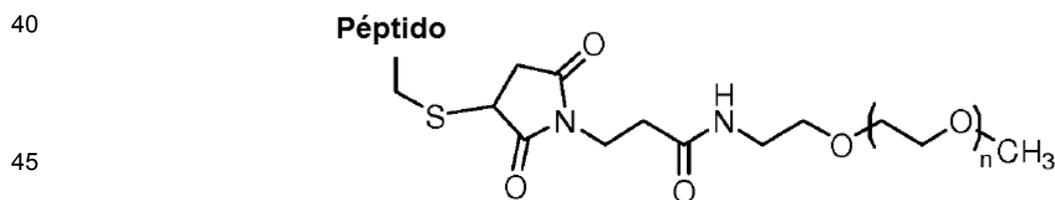
actividad del análogo en el receptor de GLP-1 al menos 5 veces, 10 veces, o 15 veces en relación con el glucagón nativo, pero la selectividad se mantiene para el receptor de glucagón sobre el receptor de GLP-1.

[0109] Según una realización, el residuo de serina en la posición 16 de glucagón nativo está sustituido por un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en ácido glutámico, glutamina, ácido homoglutámico, ácido homocisteico, treonina o glicina. Según una realización, el residuo de serina en la posición 16 de glucagón nativo está sustituido por un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en ácido glutámico, glutamina, ácido homoglutámico y ácido homocisteico, y en una realización el residuo de serina está sustituido por ácido glutámico. En una realización, el péptido similar al glucagón que tiene una mejor especificidad por el receptor de glucagón comprende el péptido de SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 o un análogo agonista de glucagón del mismo, en donde el aminoácido carboxi terminal retiene su grupo ácido carboxílico nativo. Según una realización, se proporciona un agonista de glucagón comprende la secuencia de NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-COOH (SEQ ID NO: 10), en el que el péptido muestra aproximadamente cinco veces la potencia mejorada en el receptor de glucagón, con respecto al glucagón nativo tal como se mide por el ensayo de AMPc in vitro del Ejemplo 14.

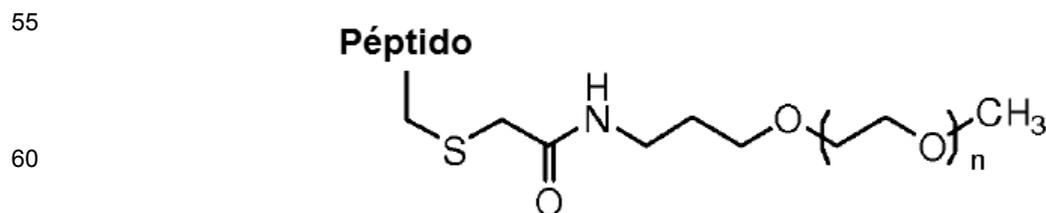
#### Grupos hidrófilos

[0110] Los péptidos similares al glucagón descritos en este documento pueden modificarse adicionalmente para mejorar la solubilidad y la estabilidad del péptido en soluciones acuosas a pH fisiológico, mientras que conserva la actividad biológica elevada en relación con el glucagón nativo. Los grupos hidrófilos, tales como grupos PEG, se pueden unir a los péptidos similares a glucagón bajo cualquier condición adecuada utilizada para hacer reaccionar una proteína con una molécula de polímero activada. Se pueden usar cualquier medio conocido en la técnica, incluyendo a través de acilación, alquilación reductora, adición de Michael, alquilación con tiol u otros métodos de conjugación/unión quimioselectiva a través de un grupo reactivo sobre el grupo PEG (por ejemplo, un grupo aldehído, amino, éster, tiol,  $\alpha$ -haloacetilo, maleimido o hidrazino) a un grupo reactivo en el compuesto diana (por ejemplo, un grupo aldehído, amino, éster, tiol,  $\alpha$ -haloacetilo, maleimido o hidrazino). Los grupos activadores que pueden utilizarse para enlazar el polímero soluble en agua a una o más proteínas incluyen, sin limitación sulfona, maleimida, sulfhidrilo, tiol, triflato, tresilato, azidirina, oxirano, 5-piridilo y grupo acilo alfa-halogenado (por ejemplo, ácido alfa-yodoacético, ácido alfa-bromoacético, ácido alfa-cloroacético). Si se une al péptido mediante alquilación reductora, el polímero seleccionado debe tener un único aldehído reactivo, de manera que se controla el grado de polimerización. Véase, por ejemplo, Kinstler et al., Adv. Drugs. Delivery Rev. 54: 477-485 (2002); Roberts et al., Adv. Drug Delivery Rev. 54: 459-476 (2002); y Zalipsky et al., Adv. Drug Delivery Rev. 16: 157-182 (1995).

[0111] En un aspecto específico, un residuo de aminoácido en el péptido de glucagón que tiene un tiol se modifica por un grupo hidrófilo tal como PEG. En algunas realizaciones, el tiol es modificado por PEG activado con maleimida en una reacción de adición de Michael para dar lugar a un péptido PEGilado que comprende el enlace de tioéter mostrado a continuación:



[0112] En algunas realizaciones, el tiol se modifica con un PEG activado con haloacetilo en una reacción de sustitución nucleófila para dar como resultado un péptido PEGilado que comprende el enlace de tioéter mostrado a continuación:



65

**[0113]** Los grupos hidrófilos adecuados incluyen polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol, polioles polioxietilados (por ejemplo, POG), sorbitol polioxietilado, glucosa polioxietilada, glicerol polioxietilado (POG), polioxialquilenos, propionaldehído con polietilenglicol, copolímeros de etilenglicol/propilenglicol, monometoxi-polietilenglicol, mono (C1-C10) alcoxi- o ariloxi-polietilenglicol, carboximetilcelulosa, poliactales, alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona, poli- 1,3-dioxolano, poli-1,3,6-trioxano, copolímero de etileno/anhídrido maleico, poli (beta-aminoácidos) (ya sean homopolímeros o copolímeros aleatorios), poli (n-vinil pirrolidona) polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol (PPG) y otros óxidos de polialquileno, copolímeros de óxido de polipropileno/óxido de etileno, ácidos colónicos u otros polímeros de polisacáridos, Ficoll o dextrano y mezclas de los mismos. Los dextranos son polímeros de polisacáridos de subunidades de glucosa, predominantemente unidas por uniones  $\alpha$ 1-6. El dextrano está disponible en muchos intervalos de peso molecular, por ejemplo, de aproximadamente 1 kD a aproximadamente 100 kD, o de aproximadamente 5, 10, 15 ó 20 kD a aproximadamente 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 ó 90 kD. Se contemplan polímeros lineales o ramificados. Las preparaciones resultantes de conjugados pueden ser esencialmente monodispersas o polidispersas, y pueden tener aproximadamente 0,5, 0,7, 1, 1,2, 1,5 ó 2 grupos de polímeros por péptido antagonista.

**[0114]** Según una realización, la introducción de grupos hidrófilos en las posiciones 17, 21 y 24 del péptido de SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10 se prevé que mejoran la solubilidad y la estabilidad del análogo de glucagón de alta potencia en soluciones con un pH fisiológico. La introducción de estos grupos también aumenta la duración de la acción, por ejemplo, como se mide por una vida media prolongada en la circulación. Los grupos hidrófilos adecuados incluyen cualquier polímero soluble en agua conocido en la técnica, incluyendo PEG, homo- o copolímeros de PEG, un polímero de PEG sustituido por monometilo (mPEG), o glicerol de polioxietileno (POG). Según una realización, el grupo hidrófilo comprende una cadena de polietileno (PEG). Más particularmente, en una realización, el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 7 en el que una cadena de PEG está unida covalentemente a las cadenas laterales de aminoácidos presentes en las posiciones 21 y 24 del péptido similar al glucagón y el aminoácido carboxi terminal del péptido tiene el grupo ácido carboxílico.

#### *Conjugados*

**[0115]** La presente descripción también abarca otros conjugados en los que los péptidos de glucagón están unidos, opcionalmente a través de un enlace covalente y opcionalmente a través de un enlazador, a un conjugado. La unión se puede realizar mediante enlaces químicos covalentes, fuerzas físicas, tales interacciones electrostáticas, enlace de hidrógeno, fuerzas iónicas, fuerzas de van der Waals, o interacciones hidrófobas o hidrófilas. Se puede utilizar una variedad de sistemas de acoplamiento no covalentes, incluyendo biotina-avidina, ligando/receptor, enzima/sustrato, proteína unión a ácido nucleico/ácido nucleico, lípido/proteína de unión a lípido, compañeros de moléculas de adhesión celular; o cualquier compañero o fragmento de unión de los mismos que tienen afinidad entre sí.

**[0116]** El péptido puede estar unido a grupos de conjugación a través de unión covalente directa mediante la reacción de los residuos de aminoácidos diana del péptido con un agente de derivatización orgánico que es capaz de reaccionar con cadenas laterales seleccionadas o los residuos de los extremos N o C-terminales de estos aminoácidos diana. Los grupos reactivos en el péptido o conjugado incluyen, por ejemplo, un grupo aldehído, amino, éster, tiol,  $\alpha$ -haloacetilo, maleimido o hidrazino. Los agentes de derivatización incluyen, por ejemplo, éster de maleimidobenzoil sulfosuccinimida (conjugación a través de residuos de cisteína), N-hidroxisuccinimida (a través de residuos de lisina), glutaraldehído, anhídrido succínico u otros agentes conocidos en la técnica. Alternativamente, los grupos conjugadas se pueden unir al péptido indirectamente a través de portadores intermedios, tales como polisacáridos o polipéptidos portadores. Ejemplos de portadores de polisacáridos incluyen aminodextrano. Ejemplos de portadores de polipéptidos adecuados incluyen polilisina, ácido poliglutámico, ácido poliaspártico, copolímeros de los mismos, y los polímeros mixtos de estos aminoácidos y otros, por ejemplo, serinas, para conferir propiedades de solubilidad deseables en el portador cargado resultante.

**[0117]** Los residuos de cisteinilo se hacen reaccionar más habitualmente con  $\alpha$ -haloacetatos (y las correspondientes aminas), tales como ácido cloroacético o cloroacetamida, para producir derivados de carboximetilo o carboxiamidometilo. Los residuos cisteinilo también se derivan mediante reacción con bromotrifluoroacetona, ácido alfa-bromo- $\beta$ -(5-imidazoil)propiónico, fosfato de cloroacetilo, N-alquilmaleimidias, disulfuro de 3-nitro-2-piridilo, disulfuro de metil 2-piridilo, p-cloromercuribenzoato, 2-cloromercuri-4-nitrofenol, o cloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol.

**[0118]** Los residuos de histidilo se derivan mediante la reacción con dietilpirocarbonato a pH 5,5-7,0 debido a que este agente es relativamente específico para la cadena lateral de histidilo. El bromuro de para-bromofenacilo también es útil; la reacción se realiza preferiblemente en cacodilato de sodio 0,1 M a pH 6,0.

**[0119]** Los residuos de lisinilo y amino terminales se hacen reaccionar con anhídridos de ácido succínico u otros ácidos carboxílicos. La derivatización con estos agentes tiene el efecto de invertir la carga de los residuos de lisinilo. Otros reactivos adecuados para derivatizar residuos que contienen alfa-amino incluyen imidoésteres, tales como

picolinimidato de metilo, fosfato de piridoxal, piridoxal, cloroborohidruro, ácido trinitrobenzenosulfónico, O-metilourea, 2,4-pentanodiona, y reacción catalizada por transaminasa con glioxilato.

5 **[0120]** Los residuos de arginilo se modifican mediante reacción con uno o varios reactivos convencionales, entre ellos fenilglioxal, 2,3-butanodiona, 1,2-ciclohexanodiona, y ninhidrina. La derivatización de residuos de arginina requiere que la reacción se realice en condiciones alcalinas debido al elevado  $pK_a$  del grupo funcional guanidina. Además, estos reactivos pueden reaccionar con los grupos de lisina, así como con el grupo épsilon-amino de arginina.

10 **[0121]** La modificación específica de los residuos de tirosilo se puede realizar, con especial interés en la introducción de marcadores espectrales en los residuos tirosilo, mediante la reacción con compuestos de diazonio aromáticos o tetranitrometano. Más habitualmente, se utilizan N-acetilimidazol y tetranitrometano para formar especies de O-acetil tirosilo y derivados 3-nitro, respectivamente.

15 **[0122]** Los grupos laterales carboxilo (aspartilo o glutamilo) se modifican selectivamente mediante la reacción con carbodiimidias ( $R-N=C=N-R'$ ), en las que R y R' son grupos alquilo diferentes, tales como 1-ciclohexil-3-(2-morfolinil-4 etil) carbodiimida o 1-etil-3-(4-azonia-4,4-dimetilpentil) carbodiimida. Además, los residuos aspartilo y glutamilo se convierten en residuos asparaginilo y glutaminilo mediante la reacción con iones amonio.

20 **[0123]** Otras modificaciones incluyen la hidroxilación de prolina y lisina, la fosforilación de grupos hidroxilo de residuos de serilo o treonilo, la metilación de los grupos alfa-amino de lisina, arginina, y cadenas laterales de histidina (T.E. Creighton, *Proteins: Structure y Molecular Properties*, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pág. 79-86 (1983)), la desamidación de glutamina o asparagina, la acetilación de la amina N-terminal, y/o la amidación o esterificación del grupo ácido carboxílico C-terminal.

25 **[0124]** Otro tipo de modificación covalente implica el acoplamiento químico o enzimático de glicósidos al antagonista. Se puede unir un azúcar o azúcares a (a) arginina e histidina, (b) grupos carboxilo libres, (c) grupos sulfhidrilo libres, tales como los de cisteína, (d) grupos hidroxilo libres, tales como los de serina, treonina, o hidroxiprolina, (e) residuos aromáticos, tales como los de tirosina, o triptófano, o (f) el grupo amida de la glutamina. Estos métodos se describen en el documento WO87/05330 publicado 11 de septiembre 1987, y en Aplin y Wriston, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, pág. 259-306 (1981).

30

**[0125]** Los grupos conjugados de ejemplo que se pueden unir a cualquiera de los péptidos de glucagón descritos en este documento incluyen, pero sin limitación, un péptido o polipéptido heterólogo (incluyendo, por ejemplo, una proteína plasmática), un agente de reconocimiento, una inmunoglobulina o parte de la misma (por ejemplo, región variable, CDR, o la región Fc), un marcador de diagnóstico, tal como un radioisótopo, fluoróforo o marcador enzimático, un polímero que incluye polímeros solubles en agua, u otros agentes terapéuticos o de diagnóstico. En una realización, se proporciona un conjugado que comprende un péptido de glucagón descrito en el presente documento y una proteína plasmática, en el que la proteína plasmática se selecciona del grupo que consiste en albúmina, transferrina, fibrinógeno y globulinas.

35

40

**[0126]** En algunas realizaciones, el enlazador comprende una cadena de átomos de 1 a aproximadamente 60, o de 1 a 30 átomos o más, de 2 a 5 átomos, de 2 a 10 átomos, de 5 a 10 átomos, o de 10 a 20 átomos de longitud. En algunas realizaciones, los átomos de la cadena son todos átomos de carbono. En algunas realizaciones, los átomos de la cadena en la cadena principal del enlazador se seleccionan del grupo que consiste en C, O, N, y S. Los átomos de la cadena y los enlazadores se pueden seleccionar según su solubilidad (hidrofilicidad) esperada a fin de proporcionar un conjugado más soluble. En algunas realizaciones, el enlazador proporciona un grupo funcional que está sujeto a la escisión por una enzima u otro catalizador o condiciones hidrolíticas que se encuentran en el tejido u órgano o célula dianas. En algunas realizaciones, la longitud del enlazador es lo suficiente larga para reducir el potencial impedimento estérico. Si el enlazador es un enlace covalente o un enlace peptídico y el conjugado es un polipéptido, todo el conjugado puede ser una proteína de fusión. Dichos enlazadores peptídico pueden tener cualquier longitud. Los enlazadores de ejemplo tienen de aproximadamente 1 a 50 aminoácidos de longitud, de 5 a 50, de 3 a 5, de 5 a 10, de 5 a 15, o de 10 a 30 aminoácidos de longitud. Dichas proteínas de fusión pueden producirse, alternativamente, mediante métodos de ingeniería genética recombinante conocidos para un experto en la materia.

45

50

55

**[0127]** Tal como se indicó anteriormente, en algunas realizaciones, los péptidos de glucagón se conjugan, por ejemplo, se fusionan a una inmunoglobulina o parte de la misma (por ejemplo, región variable, CDR, o región Fc). Los tipos conocidos de inmunoglobulinas (Ig) incluyen IgG, IgA, IgE, IgD o IgM. La región Fc es una región C-terminal de una cadena pesada de Ig, que es responsable de la unión a los receptores Fc que llevan a cabo actividades, tales como el reciclaje (que da lugar a una vida media prolongada), citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC), y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC).

60

**[0128]** Por ejemplo, según algunas definiciones, la región Fc de la cadena pesada de IgG humana se extiende desde la Cys226 al extremo C-terminal de la cadena pesada. La "región bisagra" generalmente se extiende desde Glu216 a Pro230 de la IgG1 humana (regiones bisagra de otros isotipos de IgG pueden alinearse con la secuencia de IgG1

65

mediante la alineación de las cisteínas implicadas en la unión a cisteína). La región Fc de una IgG incluye dos dominios constantes, CH2 y CH3. El dominio CH2 de una región Fc de IgG humana normalmente se extiende desde el aminoácido 231 hasta el aminoácido 341. El dominio CH3 de una región Fc de IgG humana normalmente se extiende entre los aminoácidos 342 a 447. Las referencias a la numeración de aminoácidos de inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulina, o regiones, se basan todas en Kabat et al. 1991, Secuencias de Proteínas de Interés Inmunológico, Departamento de Salud Pública, Bethesda, MD. En realizaciones relacionadas, la región Fc puede comprender una o más regiones constantes modificadas o nativas de una cadena pesada de inmunoglobulina, diferente de CH1, por ejemplo, las regiones CH2 y CH3 de IgG e IgA, o las regiones CH3 y CH4 de IgE.

**[0129]** Los grupos de conjugado adecuados incluyen partes de secuencia de inmunoglobulina que incluyen el sitio de unión a FcRn. El FcRn, un receptor de salvamento, es responsable del reciclaje de inmunoglobulinas y su retorno a la circulación en la sangre. La región de la parte Fc de IgG que se une al receptor FcRn se ha descrito basándose en cristalografía de rayos X (Burmeister et al 1994, Nature 372: 379). El área de contacto principal de la Fc con el FcRn está cerca de la unión de los dominios CH2 y CH3. Los contactos Fc-FcRn están todos dentro de una sola cadena pesada de Ig. Los sitios de contacto principales incluyen los residuos de aminoácidos 248, 250-257, 272, 285, 288, 290-291, 308-311, y 314 del dominio CH2 y los residuos de aminoácidos 385-387, 428, y 433-436 del dominio CH3.

**[0130]** Algunos grupos de conjugado pueden incluir o no un sitio o sitios de unión a Fc $\gamma$ R. Fc $\gamma$ R son responsables de ADCC y CDC. Los ejemplos de posiciones dentro de la región Fc que realizan un contacto directo con Fc $\gamma$ R son los aminoácidos 234-239 (región bisagra inferior), los aminoácidos 265-269 (bucle B/C), los aminoácidos 297-299 (bucle C'/E), y los aminoácidos 327-332 (bucle F/G) (Sondermann et al., Nature 406: 267-273, 2000). La región bisagra inferior de IgE también se ha implicado en la unión a FcRI (Henry, et al., Biochemistry 36, 15568 a 15578, 1997). Los residuos implicados en la unión al receptor de IgA se describen en Lewis et al., (J Immunol. 175: 6694-701, 2005). Los residuos de aminoácidos implicados en la unión al receptor de IgE se describen en Sayers et al. (J Biol Chem. 279 (34): 35320-5, 2004).

**[0131]** Las modificaciones de aminoácidos pueden realizarse en la región Fc de una inmunoglobulina. Dichas regiones Fc variantes comprenden al menos una modificación de aminoácidos en el dominio CH3 de la región Fc (residuos 342-447) y/o al menos una modificación de aminoácido en el dominio CH2 de la región Fc (residuos 231-341). Las mutaciones que se cree que transmiten una mayor afinidad por FcRn incluyen T256A, T307A, E380A, y N434A (Shields et al. 2001, J. Biol. Chem. 276: 6591). Otras mutaciones pueden reducir la unión de la región Fc a Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RIIA, Fc $\gamma$ RIIB, y/o Fc $\gamma$ RIIIA sin reducir significativamente la afinidad por FcRn. Por ejemplo, la sustitución de Asn en la posición 297 de la región Fc por Ala u otro aminoácido elimina un sitio de N-glicosilación altamente conservado y puede dar lugar a una inmunogenicidad reducida con una vida media prolongada concomitante de la región Fc, así como una unión reducida a Fc $\gamma$ Rs (Routledge et al 1995, Transplantation 60: 847; Friend et al 1999, Transplantation 68: 1632; Shields y otros, 1995, J. Biol. Chem. 276: 6591). Se han realizado modificaciones de aminoácidos en las posiciones 236 233 de IgG1 han sido hechos que reducen la unión a Fc $\gamma$ Rs (Ward y Ghetie 1995, Therapeutic Immunology 2:77 y Armour et al. 1999, Eur. J. Immunol. 29: 2613). Algunas sustituciones de aminoácidos de ejemplo se describen en las Patentes de Estados Unidos 7.355.008 y 7.381.408

#### *Proteína de fusión y la extensión terminal*

**[0132]** La presente descripción también abarca péptidos o proteínas de fusión de glucagón en el que un segundo péptido o polipéptido se ha fusionado a un extremo terminal, por ejemplo, el extremo carboxi terminal del péptido similar al glucagón. Más particularmente, el péptido similar al glucagón de fusión puede comprender un agonista de glucagón de la SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 10 que comprende además una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26 (GPSSGAPPPS), SEQ ID NO: 27 (KRNRNNTIA) o SEQ ID NO: 28 (KRNR) unido al aminoácido 29 del péptido similar al glucagón. En una realización, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26 (GPSSGAPPPS), SEQ ID NO: 27 (KRNRNNTIA) o SEQ ID NO: 28 (KRNR) está unida al aminoácido 29 del péptido similar al glucagón a través de un enlace peptídico. Los solicitantes han descubierto que en los péptidos de fusión de glucagón que comprenden el péptido de extensión C-terminal de exendina-4 (por ejemplo, SEQ ID NO: 26 o SEQ ID NO: 29), la sustitución del residuo treonina nativo en la posición 29 por glicina aumenta dramáticamente la actividad del receptor de GLP-1. Esta sustitución de aminoácido puede usarse en conjunción con otras modificaciones descritas en el presente documento para mejorar la afinidad de los análogos de glucagón por el receptor de GLP-1. Por ejemplo, la sustitución T29G se puede combinar con las sustituciones de aminoácidos S16E y N20K, opcionalmente con un puente de lactama entre los aminoácidos 16 y 20, y opcionalmente con adición de una cadena de PEG tal como se describe en el presente documento. En una realización, se proporciona un coagonista del receptor de glucagón/GLP-1, que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 64. En una realización, la parte del péptido similar al glucagón del péptido de fusión de glucagón se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, y SEQ ID NO: 5 en el que una cadena de PEG, cuando está presente en las posiciones 17, 21, 24, o el aminoácido C-terminal, o en 21 y 24, se selecciona del intervalo de 500 a 40.000 Daltons. Más particularmente, en una realización, el segmento de péptido similar al glucagón se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, y SEQ ID NO: 63, en el que la cadena de PEG se

selecciona del intervalo de 500 a 5.000. En una realización, el péptido similar al glucagón es un péptido de fusión que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 65 en el que el péptido de la SEQ ID NO: 65 está unido al extremo carboxi-terminal de la SEQ ID NO: 55.

#### 5 C-terminal de carga neutra

[0133] Según una realización, una modificación química adicional del péptido similar al glucagón de la SEQ ID NO: 10 otorga una mayor potencia del receptor de GLP-1 hasta un punto en el que la actividad relativa en los receptores de glucagón y GLP-1 es prácticamente equivalente. Por consiguiente, en una realización, se proporciona un coagonista de receptores de glucagón/GLP-1, en el que el aminoácido terminal de los péptidos similares al glucagón descritos en este documento tienen un grupo amida en lugar del grupo de ácido carboxílico que está presente en el aminoácido nativo. La actividad relativa del análogo de glucagón en los respectivos receptores de glucagón y GLP-1 se puede ajustar mediante modificaciones adicionales al péptido similar al glucagón para producir análogos que muestran aproximadamente 40% a aproximadamente 500% o más de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón y de aproximadamente 20% a aproximadamente 200% o más de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1, por ejemplo, 50 veces, 100 veces o más aumento en relación con la actividad normal de glucagón en el receptor de GLP-1. En algunas realizaciones, los péptidos similares al glucagón descritos en este documento muestran hasta aproximadamente 100%, 1000%, 10000%, 100000%, o 1.000.000% de la actividad de glucagón nativo en el receptor de glucagón. En algunas realizaciones, los péptidos similares al glucagón descritos en este documento presentan hasta aproximadamente 100%, 1000%, 10000%, 100000%, o 1.000.000% de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP-1.

#### Estabilización de la hélice alfa/puentes intramoleculares

[0134] En una realización adicional, se proporcionan análogos de glucagón que muestran una mayor actividad agonista del receptor de GLP-1, en los que se forma un puente intramolecular entre dos cadenas laterales de aminoácidos para estabilizar la estructura tridimensional del extremo carboxi terminal del. Las cadenas laterales de dos aminoácidos pueden unirse entre sí a través de enlaces no covalentes, por ejemplo, enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas, tales como la formación de puentes salinos, o por enlaces covalentes. Cuando las dos cadenas laterales de aminoácidos están unidas entre sí a través de uno o más enlaces covalentes, el péptido puede considerarse que comprende un puente intramolecular covalente. Cuando las dos cadenas laterales de aminoácidos están unidas entre sí a través de enlaces no covalentes, por ejemplo, enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas, el péptido puede considerarse en el presente documento que comprende un puente intramolecular no covalente.

[0135] En algunas realizaciones, se forma el puente intramolecular entre dos aminoácidos que están 3 aminoácidos separados, por ejemplo, aminoácidos en las posiciones  $i$  e  $i + 4$ , en donde  $i$  es un número entero entre 12 y 25 (por ejemplo, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 y 25). Más particularmente, las cadenas laterales de los pares de aminoácidos 12 y 16, 16 y 20, 20 y 24 o 24 y 28 (pares de aminoácidos en la que  $i = 12, 16, 20, \text{ o } 24$ ) están unidos entre sí y por lo tanto estabilizan la hélice alfa de glucagón. Alternativamente,  $i$  puede ser 17.

[0136] En algunas realizaciones específicas, en las que los aminoácidos en las posiciones  $i$  e  $i + 4$  están unidas por un puente intramolecular, el tamaño del enlazador es de aproximadamente 8 átomos, o aproximadamente 7-9 átomos.

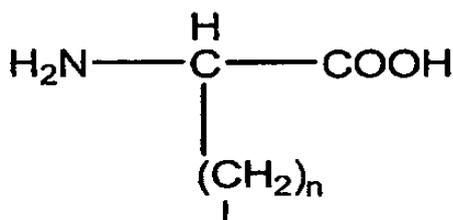
[0137] En otras realizaciones, se forma el puente intramolecular entre los dos aminoácidos que están dos aminoácidos separados, por ejemplo, aminoácidos en las posiciones  $j$  y  $j + 3$ , en el que  $j$  es cualquier número entero entre 12 y 26 (por ejemplo, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 y 26). En algunas realizaciones específicas,  $j$  es 17.

[0138] En algunas realizaciones específicas, en el que los aminoácidos en las posiciones  $j$  y  $j + 3$  están unidos por un puente intramolecular, el tamaño del enlazador es de aproximadamente 6 átomos, o aproximadamente 5 a 7 átomos.

[0139] En otras realizaciones, se forma el puente intramolecular entre dos aminoácidos que están 6 aminoácidos separados, por ejemplo, aminoácidos en las posiciones  $k$  y  $k + 7$ , en el que  $k$  es cualquier número entero entre 12 y 22 (por ejemplo, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, y 22). En algunas realizaciones específicas,  $k$  es 12, 13, o 17. En una realización de ejemplo,  $k$  es 17.

[0140] Ejemplos de emparejamientos de aminoácidos que son capaces de unirse covalentemente para formar un puente de unión de seis átomos incluyen Orn y Asp, Glu y un aminoácido de la Fórmula I, en la que  $n$  es 2, y ácido homoglutámico y un aminoácido de la Fórmula I, en la que  $n$  es 1, en el que la Fórmula I es:

65



5

10

[Fórmula I]

15

20

25

30

**[0141]** Ejemplos de emparejamientos de aminoácidos que son capaces de unirse covalentemente para formar un puente de unión que tiene siete átomos incluyen Orn-Glu (lactama); Lys-Asp (lactama); o Homoser-Homoglu (lactona). Ejemplos de emparejamientos de aminoácidos que pueden formar un enlazador de ocho átomos incluyen Lys-Glu (lactama); Homolys-Asp (lactama); Orn-Homoglu (lactama); 4-aminoPhe- Asp (lactama); o Tyr-Asp (lactona). Ejemplos de emparejamientos de aminoácidos que pueden formar un enlazador de nueve átomos incluyen Homolys-Glu (lactama); Lys-Homoglu (lactama); 4-aminoPhe-Glu (lactama); o Tyr-Glu (lactona). Cualquiera de las cadenas laterales de estos aminoácidos puede estar sustituida con grupos químicos adicionales, siempre y cuando la estructura tridimensional de la hélice alfa no se interrumpa. Un experto en la técnica puede imaginar emparejamientos alternativos o análogos o derivados de aminoácidos alternativos que crearían una estructura estabilizadora de tamaño similar y efecto deseado. Por ejemplo, un puente disulfuro homocisteína-homocisteína tiene 6 átomos de longitud y puede ser modificado adicionalmente para proporcionar el efecto deseado. Incluso sin enlace covalente, los emparejamientos de aminoácidos descritos anteriormente o emparejamientos similares que un experto en la técnica puede imaginar también pueden proporcionar estabilidad añadida a la hélice alfa a través de enlaces no covalentes, por ejemplo, mediante la formación de puentes salinos o interacciones de puentes de hidrógeno.

35

**[0142]** Otras realizaciones de ejemplo incluyen las siguientes parejas, opcionalmente con un puente de lactama: Glu en la posición 12 con Lys en la posición 16; Lys nativo en la posición 12 con Glu en la posición 16; Glu en la posición 16 con Lys en la posición 20; Lys en la posición 16 con Glu en la posición 20; Glu en la posición 20 con Lys en la posición 24; Lys en la posición 20 con Glu en la posición 24; Glu en la posición 24 con Lys en la posición 28; Lys en la posición 24 con Glu en la posición 28.

40

**[0143]** Según una realización, se proporciona un análogo de glucagón que presenta actividad coagonista de receptores de glucagón/GLP-1, en el que el análogo comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, 47, 48 y 49. En una realización, las cadenas laterales se unen covalentemente una con otra, y en una realización los dos aminoácidos están unidos el uno al otro para formar un anillo de lactama. El tamaño del anillo de lactama puede variar dependiendo de la longitud de las cadenas laterales de los aminoácidos, y en una realización, la lactama está formada por la unión de las cadenas laterales de un aminoácido de lisina a una cadena lateral de ácido glutámico.

45

50

55

**[0144]** El orden del enlace amida en el anillo de lactama se puede invertir (por ejemplo, un anillo de lactama se puede formar entre las cadenas laterales de Lys12 y Glu16 o alternativamente entre Glu12 y Lys16). Según una realización, se proporciona un análogo de glucagón de la SEQ ID NO: 45, en el que al menos un anillo de lactama se forma entre las cadenas laterales de un par de aminoácidos seleccionado del grupo que consiste en los pares de aminoácidos 12 y 16, 16 y 20, 20 y 24 o 24 y 28. En una realización, se proporciona un coagonista de receptores de glucagón/GLP-1, en el que el coagonista comprende un análogo de péptido similar al glucagón de la SEQ ID NO: 20 en el que el péptido comprende un puente de lactama intramolecular formado entre las posiciones de aminoácido 12 y 16 o entre las posiciones de aminoácido 16 y 20. En una realización, se proporciona un coagonista de receptores de glucagón/GLP-1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 20, en el que un puente de lactama intramolecular se forma entre las posiciones de aminoácido 12 y 16, entre las posiciones de aminoácido 16 y 20, o entre las posiciones de aminoácidos 20 y 24 y el aminoácido en la posición 29 es glicina, en el que la secuencia de SEQ ID NO: 29 está unido al aminoácido C-terminal de la SEQ ID NO: 20. En una realización adicional, el aminoácido en la posición 28 es ácido aspártico.

60

**[0145]** Se puede utilizar puentes intramoleculares distintos de un puente de lactama para estabilizar la hélice alfa de los péptidos análogos de glucagón. En una realización, el puente intramolecular es un puente hidrófobo. En este caso, el puente intramolecular es opcionalmente entre las cadenas laterales de dos aminoácidos que son parte de la cara hidrofóbica de la hélice alfa del péptido análogo de glucagón. Por ejemplo, uno de los aminoácidos unidos por el puente hidrófobo puede ser el aminoácido en la posición 10, 14, y 18.

65

**[0146]** En un aspecto específico, la metátesis de olefinas se utiliza para reticular uno o dos giros de la hélice alfa del

péptido glucagón utilizando un sistema de reticulación de todos los hidrocarburos. El péptido de glucagón en este caso puede comprender aminoácidos alfa-metilados que lleva cadenas laterales olefinicas de longitud variable y configuradas, ya sea con estereoquímica R o S, en las posiciones  $i$  e  $i + 4$  o  $i + 7$ . Por ejemplo, la cara olefinica puede comprender  $(CH_2)_n$ , donde  $n$  es cualquier número entero entre 1 a 6. En una realización,  $n$  es 3 para una longitud de reticulación de 8 átomos. Los procedimientos adecuados para la formación de tales puentes intramoleculares se describen en la técnica. Véase, por ejemplo, Schafmeister et al., J. Am. Chem. Soc. 122: 5891 hasta 5.892 (2000) y Walensky et al, Science 305: 1466-70 (2004). Alternativamente, el péptido de glucagón puede comprender residuos de Ser O-alilo localizados en los giros helicoidales adyacentes, que están puenteados entre sí a través de metátesis de cierre de anillo catalizada por rutenio. Tales procedimientos de reticulación se describen en, por ejemplo, Blackwell et al., Angew, Chem., Int. Ed. 37: 3281- 3284 (1998).

**[0147]** En otro aspecto específico, el aminoácido tiodialanina no natural, lantionina, que ha sido ampliamente adoptado como un peptidomimético de cistina, se utiliza para reticular un giro de la hélice alfa. Los procedimientos adecuados de ciclación a base de lantionina son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Matteucci et al, Tetrahedron Letters 45: 1399-1401 (2004); Mayer et al., J. Peptide Res. 51: 432-436 (1998); Polinsky et al., J. Med. Chem. 35: 4185-4194 (1992); Osapay et al., J. Med. Chem. 40: 2241-2251 (1997); Fukase et al., Bull. Chem. Soc. Jpn. 65: 2227-2240 (1992); Harpp et al., J. Org. Chem. 36: 73-80 (1971); Goodman y Shao, Pure Appl. Chem. 68: 1303-1308 (1996); y Osapay y Goodman, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1599-1600 (1993).

**[0148]** En algunas realizaciones, grupos de  $\alpha,\omega$ -diaminoalcanos, por ejemplo, 1,4-diaminopropano y 1,5-diaminopentano) entre dos residuos de Glu en las posiciones  $i$  e  $i + 7$  se utilizan para estabilizar la hélice alfa del péptido de glucagón. Dichos grupos enlazadores conducen a la formación de un puente de 9 átomos de longitud o más, dependiendo de la longitud del grupo de enlazadores de diaminoalcano. Los procedimientos adecuados para la producción de péptidos reticulados con dichos grupos enlazadores se describen en la técnica. Véase, por ejemplo, Phelan et al., J. Am. Chem. Soc. 119: 455-460 (1997).

**[0149]** En aún otra realización de la descripción, se utiliza un puente disulfuro para reticular uno o dos giros de la hélice alfa del péptido de glucagón. Alternativamente, se utiliza un puente disulfuro modificado en el que uno o ambos átomos de azufre se sustituyen por un grupo metileno que da lugar a una macrociclación isostérica para estabilizar la hélice alfa del péptido de glucagón. Los procedimientos adecuados para la modificación de péptidos con puentes disulfuro o ciclación a base de azufre se describen en, por ejemplo, Jackson et al., J. Am. Chem. Soc. 113: 9391-9392 (1991) y Rudinger y Jost, Experientia 20: 570-571 (1964).

**[0150]** En aún otra realización, la hélice alfa del péptido glucagón se estabiliza a través de la unión del átomo de metal por dos residuos de His o un par His y Cys posicionados en  $i$  y  $i + 4$ . El átomo de metal puede ser, por ejemplo, Ru (III), Cu (II), Zn (II), o Cd (II). Tales procedimientos de estabilización de hélice alfa a base de unión del metal son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Andrews y Tabor, Tetrahedron 55: 11711-11743 (1999); Ghadiri et al., J. Am. Chem. Soc. 112: 1630-1632 (1990); y Ghadiri et al., J. Am. Chem. Soc. 119: 9063- 9064 (1997).

**[0151]** La hélice alfa del péptido de glucagón alternativamente puede estabilizarse a través de otros medios de ciclación del péptido, cuyos medios se revisan en Davies, J. Peptide. Sci 9: 471-501 (2003). La hélice alfa puede estabilizarse a través de la formación de un puente de amida, puente de tioéter, puente de tioéster, puente de urea, puente de carbamato, puente de sulfonamida, y similares. Por ejemplo, un puente de tioéster se puede formar entre el extremo C-terminal y la cadena lateral de un residuo de Cys. Alternativamente, un tioéster se puede formar a través de cadenas laterales de aminoácidos que tienen un tiol (Cys) y un ácido carboxílico (por ejemplo, Asp, Glu). En otro procedimiento, un agente de reticulación, tal como un ácido dicarboxílico, por ejemplo, ácido subérico (ácido octanodioico), etc. puede introducir un enlace entre dos grupos funcionales de una cadena lateral de aminoácido, tal como un amino libre, hidroxilo, grupo tiol, y combinaciones de los mismos.

**[0152]** Según una realización, la hélice alfa del péptido de glucagón se estabiliza mediante la incorporación de aminoácidos hidrófobos en las posiciones  $i$  e  $i + 4$ . Por ejemplo,  $i$  puede ser Tyr e  $i + 4$  puede ser Val o Leu;  $i$  puede ser Phe e  $i + 4$  puede ser Cys o Met;  $i$  puede ser Cys e  $i + 4$  puede ser Met; o  $i$  puede ser Phe e  $i + 4$  pueden ser Ile. Debe entenderse que, para los propósitos del presente documento, los emparejamientos de los aminoácidos anteriores se pueden invertir, de manera que el aminoácido indicado en la posición  $i$ , alternativamente, podría estar situado en  $i + 4$ , mientras que el aminoácido  $i + 4$  puede estar situado en la posición  $i$ .

**[0153]** Según otra realización de la descripción, el péptido similar al glucagón con una mayor actividad de GLP-1 comprende (a) una o más sustituciones en las posiciones de aminoácido 12-29 con un aminoácido  $\alpha,\alpha$ -disustituido y, opcionalmente, (b) una amida C-terminal. En algunos aspectos, debe entenderse que dichos péptidos similares a glucagón carecen específicamente de un puente intramolecular, por ejemplo, un puente intramolecular covalente, que estabiliza la hélice alfa en la porción C-terminal de glucagón (alrededor de las posiciones 12 a 29). En algunas realizaciones, una, dos, tres, cuatro o más de las posiciones 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24 ó 29 de glucagón están sustituidas por un aminoácido  $\alpha,\alpha$ -disustituido, por ejemplo, ácido amino isobutírico (AIB), un aminoácido disustituido con el mismo grupo o diferente grupo seleccionado entre metilo, etilo, propilo y *n*-butilo o por un ciclooctano o cicloheptano (por ejemplo, ácido 1-aminociclooctano-1-carboxílico). Por ejemplo, la sustitución de la posición 16 por AIB aumenta la actividad de GLP-1, en ausencia de un puente intramolecular, por ejemplo, un puente intramolecular

no covalente (por ejemplo, un puente de sal) o un puente intramolecular covalente (por ejemplo, una lactama). En algunas realizaciones, una, dos, tres o más de las posiciones 16, 20, 21 o 24 están sustituidos por AIB. Dicho péptido similar al glucagón puede comprender además una o más de las otras modificaciones descritas en el presente documento, incluyendo, pero no limitado a, acilación, alquilación, pegilación, delección de 1-2 aminoácidos en el extremo C-terminal, adición de y/o sustitución por aminoácidos cargados en el extremo C-terminal, la sustitución del carboxilato C-terminal por una amida, la adición de una extensión C-terminal, y sustituciones de aminoácidos conservadoras y/o no conservadoras, tales como la sustitución de Met en la posición 27 por Leu o Nle, la sustitución de Asp en la posición 15 por Glu (o aminoácido similar), sustitución en la posición 1 y/o 2 por los aminoácidos que logran resistencia a DPP-IV proteasa, la sustitución de Ser en la posición 2 por Ala, la sustitución de Tyr en posición 10 por Val o Phe, sustitución de Lys en la posición 12 por Arg, la sustitución de Ser en la posición 16 por Thr o AIB, la sustitución de Gln en la posición 20 y/o 24 por Asp, Glu, o AIB, la sustitución de Ser en la posición 16 por Glu o Thr, Arg en la posición 18 por Ala, Gln en la posición 20 por Lys, Asp en la posición 21 por Glu, y Gln en la posición 24 por Asn o Cys. En algunas realizaciones, el péptido similar a glucagón anterior comprende una Gln o Gly en la posición 29 o la adición de una extensión C-terminal, por ejemplo, GGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 26) C-terminal al aminoácido en la posición 28. En un aspecto específico, el péptido similar al glucagón comprende uno o más de un grupo amida en lugar del carboxilato C-terminal, un grupo acilo, por ejemplo, un ácido graso C16, y un grupo hidrófilo, por ejemplo, un polietilenglicol (PEG).

**[0154]** Además, en otro aspecto específico, el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOs: 1-25, 30-64, y 66-555 que comprende no más de diez modificaciones con respecto a SEQ ID NO: 1 y que comprende una o más sustituciones de aminoácidos por AIB en las posiciones 16, 20, 21 y/o 24, en el que el péptido carece de un puente intramolecular, por ejemplo, un puente intramolecular covalente, entre las cadenas laterales de dos aminoácidos del péptido. Por consiguiente, en un aspecto más específico, el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NOs: 556-561.

**[0155]** Según algunas realizaciones, el péptido similar a glucagón que carece de un puente intramolecular comprende una o más sustituciones en las posiciones de aminoácidos dentro 12 a 29 por un aminoácido  $\alpha,\alpha$ -disustituido y un grupo acilo o alquilo unido covalentemente a la cadena lateral del aminoácido en la posición 10 del péptido similar a glucagón. En realizaciones específicas, el grupo acilo o alquilo es no nativo en un aminoácido. En ciertos aspectos, el grupo acilo o alquilo es no nativo al aminoácido en la posición 10. En realizaciones de ejemplo, el péptido similar al glucagón que carece de un puente intramolecular comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NOs: 556-561 y un grupo acilo o alquilo unido covalentemente a la cadena lateral del aminoácido en la posición 10 del péptido similar al glucagón. Dichos péptidos similares a glucagón acilados o alquilados que carecen de un puente intramolecular muestran mayor actividad en los receptores de GLP-1 y glucagón en comparación con los péptidos homólogos no acilados. Una mejora adicional en la actividad en los receptores de GLP-1 y glucagón se puede lograr por los péptidos similares a glucagón acilados que carecen de un puente intramolecular mediante la incorporación de un espaciador entre el grupo acilo o alquilo y la cadena lateral del aminoácido en la posición 10 del péptido. La acilación y alquilación, con o sin la incorporación de espaciadores, se describen adicionalmente en este documento.

#### *Modificación en la posición 1*

**[0156]** Según una realización de la descripción, el péptido similar al glucagón con una mayor actividad de GLP-1 comprende (a) una sustitución de aminoácido de His en la posición 1 por un aminoácido grande aromático y (b) un puente intramolecular que estabiliza que la alfa-hélice en la porción C-terminal de la molécula (por ejemplo, alrededor de las posiciones 12 a 29). En una realización específica, el aminoácido en la posición 1 es Tyr, Phe, Trp, amino-Phe, nitro-Phe, cloro-Phe, sulfo-Phe, 4-piridil-Ala, metil-Tyr, o 3-amino Tyr. En un aspecto específico, el puente intramolecular está entre las cadenas laterales de dos aminoácidos que están separados por tres aminoácidos intermedios, es decir, entre las cadenas laterales de los aminoácidos  $i$  y  $i + 4$ . En algunas realizaciones, el puente intramolecular es un puente de lactama. En una realización más específica de la descripción, el péptido similar al glucagón comprende un aminoácido grande aromático en la posición 1 y un puente de lactama entre los aminoácidos en las posiciones 16 y 20 del péptido. Dicho péptido similar al glucagón puede comprender además uno o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco o más) de las otras modificaciones descritas en el presente documento. Por ejemplo, el péptido similar al glucagón puede comprender una amida en lugar del carboxilato C-terminal. En consecuencia, en una realización, el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 555.

#### *Acilación*

**[0157]** Según una realización, el péptido similar al glucagón comprende un grupo acilo, por ejemplo, un grupo acilo que es no nativo a un aminoácido de origen natural. El grupo acilo hace que el péptido tenga una o más de (i) una vida media prolongada en la circulación, (ii) un retraso en la aparición de la acción, (iii) una duración prolongada de acción, (iv) una resistencia mejorada a las proteasas, tales como DPP-IV, y (v) aumento de la potencia en los receptores de GLP-1 y glucagón. Como se muestra en el presente documento, los péptidos similares a glucagón acilados no muestran una disminución de la actividad en los receptores de glucagón y GLP-1 en comparación con el

péptido similar al glucagón no acilado correspondiente. Más bien, en algunos casos, los péptidos similares a glucagón acilados en realidad exhiben mayor actividad en los receptores de GLP-1 y glucagón. Por consiguiente, la potencia de los análogos acilados es comparable a las versiones no aciladas de los análogos coagonistas de glucagón, incluso mejorada.

**[0158]** Según una realización, el péptido similar al glucagón se modifica para comprender un grupo acilo que se une al péptido similar al glucagón a través de un enlace éster, tioéster, o amida a los efectos de la prolongación de la vida media en circulación y/o el retraso de la aparición de y/o la ampliación de la duración de la acción y/o mejora de la resistencia a las proteasas, tales como DPP-IV.

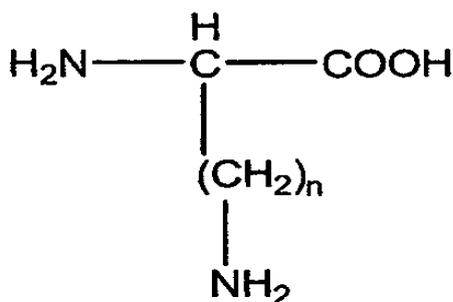
**[0159]** La acilación puede llevarse a cabo en cualquier posición dentro del péptido similar al glucagón, incluyendo cualquiera de las posiciones 1-29, una posición dentro de una extensión C-terminal, o el aminoácido C-terminal, siempre que la actividad del glucagón y/o GLP-1 se mantenga, incluso se mejore. Los ejemplos no limitantes incluyen las posiciones 5, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 27, 28, o 29. En realizaciones específicas, la acilación se produce en la posición 10 del péptido similar al glucagón y el péptido similar al glucagón carece de un puente intramolecular, por ejemplo, un puente intramolecular covalente (por ejemplo, un puente de lactama). Tales péptidos acilados que carecen de un puente intramolecular demuestran una mayor actividad en los receptores de GLP-1 y glucagón en comparación con los correspondientes péptidos no acilados que carecen de un puente intramolecular covalente y en comparación con los péptidos correspondientes que carecen de un puente intramolecular acilado en una posición distinta de la posición 10. Como se muestra en el presente documento, la acilación en la posición 10 incluso puede transformar un análogo de glucagón que tiene poca actividad en el receptor de glucagón de un análogo de glucagón que tiene actividad tanto en el receptor de glucagón como el receptor de GLP-1. En consecuencia, la posición en la que se produce la acilación puede alterar el perfil global de la actividad del análogo de glucagón.

**[0160]** Los péptidos similares al glucagón pueden estar acilados en la misma posición de aminoácido donde se une un grupo hidrófilo, o en una posición de aminoácido diferente. Ejemplos no limitantes incluyen la acilación en la posición 10 y la pegilación en una o más posiciones en la parte C-terminal del péptido similar al glucagón, por ejemplo, la posición 24, 28 o 29, dentro de una extensión C-terminal, o en el extremo C-terminal (por ejemplo, a través de la adición de una Cys C-terminal).

**[0161]** El grupo acilo puede unirse covalentemente directamente a un aminoácido del péptido similar al glucagón, o indirectamente a un aminoácido del péptido similar al glucagón a través de un espaciador, en el que el espaciador se coloca entre el aminoácido del péptido similar al glucagón y el grupo acilo.

**[0162]** En un aspecto específico de la descripción, el péptido similar a glucagón se modifica para comprender un grupo acilo por acilación directa de una amina, hidroxilo, o tiol de una cadena lateral de un aminoácido del péptido de glucagón. En algunas realizaciones, el péptido de glucagón se acila directamente a través de la amina, hidroxilo, o tiol de cadena lateral de un aminoácido. En algunas realizaciones, la acilación está en la posición 10, 20, 24, o 29. En este sentido, el péptido de glucagón acilado puede comprender la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, o una secuencia de aminoácidos modificada de la misma que comprende una o más de las modificaciones de aminoácidos descritas en este documento, con al menos uno de los aminoácidos en las posiciones 10, 20, 24 y 29 modificado a cualquier aminoácido que comprende una amina, hidroxilo, o tiol en la cadena lateral. En algunas realizaciones específicas de la descripción, la acilación directa del péptido de glucagón se produce a través de la amina, hidroxilo, o tiol de la cadena lateral del aminoácido en la posición 10.

**[0163]** En algunas realizaciones, el aminoácido que comprende una amina en la cadena lateral es un aminoácido de fórmula I:



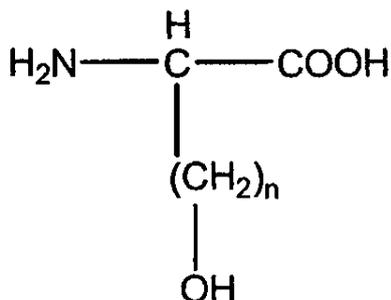
en la que n = 1 a 4

[Fórmula I]

En algunas realizaciones de ejemplo, el aminoácido de Fórmula I, es el aminoácido en el que n es 4 (Lys) o n es 3

(Orn).

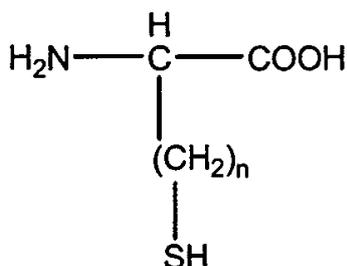
**[0164]** En otras realizaciones, el aminoácido que comprende un grupo hidroxilo en la cadena lateral es un aminoácido de Fórmula II:



en la que  $n = 1$  a  $4$   
[Fórmula II]

En algunas realizaciones de ejemplo, el aminoácido de Fórmula II es el aminoácido en el que  $n$  es 1 (Ser).

**[0165]** En aún otras realizaciones, el aminoácido que comprende un tiol en la cadena lateral es un aminoácido de Fórmula III:



en la que  $n = 1$  a  $4$   
[Fórmula III]

En algunas realizaciones de ejemplo, el aminoácido de Fórmula II es el aminoácido en el que  $n$  es 1 (Cys).

**[0166]** En otras realizaciones, el aminoácido que comprende una amina, hidroxilo o tiol en la cadena lateral es un aminoácido disustituido que comprende la misma estructura de fórmula I, fórmula II o fórmula III, excepto que el hidrógeno unido al carbono alfa del aminoácido de fórmula I, fórmula II o fórmula III está sustituido por una segunda cadena lateral.

**[0167]** En una realización de la invención, el péptido de glucagón acilado comprende un espaciador entre el péptido y el grupo acilo. En algunas realizaciones, el péptido de glucagón está unido covalentemente al espaciador, que está unido covalentemente al grupo acilo.

**[0168]** En algunas realizaciones, el espaciador es un aminoácido que comprende una amina, hidroxilo o tiol en la cadena lateral o un dipéptido o tripéptido que comprende un aminoácido que comprende una amina, hidroxilo o tiol en la cadena lateral. El aminoácido al que se une el espaciador puede ser cualquier aminoácido que comprenda un grupo que permita la unión al espaciador. Por ejemplo, un aminoácido que comprende  $\text{NH}_2$ ,  $-\text{OH}$ , o  $-\text{COOH}$  en la cadena lateral (por ejemplo, Lys, Orn, Ser, Asp, o Glu) es adecuado. En este sentido, el péptido de glucagón acilado puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, o una secuencia de aminoácidos modificada de la misma que comprende una o más de las modificaciones de aminoácidos descritas en el presente documento, con al menos uno de los aminoácidos en las posiciones 10, 20, 24, 29 y 40 modificado a cualquier aminoácido que comprende amina, hidroxilo, o carboxilato en la cadena lateral.

**[0169]** En algunas realizaciones, el espaciador es un aminoácido que comprende una amina, hidroxilo, o carboxilato en la cadena lateral, o un dipéptido o tripéptido que comprende un aminoácido que comprende una amina, hidroxilo, o carboxilato en la cadena lateral.

**[0170]** Cuando la acilación se produce a través de un grupo amina de un espaciador, la acilación puede tener lugar a través de la amina alfa del aminoácido o una amina de la cadena lateral. En el caso en el que se acila la amina alfa, el aminoácido espaciador puede ser cualquier aminoácido. Por ejemplo, el aminoácido espaciador puede ser un aminoácido hidrófobo, por ejemplo, Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Trp, Met, Phe, Tyr, ácido 6-aminohexanoico, ácido 5-aminovalérico, ácido 7-aminoheptanoico y ácido 8-aminooctanoico. Alternativamente, el aminoácido espaciador puede ser un residuo ácido, por ejemplo, Asp y Glu.

**[0171]** En el caso en el que se acila la amina de la cadena lateral del aminoácido espaciador, el aminoácido espaciador es un aminoácido que comprende una amina en la cadena lateral, por ejemplo, un aminoácido de Fórmula I (por ejemplo, Lys u Orn). En este caso, es posible acilar la amina alfa y la amina de la cadena lateral del aminoácido espaciador, de manera que el antagonista de glucagón se diacila. Las realizaciones de la descripción incluyen tales moléculas diaciladas.

**[0172]** Cuando la acilación se produce a través de un grupo hidroxilo de un espaciador, el aminoácido o uno de los aminoácidos del dipéptido o tripéptido puede ser un aminoácido de Fórmula II. En una realización de ejemplo específica, el aminoácido es Ser.

**[0173]** Cuando la acilación se produce a través de un grupo tiol de un espaciador, el aminoácido o uno de los aminoácidos del dipéptido o tripéptido puede ser un aminoácido de Fórmula III. En una realización de ejemplo específica, el aminoácido es Cys.

**[0174]** En algunas realizaciones, el espaciador es un espaciador bifuncional hidrófilo. En ciertas realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófilo comprende dos o más grupos reactivos, por ejemplo, una amina, un hidroxilo, un tiol, y un grupo carboxilo o cualquiera de sus combinaciones. En ciertas realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófilo comprende un grupo hidroxilo y un carboxilato. En otras realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófilo comprende un grupo amina y un carboxilato. En otras realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófilo comprende un grupo tiol y un carboxilato. En realizaciones específicas, el espaciador comprende un amino poli (alquiloxi) carboxilato. En este sentido, el espaciador puede comprender, por ejemplo,  $\text{NH}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$ , en el que m es cualquier número entero de 1 a 6 y n es cualquier número entero de 2 a 12, tal como, por ejemplo, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico, que está disponible comercialmente de Peptides International, Inc. (Louisville, KY).

**[0175]** En algunas realizaciones, el espaciador es un espaciador bifuncional hidrófobo. Los espaciadores bifuncionales hidrófobos son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Bioconjugate Techniques, GT Hermanson (Academic Press, San Diego, CA, 1996). En ciertas realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófobo comprende dos o más grupos reactivos, por ejemplo, una amina, un hidroxilo, un tiol, y un grupo carboxilo o cualquiera de sus combinaciones. En ciertas realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófobo comprende un grupo hidroxilo y un carboxilato. En otras realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófobo comprende un grupo amina y un carboxilato. En otras realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófobo comprende un grupo tiol y un carboxilato. Los espaciadores bifuncionales hidrófobos adecuados que comprenden un carboxilato, y un grupo hidroxilo o un grupo tiol son conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, ácido 8-hidroxiocetanoico y ácido 8-mercaptopocetanoico.

**[0176]** En algunas realizaciones, el espaciador bifuncional no es un ácido dicarboxílico que comprende un metileno no ramificado de 1-7 átomos de carbono entre los grupos carboxilato. En algunas realizaciones, el espaciador bifuncional es un ácido dicarboxílico que comprende un metileno no ramificado de 1-7 átomos de carbono entre los grupos carboxilato.

**[0177]** El espaciador (por ejemplo, aminoácido, dipéptido, tripéptido, espaciador bifuncional hidrófilo, o espaciador bifuncional hidrófobo) en realizaciones específicas tiene de 3 a 10 átomos (por ejemplo, 6 a 10 átomos de, (por ejemplo, 6, 7, 8, 9, o 10 átomos)) de longitud. En realizaciones más específicas, el espaciador tiene de aproximadamente 3 a 10 átomos (por ejemplo, 6 a 10 átomos) de longitud y el grupo acilo es un grupo acilo graso C12 a C18, por ejemplo, un grupo acilo graso C14, un grupo acilo graso C16, de manera que la longitud total del espaciador y grupo acilo es de 14 a 28 átomos, por ejemplo, aproximadamente 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, o 28 átomos. En algunas realizaciones, la longitud del espaciador y grupo acilo es de 17 a 28 (por ejemplo, 19 a 26, 19 a 21) átomos.

**[0178]** Según ciertas realizaciones anteriores, el espaciador bifuncional puede ser un aminoácido sintético o de origen natural (incluyendo, pero no limitado a, cualquiera de los descritos en el presente documento) que comprende una cadena principal de aminoácido que tiene de 3 a 10 átomos de longitud (por ejemplo, ácido 6-aminohexanoico, ácido 5-aminovalérico, ácido 7-aminoheptanoico, y ácido 8-aminooctanoico). Alternativamente, el espaciador puede ser un espaciador dipéptido o tripéptido que tiene una cadena principal peptídica que tiene de 3 a 10 átomos (por ejemplo, 6 a 10 átomos) de longitud. Cada aminoácido del espaciador dipéptido o tripéptido puede ser el mismo que o diferente de otro aminoácido o aminoácidos del dipéptido o tripéptido y puede seleccionarse independientemente entre el grupo que consiste en: aminoácidos de origen natural y/o de origen no natural, incluyendo, por ejemplo, cualquiera de los isómeros D o L de los aminoácidos de origen natural (Ala, Cys, Glu, Asp, Thr, Val, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr), o cualquier isómero D o L de los aminoácidos de origen no natural seleccionados del grupo constituido por:  $\beta$ -alanina ( $\beta$ -Ala), N- $\alpha$ -metil alanina (Me-Ala), ácido aminobutírico (Abu),

ácido  $\gamma$ -aminobutírico ( $\gamma$ -Abu), ácido aminoheptanoico ( $\epsilon$ -Ahx), ácido aminoisobutírico (Aib), ácido aminometilpirrolo-carboxílico, ácido aminopiperidincarboxílico, aminoserina (Ams), ácido aminotetrahidropirano-4-carboxílico, arginina N-metoxi-N-metil amida, ácido  $\beta$ -aspártico ( $\beta$ -Asp), ácido azetidín-carboxílico, 3-(2-benzotiazolil) alanina,  $\alpha$ -terc-butilglicina, ácido 2-amino-5-ureido-n-valérico (citrulina, Cit),  $\beta$ -Ciclohexilalanina (Cha), acetamidometilo-cisteína, ácido diaminobutanoico (Dab), ácido diaminopropiónico (Dpr), dihidroxifenilalanina (DOPA), dimetil-tiazolidina (DMTA), ácido  $\gamma$ -glutámico ( $\gamma$ -Glu), homoserina (Hse), hidroxiprolina (Hyp), isoleucina N-metoxi-N-metil amida, metil-isoleucina (Melle), ácido isonipecótico (ISN), metil-leucina (MeLeu), metil-lisina, dimetil-lisina, trimetil-lisina, metanoprolina, metionina-sulfóxido (Met(O)), metionina-sulfona (Met(O<sub>2</sub>)), norleucina (Nle), metil-norleucina (Me-Nle), norvalina (Nva), ornitina (Orn), ácido para-aminobenzoico (PABA), penicilamina (Pen), metilfenilalanina (MePhe), 4-clorofenilalanina (Phe (4-Cl)), 4-fluorofenilalanina (Phe (4-F)), 4-nitrofenilalanina (Phe (4-NO<sub>2</sub>)), 4-cianofenilalanina ((Phe (4-CN))), fenilglicina (PHG), piperidinilalanina, piperidinilglicina, 3,4-deshidroprolina, pirrolidinilalanina, sarcosina (Sar), selenocisteína (Sec), O-bencil-fosfo-serina, ácido 4-amino-3-hidroxi-6-metilheptanoico (Sta), ácido 4-amino-5-ciclohexil-3-hidroxipentanoico (ACHPA), ácido 4-amino-3-hidroxi-5-fenilpentanoico (AHPPA), ácido 1,2,3,4-tetrahidro-isoquinolina-3-carboxílico (Tic), tetrahidropiranglicina, tienilalanina (Thi), O-bencil-fosfotirosina, O-fosfotirosina, metoxitirosina, etoxitirosina, O-(bis-dimetilamino-fosfono)-tirosina, tirosina tetrabutilamina sulfato, metil-valina (MeVal), y ácido 3-mercaptopropiónico alquilado.

**[0179]** En algunas realizaciones, el espaciador comprende una carga global negativa, por ejemplo, comprende uno o dos aminoácidos cargados negativamente. En algunas realizaciones, el dipéptido no es ninguno de los dipéptidos de estructura general AB, donde A se selecciona del grupo que consiste en Gly, Gln, Ala, Arg, Asp, Asn, Ile, Leu, Val, Phe y Pro, en el que B se selecciona entre el grupo que consiste en Lys, His, Trp. En algunas realizaciones, el espaciador dipéptido se selecciona del grupo que consiste en: Ala-Ala,  $\beta$ -Ala,  $\beta$ -Ala, Leu-Leu, Pro-Pro, ácido  $\gamma$ -aminobutírico-ácido  $\gamma$ -aminobutírico, y  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu.

**[0180]** En algunas realizaciones de ejemplo, el péptido de glucagón se modifica para comprender un grupo acilo, por acilación de una amina, hidroxilo o tiol de un espaciador, cuyo espaciador está unido a una cadena lateral de un aminoácido en la posición 10, 20, 24, o 29, o en el aminoácido C-terminal del péptido de glucagón.

**[0181]** En realizaciones aún más específicas, el grupo acilo está unido al aminoácido en la posición 10 del péptido de glucagón y, opcionalmente, la longitud del espaciador y grupo acilo es de 14 a 28 átomos. El aminoácido en la posición 10, en algunos aspectos, es un aminoácido de Fórmula I, por ejemplo, Lys, o un aminoácido disustituido relacionado con la Fórmula I. En realizaciones más específicas, el péptido de glucagón carece de un puente intramolecular, por ejemplo, un puente intramolecular covalente. El péptido de glucagón, por ejemplo, puede ser un péptido que comprende uno o más aminoácidos alfa, alfa-disustituido, por ejemplo, AIB, para la estabilización de la hélice alfa del péptido. Por consiguiente, el péptido similar a glucagón acilado puede comprender la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 555-561 y 610-612, los péptidos que contienen AIB de las tablas 20 y 28. Como se muestra en este documento, tales péptidos que comprenden un espaciador acilado unido covalentemente a la cadena lateral del aminoácido en la posición 10 exhiben mayor potencia en los receptores de GLP-1, y glucagón.

**[0182]** Los métodos adecuados de acilación de péptidos a través de aminas, hidroxilos, y tioles son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, el Ejemplo 19 (para los métodos de acilación a través de una amina), Miller, *Biochem Biophys Res Commun* 218: 377-382 (1996); Shimohigashi y Stammer, *Int J Pept Protein Res* 19: 54-62 (1982); y Previero et al, *Biochim Biophys Acta* 263: 7-13. (1972) (para métodos de acilación a través de un hidroxilo); y San y Silvius, *J Pept Res* 66: 169-180 (2005) (para los métodos de acilación a través de un tiol); *Bioconjugate Chem.: "Chemical Modifications of Proteins: History and Applications"* Páginas 1, 2-12 (1990); Hashimoto et al., *Pharmaceutical Res. "Synthesis of Palmitoyl Derivatives of Insulin and their Biological Activity"* Vol. 6, No: 2 pág.171-176 (1989).

**[0183]** El grupo acilo del péptido de glucagón acilado puede ser de cualquier tamaño, por ejemplo, cadena de carbono de cualquier longitud, y puede ser lineal o ramificado. En algunas realizaciones específicas de la invención, el grupo acilo es un ácido graso de C4 a C30. Por ejemplo, el grupo acilo puede ser cualquiera de un ácido graso C4, ácido graso C6, ácido graso C8, ácido graso C10, ácidos grasos C12, ácido graso C14, ácido graso C16, ácido graso C18, ácido graso C20, ácido graso C22, ácido graso C24, ácido graso C26, ácido graso C28, o un ácido graso C30. En algunas realizaciones, el grupo acilo es un ácido graso C8 a C20, por ejemplo, un ácido graso C14 o un ácido graso C16.

**[0184]** En una realización alternativa, el grupo acilo es un ácido biliar. El ácido biliar puede ser cualquier ácido biliar adecuado, incluyendo, pero no limitado a, ácido cólico, ácido quenodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido litocólico, ácido taurocólico, ácido glicocólico, y ácido colesterol.

**[0185]** En algunas realizaciones de la descripción, el péptido de glucagón se modifica para comprender un grupo acilo, por acilación de un alcano de cadena larga por el péptido de glucagón. En aspectos específicos, el alcano de cadena larga comprende un grupo amina, hidroxilo, o tiol (por ejemplo, octadecilamina, tetradecanol, y hexadecanotiol) que reacciona con un grupo carboxilo, o forma activada del mismo, del péptido de glucagón. El grupo carboxilo, o forma activada del mismo, del péptido de glucagón pueden ser parte de una cadena lateral de un

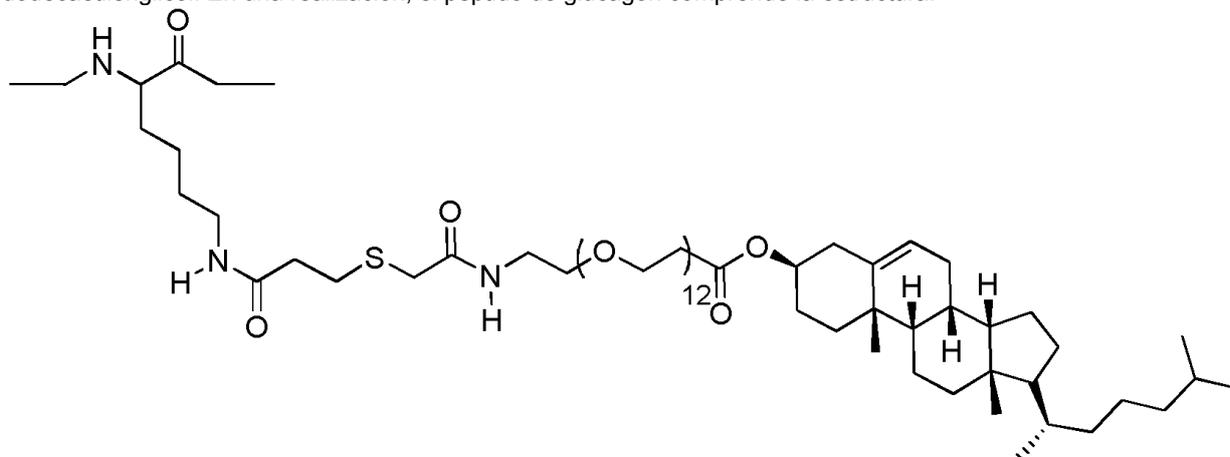
aminoácido (por ejemplo, ácido glutámico, ácido aspártico) del péptido de glucagón o pueden ser parte de la cadena principal del péptido.

[0186] En ciertas realizaciones, el péptido de glucagón se modifica para comprender un grupo acilo por acilación de un alcano de cadena larga por un separador que se une al péptido de glucagón. En aspectos específicos, el alcano de cadena larga comprende un grupo amina, hidroxilo, o tiol que reacciona con un grupo carboxilo, o forma activada del mismo, del espaciador. Los espaciadores adecuados que comprenden un grupo carboxilo, o forma activada del mismo, se describen en el presente documento e incluyen, por ejemplo, espaciadores bifuncionales, por ejemplo, aminoácidos, dipéptidos, tripéptidos, espaciadores bifuncionales hidrófilos y espaciadores bifuncionales hidrófobos.

[0187] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "forma activada de un grupo carboxilo" se refiere a un grupo carboxilo con la fórmula general  $R(C=O)X$ , en donde X es un grupo saliente y R es el péptido de glucagón o el espaciador. Por ejemplo, las formas activadas de un grupo carboxilo pueden incluir, pero no se limitan a, cloruros de acilo, anhídridos, y ésteres. En algunas realizaciones, el grupo carboxilo activado es un éster con un éster de N-hidroxisuccinimida (NHS) como grupo saliente.

[0188] Con respecto a estos aspectos de la descripción, en el que se acila un alcano de cadena larga por el péptido de glucagón o el espaciador, el alcano de cadena larga puede ser de cualquier tamaño y puede comprender cualquier longitud de cadena de carbono. El alcano de cadena larga puede ser lineal o ramificado. En ciertos aspectos, el alcano de cadena larga es un alcano C4 a C30. Por ejemplo, el alcano de cadena larga puede ser cualquiera de un alcano C4, alcano C6, alcano C8, alcano C10, alcano C12, alcano C14, alcano C16, alcano C18, alcano C20, alcano C22, alcano C24, alcano C26, alcano C28, o un alcano C30. En algunas realizaciones, el alcano de cadena larga comprende un alcano C8 a C20, por ejemplo, un alcano C14, alcano C16, o un alcano C18.

[0189] Además, en algunas realizaciones, se acila una amina, hidroxilo, o grupo tiol del péptido de glucagón con un ácido colesterol. En realizaciones específicas, el péptido de glucagón está unido con el ácido colesterol a través de un espaciador de Cys modificado, es decir, un espaciador de ácido 3-mercaptopropiónico alquilado. El espaciador de des-amino Cys alquilado puede ser, por ejemplo, un espaciador de des-amino Cys que comprende un grupo dodecaetilenglicol. En una realización, el péptido de glucagón comprende la estructura:



[0190] Los péptidos de glucagón acilados descritos en este documento se pueden modificar adicionalmente para comprender un grupo hidrófilo. En algunas realizaciones específicas, el grupo hidrófilo puede comprender una cadena de polietilenglicol (PEG). La incorporación de un grupo hidrófilo se puede realizar a través de cualquier medio adecuado, tal como cualquiera de los métodos descritos en este documento. En este sentido, el péptido de glucagón acilado puede comprender la SEQ ID NO: 1, incluyendo cualquiera de las modificaciones descritas en el presente documento, en el que al menos uno de los aminoácidos en las posiciones 10, 20, 24, y 29 comprende un grupo acilo y al menos uno de los aminoácidos en las posiciones 16, 17, 21, 24, ó 29, una posición dentro de una extensión C-terminal, o el aminoácido C-terminal, se modifican a una Cys, Lys, Orn, homo-Cys, o Ac-Phe, y la cadena lateral del aminoácido está unida covalentemente a un grupo hidrófilo (por ejemplo, PEG). En algunas realizaciones, el grupo acilo está unido a la posición 10, opcionalmente a través de un espaciador que comprende Cys, Lys, Orn, homo-Cys, o Ac-Phe, y el grupo hidrófilo se incorpora en un residuo de Cys en la posición 24.

[0191] Alternativamente, el péptido de glucagón acilado puede comprender un espaciador, en el que el espaciador está acilado y modificado para comprender el grupo hidrófilo. Los ejemplos no limitantes de espaciadores adecuados incluyen un espaciador que comprende uno o más aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en Cys, Lys, Orn, homo-Cys, y Ac-Phe.

[0192] En un aspecto específico de la descripción, el péptido similar al glucagón acilado comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NOs: 534-544 y 546-549.

*Alquilación*

**[0193]** Según algunas realizaciones, el péptido de glucagón se modifica para comprender un grupo alquilo, por ejemplo, un grupo alquilo que no es natural en un aminoácido (por ejemplo, un grupo alquilo que es no nativo a un aminoácido natural). Sin que se una a ninguna teoría particular, se cree que la alquilación de péptidos de glucagón logrará similares efectos, si no iguales, que la acilación de los péptidos de glucagón, por ejemplo, una vida media prolongada en la circulación, un retraso en la aparición de la acción, una duración prolongada de la acción, una resistencia mejorada a las proteasas, tales como DPP-IV, y el aumento de la potencia en los receptores de GLP-1 y glucagón.

**[0194]** La alquilación puede llevarse a cabo en cualquier posición dentro del péptido del glucagón, incluyendo cualquiera de las posiciones 1-29, una posición dentro de una extensión C-terminal, o el aminoácido C-terminal, siempre que la actividad de glucagón se mantenga. Los ejemplos no limitantes incluyen las posiciones 5, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 27, 28, o 29. El grupo alquilo puede unirse covalentemente directamente a un aminoácido del péptido de glucagón, o indirectamente a un aminoácido del péptido de glucagón a través de un espaciador, en el que el espaciador se coloca entre el aminoácido del péptido de glucagón y el grupo alquilo. Los péptidos de glucagón se pueden alquilar en la misma posición de aminoácido en la que está unido un grupo hidrófilo, o en una posición de aminoácido diferente. Los ejemplos no limitantes incluyen la alquilación en la posición 10 y la pegilación en una o más posiciones en la parte C-terminal del péptido de glucagón, por ejemplo, la posición 24, 28, ó 29, dentro de una extensión C-terminal, o en el extremo C-terminal (por ejemplo, a través de la adición de una Cys C-terminal).

**[0195]** En un aspecto específico de la invención, el péptido de glucagón se modifica para comprender un grupo alquilo mediante la alquilación directa de una amina, hidroxilo, o tiol de una cadena lateral de un aminoácido del péptido de glucagón. En algunas realizaciones, la alquilación es en la posición 10, 20, 24, ó 29. En este sentido, el péptido de glucagón alquilado puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, o una secuencia de aminoácidos modificada de la misma que comprende una o más de las modificaciones de aminoácidos descritas en el presente documento, con al menos uno de los aminoácidos en las posiciones 10, 20, 24, ó 29 modificado a cualquier aminoácido que comprende una amina, hidroxilo, o tiol en la cadena lateral. En algunas realizaciones específicas aquí descritas, la alquilación directa del péptido de glucagón se produce a través de la amina, hidroxilo, o tiol de la cadena lateral del aminoácido en la posición 10.

**[0196]** En algunas realizaciones, el aminoácido que comprende una amina en la cadena lateral es un aminoácido de Fórmula I. En algunas realizaciones de ejemplo, el aminoácido de Fórmula I es el aminoácido en el que n es 4 (Lys) o n es 3 (Orn).

**[0197]** En otras realizaciones, el aminoácido que comprende un hidroxilo en la cadena lateral es un aminoácido de Fórmula II. En algunas realizaciones de ejemplo, el aminoácido de Fórmula II es el ácido amino en el que n es 1 (Ser).

**[0198]** En aún otras realizaciones, el aminoácido que comprende un tiol en la cadena lateral es un aminoácido de Fórmula III. En algunas realizaciones de ejemplo, el aminoácido de Fórmula III es el ácido amino en el que n es 1 (Cys).

**[0199]** En otras realizaciones, el aminoácido que comprende una amina hidroxilo, o tiol en la cadena lateral, es un aminoácido disustituido que comprende la misma estructura de la Fórmula I, Fórmula II o Fórmula III, excepto que el hidrógeno unido al carbono alfa del aminoácido de Fórmula I, Fórmula II, o fórmula III se sustituye por una segunda cadena lateral.

**[0200]** En una realización de la invención, el péptido de glucagón alquilado comprende un espaciador entre el antagonista y el grupo alquilo. En algunas realizaciones, el péptido de glucagón se une covalentemente al espaciador, que está unido covalentemente al grupo alquilo. En algunas realizaciones de ejemplo, el péptido de glucagón se modifica para comprender un grupo alquilo mediante la alquilación de una amina, hidroxilo, o tiol de un espaciador, cuyo espaciador está unido a una cadena lateral de un aminoácido en la posición 10, 20, 24, ó 29 del péptido de glucagón. El aminoácido al que se une el espaciador puede ser cualquier aminoácido que comprende un grupo que permite la unión al espaciador. Por ejemplo, un aminoácido que comprende NH<sub>2</sub>, -OH, o -COOH en la cadena lateral (por ejemplo, Lys, Orn, Ser, Asp, o Glu) es adecuado. En este sentido, el péptido de glucagón alquilado puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, o una secuencia de aminoácidos modificada de la misma que comprende una o más de las modificaciones de aminoácidos descritas en el presente documento, con al menos uno de los aminoácidos en las posiciones 10, 20, 24, y 29 modificado a cualquier aminoácido que comprende una amina, hidroxilo o carboxilato en la cadena lateral.

**[0201]** En algunas realizaciones, el espaciador es un aminoácido que comprende una amina, hidroxilo o tiol en la cadena lateral o un dipéptido o tripéptido que comprende un aminoácido que comprende una amina, hidroxilo, o tiol en la cadena lateral.

**[0202]** Cuando la alquilación se produce a través de un grupo amina de un espaciador, la alquilación puede tener lugar a través de la amina alfa del aminoácido o una amina de la cadena lateral. En el caso en el que la amina alfa está alquilada, el aminoácido espaciador puede ser cualquier aminoácido. Por ejemplo, el aminoácido espaciador puede ser un aminoácido hidrófobo, por ejemplo, Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Trp, Met, Phe, Tyr, ácido 6-aminohexanoico, ácido 5-aminovalérico, ácido 7-aminoheptanoico y ácido 8-aminooctanoico. Alternativamente, el aminoácido espaciador puede ser un residuo ácido, por ejemplo, Asp y Glu. En el caso en el que la amina de la cadena lateral del aminoácido espaciador está alquilada, el aminoácido espaciador es un aminoácido que comprende una amina de la cadena lateral, por ejemplo, un aminoácido de Fórmula I (por ejemplo, Lys u Orn). En este caso, es posible alquilar la amina alfa y la amina de la cadena lateral del aminoácido espaciador, de manera que el antagonista de glucagón se dialquila. Las realizaciones de la invención incluyen tales moléculas dialquiladas.

**[0203]** Cuando la alquilación se produce a través de un grupo hidroxilo de un espaciador, el aminoácido o uno de los aminoácidos del dipéptido o tripéptido puede ser un aminoácido de Fórmula II. En una realización de ejemplo específica, el aminoácido es Ser.

**[0204]** Cuando la alquilación se produce a través de un grupo tiol de un espaciador, el aminoácido o uno de los aminoácidos del dipéptido o tripéptido puede ser un aminoácido de Fórmula III. En una realización de ejemplo específica, el aminoácido es Cys.

**[0205]** En algunas realizaciones, el espaciador es un espaciador bifuncional hidrófilo. En ciertas realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófilo comprende dos o más grupos reactivos, por ejemplo, una amina, un hidroxilo, un tiol, y un grupo carboxilo o cualquiera de sus combinaciones. En ciertas realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófilo comprende un grupo hidroxilo y un carboxilato. En otras realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófilo comprende un grupo amina y un carboxilato. En otras realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófilo comprende un grupo tiol y un carboxilato. En realizaciones específicas, el espaciador comprende un amino poli (alquiloxi) carboxilato. En este sentido, el espaciador puede comprender, por ejemplo,  $\text{NH}_2(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$ , en el que  $m$  es cualquier número entero de 1 a 6 y  $n$  es cualquier número entero de 2 a 12, tal como, por ejemplo, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico, que está disponible comercialmente de Peptides International, Inc. (Louisville, KY).

**[0206]** En algunas realizaciones, el espaciador es un espaciador bifuncional hidrófobo. En ciertas realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófobo comprende dos o más grupos reactivos, por ejemplo, una amina, un hidroxilo, un tiol, y un grupo carboxilo o cualquiera de sus combinaciones. En ciertas realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófobo comprende un grupo hidroxilo y un carboxilato. En otras realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófobo comprende un grupo amina y un carboxilato. En otras realizaciones, el espaciador bifuncional hidrófobo comprende un grupo tiol y un carboxilato. Los espaciadores bifuncionales hidrófobos adecuados que comprenden un carboxilato, y un grupo hidroxilo o un grupo tiol son conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, ácido 8-hidroxiocetanoico y ácido 8-mercaptooctanoico.

**[0207]** El espaciador (por ejemplo, aminoácido, dipéptido, tripéptido, espaciador bifuncional hidrófilo, o espaciador bifuncional hidrófobo) en realizaciones específicas tiene de 3 a 10 átomos (por ejemplo, 6 a 10 átomos de, (por ejemplo, 6, 7, 8, 9, o 10 átomos)) de longitud. En realizaciones más específicas, el espaciador tiene de aproximadamente 3 a 10 átomos (por ejemplo, 6 a 10 átomos) de longitud y el grupo alquilo es un grupo alquilo C12 a C18, por ejemplo, un grupo alquilo C14, un grupo alquilo C16, de manera que la longitud total del espaciador y grupo alquilo es de 14 a 28 átomos, por ejemplo, aproximadamente 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, o 28 átomos. En algunas realizaciones, la longitud del espaciador y grupo alquilo es de 17 a 28 (por ejemplo, 19 a 26, 19 a 21) átomos.

**[0208]** Según ciertas realizaciones anteriores, el espaciador bifuncional puede ser un aminoácido sintético o de origen natural que comprende una cadena principal de aminoácido que tiene de 3 a 10 átomos de longitud (por ejemplo, ácido 6-aminohexanoico, ácido 5-aminovalérico, ácido 7-aminoheptanoico, y ácido 8-aminooctanoico). Alternativamente, el espaciador puede ser un espaciador dipéptido o tripéptido que tiene una cadena principal peptídica que tiene de 3 a 10 átomos (por ejemplo, 6 a 10 átomos) de longitud. El espaciador dipéptido o tripéptido puede estar compuesto de aminoácidos naturales y/o no naturales, incluyendo, por ejemplo, cualquiera de los aminoácidos indicados en el presente documento. En algunas realizaciones, el espaciador comprende una carga global negativa, por ejemplo, comprende uno o dos aminoácidos cargados negativamente. En algunas realizaciones, el espaciador dipéptido se selecciona del grupo que consiste en: Ala-Ala,  $\beta$ -Ala,  $\beta$ -Ala, Leu-Leu, Pro-Pro, ácido  $\gamma$ -aminobutírico-ácido  $\gamma$ -aminobutírico, y  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu.

**[0209]** Los métodos adecuados de alquilación de péptido a través de aminas, hidroxilos, tioles y son conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede utilizar una síntesis de éter de Williamson para formar un enlace éter entre un grupo hidroxilo del péptido de glucagón y el grupo alquilo. Además, una reacción de sustitución nucleófila del péptido con un haluro de alquilo puede dar lugar a cualquiera de un enlace éter, tioéter, o amino.

**[0210]** El grupo alquilo del péptido de glucagón alquilado puede ser de cualquier tamaño, por ejemplo, una cadena de carbono de cualquier longitud, y puede ser lineal o ramificado. En algunas realizaciones de la invención, el grupo alquilo es un alquilo C4 a C30. Por ejemplo, el grupo alquilo puede ser cualquiera de un grupo alquilo C4, alquilo C6,

alquilo C8, alquilo C10, alquilo C12, alquilo C14, alquilo C16, alquilo C18, alquilo C20, alquilo C22, alquilo C24, alquilo C26, alquilo C28, o un alquilo C30. En algunas realizaciones, el grupo alquilo es un alquilo C8 a C20, por ejemplo, un alquilo C14 o un alquilo C16.

5 [0211] En algunas realizaciones específicas, el grupo alquilo comprende un grupo esteroide de un ácido biliar, por ejemplo, ácido cólico, ácido quenodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido litocólico, ácido taurocólico, ácido glicocólico, y ácido colesterol.

10 [0212] En algunas realizaciones de la invención, el péptido de glucagón se modifica para comprender un grupo alquilo por reacción de un alcano nucleófilo de cadena larga con el péptido de glucagón, en el que el péptido de glucagón comprende un grupo saliente adecuado para la sustitución nucleófila. En aspectos específicos, el grupo nucleófilo del alcano de cadena larga comprende un grupo amina, hidroxilo, o tiol (por ejemplo, octadecilamina, tetradecanol, y hexadecanotiol). El grupo saliente del péptido de glucagón puede ser parte de una cadena lateral de un aminoácido o puede ser parte de la cadena principal del péptido. Los grupos salientes adecuados incluyen, por ejemplo, N-hidroxisuccinimida, halógenos, y ésteres de sulfonato.

15 [0213] En ciertas realizaciones, el péptido de glucagón se modifica para comprender un grupo alquilo haciendo reaccionar el alcano nucleófilo de cadena larga con un espaciador que está unido al péptido de glucagón, en el que el espaciador comprende el grupo saliente. En aspectos específicos, el alcano de cadena larga comprende un grupo amina, hidroxilo, o tiol. En ciertas realizaciones, el espaciador que comprende el grupo saliente puede ser cualquier espaciador discutido en el presente documento, por ejemplo, aminoácidos, dipéptidos, tripéptidos, espaciadores bifuncionales hidrófilos y espaciadores bifuncionales hidrófobos que comprende además un grupo saliente adecuado.

20 [0214] Con respecto a estos aspectos de la invención, en el que un alcano de cadena larga es alquilado por el péptido de glucagón o el espaciador, el alcano de cadena larga puede ser de cualquier tamaño y puede comprender cualquier longitud de cadena de carbono. El alcano de cadena larga puede ser lineal o ramificado. En ciertos aspectos, el alcano de cadena larga es un alcano C4 a C30. Por ejemplo, el alcano de cadena larga puede ser cualquiera de un alcano C4, alcano C6, alcano C8, alcano C10, alcano C12, alcano C14, alcano C16, alcano C18, alcano C20, alcano C22, alcano C24, alcano C26, alcano C28, o un alcano C30. En algunas realizaciones, el alcano de cadena larga comprende un alcano C8 a C20 alcano, por ejemplo, un alcano C14, alcano C16, o un alcano C18.

25 [0215] Además, en algunas realizaciones, la alquilación puede tener lugar entre el péptido de glucagón y un resto de colesterol. Por ejemplo, el grupo hidroxilo del colesterol puede desplazar un grupo saliente en el alcano de cadena larga para formar un producto peptídico colesterol-glucagón.

30 [0216] Los péptidos de glucagón alquilados descritos en este documento pueden modificarse adicionalmente para comprender un grupo hidrófilo. En algunas realizaciones específicas, el grupo hidrófilo puede comprender una cadena de polietilenglicol (PEG). La incorporación de un grupo hidrófilo se puede lograr a través de cualquier medio adecuado, tal como cualquiera de los métodos descritos en el presente documento. En este sentido, el péptido de glucagón alquilado puede comprender la SEQ ID NO: 1, o una secuencia de aminoácidos modificada de la misma que comprende una o más de las modificaciones de aminoácidos descritas en este documento, en el que al menos uno de los aminoácidos en las posiciones 10, 20, 24, y 29 comprenden un grupo alquilo y al menos uno de los aminoácidos en la posición 16, 17, 21, 24, y 29, una posición dentro de una extensión C-terminal o el aminoácido C-terminal se modifican a una Cys, Lys, Orn, homo-Cys, o Ac-Phe, y la cadena lateral del aminoácido está unida covalentemente a un grupo hidrófilo (por ejemplo, PEG). En algunas realizaciones, el grupo alquilo está unido a la posición 10, opcionalmente a través de un espaciador que comprende Cys, Lys, Orn, homo-Cys, o Ac-Phe, y el grupo hidrófilo se incorpora en un residuo de Cys en la posición 24.

35 [0217] Alternativamente, el péptido de glucagón alquilado puede comprender un espaciador, donde el espaciador está alquilado y modificado para comprender el grupo hidrófilo. Ejemplos no limitantes de espaciadores adecuados incluyen un espaciador que comprende uno o más aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en Cys, Lys, Orn, homo-Cys, y Ac-Phe.

#### 55 *Truncamiento C-terminal*

[0218] En algunas realizaciones, los péptidos similares al glucagón descritos en el presente documento se modifican adicionalmente por truncamiento o delección de uno o dos aminoácidos del extremo C-terminal del péptido similar al glucagón (es decir, la posición 29 y/o 28) sin afectar a la actividad y/o potencia en los receptores de glucagón y GLP-1. A este respecto, el péptido similar al glucagón puede comprender los aminoácidos 1-27 o 1-28 del péptido glucagón nativo (SEQ ID NO: 1), opcionalmente con una o más modificaciones descritas en este documento.

60 [0219] En una realización, el péptido agonista de glucagón truncado comprende la SEQ ID NO: 550 o la SEQ ID NO: 551. En otra realización, el péptido agonista de glucagón truncado comprende la SEQ ID NO: 552 o la SEQ ID NO: 553.

65

*Residuos C-terminal cargados*

5 **[0220]** La solubilidad del péptido similar al glucagón de la SEQ ID NO: 20 se puede mejorar más, por ejemplo, mediante la introducción de uno, dos, tres o más aminoácidos cargados en la porción C-terminal del péptido similar al glucagón de la SEQ ID NO: 20, preferiblemente en una posición C-terminal en la posición 27. Dicho aminoácido cargado se puede introducir mediante la sustitución de un aminoácido nativo por un aminoácido cargado, por ejemplo, en las posiciones 28 ó 29, o alternativamente mediante la adición de un aminoácido cargado, por ejemplo, después de la posición 27, 28 o 29. En realizaciones de ejemplo, uno, dos, tres o todos los aminoácidos cargados están cargados negativamente. Alternativamente, la solubilidad también se puede mejorar mediante la unión covalente de grupos hidrófilos, tales como polietilenglicol, al péptido.

## Realizaciones de ejemplo

15 **[0221]** Según una realización, se proporciona un análogo de glucagón que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 55, en el que dicho análogo difiere de SEQ ID NO: 55 en 1 a 3 aminoácidos, seleccionados de las posiciones 1, 2, 3, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 17, 18, 19, 21, 24, 27, 28, y 29, en el que dicho péptido similar a glucagón muestra al menos 20% de la actividad de GLP-1 nativo en el receptor de GLP 1.

20 **[0222]** Según una realización, se proporciona un coagonista de receptores de glucagón/GLP-1 que comprende la secuencia: NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Xaa-Xaa-Arg-Arg-Ala-Xaa-Asp-Phe-Val-Xaa-Trp-Leu-Met-Xaa-Xaa-R (SEQ ID NO: 33), en la que Xaa en la posición 15 se selecciona del grupo de aminoácidos que consiste en Asp, Glu, ácido cisteico, ácido homoglutámico y ácido homocisteico, Xaa en la posición 16 se selecciona del grupo de aminoácidos que consiste en Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico y ácido homocisteico, Xaa en la posición 20 es Gln o Lys, Xaa en la posición 24 es Gln o Glu, Xaa en la posición 28 es Asn, Lys o un aminoácido ácido, Xaa en la posición 29 es Thr, Gly o un aminoácido ácido, y R es COOH o CONH<sub>2</sub>, con la condición de que cuando la posición 16 es serina, la posición 20 es Lys, o, alternativamente, cuando la posición 16 es serina, la posición 24 es Glu y, o bien la posición 20 o la posición 28 es Lys. En una realización, el coagonista de receptores de glucagón/GLP-1 comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33, en la que el aminoácido en la posición 28 es ácido aspártico y el aminoácido en la posición 29 es ácido glutámico. En otra realización, el aminoácido en la posición 28 es la asparagina nativa, el aminoácido en la posición 29 es glicina y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29 o SEQ ID NO: 65 está unida covalentemente al extremo carboxi de la SEQ ID NO: 33.

35 **[0223]** En una realización, se proporciona un coagonista que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33, en la que un aminoácido ácido adicional se ha añadido al extremo carboxi del péptido. En una realización adicional, el aminoácido carboxi terminal del análogo de glucagón tiene una amida en lugar del grupo de ácido carboxílico del aminoácido natural. En una realización, el análogo de glucagón comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43 y SEQ ID NO: 44.

40 **[0224]** Según una realización, se proporciona un análogo de péptido de glucagón de la SEQ ID NO: 33, en la que dicho análogo difiere de SEQ ID NO: 33 en 1 a 3 aminoácidos, seleccionados de las posiciones 1, 2, 3, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 17, 18, 19, 21 y 27, con la condición de que cuando el aminoácido en la posición 16 es serina, la posición 20 es lisina o se forma un puente de lactama entre el aminoácido en la posición 24 y el aminoácido en la posición 20 o la posición 28. Según una realización, el análogo difiere de SEQ ID NO: 33 en 1 a 3 aminoácidos seleccionados de las posiciones 1, 2, 3, 21 y 27. En una realización, el análogo de péptido de glucagón de la SEQ ID NO: 33 difiere de la secuencia en 1 a 2 aminoácidos, o en una realización en un solo aminoácido, seleccionados de las posiciones 1, 2, 3, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 17, 18, 19, 21 y 27, con la condición de que cuando el aminoácido en la posición 16 es serina, la posición 20 es lisina o se forma un puente de lactama entre el aminoácido en la posición 24 y el aminoácido en la posición 20 o la posición 28.

50 **[0225]** Según otra realización, se proporciona un agonista de receptor GLP-1 relativamente selectivo que comprende la secuencia NH<sub>2</sub>-His-Ser-Xaa-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Xaa-Xaa-Arg-Arg-Ala-Xaa-Asp-Phe-Val-Xaa-Trp-Leu-Met-Xaa-Xaa-R (SEQ ID NO: 53), en la que Xaa en la posición 3 se selecciona del grupo de aminoácidos que consiste en Glu, Orn o Nle, Xaa en la posición 15 se selecciona del grupo de aminoácidos que consiste en Asp, Glu, ácido cisteico, ácido homoglutámico y ácido homocisteico, Xaa en la posición 16 se selecciona del grupo de aminoácidos que consiste en Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico y ácido homocisteico, Xaa en la posición 20 es Gln o Lys, Xaa en la posición 24 es Gln o Glu, Xaa en la posición 28 es Asn, Lys o un aminoácido ácido, Xaa en la posición 29 es Thr, Gly o un aminoácido ácido, y R es COOH, CONH<sub>2</sub>, SEQ ID NO: 26 o SEQ ID NO: 29, con la condición de que cuando la posición 16 es serina, la posición 20 es Lys, o, alternativamente, cuando la posición 16 es serina, la posición 24 es Glu y la posición 20 o la posición 28 es Lys. En una realización, el aminoácido en la posición 3 es el ácido glutámico. En una realización, el aminoácido ácido sustituido en la posición 28 y/o 29 es ácido aspártico o ácido glutámico. En una realización, el péptido similar al glucagón, incluyendo un péptido coagonista, comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33 que comprende además un aminoácido ácido adicional añadido al extremo carboxi del péptido. En una realización adicional, el aminoácido carboxi terminal del análogo de glucagón tiene una amida en lugar del grupo de ácido carboxílico del aminoácido natural.

65

5 [0226] Según una realización, se proporciona un coagonista de receptores de glucagón/GLP-1 que comprende un péptido similar al glucagón modificado seleccionado del grupo que consiste en: NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Xaa-Xaa-Arg-Arg-Ala-Xaa-Asp-Phe-Val-Xaa-Trp-Leu-Met-Xaa-Xaa-R (SEQ ID NO: 34), en la que Xaa en la posición 15 se selecciona del grupo de aminoácidos que consiste en Asp, Glu, ácido cisteico, ácido homoglutámico y ácido homocisteico, Xaa en la posición 16 se selecciona del grupo de aminoácidos que consiste en Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico y ácido homocisteico, Xaa en la posición 20 es Gln o Lys, Xaa en la posición 24 es Gln o Glu y Xaa en la posición 28 es Asn, Asp o Lys, R es COOH o CONH<sub>2</sub>, Xaa en la posición 29 es Thr o Gly, y R es COOH, CONH<sub>2</sub>, SEQ ID NO: 26 o SEQ ID NO: 29, con la condición de que cuando la posición 16 es serina, la posición 20 es Lys, o, alternativamente, cuando la posición 16 es serina, la posición 24 es Glu y la posición 20 o la posición 28 es Lys. En una realización R es CONH<sub>2</sub>, Xaa en la posición 15 es Asp, Xaa en la posición 16 se selecciona del grupo de aminoácidos que consiste en Glu, Gln, ácido homoglutámico y ácido homocisteico, XaaS en las posiciones 20 y 24 son cada uno Gln, Xaa en la posición 28 es Asn o Asp y Xaa en la posición 29 es Thr. En una realización, XaaS en las posiciones 15 y 16 son cada uno Glu, XaaS en las posiciones 20 y 24 son cada uno Gln, Xaa en la posición 28 es Asn o Asp, Xaa en la posición 29 es Thr y R es CONH<sub>2</sub>.

15 [0227] Se ha descrito que ciertas posiciones del péptido glucagón nativo se pueden modificar manteniendo al menos parte de la actividad del péptido parental. Por consiguiente, los solicitantes prevén que uno o más de los aminoácidos situados en las posiciones 2, 5, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 27, 28 o 29 del péptido de SEQ ID NO: 11 puedan ser sustituidos por un aminoácido diferente del presente en el péptido de glucagón nativo, y aún conserve actividad en el receptor de glucagón. En una realización, se cambió el residuo de metionina presente en la posición 27 del péptido nativo por leucina o norleucina para evitar la degradación oxidativa del péptido. En otra realización, el aminoácido en la posición 20 se sustituye por Lys, Arg, Orn o Citrulina y/o la posición 21 se sustituye por Glu, ácido homoglutámico o ácido homocisteico.

25 [0228] En una realización, se proporciona un análogo de glucagón de la SEQ ID NO: 20, en la que de 1 a 6 aminoácidos seleccionados de las posiciones 1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 17, 18, 19, 21, 27, 28 o 29 del análogo difieren de los correspondientes aminoácidos de SEQ ID NO: 1, con la condición de que cuando el aminoácido en la posición 16 es serina, la posición 20 es Lys, o, alternativamente, cuando la posición 16 es serina, la posición 24 es Glu y la posición 20 o la posición 28 es Lys. Según otra realización, se proporciona un análogo de glucagón de la SEQ ID NO: 20 en la que de 1 a 3 aminoácidos seleccionados de las posiciones 1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 27, 28 o 29 del análogo difieren de los correspondientes aminoácidos de SEQ ID NO: 1. En otra realización, se proporciona un análogo de glucagón de la SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 11, en la que de 1 a 2 aminoácidos seleccionados de las posiciones 1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 17, 18, 19, 20 o 21 del análogo difieren de los correspondientes aminoácidos de SEQ ID NO: 1, y en una realización adicional, dichos de uno a dos aminoácidos diferentes representan sustituciones conservadoras de aminoácidos en relación con el aminoácido presente en la secuencia de glucagón nativo (SEQ ID NO: 1). En una realización, se proporciona un péptido similar al glucagón de la SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO 15, en la que el péptido similar al glucagón comprende además uno, dos o tres sustituciones de aminoácidos en posiciones seleccionadas de las posiciones: 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 27 o 29. En una realización, las sustituciones en las posiciones 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 27 o 29 son sustituciones conservadoras de aminoácidos.

45 [0229] Según una realización, se proporciona un coagonista de receptores de glucagón/GLP-1 que comprende una variante de la secuencia de SEQ ID NO 33, en la que de 1 a 10 aminoácidos seleccionados de las posiciones 16, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 27, 28 y 29, respectivamente, de la variante difieren del correspondiente aminoácido de SEQ ID NO: 1. Según una realización, se proporciona una variante de la secuencia de SEQ ID NO 33, en la que la variante difiere de SEQ ID NO: 33 en una o más sustituciones de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en Gln17, Ala18, Glu21, Ile23, Ala24, Val27 y Gly29. Según una realización, se proporciona un coagonista de los receptores de glucagón/GLP-1 que comprenden variantes de la secuencia de SEQ ID NO 33, en la que de 1 a 2 aminoácidos seleccionados de las posiciones 17-26 de la variante difieren de los correspondientes aminoácidos de SEQ ID NO: 1. Según una realización, se proporciona una variante de la secuencia de SEQ ID NO 33, en la que la variante difiere de la SEQ ID NO: 33 en una sustitución de aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Gln17, Ala18, Glu21, Ile23 y Ala24. Según una realización, se proporciona una variante de la secuencia de SEQ ID NO 33, en la que la variante difiere de la SEQ ID NO: 33 en una sustitución de aminoácido en la posición 18, en la que el aminoácido sustituido se selecciona del grupo que consiste en Ala, Ser, Thr, y Gly. Según una realización, se proporciona una variante de la secuencia de SEQ ID NO 33 en la que la variante difiere de la SEQ ID NO: 33 en una sustitución de aminoácidos de Ala en la posición 18. Dichas variaciones están comprendidas por la SEQ ID NO: 55. En otra realización, se proporciona un coagonista de receptores de glucagón/GLP-1 que comprende variantes de la secuencia de SEQ ID NO 33, en la que de 1 a 2 aminoácidos seleccionados de las posiciones 17-22 de la variante difieren de los correspondientes aminoácidos de SEQ ID NO: 1, y en una realización adicional se proporciona una variante de la SEQ ID NO 33, en la que la variante difiere de la SEQ ID NO: 33 en 1 o 2 sustituciones de aminoácidos en las posiciones 20 y 21. De conformidad con una realización, se proporciona un coagonista de receptores de glucagón/GLP-1 que comprende la secuencia: NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Xaa-Xaa-Arg-Arg-Ala-Xaa-Xaa-Phe-Val-Xaa-Trp-Leu-Met-Xaa-Xaa-R (SEQ ID NO: 51), en la que Xaa en la posición 15 es Asp, Glu, ácido cisteico, ácido homoglutámico o ácido homocisteico, Xaa en la posición 16 es Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico, Xaa en la posición 20 es Gln, Lys, Arg, Orn o citrulina, Xaa en la posición 21 es Asp, Glu, ácido homoglutámico o ácido homocisteico, Xaa en la posición 24 es Gln o Glu,

Xaa en la posición 28 es Asn, Lys o un aminoácido ácido, Xaa en la posición 29 es Thr o un aminoácido ácido y R es COOH o CONH<sub>2</sub>. En una realización, R es CONH<sub>2</sub>. Según una realización, se proporciona un coagonista de receptores de glucagón/GLP-1 que comprende una variante de la SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48 o SEQ ID NO: 49, en el que la variante difiere de dicha secuencia en una sustitución de aminoácido en la posición 20. En una realización, la sustitución de aminoácido se selecciona del grupo que consiste en Lys, Arg, Orn o citrulina para la posición 20.

**[0230]** En una realización, se proporciona un agonista de glucagón que comprende un péptido análogo de la SEQ ID NO: 34, en la que el análogo difiere de SEQ ID NO: 34 por tener un aminoácido distinto de serina en la posición 2. En una realización, el residuo de serina es sustituido por ácido aminoisobutírico, D-alanina, y, en una realización, el residuo de serina se sustituye por ácido aminoisobutírico. Tales modificaciones suprimen la escisión por la dipeptidil peptidasa IV, manteniendo la potencia inherente del compuesto parental (por ejemplo, al menos 75, 80, 85, 90, 95% o más de la potencia del compuesto parental). En una realización, se incrementa la solubilidad del análogo, por ejemplo, mediante la introducción de uno, dos, tres o más aminoácidos cargados a la porción C-terminal de glucagón nativo, preferiblemente en una posición C-terminal a la posición 27. En realizaciones de ejemplo, uno, dos, tres o todos los aminoácidos cargados están cargados negativamente. En otra realización, el análogo comprende, además, un aminoácido ácido sustituido por el aminoácido nativo en la posición 28 o 29 o un aminoácido ácido añadido al extremo carboxi del péptido de SEQ ID NO: 34.

**[0231]** En una realización, los análogos de glucagón descritos en el presente documento se modifican adicionalmente en la posición 1 o 2 para reducir la susceptibilidad a la escisión por la dipeptidil peptidasa IV. En una realización, se proporciona un análogo de glucagón de la SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 15, en la que el análogo difiere de la molécula original en una sustitución en la posición 2 y exhibe una susceptibilidad (es decir, resistencia) reducida a la escisión por la dipeptidil peptidasa IV. Más particularmente, en una realización, la posición 2 del péptido análogo se sustituye por un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D-serina, D-alanina, valina, ácido amino n-butírico, glicina, N-metil serina y ácido aminoisobutírico. En una realización, la posición 2 del péptido análogo se sustituye por un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D-serina, D-alanina, glicina, N-metil serina y ácido aminoisobutírico. En otra realización, la posición 2 del péptido análogo se sustituye por un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D-serina, glicina, N-metil serina y ácido aminoisobutírico. En una realización, el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de SEQ ID NO: 21 o SEQ ID NO: 22.

**[0232]** En una realización, se proporciona un análogo de glucagón de la SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 15, en la que el análogo difiere de la molécula original en una sustitución en la posición 1 y muestra una susceptibilidad (es decir, resistencia) reducida a la escisión por la dipeptidil peptidasa IV. Más particularmente, la posición 1 del péptido análogo se sustituye por un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en D-histidina, ácido alfa, alfa-dimetil imizado acético (DMIA), N-metil histidina, alfa-metil histidina, ácido imidazol acético, desaminohistidina, hidroxil-histidina, acetil-histidina y homo-histidina. En otra realización, se proporciona un agonista de glucagón que comprende un péptido análogo de la SEQ ID NO: 34, en la que el análogo difiere de SEQ ID NO: 34 por tener un aminoácido distinto de histidina en la posición 1. En una realización, la solubilidad del análogo aumenta, por ejemplo, mediante la introducción de uno, dos, tres o más aminoácidos cargados a la porción C-terminal de glucagón nativo, preferiblemente en una posición C-terminal a la posición 27. En realizaciones de ejemplo, uno, dos, tres o todos los aminoácidos cargados están cargados negativamente. En otra realización el análogo comprende, además, un aminoácido ácido sustituido por el aminoácido nativo en la posición 28 o 29 o un aminoácido ácido añadido al extremo carboxi del péptido de SEQ ID NO: 34. En una realización, el aminoácido ácido es ácido aspártico o ácido glutámico.

**[0233]** En una realización, el coagonista de receptores de glucagón/GLP-1 comprende una secuencia de SEQ ID NO: 20 que comprende además una extensión carboxi terminal adicional de un aminoácido o un péptido seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28. En la realización en la que un único aminoácido se añade al extremo carboxi terminal de la SEQ ID NO: 20, el aminoácido se selecciona típicamente de uno de los 20 aminoácidos comunes, y en una realización el aminoácido carboxi terminal adicional tiene un grupo amida en lugar del ácido carboxílico del aminoácido nativo. En una realización, el aminoácido adicional se selecciona del grupo que consiste en ácido glutámico, ácido aspártico y glicina.

**[0234]** En una realización alternativa, se proporciona un coagonista de receptores de glucagón/GLP-1, en el que el péptido comprende al menos un anillo de lactama formado entre la cadena lateral de un residuo de ácido glutámico y un residuo de lisina, en el que el residuo de ácido glutámico y el residuo de lisina están separados por tres aminoácidos. En una realización, el aminoácido carboxi terminal del péptido similar al glucagón con lactama tiene un grupo amida en lugar del ácido carboxílico del aminoácido nativo. Más particularmente, en una realización se proporciona un coagonista de glucagón y GLP-1 que comprende un péptido similar al glucagón modificado seleccionado del grupo que consiste en:

NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe- Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu  
Met-Xaa-Xaa-R (SEQ ID NO: 66)  
NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe- Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Arg-Arg-Ala-Lys-Asp-Phe-Val-Gln-Trp Leu-

Met-Xaa-Xaa-R (SEQ ID NO: 67)

NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe- Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp- Ser-Arg-Arg-Ala-Lys-Asp-Phe-Val-Glu-Trp-Leu

Met-Xaa-Xaa-R (SEQ ID NO: 68)

NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe - Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Glu-Trp-Leu

5 Met-Lys-Xaa-R (SEQ ID NO: 69)

NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe- Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Arg-Arg-Ala-Lys-Asp- Phe-Val-Glu-Trp-Leu

Met-Asn-Thr-R (SEQ ID NO: 16)

NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe- Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys Tyr-Leu-Asp-Glu-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Glu-Trp-Leu

Met-Lys-Thr-R (SEQ ID NO: 17)

10 NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Arg-Arg-Ala-Lys-Asp-Phe-Val-Glu-Trp-Leu-

Met- Lys-Thr-R (SEQ ID NO: 18)

15 en la que Xaa en la posición 28 = Asp o Asn, Xaa en la posición 29 es Thr o Gly, R se selecciona del grupo que consiste en COOH, CONH<sub>2</sub>, ácido glutámico, aspártico ácido, glicina, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28, y se forma un puente de lactama entre Lys en la posición 12 y Glu en la posición 16 de SEQ ID NO: 66, entre Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20 de SEQ ID NO: 67, entre Lys en la posición 20 y Glu en la posición 24 de SEQ ID NO: 68, entre Glu en la posición 24 y Lys en la posición 28 de SEQ ID NO: 69, entre Lys en la posición 12 y Glu en la posición 16 y entre Lys en la posición 20 y Glu en la posición 24 de SEQ ID NO: 16, entre Lys en la posición 12 y Glu en la posición 16 y entre Glu en la posición 24 y Lys en la posición 28 de SEQ ID NO: 17 y entre Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20 y entre Glu en la posición 24 y Lys en la posición 28 de SEQ ID NO: 18. En una realización, R se selecciona del grupo que consiste en COOH, CONH<sub>2</sub>, ácido glutámico, aspártico ácido, glicina, el aminoácido en la posición 28 es Asn, y el aminoácido en la posición 29 es treonina. En una realización R es CONH<sub>2</sub>, el aminoácido en la posición 28 es Asn y el aminoácido en la posición 29 es treonina. En otra realización, R se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 29 y SEQ ID NO: 65 y el aminoácido en la posición 29 es glicina.

20 **[0235]** En una realización adicional, el coagonista de receptores de glucagón/GLP-1 se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18, en el que el péptido comprende además una extensión carboxi terminal adicional de un aminoácido o un péptido seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 26 , SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28. En una realización, la extensión terminal comprende la secuencia de SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 29 o SEQ ID NO: 65 y el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de SEQ ID N°: 55. En una realización, el coagonista de receptores de glucagón/GLP-1 comprende la secuencia de SEQ ID NO: 33 en la que el aminoácido en la posición 16 es ácido glutámico, el aminoácido en la posición 20 es lisina, el aminoácido en la posición 28 es asparagina y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID No: 26 o SEQ ID NO: 29 está unida al extremo carboxi terminal de la SEQ ID NO: 33.

35 **[0236]** En la realización en la que un único aminoácido se añade al extremo carboxi terminal de la SEQ ID NO: 20, el aminoácido se selecciona típicamente de uno de los 20 aminoácidos comunes, y en una realización el aminoácido tiene un grupo amida en lugar del ácido carboxílico del aminoácido nativo. En una realización, el aminoácido adicional se selecciona del grupo que consiste en ácido glutámico y ácido aspártico y glicina. En las realizaciones en las que el análogo agonista de glucagón comprende además una extensión carboxi terminal, el aminoácido carboxi terminal de la extensión, en una realización, termina en un grupo amida o un grupo éster en lugar de un ácido carboxílico.

40 **[0237]** En otra realización, el coagonista de los receptores de glucagón/GLP-1 comprende la secuencia: NH<sub>2</sub>-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-Xaa-CONH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 19), en la que Xaa en la posición 30 representa cualquier aminoácido. En una realización, Xaa se selecciona de uno de los 20 aminoácidos comunes, y en una realización el aminoácido es ácido glutámico, ácido aspártico o glicina. La solubilidad de este péptido puede mejorarse aún más mediante la unión covalente de una cadena de PEG a la cadena lateral de aminoácido en la posición 17, 21, 24 o 30 de la SEQ ID NO: 19. En una realización adicional, el péptido comprende una extensión carboxi terminal adicional de un péptido seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28. Según una realización, el coagonista de los receptores de glucagón/GLP-1 comprende la secuencia de SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 y SEQ ID NO: 32.

45 **[0238]** Las modificaciones adicionales específicas de sitio internas a la secuencia de glucagón de la SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 y SEQ ID NO: 64 se pueden realizar para producir un conjunto de agonistas de glucagón que poseen grados variables de agonismo de GLP-1. Por consiguiente, se han preparado y caracterizado péptidos que poseen prácticamente idéntica potencia in vitro en cada receptor. Del mismo modo, se han identificado y caracterizado péptidos con una potencia selectivamente mayor de diez veces en cada uno de los dos receptores. Como se señaló anteriormente, la sustitución del residuo serina en la posición 16 por ácido glutámico aumenta la potencia del glucagón nativo en los receptores de glucagón y GLP-1, pero mantiene aproximadamente una selectividad de diez veces para el receptor de glucagón. Además mediante la sustitución de la glutamina nativa en la

posición 3 por ácido glutámico (SEQ ID NO: 22) se genera un análogo de glucagón que presenta aproximadamente una selectividad de diez veces para el receptor de GLP-1.

5 **[0239]** La solubilidad de los péptidos coagonistas de glucagón/GLP-1 puede aumentarse aún más en soluciones acuosas a pH fisiológico, mientras se conserva la actividad biológica elevada en relación con el glucagón nativo mediante la introducción de grupos hidrófilos en las posiciones 16, 17, 21 y 24 del péptido, o mediante la adición de un único aminoácido modificado (es decir, un aminoácido modificado para comprender un grupo hidrófilo) en el extremo carboxi del péptido coagonista de glucagón/GLP-1. Según una realización, el grupo hidrófilo comprende una cadena de polietileno (PEG). Más particularmente, en una realización, el péptido similar al glucagón comprende la

10 secuencia de SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 o SEQ ID NO: 18 en el que una cadena de PEG está unida covalentemente a la cadena lateral de un aminoácido en la posición 16, 17, 21, 24, 29 o el aminoácido C-terminal del péptido similar al glucagón, con la condición de que cuando el péptido comprende la SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12

15 o SEQ ID NO: 13, la cadena de polietilenglicol se une covalentemente a un residuo de aminoácido en la posición 17, 21 o 24, cuando el péptido comprende la SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 15, la cadena de polietilenglicol se une covalentemente a un residuo de aminoácido en la posición 16, 17 o 21, y cuando el péptido comprende la SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 o SEQ ID NO: 18, la cadena de polietilenglicol se une covalentemente a un residuo de aminoácido en la posición 17 o 21.

20 **[0240]** En una realización, el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12 o SEQ ID NO: 13, en el que una cadena de PEG está unida covalentemente a la cadena lateral de un aminoácido en la posición 17, 21, 24, o el aminoácido C-terminal del péptido similar al glucagón, y el aminoácido carboxi terminal del péptido tiene un grupo amida en lugar del grupo de ácido carboxílico del aminoácido nativo. En una realización, el péptido coagonista de los receptores de glucagón/GLP-1 comprende una secuencia seleccionada del grupo que

25 consiste en SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 y SEQ ID NO: 19, en el que una cadena de PEG está unida covalentemente a la cadena lateral de un aminoácido en la posición 17, 21 o 24 de la SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 y SEQ ID NO: 19, o en la posición 16, 17 o 21 de la SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15 o en la posición 17 o 21 de la SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18 del péptido similar al glucagón. En otra realización, el péptido coagonista de los receptores de glucagón/GLP-1 comprende la secuencia de SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 19, en el que una cadena de PEG está unida covalentemente a la cadena lateral de un aminoácido en la posición 17, 21 o 24 o el aminoácido C-terminal del péptido similar al glucagón.

35 **[0241]** Según una realización, y sometida a las limitaciones condicionantes descritas en los párrafos anteriores, el péptido coagonista de glucagón se modifica para contener una o más sustituciones de aminoácidos en las posiciones 16, 17, 21, 24, o 29 o el aminoácido C-terminal, en el que el aminoácido nativo está sustituido por un aminoácido que tiene una cadena lateral adecuada para la reticulación con grupos hidrófilos, incluyendo, por ejemplo, PEG. El péptido nativo puede estar sustituido con un aminoácido de origen natural o un aminoácido sintético (de origen no natural). Los aminoácidos sintéticos o de origen no natural se refieren a los aminoácidos que

40 no son naturales in vivo pero que, sin embargo, se pueden incorporar en las estructuras peptídicas descritas en el presente documento. Alternativamente, el aminoácido que tiene una cadena lateral adecuada para la reticulación con grupos hidrófilos, incluyendo, por ejemplo, PEG, se puede añadir al extremo carboxi de cualquiera de los análogos de glucagón descritos en este documento. Según una realización, se realiza una sustitución de aminoácido en el péptido coagonista de los receptores de glucagón/GLP-1 en una posición seleccionada del grupo que consiste

45 en 16, 17, 21, 24, o 29 sustituyendo el aminoácido nativo por un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en lisina, cisteína, ornitina, homocisteína y acetil fenilalanina, en el que el aminoácido de sustitución comprende además una cadena de PEG unida covalentemente a la cadena lateral del aminoácido. En una realización, un péptido similar al glucagón seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, y SEQ ID NO: 19 se modifica adicionalmente para comprender una cadena de PEG unida covalentemente a la cadena lateral de un aminoácido en la posición 17 o 21 del péptido similar al glucagón. En una realización, el coagonista de los receptores de glucagón/GLP-1 pegilado comprende además la secuencia de SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 o SEQ ID NO: 29.

55 **[0242]** En otra realización, el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de SEQ ID NO: 55 o SEQ ID NO: 56, que comprende además una extensión C-terminal de la SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 29 o SEQ ID NO: 65 unida al aminoácido C-terminal de la SEQ ID NO: 55 o SEQ ID NO: 56, y, opcionalmente, que comprende además una cadena de PEG unida covalentemente a la cadena lateral de un aminoácido en la posición 17, 18, 21, 24 o 29 o el aminoácido C-terminal del péptido. En otra realización, el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de SEQ ID NO: 55 o SEQ ID NO: 56, en el que una cadena de PEG está unida covalentemente a la cadena lateral de un aminoácido en la posición 21 o 24 del péptido similar al glucagón y el péptido además comprende una extensión C-terminal de la SEQ ID NO: 26, o SEQ ID NO: 29.

60 **[0243]** En otra realización, el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de SEQ ID NO: 55, o SEQ ID NO: 33 o SEQ ID NO: 34, en el que un aminoácido adicional se añade al extremo carboxi de la SEQ ID NO: 33 o SEQ ID NO: 34, y una cadena de PEG está unida covalentemente a la cadena lateral del aminoácido añadido. En una realización adicional, el análogo de glucagón pegilado comprende además una extensión C-terminal de la SEQ ID

NO: 26 o SEQ ID NO: 29 unida al aminoácido C-terminal de la SEQ ID NO: 33 o SEQ ID NO: 34. En otra realización, el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de SEQ ID NO: 19, en el que una cadena de PEG está unida covalentemente a la cadena lateral del aminoácido en la posición 30 del péptido similar al glucagón y el péptido comprende además una extensión C-terminal de la SEQ ID NO: 26 o SEQ ID NO: 29 unida al aminoácido C-terminal de la SEQ ID NO: 19.

**[0244]** La cadena de polietilenglicol puede estar en forma de una cadena lineal o puede estar ramificada. Según una realización, la cadena de polietilenglicol tiene un peso molecular promedio seleccionada del intervalo de aproximadamente 500 a aproximadamente 10.000 Daltons. En una realización, la cadena de polietilenglicol tiene un peso molecular promedio seleccionado del intervalo de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 5.000 Daltons. En una realización alternativa, la cadena de polietilenglicol tiene un peso molecular promedio seleccionado del intervalo de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 20.000 Daltons. Según una realización, el péptido similar al glucagón pegilado comprende dos o más cadenas de polietileno unidas covalentemente al péptido similar al glucagón en el que el peso molecular total de las cadenas de glucagón es de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 5.000 Daltons. En una realización, el agonista de glucagón pegilado comprende un péptido que consiste en SEQ ID NO: 5 o un análogo agonista de glucagón de la SEQ ID NO: 5, en el que una cadena de PEG está unida covalentemente al residuo de aminoácido en la posición 21 y en la posición 24, y en el que el peso molecular combinado de los dos cadenas de PEG es de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 5.000 Daltons.

**[0245]** En ciertas realizaciones de ejemplo, el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 con hasta diez modificaciones de aminoácidos y comprende un aminoácido en la posición 10 que está acilado o alquilado. En algunas realizaciones, el aminoácido en la posición 10 se acila o alquila con un ácido graso C4 a C30. En ciertos aspectos, el aminoácido en la posición 10 comprende un grupo acilo o un grupo alquilo, que es no nativo a un aminoácido de origen natural.

**[0246]** En ciertas realizaciones, el péptido similar al glucagón que comprende un aminoácido en la posición 10 que está acilado o alquilado comprende una hélice alfa estabilizada. Por consiguiente, en ciertos aspectos, el péptido similar al glucagón comprende un grupo acilo o alquilo tal como se describe en este documento y un puente intramolecular, por ejemplo, un puente intramolecular covalente (por ejemplo, un puente de lactama) entre las cadenas laterales de un aminoácido en la posición  $i$  y un aminoácido en la posición  $i + 4$ , en el que  $i$  es 12, 16, 20, o 24. Alternativamente o adicionalmente, el péptido similar al glucagón comprende un grupo acilo o alquilo tal como se describe en este documento y una, dos, tres o más de las posiciones 16, 20, 21 y/o 24 del péptido similar al glucagón están sustituidas por un aminoácido  $\alpha,\alpha$ -disustituido, por ejemplo, AIB. En algunos casos, el péptido similar al glucagón no nativo comprende Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20, en el que, opcionalmente, un puente de lactama une el Glu y la Lys, y, opcionalmente, el péptido similar al glucagón comprende además una o más modificaciones seleccionadas del grupo que consiste en: Gln en la posición 17, Ala en la posición 18, Glu en la posición 21, Ile en la posición 23, y Ala en la posición 24.

**[0247]** Además, en cualquiera de las realizaciones, en el que el péptido similar al glucagón comprende un aminoácido en la posición 10 que está acilado o alquilado, el péptido similar al glucagón puede comprender, además, una amida C-terminal en lugar del alfa carboxilato C-terminal.

**[0248]** En algunas realizaciones, el péptido similar al glucagón que comprende un grupo acilo o alquilo tal como se describe en el presente documento comprende además una sustitución de aminoácido en la posición 1, en la posición 2, o en las posiciones 1 y 2, en el que la sustitución o sustituciones de aminoácidos consiguen una resistencia a la proteasa DPP-IV. Por ejemplo, la His en la posición 1 puede estar sustituida por un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en: D-histidina, ácido alfa,alfa-dimetil imidazol acético (DMIA), N-metil histidina, alfa-metil histidina, ácido imidazol acético, desaminohistidina, hidroxil-histidina, acetil-histidina y homo-histidina. Alternativa o adicionalmente, la Ser en la posición 2 puede estar sustituida por un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en: D-serina, alanina, D-alanina, valina, glicina, N-metil serina, N-metil alanina, y ácido amino isobutírico.

**[0249]** El péptido similar al glucagón que comprende el aminoácido en la posición 10 que está acilado o alquilado tal como se describe en el presente documento puede comprender cualquier secuencia de aminoácido que esté sustancialmente relacionada con SEQ ID NO: 1. Por ejemplo, el péptido similar al glucagón comprende la SEQ ID NO: 1 con hasta 10 modificaciones de aminoácidos (por ejemplo, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 modificaciones). En ciertas realizaciones, la secuencia de aminoácidos del péptido similar al glucagón acilado o alquilado tiene una identidad mayor del 25% a SEQ ID NO: 1 (por ejemplo, mayor del 30%, 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75 %, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o casi el 100% idéntica a SEQ ID NO: 1). En ciertas realizaciones específicas, el péptido similar al glucagón es uno que comprende SEQ ID NO: 55 con un aminoácido en la posición 10 acilado o alquilado tal como se describe en el presente documento. El péptido similar al glucagón puede ser cualquiera de SEQ ID NOs: 55, con 1 ó 2 modificaciones de aminoácidos, 2-4, 9-18, 20, 23-25, 33, 40-44, 53, 56, 61, 62, 64, 66 a 514, y 534.

**[0250]** El grupo acilo o alquilo de estas realizaciones puede ser cualquier grupo acilo o alquilo descrito en el presente documento. Por ejemplo, el grupo acilo puede ser un grupo acilo graso C4 a C30 (por ejemplo, C8 a C24) y el grupo alquilo puede ser un grupo alquilo C4 a C30 (por ejemplo, C8 a C24).

5 **[0251]** El aminoácido al que el grupo acilo o alquilo está unido puede ser cualquiera de los aminoácidos descritos en este documento, por ejemplo, un aminoácido de cualquiera de la Fórmula I (por ejemplo, Lys), la Fórmula II, y la Fórmula III.

10 **[0252]** En algunas realizaciones, el grupo acilo o el grupo alquilo está unidos directamente al aminoácido en la posición 10. En algunas realizaciones, el grupo acilo o alquilo está unido al aminoácido en la posición 10 a través de un espaciador, tal como, por ejemplo, un espaciador que tiene de 3 a 10 átomos de longitud, por ejemplo, un aminoácido o dipéptido. Los espaciadores adecuados para los propósitos de unión de un grupo acilo o alquilo se describen en este documento.

15 *Usos*

**[0253]** Tal como se describe en detalle en los Ejemplos, los agonistas de glucagón descritos en el presente documento presentan una estabilidad biofísica y solubilidad acuosa aumentada, a la vez que demuestran una bioactividad aumentada con relación al péptido nativo. Por consiguiente, los agonistas de glucagón descritos en este documento se cree que son adecuados para cualquier uso que anteriormente se ha descrito para el péptido de glucagón nativo. En consecuencia, los péptidos de glucagón modificados descritos en el presente documento se pueden usar para tratar la hipoglucemia o para aumentar el nivel de glucosa en sangre, para inducir la parálisis temporal del intestino para usos radiológicos, o tratar otras enfermedades metabólicas que resultan de bajos niveles en sangre de glucagón. Se espera que los péptidos similares al glucagón descritos en este documento también sean utilizados para reducir o mantener el peso corporal, o para tratar la hiperglucemia, o para reducir el nivel de glucosa en la sangre, o para normalizar el nivel de glucosa en sangre.

20 **[0254]** Los péptidos similares al glucagón de la invención pueden ser administrados solos o en combinación con otros agentes antidiabéticos o antiobesidad. Los agentes antidiabéticos conocidos en la técnica o bajo investigación incluyen la insulina, sulfonilureas como tolbutamida (Orinase), acetohexamida (Dymelor), tolazamida (Tolinase), clorpropamida (Diabinese), glipizida (Glucotrol), gliburida (Diabeta, Micronase, Glynase), glicempirida (Amaryl), o gliclazida (Diamicon); meglitinidas, como repaglinida (Prandin) o nateglinida (Starlix); biguanidas tales como metformina (Glucophage) o fenformina; tiazolidinedionas, tales como rosiglitazona (Avandia), pioglitazona (Actos), o troglitazona (Rezulin), u otros inhibidores de PPARgamma; inhibidores de la alfa-glucosidasa que inhiben la digestión de hidratos de carbono, tales como el miglitol (Glyset), acarbosa (Precose/acarbosa); exenatida (Byetta) o pramlintida; inhibidores de dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4), tales como vildagliptina o sitagliptina; inhibidores de SGLT (transportador de glucosa 1 dependiente de sodio); activadores de la glucoquinasa (GKA); antagonistas del receptor de glucagón (GRA); o inhibidores de FBPasa (fructosa 1,6-bisfosfatasa).

30 **[0255]** Los agentes anti-obesidad conocidos en la técnica o bajo investigación incluyen supresores del apetito, como los estimulantes de tipo fenetilamina, fentermina (opcionalmente con fenfluramina o dexfenfluramina), dietilpropión (Tenuate ®), fendimetrazina (Prelu-2 ®, Bontril ®), benzfetamina (Didrex ®, sibutramina (Meridia ®, Reductil ®; rimonabant (Acomplia ®), antagonistas de los receptores de otros cannabinoides; oxintomodulina; clorhidrato de fluoxetina (Prozac); Qnexa (topiramato y fentermina), Excalia (bupropión y zonisamida) o Contrave (bupropión y naltrexona), o inhibidores de lipasa, similar a Xenical (Orlistat) o Cetilistat (también conocido como ATL- 962), o GT 389-255.

40 **[0256]** Un aspecto de la presente descripción se dirige a una solución acuosa preformulada del agonista de glucagón descrito en el presente documento para usar en el tratamiento de la hipoglucemia. La estabilidad y solubilidad aumentadas de las composiciones agonistas descritas en este documento permiten la preparación de soluciones acuosas preformuladas de glucagón para la administración y el tratamiento rápido de la hipoglucemia. En una realización, se proporciona una solución que comprende un agonista de glucagón pegilado para la administración a un paciente que sufre de hipoglucemia, en el que el peso molecular total de las cadenas de PEG unidas al agonista de glucagón pegilado es de entre aproximadamente 500 a aproximadamente 5000 Daltons. En una realización, el agonista de glucagón pegilado comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, y SEQ ID NO: 25, y análogos agonistas de glucagón de SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, y SEQ ID NO: 25, o un derivado con lactama pegilado de glucagón comprende la secuencia de SEQ ID NO: 20, en el que la cadena lateral de un residuo de aminoácido de dicho péptido similar al glucagón se une covalentemente a la cadena de polietilenglicol.

50 **[0257]** Los métodos de tratamiento descritos en este documento, incluyendo, pero no limitado a, tratamiento de la hipoglucemia, pueden comprender las etapas de administrar los agonistas de glucagón descritos en el presente documento a un paciente usando cualquier vía estándar de administración, incluyendo parenteral, tal como por vía intravenosa, intraperitoneal, subcutánea o intramuscular, intratecal, transdérmica, rectal, oral, nasal o por inhalación. En una realización, la composición se administra por vía subcutánea o intramuscular. En una realización, la composición se administra por vía parenteral y la composición de glucagón está preenvasada en una jeringa. En otra

realización, la composición está preenvasada en un inhalador u otro dispositivo de administración de fármacos en forma de aerosol.

5 **[0258]** Sorprendentemente, los solicitantes han descubierto que los péptidos de glucagón pegilados se pueden preparar para retener la actividad biológica y especificidad del péptido parental. Sin embargo, aumentar la longitud de la cadena de PEG, o unir múltiples cadenas de PEG al péptido, de manera que el peso molecular total del PEG unido es mayor que 5.000 Daltons, comienza a retrasar el tiempo de acción del glucagón modificado. Según una realización, se proporciona un péptido similar al glucagón de la SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, y SEQ ID NO: 25, o un análogo agonista de glucagón del mismo, o un derivado con lactama pegilado de glucagón que comprende la secuencia de SEQ ID NO : 20, en el que el péptido comprende una o más cadenas de polietilenglicol, en el que el peso molecular total del PEG unido es mayor que 5.000 Daltons, y en una realización es mayor que 10.000 Daltons, pero menos de 40.000 Daltons. Dichos péptidos similares al glucagón modificados tienen un tiempo de retraso o prolongación de la actividad pero sin pérdida de la bioactividad. Por consiguiente, tales compuestos se pueden administrar para extender el efecto del péptido similar al glucagón administrado.

15 **[0259]** Los péptidos similares al glucagón que han sido modificados para unirse covalentemente a una cadena de PEG que tiene un peso molecular mayor de 10.000 Daltons se pueden administrar en combinación con la insulina para amortiguar la acción de la insulina y ayudar a mantener los niveles de glucosa en sangre estables en los diabéticos. Los péptidos similares a glucagón modificados de la presente descripción se pueden administrar conjuntamente con la insulina como una composición única, administrarse simultáneamente como soluciones separadas, o alternativamente, la insulina y el péptido similar al glucagón modificado se pueden administrar en momentos diferentes uno con respecto al otro. En una realización, la composición que comprende la insulina y la composición que comprende el péptido similar al glucagón modificado se administran en menos de 12 horas uno del otro. La proporción exacta del péptido similar al glucagón modificado con relación a la insulina administrada dependerá en parte de la determinación de los niveles de glucagón del paciente, y puede determinarse mediante experimentación de rutina.

20 **[0260]** Según una realización, se proporciona una composición que comprende insulina y un péptido imilar al glucagón modificado seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y análogos agonistas de glucagón de los mismos, en el que el péptido similar al glucagón modificado comprende además una cadena de polietilenglicol unido covalentemente a una cadena lateral de aminoácido en la posición 17, 21, 24 o 21 y 24. En una realización, la composición es una solución acuosa que comprende insulina y el análogo de glucagón. En realizaciones en las que el péptido similar al glucagón comprende la secuencia de SEQ ID NO: 24 o SEQ ID NO: 25, la cadena de PEG está unida covalentemente en la posición 21 o 24 del péptido similar al glucagón. En una realización, la cadena de polietilenglicol tiene un peso molecular de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 40.000.

30 **[0261]** Según una realización, los péptidos similares de glucagón modificados descritos en este documento se usan para inducir la parálisis temporal del tracto intestinal. Este método tiene utilidad para propósitos radiológicos y comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un péptido similar al glucagón pegilado, un péptido similar al glucagón que comprende una extensión C-terminal o un dímero de tales péptidos. En una realización, el péptido similar al glucagón comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15. En una realización, el péptido similar al glucagón comprende además una cadena de PEG, de alrededor de 1.000 a 40.000 Daltons, unida covalentemente a un residuo de aminoácido en la posición 21 o 24. En una realización, el péptido similar al glucagón se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15. En una realización, la cadena de PEG tiene un peso molecular de aproximadamente 500 a aproximadamente 5000 Daltons.

40 **[0262]** En una realización adicional, la composición usada para inducir la parálisis temporal del tracto intestinal comprende un primer péptido similar al glucagón modificado y un segundo péptido similar al glucagón modificado. El primer péptido modificado comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24 y SEQ ID NO: 25, opcionalmente unido a una cadena de PEG de aproximadamente 500 a aproximadamente 5.000 Daltons, y el segundo péptido comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24 y SEQ ID NO: 25, unida covalentemente a una cadena de PEG de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 40.000 Daltons. En esta realización, la cadena de PEG de cada péptido se une covalentemente a un residuo de aminoácido en cualquiera de las posiciones 17, 21 o 24 del péptido respectivo, e independiente uno de otro.

50 **[0263]** Se ha descrito que la oxintomodulina, una hormona digestiva natural que se encuentra en el intestino delgado, causa la pérdida de peso cuando se administra a ratas o humanos (véase Diabetes 2005; 54: 2390-2395). La oxintomodulina es un péptido de 37 aminoácidos que contiene la secuencia de 29 aminoácidos del glucagón (es decir, SEQ ID NO: 1), seguido de una extensión carboxi terminal de 8 aminoácidos de la SEQ ID NO: 27 (KRNRNNIA). Por consiguiente, los solicitantes creen que la bioactividad de la oxintomodulina se puede retener (es decir, supresión del apetito y mantenimiento de peso/pérdida de peso inducido), a la vez que se aumenta la

solubilidad y la estabilidad del compuesto y se mejora la farmacocinética, mediante la sustitución de la porción de péptido de glucagón de oxintomodulina por los péptidos similares a glucagón modificados descritos en este documento. Además, los solicitantes también creen que una molécula de oxintomodulina truncada que comprende un péptido similar al glucagón descrito en el presente documento, que tiene los cuatro aminoácidos terminales de oxintomodulina eliminados, también será eficaz en la supresión del apetito y la inducción de la pérdida de peso/mantenimiento del peso.

**[0264]** Por consiguiente, los péptidos similares a glucagón modificados descritos en este documento que tienen una extensión carboxi terminal de la SEQ ID NO: 27 (KRNRNIA) o SEQ ID NO: 28 también están abarcados en el presente documento. Estos compuestos se pueden administrar a individuos para inducir la pérdida de peso o prevenir el aumento de peso. Según una realización, un análogo agonista de glucagón de la SEQ ID NO: 33 o SEQ ID NO: 20, que comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 (KRNRNIA) o SEQ ID NO: 28 unida al aminoácido 29 del péptido similar al glucagón, se administra a individuos para inducir la pérdida de peso o prevenir el aumento de peso. Más particularmente, el péptido similar al glucagón comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15, que comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 (KRNRNIA) o SEQ ID NO: 28 unida al aminoácido 29 del péptido similar al glucagón.

**[0265]** La exendina-4, es un péptido compuesto por 39 aminoácidos. Es un potente estimulador de un receptor conocido como GLP-1. Este péptido también se ha descrito que suprime el apetito e induce la pérdida de peso. Los solicitantes han encontrado que la secuencia terminal de la exendina-4 cuando se añade en el extremo carboxi del glucagón mejora la solubilidad y la estabilidad del glucagón sin comprometer la bioactividad del glucagón. En una realización, los diez aminoácidos terminales de la exendina-4 (es decir, la secuencia de SEQ ID NO: 26 (GPSSGAPPPS)) están unidos al extremo carboxi de un péptido similar al glucagón de la presente descripción. Estas proteínas de fusión se prevé que tengan actividad farmacológica para suprimir el apetito e inducir la pérdida de peso/mantenimiento de peso. Según una realización, un análogo agonista de glucagón de SEQ ID NO: 33 o SEQ ID NO: 20, que comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26 (GPSSGAPPPS) o SEQ ID NO: 29 unida al aminoácido 29 del péptido similar al glucagón, se administra a individuos para inducir la pérdida de peso o prevenir el aumento de peso. Más particularmente, el péptido similar al glucagón comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 56 que comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26 (GPSSGAPPPS) o SEQ ID NO: 29 unida al aminoácido 29 del péptido similar al glucagón. En una realización, el análogo del péptido similar al glucagón administrado comprende la secuencia de SEQ ID NO: 64.

#### *Múltimeros*

**[0266]** La presente descripción también abarca múltimeros de los péptidos de glucagón modificados descritos en este documento. Dos o más de los péptidos de glucagón modificados pueden unirse entre sí usando agentes y procedimientos de reticulación estándar conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, pueden formarse dímeros entre dos péptidos de glucagón modificados mediante el uso de agentes de reticulación bifuncionales tiol y agentes de reticulación de amina bi-funcionales, en particular para los péptidos de glucagón que han sido sustituidos con residuos de cisteína, lisina, ornitina, homocisteína o acetilfenil alanina (por ejemplo, SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4). El dímero puede ser un homodímero o, alternativamente, puede ser un heterodímero. En ciertas realizaciones, el enlazador que conecta los dos (o más) péptidos similares al glucagón es PEG, por ejemplo, un PEG de 5 kDa, un PEG de 20 kDa. En algunas realizaciones, el enlazador es un enlace disulfuro. Por ejemplo, cada monómero del dímero puede comprender un residuo de Cys (por ejemplo, una Cys situada en posición terminal o interna) y el átomo de azufre de cada residuo de Cys participa en la formación del enlace disulfuro. En algunos aspectos de la descripción, los monómeros están conectados a través de los aminoácidos terminales (por ejemplo, N-terminal o C-terminal), a través de aminoácidos internos, o a través de un aminoácido terminal de al menos un monómero y un aminoácido interno de por lo menos otro monómero. En aspectos específicos, los monómeros no están conectados a través de un aminoácido N-terminal. En algunos aspectos, los monómeros del múltimero están unidos juntos en una orientación "cola con cola" en la que los aminoácidos C-terminales de cada monómero están unidos juntos.

**[0267]** En una realización, el dímero comprende un homodímero de un péptido de fusión de glucagón en el que la parte de péptido similar al glucagón comprende la SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 20 y una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26 (GPSSGAPPPS), SEQ ID NO: 27 (KRNRNIA) o SEQ ID NO: 28 (KRNR) unida al aminoácido 29 del péptido similar al glucagón. En otra realización, el dímero comprende un homodímero de un análogo agonista de glucagón de la SEQ ID NO: 11, en el que el péptido similar al glucagón comprende además una cadena de polietilenglicol unida covalentemente a la posición 21 o 24 del péptido similar al glucagón.

**[0268]** Según una realización, se proporciona un dímero que comprende un primer péptido similar al glucagón unido a un segundo péptido similar al glucagón a través de un enlazador, en el que el primer péptido similar al glucagón comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11 y el segundo péptido similar al glucagón comprende la SEQ ID NO: 20. Según otra realización, se proporciona un dímero que comprende un primer péptido similar al glucagón unido a un segundo péptido similar al

glucagón a través de un enlazador, en el que dicho primero péptido similar al glucagón comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 y el segundo péptido similar al glucagón comprende la SEQ ID NO: 11, y las sales farmacéuticamente aceptables de dichos polipéptidos similares al glucagón. Según otra realización, se proporciona un dímero que comprende un primer péptido similar al glucagón unido a un segundo péptido similar al glucagón a través de un enlazador, en el que dicho primer péptido similar al glucagón se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18 y el segundo péptido similar al glucagón se selecciona independientemente del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18, y sales farmacéuticamente aceptables de dichos polipéptidos similares al glucagón. En una realización, el primer péptido similar al glucagón se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 20 y el segundo péptido similar al glucagón se selecciona independientemente del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 11. En una realización, el dímero se forma entre dos péptidos en los que cada péptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11.

#### *Kits*

**[0269]** Los péptidos similares al glucagón modificados descritos en el presente documento se pueden proporcionar según una realización como parte de un kit. En una realización, se proporciona un kit para la administración de un agonista de glucagón a un paciente en necesidad del mismo, en el que el kit comprende un péptido similar al glucagón modificado seleccionado del grupo que consiste en 1) un péptido similar al glucagón que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 o SEQ ID NO: 11; 2) un péptido de fusión de glucagón que comprende un análogo agonista de glucagón de la SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 55, y una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26 (GPSSGAPPPS), SEQ ID NO: 27 (KRNRNNIA) o SEQ ID NO: 28 (KRNR) unida al aminoácido 29 del péptido similar al glucagón; y 3) un péptido similar al glucagón pegilado de la SEQ ID NO: 11 o SEQ ID NO: 51, que comprende además una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26 (GPSSGAPPPS), SEQ ID NO: 27 (KRNRNNIA) o SEQ ID NO: 28 (KRNR) unida al aminoácido 29 del péptido similar al glucagón, en el que la cadena de PEG unida covalentemente a la posición 17, 21 o 24 tiene un peso molecular de aproximadamente 500 a aproximadamente 40.000 Daltons. En una realización, el kit comprende un coagonista de glucagón/GLP-1, en el que el péptido comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18.

**[0270]** En una realización, el kit se proporciona con un dispositivo para administrar la composición de glucagón a un paciente, por ejemplo, la aguja de la jeringa, dispositivo en lápiz, inyector de chorro u otro inyector sin aguja. El kit puede incluir alternativa o adicionalmente uno o más recipientes, por ejemplo, viales, tubos, botellas, jeringas precargadas individuales o de múltiples cámaras, cartuchos, bombas de infusión (implantables o externas), inyectores de chorro, dispositivos en lápiz precargados y similares, que contienen opcionalmente el péptido de glucagón en una forma liofilizada o en una solución acuosa. Preferiblemente, los kits también incluirán instrucciones de uso. Según una realización, el dispositivo del kit es un dispositivo de dispensación de aerosol, en donde la composición viene preenvasada dentro del dispositivo de aerosol. En otra realización, el kit comprende una jeringa y una aguja, y en una realización, la composición de glucagón estéril está preenvasada dentro de la jeringa.

**[0271]** Según una realización, se proporciona una composición farmacéutica en la que la composición comprende un péptido similar al glucagón de la presente descripción, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender cualquier ingrediente farmacéuticamente aceptable, incluyendo, por ejemplo, agentes acidificantes, aditivos, adsorbentes, propelentes de aerosoles, agentes de desplazamiento de aire, agentes alcalinizantes, agentes antiapelmazantes, anticoagulantes, conservantes antimicrobianos, antioxidantes, antisépticos, bases, aglutinantes, agentes de tamponamiento, agentes quelantes, agentes de recubrimiento, agentes colorantes, desecantes, detergentes, diluyentes, desinfectantes, disgregantes, dispersantes, agentes potenciadores de disolución, colorantes, emolientes, agentes emulsionantes, estabilizadores de emulsión, cargas, agentes formadores de película, potenciadores del sabor, agentes aromatizantes, potenciadores de flujo, agentes gelificantes, agentes de granulación, humectantes, lubricantes, mucoadhesivos, bases de pomadas, ungüentos, vehículos oleaginosos, bases orgánicas, bases pastilla, pigmentos, plastificantes, agentes de pulido, conservantes, agentes secuestrantes, agentes de penetración de la piel, agentes solubilizantes, disolventes, agentes estabilizantes, bases de supositorios, agentes activos de superficie, agentes tensioactivos, agentes de suspensión, agentes edulcorantes, agentes terapéuticos, agentes espesantes, agentes de tonicidad, agentes de toxicidad, agentes que incrementan la viscosidad, agentes que absorben agua, codisolventes miscibles en agua, ablandadores de agua, o agentes humectantes.

**[0272]** En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende uno cualquiera o una combinación de los siguientes componentes: acacia, acesulfamo de potasio, citrato de acetiltributilo, citrato de acetiltriethyl, agar, albúmina, alcohol, alcohol deshidratado, alcohol desnaturalizado, diluir alcohol, ácido aleurítico, ácido alginico, poliésteres alifáticos, alúmina, hidróxido de aluminio, estearato de aluminio, amilopectina, alfa-amilosa, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, el aspartamo, agua bacteriostática para inyección, bentonita, magma de bentonita, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, ácido benzoico, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, bronopol,

hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, butilparabeno, sodio butilparabeno, alginato de calcio, ascorbato de calcio, carbonato de calcio, ciclamato de calcio, fosfato de calcio dibásico anhidro, fosfato de calcio dihidrato dibásico, fosfato de calcio tribásico, propionato de calcio, silicato de calcio, sorbato de calcio, estearato de calcio, sulfato de calcio, sulfato de calcio hemihidrato, aceite de canola, carbómero, dióxido de carbono, calcio carboximetil

5 celulosa, sodio carboximetil celulosa, beta-caroteno, carragenano, aceite de ricino, aceite de ricino hidrogenado, cera emulsionante catiónico, acetato de celulosa, acetato ftalato de celulosa, etil celulosa, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, celulosa microcristalina silicificada, la celulosa carboximetil de sodio, alcohol cetosteárico, cetrimida, alcohol cetílico, clorhexidina, clorobutanol, clorocresol, colesterol, acetato de clorhexidina, gluconato de clorhexidina, hidrocloreuro de clorhexidina, clorodifluoroetano (HCFC), clorodifluorometano, los clorofluorocarbonos

10 (CFC) chlorophenoxyethanol, cloroxilenol, sólidos de jarabe de maíz, ácido cítrico anhidro, monohidrato de ácido cítrico, manteca de cacao, agentes colorantes, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, cresol, m-cresol, o-cresol, p-cresol, croscarmelosa sódica, crospovidona, ácido ciclámico, ciclodextrinas, dextratos, dextrina, dextrosa, dextrosa anhidra, diazolidinilurea, ftalato de dibutilo, sebacato de dibutilo, dietanolamina, ftalato de dietilo, difluoroetano (HFC), dimetil-beta-ciclodextrina, compuestos de tipo ciclodextrina tales como Captisol (marca

15 registrada, éter de dimetilo, ftalato de dimetilo, edetato de dipotasio, edetato de disodio, hidrógeno fosfato de disodio, docusato calcio, docusato potasio, docusato de sodio, galato de dodecilo, bromuro de dodeciltrimetilamonio, edetato de calcio edetato, ácido edtic, eglumine, alcohol etílico, etilcelulosa, galato de etilo, acetato de laurato, maltol etilo, oleato de etilo, etilparabeno, potasio etilparabeno, sodio etilparabeno, etil vainillina, fructosa, líquido de fructosa, fructosa muele, fructosa libre de pirógenos, fructosa en polvo, ácido fumárico, gelatina, glucosa, glucosa

20 líquida, mezclas de glicéridos de vegetales saturados ácidos grasos, glicerina, behenato de glicerilo, monooleato de glicerilo, monoestearato de glicerilo, autoemulsionante monoestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerilo, glicina, glicoles, glicofurol, goma guar, heptafluoropropano (HFC), bromuro de hexadeciltrimetilamonio, jarabe de alta fructosa, albúmina de suero humano, hidrocarburos (HC), ácido clorhídrico diluido, aceite vegetal hidrogenado, tipo II, hidroxietil celulosa, hidroxietil-2-beta-ciclodextrina, hidroxipropil celulosa, celulosa de baja sustitución

25 hidroxipropilo, 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina, hidroxipropil metilcelulosa, ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, imidurea, índigo carmín, intercambiadores de iones, óxidos de hierro, alcohol de isopropilo, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, solución salina isotónica, caolín, ácido láctico, lactitol, lactosa, lanolina, alcoholes de lanolina, lanolina anhidra, lecitina, silicato de aluminio de magnesio, carbonato de magnesio, magnesio normales carbonato, anhidro carbonato de magnesio, hidróxido de carbonato de magnesio, hidróxido de magnesio, lauril sulfato de magnesio, óxido de magnesio, silicato de magnesio, estearato de magnesio, trisilicato de magnesio, trisilicato de magnesio anhidro, ácido málico, malta, maltitol, la solución de maltitol, maltodextrina, maltol, maltosa, manitol, triglicéridos de cadena media, meglumina, mentol, metilcelulosa, metacrilato de metilo, oleato de metilo, metilparabeno, el metilparabeno de potasio, metilparabeno de sodio, celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa

30 sódica, aceite mineral, aceite mineral ligero, alcoholes de aceite mineral y lanolina, aceite, aceite de oliva, monoetanolamina, montmorillonita, galato de octilo, ácido oleico, ácido palmítico, parafina, aceite de cacahuete, vaselina, vaselina y alcoholes de lanolina, esmalte farmacéutico, fenol, fenol licuado, fenoxietanol, fenoxipropanol, alcohol feniletílico, acetato fenilmercúrico, borato fenilmercúrico, nitrato fenilmercúrico, poliacrilina, poliacrilina de potasio, poloxámero, povidona, polietilenglicol, óxido de polietileno, poliácridatos, polímeros de polietileno-polioxiopropileno de bloques, polimetacrilatos, éteres de alquilo de polioxi-etileno, derivados de aceite de ricino de polioxi-etileno, ésteres de ácido graso sorbitol de polioxi-etileno, estearatos de polioxi-etileno, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, alginato de potasio, benzoato de potasio, bicarbonato de potasio, bisulfito de potasio, cloruro de potasio, citrato de potasio, citrato de potasio anhidro, hidrógeno fosfato de potasio, metabisulfito de potasio, fosfato de potasio monobásico, propionato de potasio, sorbato de potasio, povidona, propanol, ácido propiónico, carbonato de propileno, glicol de propileno, alginato de propilenglicol, galato de propilo, propilparabeno, potasio propilparabeno,

45 coloidal de sodio propilparabeno, sulfato de protamina, aceite de colza, solución de Ringer, sacarina, sacarina de amonio, sacarina de calcio, sacarina de sodio, aceite de cártamo, saponita, proteínas de suero, aceite de sésamo, sílice coloidal, dióxido de silicio, alginato de sodio, ascorbato de sodio, benzoato de sodio, bicarbonato de sodio, bisulfito de sodio, cloruro de sodio, citrato de sodio anhidro, dihidrato de citrato de sodio, cloruro de sodio, ciclamato de sodio, edetato de sodio, dodecil sulfato de sodio, lauril sulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sodio fosfato dibásico, fosfato de sodio monobásico, fosfato de sodio, tribásico, propionato de sodio anhidro, propionato de sodio, sorbato de sodio, almidón glicolato de sodio, estearil fumarato de sodio, sulfito de sodio, ácido sórbico, ésteres de sorbitán (ésteres grasos de sorbitán), sorbitol, solución de sorbitol 70%, aceite de soja, cera de esperma de ballena, almidón, almidón de maíz, almidón de patata, almidón pregelatinizado, almidón de maíz esterilizable, ácido esteárico, ácido esteárico purificado, alcohol estearílico, sacarosa, azúcares, azúcar compresible, azúcar de confitería, esferas de azúcar, azúcar invertido, Sugartab, amarillo ocaso FCF, parafina sintética, talco, ácido tartárico, tartrazina, tetrafluoroetano (HFC), aceite de Theobroma, timerosal, dióxido de titanio, alfa tocoferol, acetato de tocoferol, alfa tocoferol succinato ácido, beta-tocoferol, delta-tocoferol, gamma tocoferol, tragacanto, triacetina, citrato de tributilo, trietanolamina, citrato de trietilo, trimetil-beta-ciclodextrina, bromuro de trimetil-tetradecilamonio, tampón tris, edetato trisódico, vainillina, aceite vegetal hidrogenado tipo I, agua, agua blanda, agua dura, agua libre

60 de dióxido de carbono, agua libre de pirógenos, agua para inyección, agua estéril para inhalación, agua estéril para inyección, agua estéril para irrigación, ceras, cera emulsionante aniónica, cera de carnauba, cera emulsionante catiónica, cera de éster cetílico, cera microcristalina, cera emulsionante no iónica, cera de supositorio, cera blanca, cera amarilla, vaselina blanca, grasa de lana, goma de xantano, xilitol, zeína, propionato de zinc, sales de zinc, estearato de zinc, o cualquier excipiente en el Handbook of Pharmaceutical Excipients, Tercera Edición, AH Kibbe (Pharmaceutical Press, Londres, Reino Unido, 2000), Remington Pharmaceutical Sciences, Decimosexta Edición, EW Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980), describe diversos componentes utilizados en la formulación de

composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de los mismos. Excepto en la medida que cualquier agente convencional sea incompatible con las composiciones farmacéuticas, se contempla su uso en composiciones farmacéuticas. Los principios activos suplementarios también se pueden incorporar en las composiciones.

5 **[0273]** Las formulaciones farmacéuticas descritas en este documento pueden ser diseñados para ser de acción corta, de acción prolongada, de liberación rápida, de liberación sostenida como se describe a continuación. Las formulaciones farmacéuticas también pueden formularse para la liberación inmediata, liberación controlada o para liberación lenta. Las presentes composiciones pueden comprender además, por ejemplo, micelas o liposomas, o alguna otra forma encapsulada, o pueden administrarse en una forma de liberación prolongada para proporcionar un almacenamiento prolongado y/o efecto de liberación. Las formulaciones farmacéuticas descritas se pueden administrar según cualquier régimen incluyendo, por ejemplo, todos los días (1 vez por día, 2 veces al día, 3 veces al día, 4 veces al día, 5 veces al día, 6 veces por día), cada dos días, cada tres días, cada cuatro días, cada cinco días, cada seis días, semanal, quincenal, cada tres semanas, mensual o bimensual.

15 **[0274]** En algunas realizaciones, el componente o componentes anteriores pueden estar presentes en la composición farmacéutica en cualquier concentración, tal como, por ejemplo, al menos A, donde A es 0,0001% p/v, 0,001% p/v, 0,01 % p/v, 0,1% p/v, 1% p/v, 2% p/v, 5% p/v, 10% p/v, 20% p/v, 30% p/v, 40% p/v, 50% p/v, 60% p/v, 70% p/v, 80% p/v, o 90% p/v. En algunas realizaciones, el componente o componentes anteriores pueden estar presentes en la composición farmacéutica en cualquier concentración, tales como, por ejemplo, como máximo B, donde B es 90% p/v, 80% p/v, 70% p/v, 60% p/v, 50% p/v, 40% p/v, 30% p/v, 20% p/v, 10% p/v, 5% p/v, 2% p/v, 1% p/v, 0,1% p/v, 0,001% p/v, o 0,0001%. En otras realizaciones, el componente o componentes anteriores pueden estar presentes en la composición farmacéutica en cualquier intervalo de concentración, tal como, por ejemplo, de aproximadamente de A a aproximadamente B. En algunas realizaciones, A es 0,0001% y B es 90%.

25 **[0275]** Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para lograr un pH fisiológicamente compatible. En algunas realizaciones, el pH de la composición farmacéutica puede ser de al menos 5, al menos 5,5, al menos 6, al menos 6,5, al menos 7, al menos 7,5, al menos 8, al menos 8,5, al menos 9, al menos 9,5, al menos 10, o al menos 10,5 hasta e incluyendo pH 11, dependiendo de la formulación y vía de administración. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas pueden comprender agentes de tamponamiento para alcanzar un pH fisiológicamente compatible. Los agentes tampón pueden incluir compuestos capaces de tamponar en el pH deseado, tal como, por ejemplo, tampones de fosfato (por ejemplo, PBS), trietanolamina, Tris, bicina, TAPS, tricina, HEPES, TES, MOPS, PIPES, cacodilato, MES, y otros. En ciertas realizaciones, la fuerza del tampón es al menos 0,5 mM, al menos 1 mM, al menos 5 mM, al menos 10 mM, al menos 20 mM, al menos 30 mM, al menos 40 mM, al menos 50 mM, al menos 60 mM, al menos 70 mM, al menos 80 mM, al menos 90 mM, al menos 100 mM, al menos 120 mM, al menos 150 mM, o al menos 200 mM. En algunas realizaciones, la fuerza del tampón es no más de 300 mM (por ejemplo, como máximo 200 mM, como máximo 100 mM, como máximo 90 mM, como máximo 80 mM, como máximo 70 mM, como máximo 60 mM, como máximo 50 mM, como máximo 40 mM, como máximo 30 mM, como máximo 20 mM, como máximo 10 mM, como máximo 5 mM, como máximo 1 mM).

40 *Modificación en la posición 3*

45 **[0276]** Cualquiera de los péptidos similares al glucagón, incluyendo análogos de glucagón, análogos agonistas de glucagón, coagonistas de glucagón, y moléculas coagonistas de glucagón/GLP-1, descritos en el presente documento, pueden ser modificados para contener una modificación en la posición 3, por ejemplo, Gln sustituida por Glu, para producir un péptido con una alta selectividad, por ejemplo, una selectividad diez veces, por el receptor de GLP-1 en comparación con la selectividad por el receptor de glucagón.

50 **[0277]** Cualquiera de los péptidos similares al glucagón, incluyendo análogos de glucagón, análogos agonistas de glucagón, coagonistas de glucagón, y moléculas coagonistas de glucagón/GLP-1, descritos en el presente documento, pueden ser modificados para contener una modificación en la posición 3, por ejemplo, Gln sustituida por un análogo de glutamina (por ejemplo, Dab (Ac)), sin una pérdida sustancial de actividad en el receptor de glucagón, y en algunos casos, con un aumento de la actividad del receptor de glucagón.

55 *Procedimientos de preparación*

60 **[0278]** Los compuestos aquí descritos se pueden preparar mediante métodos sintéticos estándar, técnicas de ADN recombinante, o cualquier otro método de preparación de péptidos y proteínas de fusión. Aunque ciertos aminoácidos no naturales no se pueden expresar mediante técnicas estándar de ADN recombinante, las técnicas para su preparación son conocidas en la técnica. Los compuestos aquí descritos que abarcan partes no peptídicas pueden sintetizarse mediante reacciones estándar de química orgánica, además de las reacciones estándar de química de péptidos cuando sea aplicable.

65 EJEMPLOS

Protocolo de síntesis general:

**[0279]** Los análogos de glucagón se sintetizaron utilizando el acoplamiento individual de "Fast Boc" activado por HBTU partiendo de 0,02 mmol de resina Boc Thr(OBzl)Pam en un sintetizador de péptidos Applied Biosystems 430 A modificado. Los aminoácidos de Boc y HBTU se obtuvieron de Midwest Biotech (Fishers, IN). Los grupos protectores de cadena lateral utilizados fueron: Arg(Tos), Asn(Xan), Asp(OcHex), Cys(pMeBzl), His(Bom), Lys(2Cl-Z), Ser(OBzl), Thr(OBzl), Tyr(2Br-Z) y Trp(CHO). El grupo protector de la cadena lateral en el extremo N-terminal His fue Boc.

**[0280]** Cada resina de peptidilo completado se trató con una solución de piperidina al 20% en dimetilformamida para eliminar el grupo formilo del triptófano. Se realizaron escisiones con fluoruro de hidrógeno líquido en presencia de p-cresol y sulfuro de dimetilo. La escisión se realizó durante 1 hora en un baño de hielo usando un aparato de HF (Penninsula Labs). Después de la evaporación del HF, el residuo se suspendió en éter dietílico y se filtraron los materiales sólidos. Cada péptido se extrajo en 30-70 ml de ácido acético acuoso y se analizó una alícuota diluida mediante HPLC [Beckman System Gold, C8 0,46x5cm Zorbax, 1 ml/min, 45°C, 214 nm, tampón A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/90% de acetonitrilo, gradiente de 10% a 80% de B durante 10 min].

**[0281]** La purificación se realizó en una FPLC sobre una columna C18 2,2 x 25 cm Kromasil mientras se monitorizaba la luz UV a 214 nm y se recogían fracciones de 5 minutos. Las fracciones homogéneas se combinaron y se liofilizaron para producir un producto de pureza > 95%. La masa molecular correcta y la pureza se confirmaron mediante análisis espectral de masas con MALDI.

Protocolo general de pegilación: (Cys-maleimido)

**[0282]** Habitualmente, el análogo de glucagón Cys se disuelve en solución salina tamponada de fosfato (de 5 a 10 mg/ml) y se añade ácido etilendiaminotetraacético 0,01 M (10-15% del volumen total). Se añade un exceso (2 veces) de reactivo maleimido metoxiPEG (Nektar) y la reacción se agita a temperatura ambiente mientras se monitoriza el progreso de la reacción mediante HPLC. Después de 8-24 horas, la mezcla de reacción se acidifica y se carga sobre una columna preparativa de fase inversa para la purificación utilizando el gradiente TFA ak 0,1%/acetonitrilo. Las fracciones apropiadas se combinaron y se liofilizaron para producir los derivados pegilados deseados.

#### EJEMPLO 1

Síntesis de glucagón Cys<sup>17</sup> (1-29) y análogos de MonoCys similares

**[0283]** Se introdujeron 0,2 mmol de resina Boc Thr(OBzl) Pam (SynChem Inc) en un recipiente de reacción de 60 ml y se desarrolló la siguiente secuencia en un sintetizador de péptidos Applied Biosystems 430 A modificado usando acoplamientos individuales de Fast Boc activado por HBTU

**[0284]** HSQGTFTSDYSKYLDSCRAQDFVQWLMNT (SEQ ID NO: 35) Se utilizaron los siguientes grupos protectores de cadena lateral: Arg(Tos), Asp(OcHex), Asn(Xan), Cys(pMeBzl), Glu(OcHex), His(Boc), Lys(2Cl-Z), Ser(Bzl), Thr(Bzl), Trp(CHO) y Tyr(Br-Z). Se trató la resina de peptidilo completada con piperidina al 20%/dimetilformamida para eliminar la protección de Trp formilo, a continuación se transfirió a un recipiente de reacción de HF y se secó a vacío. Se añadieron 1,0 ml de p-cresol y 0,5 ml de sulfuro de dimetilo junto con una barra de agitación magnética. El recipiente se unió al aparato de HF (Penninsula Labs), se enfrió en un baño de hielo seco/metanol, se evacuó, y se condensaron aproximadamente 10 ml de fluoruro de hidrógeno líquido. La reacción se agitó en un baño de hielo durante 1 hora, a continuación se extrajo el HF al vacío. El residuo se suspendió en éter etílico; los sólidos se filtraron, se lavaron con éter y el péptido se extrajo en 50 ml de ácido acético acuoso. Se desarrolló una HPLC analítica [C8 Zorbax 0,46 x 5 cm, 1 ml/min, 45C, 214 nm, tampón A de TFA al 0,1%, tampón B de TFA al 0,1%/ACN al 90%, gradiente = 10% de B a 80% de B durante 10 min] con una pequeña muestra del extracto de separación. El extracto restante se cargó en una columna de fase inversa preparativa C18 Kromasil 2,2 x 25 cm y se desarrolló un gradiente de acetonitrilo utilizando un sistema FPLC de Pharmacia. Se recogieron fracciones de 5 min mientras se monitorizaba la UV a 214 nm (2,0 A). A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/acetonitrilo al 50%. Gradiente = 30% de B a 100% de B durante 450 min.

**[0285]** Las fracciones que contenían el producto más puro (48-52) se combinaron, se congelaron y se liofilizaron para producir 30,1 mg. Un análisis de HPLC del producto mostró una pureza de > 90% y el análisis espectral de masas MALDI mostró la masa deseada de 3429,7. El Glucagón Cys<sup>21</sup>, Glucagón Cys<sup>24</sup>, y Glucagón Cys<sup>29</sup> se prepararon de manera similar.

#### EJEMPLO 2

Síntesis de Glucagón-Cex y otros análogos extendidos en C-terminal.

**[0286]** Se colocaron 285 mg (0,2 mmol) de resina de metoxibenzhidrilamina (Midwest Biotech) en un recipiente de reacción de 60 ml y se introdujo la siguiente secuencia y se desarrolló en un sintetizador de péptidos Applied Biosystems 430A modificado usando acoplamientos individuales de Fast Boc activado por HBTU.

**[0287]** HSQGTFTSD YSKYLDSRRAQDFVQWLMNTGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 36) Se utilizaron los siguientes grupos protectores de cadena lateral: Arg(Tos), Asp(OcHex), Asn(Xan), Cys(pMeBzl), Glu(OcHex), His(Boc), Lys(2Cl-Z), Ser(Bzl), Thr(Bzl), Trp(CHO) y Tyr(Br-Z). Se trató la resina de peptidilo completada con piperidina al 20%/dimetilformamida para eliminar la protección de Trp formilo, a continuación se transfirió a un recipiente de reacción de HF y se secó a vacío. Se añadieron 1,0 ml de p-cresol y 0,5 ml de sulfuro de dimetilo junto con una barra de agitación magnética. El recipiente se unió al aparato de HF (Pennisula Labs), se enfrió en un baño de hielo seco/metanol, se evacuó, y se condensaron aproximadamente 10 ml de fluoruro de hidrógeno líquido. La reacción se agitó en un baño de hielo durante 1 hora, a continuación se extrajo el HF al vacío. El residuo se suspendió en éter etílico; los sólidos se filtraron, se lavaron con éter y el péptido se extrajo en 50 ml de ácido acético acuoso. Se desarrolló una HPLC analítica [C8 Zorbax 0,46 x 5 cm, 1 ml/min, 45C, 214 nm, tampón A de TFA al 0,1%, tampón B de TFA al 0,1%/ACN al 90%, gradiente = 10% de B a 80% de B durante 10 min] sobre una alícuota del extracto de separación. El extracto se cargó en una columna de fase inversa preparativa C18 Kromasil 2,2 x 25 cm y se desarrolló un gradiente de acetonitrilo para la elución utilizando un sistema FPLC de Pharmacia. Se recogieron fracciones de 5 min mientras se monitorizaba la UV a 214 nm (2,0 A). A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/acetonitrilo al 50%. Gradiente = 30% de B a 100% de B durante 450 min. Las fracciones 58-65 se combinaron, se congelaron y se liofilizaron para producir 198,1 mg.

**[0288]** El análisis por HPLC del producto mostró una pureza superior al 95%. El análisis espectral de masas MALDI mostró la presencia de la masa teórica deseada de 4316,7 con el producto como una amida C-terminal. La oxintomodulina y oxintomodulina-KRNR se prepararon de manera similar como los ácidos carboxílicos C-terminales empezando con la resina de PAM cargada apropiadamente.

#### EJEMPLO 3

Glucagón Cys<sup>17</sup> Mal-PEG-5K

**[0289]** Se disolvieron 15,1 mg de Glucagón Cys<sup>17</sup> (1-29) y 27,3 mg de metoxi poli(etilenglicol)maleimida de peso molecular promedio de 5.000 (mPEG-MAL-5000, Nektar Therapeutics) en 3,5 ml de solución salina tamponada de fosfato (PBS) y se añadieron 0,5 ml de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 0,01 M. La reacción se agitó a temperatura ambiente y el progreso de la reacción se monitorizó mediante análisis por HPLC [C8 Zorbax 0,46 x 5 cm, 1 ml/min, 45C, 214 nm (0,5 A), A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/ACN al 90%, gradiente = 10% de B a 80% de B durante 10 min]. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se cargó sobre una columna de fase inversa preparativa C18 Kromasil 2,2 x 25 cm. Se desarrolló un gradiente de acetonitrilo en un FPLC de Pharmacia mientras se monitorizaba la UV a 214 nm y se recogían fracciones de 5 min. A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/acetonitrilo al 50%, gradiente = 30% de B a 100% de B durante 450 min. Las fracciones correspondientes al producto se combinaron, congelaron y liofilizaron para producir 25,9 mg.

**[0290]** Este producto se analizó por HPLC [C8 Zorbax 0,46 x 5 cm, 1 ml/min, 45C, 214 nm (0,5 A), A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/ACN al 90%, gradiente = 10% de B a 80% de B durante 10 min] y mostró una pureza de aproximadamente el 90%. El análisis espectral de masas MALDI (desorción/ionización mediante láser asistida por matriz) mostró un amplio rango de masas (típico de derivados de PEG) de 8.700 a 9.500. Esto demuestra una adición a la masa del péptido de glucagón de partida (3429) de aproximadamente 5,000 u.m.a.

#### EJEMPLO 4

Glucagón Cys<sup>21</sup> Mal-PEG-5K

**[0291]** Se disolvieron 21,6 mg de Glucagón Cys<sup>21</sup> (1-29) y 24 mg de mPEG-MAL-5000 (Nektar Therapeutics) en 3,5 ml de solución salina tamponada de fosfato (PBS) y se añadieron 0,5 ml de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 0,01 M. La reacción se agitó a la temperatura ambiente. Después de 2 horas, se añadieron otros 12,7 mg de mPEG-MAL-5000. Después de 8 horas, la mezcla de reacción se cargó en una columna de fase inversa preparativa C18 Vydac 2,2 x 25 cm y se desarrolló un gradiente de acetonitrilo en una FPLC de Pharmacia a 4 ml/min, mientras se recogían fracciones de 5 min. A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/ACN al 50%. Gradiente = 20% a 80% de B durante 450 min.

**[0292]** Las fracciones correspondientes a la aparición de producto se combinaron, congelaron y liofilizaron para producir 34 mg. El análisis del producto por HPLC analítica [C8 Zorbax 0,46 x 5 cm, 1 ml/min, 45C, 214 nm (0,5 A), A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/ACN al 90%, gradiente = 10% de B a 80% de B durante 10 min] mostró un producto homogéneo que era diferente del péptido de glucagón de partida. El análisis espectral de masas MALDI (desorción/ionización mediante láser asistida por matriz) mostró un amplio rango de masas (típico de derivados de PEG) de 8.700 a 9.700. Esto demuestra una adición a la masa del péptido de glucagón de partida (3470) de aproximadamente 5.000 u.m.a.

#### EJEMPLO 5

Glucagón Cys<sup>24</sup> Mal-PEG-5K

[0293] Se disolvieron 20,1 mg de Glucagón C<sup>24</sup> (1-29) y 39,5 mg de mPEG-Mal-5000 (Nektar Therapeutics) en 3,5 ml de PBS con agitación y se añadieron 0,5 ml de EDTA 0,01 M. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 7 horas, a continuación se añadieron otros 40 mg de mPEG-Mal-5000. Después de aproximadamente 15 h, la mezcla de reacción se cargó en una columna de fase inversa preparativa C18 Vydac 2,2 x 25 cm y se desarrolló un gradiente de acetonitrilo usando una FPLC de Pharmacia. Se recogieron fracciones de 5 min mientras se monitorizaba la UV a 214 nm (2,0 A). A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/acetonitrilo al 50%, gradiente = 30% de B a 100% de B durante 450 min. Las fracciones correspondientes al producto se combinaron, congelaron y liofilizaron para producir 45,8 mg. El análisis espectral de masas MALDI mostró una típica señal amplia de PEG con un máximo a 9175,2 que es de aproximadamente 5.000 u.m.a. más que el glucagón C<sup>24</sup> (3.457,8).

## EJEMPLO 6

Glucagón Cys<sup>24</sup> Mal-PEG-20K

[0294] Se disolvieron 25,7 mg de Glucagón Cys<sup>24</sup> (1-29) y 40,7 mg de mPEG-Mal-20K (Nektar Therapeutics) en 3,5 ml de PBS con agitación a temperatura ambiente y se añadieron 0,5 ml de EDTA 0,01 M. Después de 6 horas, la relación de material de partida con respecto a producto era de aproximadamente 60:40, según se determinó por HPLC. Se añadieron otros 25,1 mg de mPEG-Mal-20K y la reacción se dejó agitar otras 16 horas. La relación de producto no había mejorado de manera significativa, por lo que la mezcla de reacción se cargó en una columna de fase inversa preparativa Kromasil C18 2,2 x 25 cm y se purificó en una FPLC de Pharmacia usando un gradiente de 30% de B a 100% de B durante 450 min. Tampón A = TFA al 0,1%, tampón B = TFA al 0,1%/ACN al 50%, flujo = 4 ml/min, y se recogieron fracciones de 5 min mientras se monitoriza la UV a 214 nm (2,0 A). Las fracciones que contenían producto homogéneo se combinaron, congelaron y liofilizaron para producir 25,7 mg. La pureza determinada por HPLC analítica fue ~90%. Un análisis espectral de masas MALDI mostró un pico amplio de 23.000 a 27.000 que es aproximadamente 20.000 u.m.a. más que el glucagón C<sup>24</sup> de partida (3.457,8).

## EJEMPLO 7

Glucagón Cys<sup>29</sup> Mal-PEG-5K

[0295] Se disolvieron 20,0 mg de Glucagón Cys<sup>29</sup> (1-29) y 24,7 mg de mPEG-Mal-5000 (Nektar Therapeutics) en 3,5 ml de PBS con agitación a temperatura ambiente y se añadieron 0,5 ml de EDTA 0,01 M. Después de 4 h, se añadieron otros 15,6 mg de mPEG-MAL-5000 para completar la reacción. Después de 8 horas, la mezcla de reacción se cargó en una columna de fase inversa preparativa C18 Vydac 2,2 x 25 cm y se desarrolló un gradiente de acetonitrilo en un sistema de FPLC de Pharmacia. Se recogieron fracciones de 5 min mientras se monitorizaba la UV a 214 nm (2,0 A). A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/ACN al 50%. Las fracciones 75-97 se combinaron, congelaron y liofilizaron para producir 40,0 mg de producto que es diferente que el material de partida recuperado en HPLC (fracciones 58-63). El análisis del producto por HPLC analítica [C8 Zorbax 0,46 x 5 cm, 1 ml/min, 45C, 214 nm (0,5 A), A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/ACN al 90%, gradiente = 0% de B a 80 % de B durante 10 min] mostró una pureza superior al 95%. El análisis espectral de masas MALDI mostró la presencia de un componente de PEG con un rango de masas de 8.000 a 10.000 (máximo a 9025,3) que es 5.540 u.m.a. superior al material de partida (3484,8).

## EJEMPLO 8

Glucagón Cys<sup>24</sup> (2-butirolactona)

[0296] A 24,7 mg de glucagón Cys<sup>24</sup> (1-29) se añadieron 4 ml de bicarbonato de amonio 0,05 M/acetonitrilo al 50% y 5,5 µl de una solución de  $\gamma$ -lactona del ácido 2-bromo-4-hidroxibutírico (100 µl en 900 µl de acetonitrilo). Después de 3 horas de agitación a temperatura ambiente, se añadieron otros 105 µl de la solución de lactona a la mezcla de reacción, que se agitó otras 15 horas. La mezcla de reacción se diluyó hasta 10 ml con ácido acético acuoso al 10% y se cargó en una columna de fase inversa preparativa C18 Kromasil 2,2 x 25 cm. Se desarrolló un gradiente de acetonitrilo (20% de B a 80% de B durante 450 min) una FPLC de Pharmacia, mientras se recogían fracciones de 5 min y se monitorizaba la UV a 214 nm (2,0 A). Flujo = 4 ml/min, A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/ACN al 50%. Las fracciones 74-77 se combinaron, congelaron y liofilizaron para producir 7,5 mg. El análisis por HPLC mostró una pureza del 95% y el análisis espectral de masas MALDI mostró una masa de 3540,7 ó 84 unidades de masa más que material de partida. Este resultado es consistente con la adición de un único grupo de butirolactona.

## EJEMPLO 9

Glucagón Cys<sup>24</sup> (S-carboximetilo)

[0297] Se disolvieron 18,1 mg de Glucagón Cys<sup>24</sup> (1-29) en 9,4 ml de tampón de fosfato de sodio 0,1 M (pH = 9,2) y se añadieron 0,6 ml de una solución de ácido bromoacético (1,3 mg/ml en acetonitrilo). La reacción se agitó a

temperatura ambiente y el progreso de la reacción se siguió mediante HPLC analítica. Después 1 h se añadieron otros 0,1 ml de una solución de ácido bromoacético. La reacción se agitó otros 60 min, a continuación se acidificó con ácido acético acuoso y se cargó en una columna de fase inversa preparativa C18 Kromasil 2,2 x 25 cm para la purificación. Se desarrolló un gradiente de acetonitrilo FPLC de Pharmacia (flujo = 4 ml/min), mientras se recogían fracciones de 5 min y se monitorizaba la UV a 214 nm (2,0 A). A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/ACN al 50%. Las fracciones 26-29 se combinaron, congelaron y liofilizaron para producir varios mg de producto. La HPLC analítica mostró una pureza del 90% y el análisis espectral de masas MALDI confirmó una masa de 3515 para el producto deseado.



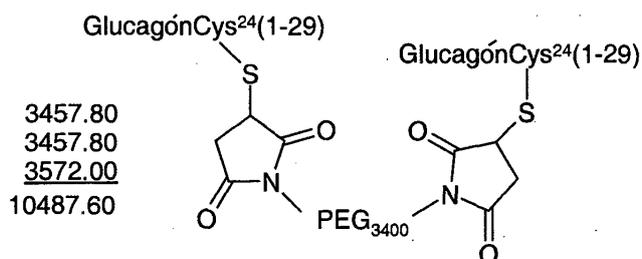
SEQ ID NO: 38

Peso molecular = 3515,87  
 Masa exacta = 3512  
 Fórmula molecular = C153H224N42O50S2

EJEMPLO 10

Dímero de Glucagón Cys<sup>24</sup> maleimido, PEG-3,4K

**[0298]** Se disolvieron 16 mg de glucagón Cys<sup>24</sup> y 1,02 mg de Mal-PEG-Mal-3400, poli(etilenglicol)bismaleimida de peso molecular promedio 3.400, (Nektar Therapeutics) en 3,5 ml de solución salina tamponada de fosfato y se añadieron 0,5 ml de EDTA 0,01 M y la reacción se agitó a temperatura ambiente. Después de 16 h, se añadieron otros 16 mg de glucagón Cys<sup>24</sup> y continuó la agitación. Después de aproximadamente 40 horas, la mezcla de reacción se cargó en una columna PepRPC 16/10 de Pharmacia y se desarrolló un gradiente de acetonitrilo en FPLC de Pharmacia, mientras se recogían fracciones de 2min y se monitorizaba la UV a 214 nm (2,0 A). Flujo = 2 ml/min, A = TFA al 0,1%, B = TFA al 0,1%/ACN al 50%. Las fracciones 69-74 se combinaron, congelaron y liofilizaron para producir 10,4 mg. La HPLC analítica mostró una pureza del 90% y el análisis espectral de masas MALDI muestra un componente en el intervalo de 9.500-11.000 que es consistente con el dímero deseado.



EJEMPLO 11

Síntesis de lactamas de glucagón

**[0299]** Se añadieron 285 mg (0,2 mmol) de resina de metoxibenzhidrilamina (Midwest Biotech) a recipientes de reacción de 60 ml y la siguiente secuencia se ensambló en un sintetizador de péptidos Applied Biosystems 430A modificado usando acoplamiento individuales activados con Boc DEPBT.

HSQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVQWLMNT-NH<sub>2</sub> (Lactama 12 -16) (SEQ ID NO: 12)

**[0300]** Se utilizaron los siguientes grupos protectores de cadena lateral: Arg (Tos), Asp (Ochx), Asn (Xan), Glu (OFm), His (BOM), Lys (Fmoc), Ser (Bzl), Thr (Bzl), Trp (CHO), Tyr (Br-Z). Lys (Cl-Z) se utilizó en la posición 12 si lactamas se construían a partir de 16-20, 20-24, o 24-28. La resina de peptidilo completada se trató con piperidina/dimetilformamida al 20% durante una hora con rotación para eliminar el grupo formilo de Trp, así como la protección Fmoc y OFm de Lys12 y Glu16. Tras la confirmación de la separación por un ensayo de ninhidrina positivo, la resina se lavó con dimetilformamida, seguido de diclorometano y de nuevo con dimetilformamida. La resina se trató con 520 mg (1 mmol) de hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-pirrolidino-fosfonio (PyBOP) en

5 dimetilformamida y diisopropiletilamina (DIEA). La reacción procedió durante 8-10 horas y la ciclación se confirmó por una reacción de ninhidrina negativo. La resina se lavó con dimetilformamida, seguido de diclorometano y posteriormente se trató con ácido trifluoroacético durante 10 minutos. La eliminación del grupo Boc se confirmó por una reacción de ninhidrina positiva. La resina se lavó con dimetilformamida y diclorometano y se secó antes de ser transferida a un recipiente de reacción con ácido fluorhídrico (HF). Se añadieron 500 µl de p-cresol junto con una barra de agitación magnética. El recipiente se unió al aparato de HF (Peninsula Labs), se enfrió en un baño de hielo seco/metanol, se evacuó, y aproximadamente 10 ml de ácido fluorhídrico líquido se condensaron en el recipiente. La reacción se agitó durante 1 hora en un baño de hielo y se eliminó el HF posteriormente a vacío. El residuo se suspendió en éter etílico; los sólidos se filtraron, se lavaron con éter, y el péptido se solubilizó con 150 ml de acetonitrilo al 20%/ácido acético al 1%.

15 **[0301]** Se llevó a cabo un análisis de HPLC analítico del péptido solubilizado crudo bajo las siguientes condiciones [4,6 X 30 mm Xterra C8, 1,50 mL/min, 220 nm, tampón 0,1% TFA/10% de ACN, tampón B 0,1% de TFA/100% de ACN, gradiente 5-95% de B durante 15 minutos]. El extracto se diluyó dos veces con agua y se cargó en una columna de fase inversa preparativa 2,2 X 25 cm Vydac C4 y se eluyó usando un gradiente de acetonitrilo en un sistema de HPLC Waters (tampón A de 0,1% TFA/10% ACN, tampón B de 0,1% TFA/10% CAN y un gradiente de 0-100% de B durante 120 minutos a un caudal de 15,00 ml/min. El análisis por HPLC del péptido purificado mostró más de un 95% de pureza y el análisis espectral de masas de ionización por electrospray confirmó una masa de 3506 Da para la lactama 12-16. Las lactamas a partir de 16-20, 20-24, y 24-28 se prepararon de manera similar.

## 20 EJEMPLO 12

Ensayos de solubilidad del glucagón:

25 **[0302]** Se prepara una solución (1 mg/ml o 3 mg/ml) de glucagón (o un análogo) en HCl 0,01 N. Se diluyen 100 µl de solución madre a 1 ml con HCl 0,01 N y se determina la absorbancia UV (276 nm). El pH de la solución madre restante se ajusta a pH 7 usando 200-250 µl de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1 M (pH 9,2). La solución se deja reposar durante la noche a 4°C, a continuación se centrifuga. A continuación, se diluyen 100 µl de sobrenadante a 1 ml con HCl 0,01 N, y se determina la absorbancia UV (por duplicado).

30 **[0303]** La lectura de absorbancia inicial se compensa por el aumento de volumen y se utiliza el siguiente cálculo para establecer el porcentaje de solubilidad:

$$35 \frac{\text{Absorbancia final}}{\text{Absorbancia inicial}} \times 100 = \text{porcentaje de soluble}$$

40 Los resultados se muestran en la tabla 1, en la que Glucagón-Cex representa glucagón de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1) más una adición carboxi terminal de SEQ ID NO: 26 y Glucagón-Cex R<sup>12</sup> representa SEQ ID NO: 39

**Tabla 1 Datos de solubilidad para análogos de glucagón**

Análogo	Porcentaje soluble
Glucagón	16
Glucagón-Cex, R12	104
Glucagón-Cex	87
Oxintomodulina	104
Glucagón, Cis17PEG5K	94
Glucagón, Cis21PEG5K	105
Glucagón, Cis24PEG5K	133

## EJEMPLO 13

45 Ensayo de unión al receptor de glucagón

50 **[0304]** La afinidad de los péptidos hacia el receptor de glucagón se midió en un ensayo de unión por competición utilizando la tecnología de ensayo de proximidad de centelleo. Se mezclaron diluciones en serie de 3 veces de los péptidos realizadas en tampón de ensayo de proximidad de centelleo (Tris-HCl 0,05 M, pH 7,5, NaCl 0,15 M, albúmina de suero bovino al 0,1% p/v) en placas de base blanca/clara de 96 pocillos (Corning Inc., Acton, MA) con (3 - [<sup>125</sup>I]-yodotirosil) Tyr<sup>10</sup> glucagón 0,05 nM (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ), 1-6 microgramos por pocillo, fragmentos de membrana plasmática preparados a partir de células que sobreexpresan receptor de glucagón humano, y 1 mg/pocillo de partículas de ensayo de proximidad de centelleo con aglutinina tipo A de germen de trigo tratado con polietilenimina (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ). Tras 5 min de agitación a 800 rpm en un agitador rotatorio, la placa se incubó 12 h a temperatura ambiente y a continuación se leyó en un contador de

centelleo líquido MicroBeta1450 (Perkin-Elmer, Wellesley, MA). Se midió la radioactividad no unida específicamente (NSB) en los pocillos con 4 veces mayor concentración de ligando nativo “frío” que la concentración más alta en muestras de ensayo y se detectó la radiactividad unida total en los pocillos con ningún competidor. Se calculó el porcentaje de unión específica de la siguiente manera: % unión específica = ((unida - NSB)/(unida total - NSB)) X 100. Los valores de IC<sub>50</sub> se determinaron mediante el uso de software Origin (OriginLab, Northampton, MA).

EJEMPLO 14

Ensayo funcional - Síntesis de AMPc

**[0305]** La capacidad de los análogos de glucagón para inducir AMPc se midió en un ensayo indicador basado en luciferasa de luciérnaga. Se privaron de suero células HEK293 cotransfectadas con receptor de glucagón o receptor de GLP-1 y gen de luciferasa unido a un elemento de respuesta de AMPc mediante el cultivo de 16h en DMEM (Invitrogen, Carlsbad, CA) complementado con suero de crecimiento bovino al 0,25% (HyClone, Logan, UT) y a continuación, se incubaron con diluciones en serie de glucagón, GLP-1, o nuevos análogos de glucagón durante 5 horas a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub> en placas “Biocoat” de 96 pocillos recubiertos de poli-D-lisina (BD Biosciences, San Jose, CA). Al final de la incubación, se añadieron 100 microlitros de reactivo de sustrato de luminiscencia LucLite (Perkin-Elmer, Wellesley, MA) a cada pocillo. La placa se agitó brevemente, se incubó 10 min en un ciclo de oscuro y claro, y el resultado se midió en un contador de centelleo líquido MicroBeta-1450 (Perkin-Elmer, Wellesley, MA). Las concentraciones con 50% de eficacia se calcularon mediante el uso de software Origin (OriginLab, Northampton, MA).

Tabla 2

Inducción de AMPc por Análogos de Glucagón con Extensión C-Terminal				
Péptido	Inducción de AMPc			
	Receptor de Glucagón		Receptor de GLP-1	
	EC <sub>50</sub> , nM	N*	EC <sub>50</sub> , nM	N
Glucagón	0,22 ± 0,09	14	3,85 ± 1,64	10
GLP-1	22140,00 ± 182,43	2	0,04 ± 0,01	14
Glucagón Cex	0,25 ± 0,15	6	2,75 ± 2,03	7
Oxintomodulina	3,25 ± 1,65	5	2,53 ± 1,74	5
Oxintomodulina KRNR	2,77 ± 1,74	4	3,21 ± 0,49	2
Glucagón R12	0,41 ± 0,17	6	0,48 ± 0,11	5
Glucagón R12 Cex	0,35 ± 0,23	10	1,25 ± 0,63	10
Glucagón R12 K20	0,84 ± 0,40	5	0,82 ± 0,49	5
Glucagón R12 K24	1,00 ± 0,39	4	1,25 ± 0,97	5
Glucagón R12 K29	0,81 ± 0,49	5	0,41 ± 0,24	6
Glucagón Amida	0,26 ± 0,15	3	1,90 ± 0,35	2
Oxintomodulina C24	2,54 ± 0,63	2	5,27 ± 0,26	2
Oxintomodulina C24 PEG 20K	0,97 ± 0,04	1	1,29 ± 0,11	1

\* - número de experimentos

Tabla 3

Inducción de AMPc por Análogos de Glucagón Pegilados				
Péptido	Inducción de AMPc			
	Receptor de Glucagón		Receptor de GLP-1	
	EC <sub>50</sub> , nM	N*	EC <sub>50</sub> , nM	N
Glucagón	0,33 ± 0,23	18	12,71 ± 3,74	2
Glucagón C17 PEG 5K	0,82 ± 0,15	4	55,86 ± 1,13	2
Glucagón C21 PEG 5K	0,37 ± 0,16	6	11,52 ± 3,68	2
Glucagón C24 PEG 5K	0,22 ± 0,10	12	13,65 ± 2,95	4
Glucagón C29 PEG 5K	0,96 ± 0,07	2	12,71 ± 3,74	2
Glucagón C24 PEG 20K	0,08 ± 0,05	3	No determinado	
Glucagón C24 Dímero	0,10 ± 0,05	3	No determinado	
GLP-1	> 1000		0,05 ± 0,02	4

\* - número de experimentos

Tabla 4

Inducción de AMPc por Análogos de Glucagón E16		
Porcentaje de potencia Relativa a Ligando Original		
Péptido	GRec	GLP-1Rec
E16 Gluc-NH2	187,2	17,8
Glucagón	100,0	0,8

Gluc-NH2	43,2	4,0
NLeu3, E16 Gluc-NH2	7,6	20,6
E3, E16 Gluc-NH2	1,6	28,8
Orn3, E16 Gluc-NH2	0,5	0,1
GLP-1	<0,1	100

Tabla 5

Inducción de AMPc por Análogos de Glucagón E16		
Porcentaje de potencia Relativa a Ligando Original		
Péptido	GRec	GLP-GRec
E16 Gluc-NH2	187,2	17,8
E15, E16 Gluc-NH2	147,0	9,2
E16, K20 Gluc-NH2	130,1	41,5
Gluc-NH2	43,2	4,0

5

Tabla 6

Valores de EC50 para Inducción de AMPc por Análogos de Glucagón E16						
Péptido	Receptor de Glucagón			Receptor de GLP-1		
	EC50 (nM)	Dv Est.	n	EC50 (nM)	Dv Est.	n
Glucagón	<b>0,28</b>	0,14	10	<b>4,51</b>	N/A	1
Glucagón-NH2	<b>0,53</b>	0,33	8	<b>1,82</b>	0,96	5
E16 Gluc-NH2	<b>0,07</b>	0,07	10	<b>0,16</b>	0,14	10
E16, G30 Gluc-NH2	<b>0,41</b>	0,36	5	<b>0,24</b>	0,10	5
E16, G30 Gluc-Cex	<b>0,51</b>	0,46	5	<b>1,19</b>	0,86	5
GLP-1	<b>2214</b>	N/A	1	<b>0,03</b>	0,02	9

Tabla 7

Valores de EC50 para Inducción de AMPc por Análogos de Glucagón E16						
Péptido	Receptor de Glucagón			Receptor de GLP-1		
	EC50 (nM)	Dv Est.	n	EC50 (nM)	Dv Est.	n
E16 Glucagón NH2	<b>0,07</b>	0,07	10	<b>0,16</b>	0,14	10
hCSO <sub>3</sub> 16 Glucagón-NH2	<b>0,25</b>	0,12	2	<b>0,19</b>	0,02	2
hE16 Glucagón-NH2	<b>0,17</b>	0,08	2	<b>0,25</b>	0,03	2
H16 Glucagón-NH2	<b>0,45</b>	0,3	2	<b>0,38</b>	0,11	2
Q16 Glucagón-NH2	<b>0,22</b>	0,1	2	<b>0,39</b>	0,08	2
D16 Glucagón-NH2	<b>0,56</b>	0,15	2	<b>0,93</b>	0,28	2
(S16) Glucagón-NH2	<b>0,53</b>	0,33	8	<b>1,82</b>	0,96	5

10

Tabla 8

Valores de EC50 para Inducción de AMPc por Análogos de Glucagón E16						
Péptido	Receptor de Glucagón			Receptor de GLP-1		
	EC50 (nM)	Dv Est.	n	EC50 (nM)	Dv Est.	n
E16 Glucagón NH2	<b>0,07</b>	0,07	10	<b>0,16</b>	0,14	10
T16 Glucagón-NH2	<b>0,10</b>	0,02	3	<b>1,99</b>	0,48	3
G16 Glucagón-NH2	<b>0,10</b>	0,01	3	<b>2,46</b>	0,60	3
Glucagón-NH2	<b>0,53</b>	0,33	4	<b>1,82</b>	0,96	5
GLP-1	<b>2214</b>	N/A	1	<b>0,03</b>	0,02	9

E16 Gluc NH<sub>2</sub> era 4 veces más potente en el receptor de glucagón con respecto a G16-COOH y T16 Gluc NH<sub>2</sub>, cuando los compuestos se analizaron uno al lado del otro.

15

Tabla 9

Inducción de AMPc por Análogos de Glucagón E16/Lactama		
Porcentaje de potencia Relativa a Ligando Original		
Péptido	GRec	GLP-1Rec
E24K28 Gluc-NH2 Lac	196,4	12,5
E16K20 Gluc-NH2 Lac	180,8	63,0

K12E16 Gluc-NH2 Lac	154,2	63,3
K20E24 Gluc-NH2 Lac	120,2	8,1
E16 Gluc-NH2	187,2	17,8
E16, K20 Gluc-NH2	130,1	41,5
Glucagón	100,0	0,8
Gluc-NH2	43,2	4,0

Tabla 10

Inducción de AMPc por Análogos de Glucagón GLP-1 17-26				
	Receptor de Glucagón		Receptor de GLP-1	
Péptido	EC50(nM)	Dv. Est.	EC50(nM)	DV. Est.
GLP-1			0,023	0,002
Gluc-NH2	0,159	0,023		
E16 GLP-1			0,009	0,000
E16 Glucagón-NH2	0,072	0,007		
E16 GLP(17-26)Glu(27-29)-NH2	0,076	0,004	0,014	0,001
E16 GLP(17-29)-NH2	0,46	0,023	0,010	0,000
E16 GLP(17-29)-NH2 E24, K28	0,23	0,020	0,007	
E16 GLP(17-29)-NH2 E24, K28 Lactama	0,16	0,017	0,007	0,000

5 EJEMPLO 15

Ensayo de estabilidad para los análogos de glucagón Cys-maleimido PEG

10 **[0306]** Cada análogo de glucagón se disolvió en agua o PBS y se llevó a cabo un primer análisis HPLC. Después de ajustar el pH (4, 5, 6, 7), las muestras se incubaron durante un período de tiempo especificado a 37°C y se reanalizaron por HPLC para determinar la integridad del péptido. Se determinó la concentración del péptido específico de interés y se calculó el porcentaje intacto restante en relación con el análisis inicial. Los resultados para Glucagón Cys<sup>21</sup>-maleimidoPEG<sub>5K</sub> se muestran en las figuras 1 y 2.

15 EJEMPLO 16

**[0307]** Los siguientes péptidos similares al glucagón se construyen generalmente como se describe anteriormente en los Ejemplos 1-11:

20 En todas las siguientes secuencias, "a" significa una amida C-terminal.

- HSQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 70)
- HSQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 71)
- HSQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 72)
- 25 HSQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 73)
- HSQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 74)
- HSQGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 75)
- HSQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 76)
- HSQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 77)
- 30 HSQGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 78)
- HSQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 79)
- HSQGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 80)
- HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFAIW LMNTa (SEQ ID NO: 81)
- HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFAIW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 82)
- 35 HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFAIW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 83)
- HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFAIW LVKGa (SEQ ID NO: 84)
- HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFAIW LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 85)
- HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFAIW LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 86)
- X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 87)
- 40 X1 SQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 88)
- X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO : 89)
- X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 90)
- X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 91)
- X1SQGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 92)
- 45 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 93)
- X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 94)

## ES 2 579 502 T3

X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 95)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 96)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 97)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO: 98)  
 5 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 99)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 100)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 101)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 12 a 16 ; SEQ ID NO: 102)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 103)  
 10 en las que en las secuencias anteriores, X1 = (Des-amino) His  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 104)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 105)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 106)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 107)  
 15 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 108)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 109)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 110)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 111)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 112)  
 20 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa ( lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 113)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 114)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO: 115)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 116)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 16 a 20 ; SEQ ID NO: 117)  
 25 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 118)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 119)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 120)  
 en las que en la secuencias anteriores X2 = ácido aminoisobutírico  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 121)  
 30 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 122)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa ( lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 123)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 124)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 125)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 126)  
 35 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 127)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 128 )  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 129)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 130)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 131)  
 40 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO: 132)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 133)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 134)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 135)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 136)  
 45 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 137)  
 en las que en las secuencias anteriores X2 = (D-Ala)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 138)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 139)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO : 140)  
 50 HSEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 141)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 142)  
 HSEGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 143)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 144)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 145)  
 55 HSEGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 146)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 147)  
 HSEGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 148)  
 HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO: 149)  
 HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 150)  
 60 HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 151)  
 HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 152)  
 HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 153)  
 HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 154)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 155)  
 65 X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 156)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 157)

X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 158)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 159)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 160)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 161)  
 5 X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 162)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 163)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 164)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 165)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO: 166)  
 10 X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 167)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 168)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 169)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 170)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 171)  
 15 en las que en las secuencias anteriores X1 = (Des-amino) His  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 172)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 173)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 174)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 175)  
 20 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 176)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 177)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 178)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 179)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 180)  
 25 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 181)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 182)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO: 183)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 184)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 185)  
 30 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 186)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 187)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 188)  
 en las que en las secuencias anteriores X2 = ácido aminoisobutírico  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 189)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 190)  
 35 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 191)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 192)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 193)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 194)  
 40 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 195)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 196)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 197)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 198)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 199)  
 45 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO: 200)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 201)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 202)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 203)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 204)  
 50 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 205)  
 en las que en las secuencias anteriores X2 = (D-Ala)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 206)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 207)  
 55 HSQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 208)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 209)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 210)  
 HSQGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 211)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 212)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16-20; SEQ ID NO: 213)  
 60 HSQGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 214)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 215)  
 HSQGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 216)  
 HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 217)  
 HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 218)  
 65 HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 219)  
 HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (SEQ ID NO: 220)

- HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 221)  
 HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 222)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 223)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 224)  
 5 X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 225)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 226)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 227)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 228)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 229)  
 10 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 230)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 231)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 232)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 233)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 234)  
 15 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 235)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 236)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (SEQ ID NO: 237)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 238)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 239)

20 en las que en la secuencias anteriores X1 = (Des-amino) His; y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.

- 25 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 240)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 241)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 242)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 243)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 244)  
 30 HX2QGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 245)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 246)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 247)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 248)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 249)  
 35 HX2QGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 250)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 251)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16 ; SEQ ID NO: 252)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 253)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (SEQ ID NO: 254)  
 40 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 255)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 256)

45 en las que en la secuencias anteriores X2 = ácido aminoisobutírico; y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.

- HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 257)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 258)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 259)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 260)  
 50 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 261)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 262)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 263)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 264)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 265)  
 55 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 266)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 267)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 268)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 269)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 270)  
 60 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (SEQ ID NO: 271)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 272)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 273)

65 en las que en la secuencias anteriores X2 = (D-Ala); y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.

HSEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 274)

- HSEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 275)  
HSEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 276)  
HSEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 277)  
HSEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 278)  
5 HSEGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 279)  
HSEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 280)  
HSEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 281)  
HSEGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 282)  
HSEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 283)  
10 HSEGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 284)  
HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 285)  
HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16 ; SEQ ID NO: 286)  
HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 287)  
HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (SEQ ID NO: 288)  
15 HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 289)  
HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 290)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 291)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 292)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 293)  
20 X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 294)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 295)  
X1SEGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 296)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 297)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 298)  
25 X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 299)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 300)  
X1SEGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 301)  
X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 302)  
X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 303)  
30 X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 304)  
X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (SEQ ID NO: 305)  
X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 306)  
X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 307)  
en las que en la secuencias anteriores X1 = (Des-amino) His; y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un  
35 polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso  
promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso  
promedio.  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 308)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 309)  
40 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 310)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 311)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 312 )  
HX2EGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 313)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 314)  
45 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 315)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 316)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 317)  
HX2EGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 318)  
HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 319)  
50 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16 ; SEQ ID NO: 320)  
HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 321)  
HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (SEQ ID NO: 322)  
HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 323)  
HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 324)  
55 en las que en la secuencias anteriores X2 = ácido aminoisoutiúrico; y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un  
polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso  
promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso  
promedio.  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 325)  
60 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 326)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 327)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 328)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 329 )  
HX2EGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 330)  
65 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 331)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 332)

- HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 333)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 334)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 335)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 336)
- 5 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 12 a 16 ; SEQ ID NO: 337)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 338)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (SEQ ID NO: 339)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 340)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LVKGa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 341)
- 10 en las que en la secuencias anteriores X2 = (D-Ala); y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.  
 HSQGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 342)  
 HSQGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 343)
- 15 HSQGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO : 344)  
 HSQGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 345)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 346)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 347)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO: 348)
- 20 X1SQGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 349)  
 en las que X1 = (Des-amino) His; y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.  
 HX2QGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 350)
- 25 HX2QGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 351)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO: 352)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 353)  
 en las que X2 = ácido aminoisobutírico; y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.
- 30 HX2QGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 354)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 355)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO : 356)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 357)
- 35 en las que X2 = (D-Ala); y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.  
 HSEGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 358)  
 HSEGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 359)
- 40 HSEGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO : 360)  
 HSEGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 361)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 362)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 363)  
 X1SEGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO: 364)
- 45 X1SEGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 365)  
 en las que X1 = (Des-amino) His; y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.  
 HX2EGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 366)
- 50 HX2EGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 367)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO : 368)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 369)  
 en las que X1 = (D-Ala); y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.
- 55 HX2EGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 370)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD C\*RAAK DFVQW LMNTa (SEQ ID NO: 371)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LMNTa (SEQ ID NO : 372)  
 HX2EGT FTSDY SKYLD C\*QAAK EFIAW LVKGa (SEQ ID NO: 373)
- 60 en las que X1 = (D-Ala); y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 374)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 375)
- 65 HSQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO : 376)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 377)

HSQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 378)  
 HSQGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 379)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 380)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 381)  
 5 HSQGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 382)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 383)  
 HSQGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 384)  
 HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (SEQ ID NO: 385)  
 HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 386)  
 10 HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 387)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 388)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 389 )  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 390)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 391)  
 15 X1SQGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 392)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 393)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 394)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 395)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 396)  
 20 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 397)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 398)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (SEQ ID NO: 399)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 400)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 401)  
 25 en las que en la secuencias anteriores X1 = (Des-amino) His  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 402)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa ( SEQ ID NO: 403)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 16-20; SEQ ID NO: 404)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 405)  
 30 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 406)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 407)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 408)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 409)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 410)  
 35 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 411)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 412)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (SEQ ID NO: 413)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 414)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO : 415)  
 40 en las que en la secuencias anteriores = ácido aminoisobutírico  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 416)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 417)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20 ; SEQ ID NO: 418)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 419)  
 45 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 420)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 421)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 422)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 423)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 424)  
 50 HX2QGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 425)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 426)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (SEQ ID NO: 427)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 428)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 429)  
 55 en las que en las secuencias anteriores X2 = (D-Ala)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 430)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 431)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 432)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 433)  
 60 HSEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 434)  
 HSEGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 435)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 436)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20 ; SEQ ID NO: 437)  
 HSEGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 438)  
 65 HSEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 439)  
 HSEGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 440)

- HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (SEQ ID NO: 441)  
HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 442)  
HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 443)  
5 X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 444)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 445)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 446)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 447)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 448)  
10 X1SEGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 449)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 450)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 451)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 452)  
X1SEGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 453)  
15 X1SEGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 454)  
X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (SEQ ID NO: 455)  
X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 456)  
X1SEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 457)  
en las que en la secuencias anteriores X1 = (Des-amino) His  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 458)  
20 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO : 459)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 460)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 461)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 462)  
HX2EGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 463)  
25 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 464)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 465)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 466)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 467)  
HX2EGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 468)  
30 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (SEQ ID NO: 469)  
HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 470)  
HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 471)  
en las que en las secuencias anteriores X2 = ácido aminoisobutírico  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 472)  
35 HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 473)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 474)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 475)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERRAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 476)  
HX2EGT FTSDY SKYLD KRRAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 477)  
40 HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (SEQ ID NO: 478)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 479)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAQ DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16 ; SEQ ID NO: 480)  
HX2EGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 481)  
HX2EGT FTSDY SKYLD KRAAE DFVQW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 482)  
45 HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (SEQ ID NO: 483)  
HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 12 a 16; SEQ ID NO: 484)  
HX2EGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMDTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 485)  
en que en las secuencias anteriores X2 = (D-Ala)
- 50 Los siguientes péptidos similares al glucagón con una proporción de actividad de GLP-1/glucagón de aproximadamente 5 o más también se construyen generalmente como se describe anteriormente en los Ejemplos 1-11. En general, en estos péptidos, AIB en la posición 2 proporciona resistencia a DPP IV, pero también reduce significativamente la actividad de glucagón.  
HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 486)  
55 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNC\*a (SEQ ID NO: 487 )  
HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNGG PSSGA PPPSC\*a (SEQ ID N°: 488)  
HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNGG PSSGA PPPSC\*a (lactama en 16-20; SEQ ID N°: 489)  
HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNGG PSSGA PPPSa (SEQ ID NO: 490)  
HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNGG PSSGA PPPSa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 491)  
60 en las que en las secuencias anteriores X2 = AIB; y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.  
HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 492)  
HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNC\*a (SEQ ID NO: 493)  
65 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNGG PSSGA PPPSC\*a (SEQ ID NO: 494)  
HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNGG PSSGA PPPSC\*a (lactama en 16-20; SEQ ID NO: 495)

HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNGG PSSGA PPPSa (SEQ ID NO: 496)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNGG PSSGA PPPSa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 497)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 498)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNC\*a (SEQ ID NO: 499)  
 5 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNGG PSSGA PPPSC\*a (SEQ ID NO: 500)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNGG PSSGA PPPSC\*a (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 501)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNGG PSSGA PPPSa (SEQ ID NO: 502)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNGG PSSGA PPPSa (lactama en 16-20; SEQ ID NO: 503)  
 10 en las que en las secuencias anteriores X2 = AIB; y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.

Los siguientes péptidos similares al glucagón que son coagonistas de GLP-1/glucagón también se construyen generalmente como se describe anteriormente en los Ejemplos 1-11. La formación de lactama entre los aminoácidos 16 y 20 restaura la reducción de la actividad de glucagón causada por la sustitución en la posición 2.

15 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 504)  
 en las que en la secuencia anterior X2 = AIB; y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o  
 20 alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.

X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 505)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNC\*a (lactama en 16-20; SEQ ID NO: 506)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNGG PSSGA PPPSC\*a (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 507)  
 25 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNGG PSSGA PPPSC\*a (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 508 )  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNGG PSSGA PPPSa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 509)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 510)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16-20; SEQ ID NO: 511)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMNC\*a (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 512)  
 30 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNGG PSSGA PPPSa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 513)  
 en las que en las secuencias anteriores X1 = DMIA (ácido alfa, alfa-dimetil imidazol); y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.

35 HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (opcionalmente con lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 514)  
 en la que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.

40 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 517)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (lactama en 16 a 20; SEQ ID NO: 528)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD ERAAK EFIC\*W LMNGG PSSGA PPPSC\*a (SEQ ID NO: 531)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNGG PSSGA PPPSC\*a (SEQ ID NO: 532)  
 HX2QGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNGG PSSGA PPPSa (SEQ ID NO: 533)  
 45 en las que en las secuencias anteriores X2 = AIB; y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.

HSQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 518)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 519)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD EQAAK EFIAW LMNC\*a (SEQ ID NO: 520)  
 50 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNGG PSSGA PPPSa (SEQ ID NO: 529)  
 X1SQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVC\*W LMNTa (SEQ ID NO: 530)  
 en las que en las secuencias anteriores X1 = DMIA (ácido alfa, alfa-dimetil imidazol), y en las que C\* es una Cys, o una Cys unida a un polímero hidrófilo, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 20 kD de peso promedio, o alternativamente C\* es una Cys unida a un polietilenglicol de aproximadamente 40 kD de peso promedio.

55 HSQGT FTSDY SKYLD SRRAQ DFVQW LMNTGPSSGAPPPSa (SEQ ID NO: 521)  
 HSQGT FTSDY SKYLD SRRAQ DFVQW LMNGGPSSGAPPPSa (SEQ ID NO: 522)  
 HSQGT FTSDY SKYLD SRRAQ DFVQW LMKGGPSSGAPPPSa (SEQ ID NO: 523)  
 HSQGT FTSDY SKYLD SRRAQ DFVQW LVKGGPSSGAPPPSa (SEQ ID NO: 524)  
 60 HSQGT FTSDY SKYLD SRRAQ DFVQW LMDGGPSSGAPPPSa (SEQ ID NO: 525)  
 HSQGT FTSDY SKYLD ERAAK DFVQW LMDGGPSSGAPPPSa (SEQ ID NO: 526)  
 HAEGT FTSDV SSYLE GQAAK EFIAW LVKGGa (SEQ ID NO: 527)  
 X1X2QGT FTSDY SKYLD ERX5AK DFVX3W LMNX4 (SEQ ID NO: 61) en la que  
 X1 = His, D-histidina, desaminohistidina, hidroxil-histidina, acetil-histidina, homo-histidina o ácido alfa, alfa-dimetil  
 65 imidazol acético (DMIA), N-metil histidina, alfa-metil histidina, o ácido imidazol acético,  
 X2 = Ser, D-serina, Ala, Val, glicina, N-metil serina o ácido aminoisobutírico (AIB), N-metil alanina y D-alanina,

X3 = Ala, Gln o Cys-PEG

X4 = Thr-CONH2 o Cys-PEG o GGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 515) o

GGPSSGAPPPSC-PEG (SEQ ID NO: 516)

siempre que cuando X3 es Cys-PEG, X4 no es Cys-PEG o GGPSSGAPPPSC-PEG (SEQ ID NO: 516), y cuando X2 = Ser, X1 no es His.

X5 = Ala o Arg

X1X2QGT FTSDY SKYLD EQ X5AK EFI X3W LMNX4 (SEQ ID NO: 62) en la que

X1 = His, D-histidina, desaminohistidina, hidroxil-histidina, acetil-histidina, homo-histidina o ácido alfa, alfa-dimetilimidazol acético (DMIA), N-metil histidina, alfa-metil histidina, o ácido imidazol acético,

X2 = Ser, D-serina, Ala, Val, glicina, N-metil serina o ácido aminoisobutírico (AIB), N-metil alanina y D-alanina,

X3 = Ala, Gln o Cys-PEG

X4 = Thr-CONH2 o Cys-PEG o GGPSSGAPPPS (SEQ ID NO: 515) o

GGPSSGAPPPSC-PEG (SEQ ID NO: 516)

siempre que cuando X3 es Cys-PEG, X4 no es Cys-PEG o GGPSSGAPPPSC-PEG (SEQ ID NO: 516), y cuando X2 = Ser, X1 no es His.

X5 = Ala o Arg

HSEGT FTSDY SKYLD EQAAK EFAW LXNTa (SEQ ID nO: 554), en la que X en la posición 27 es norleucina, en el que el aminoácido en la posición 29 está amidado.

[0308] Cualquiera de las secuencias anteriores puede incluir modificaciones adicionales, por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5 modificaciones que no destruyen la actividad, incluyendo, pero no limitado a, sustituciones W10 o R20 que se pueden utilizar para mejorar la potencia. Cualquiera de las secuencias anteriores también se puede producir sin las modificaciones que confieren resistencia a DPP IV, es decir, en las que His nativa está en la posición 1 y la Ser nativa está en la posición 2. Además, cualquiera de los compuestos anteriores opcionalmente puede estar unido a un conjugado, tal como un polipéptido heterólogo, una inmunoglobulina o una porción de los mismos (por ejemplo, región Fc), un agente de reconocimiento, una etiqueta de diagnóstico, o un agente de diagnóstico o terapéutico.

EJEMPLO 17

[0309] Los siguientes péptidos similares al glucagón modificados para comprender la extensión C-terminal de SEQ ID NO: 26 unida al extremo carboxi del péptido similar al glucagón se construyeron generalmente como se describe anteriormente en los Ejemplos 1-11 y se ensayó la actividad en los receptores de GLP-1 y glucagón utilizando el ensayo in vitro descrito en el Ejemplo 14.

[0310] La Tabla 11 representa la actividad de varios análogos de glucagón en los receptores de glucagón y GLP-1. Los datos muestran que para análogos de glucagón que comprenden la extensión C-terminal de SEQ ID NO: 26, las sustituciones de aminoácidos en las posiciones 16, 20, 28 y 29 pueden afectar la actividad de los análogos en el receptor de GLP-1.

Tabla 11

Péptido similar a Glucagón	Relación de Actividad de Estructura de Glucagón-Cex			
	Receptor de Glucagón		Receptor de GLP-1	
	EC50 (nM)	Potencia Relativa (%)	EC50 (nM)	Potencia Relativa (%)
-MNT <sup>29</sup> (SEQ ID N°: 1)	0,086	100		
-MNTG <sup>30</sup> PSSGAPPPS (SEQ ID N°: 521)	0,14	61	1,19	2
-MNGG <sup>30</sup> PSSGAPPPS (SEQ ID N°: 522)	0,28	30	0,31	8
-MKGG <sup>30</sup> PSSGAPPPS (SEQ ID N°: 523)	0,61	14	0,80	3
-VKGG <sup>30</sup> PSSGAPPPS (SEQ ID N°: 524)	1,16	7	0,21	12
-MDGG <sup>30</sup> PSSGAPPPS (SEQ ID N°: 525)	0,12	72	0,13	19
E <sup>16</sup> K <sup>20</sup> -MDGG <sup>30</sup> PSSGAPPPS (SEQ ID N°: 526)	0,22	39	0,020	125
GLP-1-VKGG <sup>30</sup> (SEQ ID N°: 527)			0,025	100

EJEMPLO 18

[0311] La Tabla 12 representa los datos in vitro acumulados de varios péptidos similares al glucagón comparando sus actividades relativas en los receptores de glucagón y GLP-1.

Tabla 12: COMPARACIÓN DE AGONISTAS Y CO-AGONISTAS con o sin PEG

	% de Potencia Relativa al nativo	
CONTROLES	GR	GL-1R
Glucagón	100	0,78

GLP-1	<0,01		100	
	Parental sin PEG		Parental con PEG	
	% de Potencia Relativa al nativo		% de Potencia Relativa al nativo	
AGONISTAS	GR	GLP-1	GR	GLP-1R
Quimera AIB2, Cys24 (SEQ ID N°: 486)	15,4	160,6	2,6	82,5
Quimera AIB2, Cys29 (SEQ ID N°: 487)	20,1	124,6	5,6	54,3
Quimera AIB2, Gly29,30 Cys40 Cex (SEQ ID N°: 488)	2,2	359,1	0,3	68,8
Quimera AIB2, Gly29,30 Cys40 Cex Lactama (SEQ ID N°: 489)	14,2	169,6	3,2	63,6
Quimera AIB2, Gly29,30 Cys24 Cex (SEQ ID N°: 490)	2,5	457,8	0,2	95,4
Quimera AIB2, Gly29,30 Cys24 Cex Lactama (SEQ ID N°: 488)	25,2	381,5	1,4	96,4
E16, K20AIB2, A18 Cys24 (SEQ ID N°: 492)	--	--	1,1	73,5
E16, K20AIB2, A18 Gly29,30 Cys24 Cex (SEQ ID N°: 496)	--	--	0,1	88,5
COAGONISTAS	GR	GLP-1	GR	GLP-1R
Quimera DMIA1, Cys24 Lactama (SEQ ID N°: 505)	160,7	82,5	19,1	12,5
Quimera AIB2, Cys24 Lactama (SEQ ID N°: 504)	114,2	230,4	9,2	38,0
Quimera DMIA1, Cys29 Lactama (SEQ ID N°: 506)	--	--	--	--
Quimera DMIA1, Gly29,30 Cys40 Cex Lactama (SEQ ID N°: 507)	--	--	--	--
E16, K20 DMIA1, Gly29, 30 Cys40 Cex Lactama (SEQ ID N° 508)	--	--	--	---
Quimera DMIA1, Gly29,30 Cys24 Cex Lactama (SEQ ID N°: 509)	--	--	--	--
E16, K20 DMIA1, Cys24 Lactama (SEQ ID N° 510)	--	--	64,1	9,3
E16, K20 AIB2, Cys24 Lactama (SEQ ID N° 517)	108,3	96,9	15,8	31,0
Quimera Cys24 (SEQ ID N°: 518)	--	--	19,8	29,3
E16, K20 DMIA1, Gly29, 30 Cys24 Cex Lactama (SEQ ID N° 513)	116,0	78,3	12,6	11,3
Quimera DMIA1, Cys29 (SEQ ID N°: 520)	--	--	5,3	27,3
Quimera DMIA1, Cys24 (SEQ ID N°: 519)	28,9	64,5	6,9	19,3

## EJEMPLO 19

- 5 **[0312]** Los péptidos acilados y/o PEGilados se prepararon de la siguiente manera. Los péptidos se sintetizaron en una resina de soporte sólido utilizando un sintetizador de péptidos CS Bio 4886 o sintetizador de péptidos Applied Biosystems 430A. Se utilizó química de neutralización in situ tal como se describe por Scholzer et al., Int. J. Peptide Protein Res. 40: 180-193 (1992). Para los péptidos acilados, el residuo de aminoácido objetivo a ser acilado (por ejemplo, la posición diez) se sustituyó por un residuo de lisina FMOC en N-epsilon. El tratamiento del péptido protegido con BOC N-terminal completado con piperidina al 20% en DMF durante 30 minutos eliminó los grupos formilo/FMOC. El acoplamiento al residuo de Lys con ε-amino libre se logró mediante el acoplamiento de un exceso molar de diez veces de un aminoácido espaciador protegido con FMOC (por ejemplo, FMOC-(N-BOC)-triptófano-OH) o cadena de acilo (por ejemplo, C17-COOH) y PyBOP o reactivo de acoplamiento DEPBT en DMF/DIEA. La eliminación posterior del grupo FMOC del aminoácido espaciador va seguido por la repetición de acoplamiento con una cadena de acilo. El tratamiento final con 100% de TFA dio lugar a la eliminación de cualquier grupo protector de cadena lateral y el grupo BOC N-terminal. Las resinas peptídicas se neutralizaron con DIEA al 5%/DMF, se secaron, y a continuación se escindieron del soporte utilizando HF/p-cresol, 95:5, a 0°C durante una hora. Después de extracción con éter, se utilizó una solución de HOAc al 5% para solvatar el péptido crudo. A continuación, se verificó una muestra de la solución para ver si contenía el péptido de peso molecular correcto por ESI-MS. Los péptidos correctos se purifican mediante RP-HPLC usando un gradiente lineal de CH3CN al 10%/TFA al 0,1% a 0,1% de TFA en 100% de CH3CN. Se utilizó una columna de proteína Vydac C18 22 mm x 250 mm para la purificación. Los análogos de péptidos acilados completaron la elución generalmente en una relación de tampón de 20:80. Las porciones se agruparon y comprobó la pureza en una RP-HPLC analítica. Las fracciones puras se liofilizaron

proporcionando péptidos sólidos blancos. Los rendimientos variaron habitualmente de 10 mg a 100 mg dependiendo de la síntesis.

5 [0313] Si un péptido comprende un puente de lactama y residuos diana para ser acilados, la acilación se lleva a cabo como se describe anteriormente tras la adición del aminoácido a la cadena principal del péptido.

10 [0314] Para la pegilación de péptidos, se hizo reaccionar 40 kDa de metoxi poli(etilenglicol)maleimido-propionamida (Chirotech Technology Ltd.) con un equivalente molar de péptido en urea 7 M, tampón Tris-HCl 50 mM usando la cantidad mínima de disolvente necesaria para disolver péptido y PEG en una solución transparente (por lo general menos de 2 ml para una reacción con 2-3 mg de péptido). La agitación vigorosa a temperatura ambiente comenzó durante 4-6 horas y la reacción se analizó por RP-HPLC analítica. Los productos PEGilados aparecieron claramente distintos del material de partida con tiempos de retención disminuidos. La purificación se realizó en una columna Vydac C4 con condiciones similares a las utilizadas para la purificación inicial de péptidos. La elución se produjo normalmente alrededor de relaciones de tampón de 50:50. Las fracciones de péptido PEGilado puro se recogieron y se liofilizaron. Los rendimientos fueron por encima del 50%, variando por reacción.

15 [0315] Los péptidos se ensayaron para determinar la actividad biológica mediante la cotransfección de células HEK293 con el receptor de glucagón (GLUR) o el receptor de GLP-1 (GLP-1R) y un gen de luciferasa unido a un elemento de respuesta a AMPc. Las células transfectadas fueron privadas de suero mediante el cultivo durante 16 horas en DMEM suplementado con suero de crecimiento bovino al 0,25% y, a continuación, se incubaron durante 5 horas con diluciones en serie de los análogos seleccionados y glucagón o GLP-1 como patrones, respectivamente. Las lecturas de absorbancia de los péptidos se obtuvieron a partir de mediciones de absorbancia UV a 280 nm en un espectrofotómetro Genesys 6 (Thermo Electron Corporation). Se utilizó la Ley de Beer para calcular las concentraciones de solución basadas en el número de residuos de triptófano y tirosina en cada análogo. Al final de la incubación, se añadieron 100 µl de sustrato de luminiscencia Luclite a cada pocillo, la placa se selló y se agitó, y se colocó en un contador de luminiscencia Wallac Trilux para la detección de AMPc. Se calcularon las concentraciones 50% eficaces (EC50) usando el software Origin (OriginLab, Northampton, MA).

20 [0316] Se prepararon péptidos coagonistas basados en glucagón acilado. Los resultados in vitro para una selección de estos péptidos se muestran en la Tabla 13. Aunque el péptido no acilado, como el glucagón nativo, era insoluble en soluciones salinas tamponadas con fosfato a concentraciones de 1 mg/ml, se observó acilación para mejorar la solubilidad del péptido a pH neutro.

TABLA 13

Curvas de Activación De Receptor y valores en nM de EC50 para Péptidos Acilados				
Péptido	Receptor de GLP-1	N	Receptor de Glucagón	N
GLP-1	0,04	15	>100	3
E16 K20-glucagón-NH2	0,21	9	0,18	10
E16 K20-glucagón-NH2 con K <sub>10</sub> -C <sub>16</sub>	0,09	8	0,40	8
E16 K200-glucagón-NH2 con K <sub>10</sub> -W-C <sub>16</sub>	0,05	8	0,14	8
E16 K20-glucagón-NH2 con K <sub>10</sub> -C <sub>18</sub>	0,03	8	0,12	8
E16 K20-glucagón-NH2 con K <sub>10</sub> -W-C <sub>18</sub>	0,04	11	0,05	12
Glucagón	7,42	6	0,07	17

35 [0317] Los cuatro péptidos acilados mostraron una mayor potencia en el receptor de GLP-1. La inclusión del espaciador de triptófano proporcionó mejor potencia en el receptor de glucagón. Se prefiere ligeramente una longitud de cadena de acilo de C 18.

40 [0318] Aunque la acilación puede extender la vida media de un péptido a horas o más, la PEGilación con repeticiones en intervalos de decenas de kDa puede hacerlo incluso más. Se preparan péptidos que comprenden ambos tipos de modificaciones. Se espera que estos péptidos exhiban una vida media prolongada en la circulación, así como resistencia a la DPP-IV y otras proteasas. Los resultados in vitro para una selección de estos péptidos se muestran en la Tabla 14.

45

TABLA 14

Curvas de Activación de Receptor y Valores en nM de EC50 para Péptidos Acilados y PEGilados				
Péptido	Receptor de GLP-1	N	Receptor de Glucagón	N
GLP-1	0,04	15	>100	3
E16 K20-glucagón-NH2 (SEQ ID N°: 545)	0,21	9	0,18	10
E16 K20-glucagón-NH2 con K <sup>10</sup> -W-C <sub>16</sub> y C <sup>24</sup> -PEG de 40K (SEQ ID N°:546)	0,23	13	0,52	13

<i>E16 K20-glucagón-NH2 con K<sub>10</sub>-C<sub>18</sub> y C<sup>24</sup>-PEG de 40K (SEQ ID N°:547)</i>	0,15	12	0,84	13
<i>E16 K20-glucagón-NH2 con K<sub>10</sub>-W-C<sub>18</sub> y C<sup>24</sup>-PEG de 40K (SEQ ID N°:548)</i>	1,64	3	1,30	5
Glucagón (SEQ ID N°: 1)	7,42	6	0,07	17

**[0319]** Dos de los tres péptidos retuvieron su alta potencia en los receptores de GLP-1 y de glucagón, con una EC50 de menos de 1 nM. El péptido acilado y pegilado K<sup>10</sup>-W-C<sub>18</sub> exhibió una pérdida de potencia de aproximadamente diez veces en ambos receptores. Esta serie de péptidos muestra que la acilación de la posición diez es compatible con una PEGilación en la porción C-terminal del péptido similar al glucagón, por ejemplo, posición 24, 28 o 29, dentro de una extensión C-terminal, o en el extremo C-terminal (por ejemplo, a través de la adición de una Cys C-terminal).

#### EJEMPLO 20

**[0320]** Se construyeron varios péptidos coagonistas de glucagón acilados como se describe esencialmente en el Ejemplo 19 y se ensayaron para la actividad in vivo. Específicamente, el Péptido A (SEQ ID NO: 1 modificado para contener AIB en la posición 2, Glu en la posición 16, Gln en la posición 17, Ala en la posición 18, Lys en la posición 20, Glu en la posición 21, Ile en la posición 23, Cys en posición 24, cuya Cys está unida a un PEG de 40K, y amida C-terminal) se modificó adicionalmente para comprender una Lys en la posición 10. La Lys 10 se aciló con una cadena de ácido graso C8, una cadena de ácido graso C14, una cadena de ácido graso C16, o una cadena de ácido graso C18.

**[0321]** La actividad en el receptor de GLP-1 de cada uno de los péptidos acilados se ensayó como se describe en el Ejemplo 14 y se comparó con la actividad de GLP-1 (7-37) ácido (SEQ ID NO: 50) como control. La EC50 de cada uno de los péptidos acilados en el receptor de GLP-1 mostrada en la Tabla 15 es similar a la EC50 del péptido GLP-1.

TABLA 15

	EC50 (nM) de Potencia de Activación de Receptor de GLP-1
GLP-1	0,0222 ± 0,0002
Péptido A K <sup>10</sup> -C <sub>8</sub>	0,0174 ± 0,0004
Péptido A K <sup>10</sup> -C <sub>14</sub>	0,0168 ± 0,0004
Péptido A K <sup>10</sup> -C <sub>16</sub>	0,0127 ± 0,0003
Péptido A K <sup>10</sup> -C <sub>18</sub>	0,0118 ± 0,0002

**[0322]** Los péptidos se ensayaron a continuación in vivo mediante la inyección por vía subcutánea de ratones de obesidad inducida por dieta (DIO) con diversos péptidos acilados y no acilados, o vehículo solo, QW (70 nmol/kg/semana) durante 2 semanas. Se ensayaron 6 ratones por grupo con un peso corporal promedio inicial de 44 g. El peso corporal, composición corporal, la ingesta de alimentos, y los niveles de glucosa en sangre se determinaron periódicamente.

**[0323]** Como se muestra en la Figura 11, los péptidos acilados son capaces de causar la pérdida de peso en un grado similar que el péptido no acilado. Como se muestra en la figura 11, se consigue entre aproximadamente un 7 y un 12% de pérdida de peso en los primeros 3 días de tratamiento con los péptidos acilados. Como se muestra en la Figura 12, los péptidos acilados causaron una disminución en la ingesta de alimentos. Además, como se muestra en la Figura 13, los niveles de glucosa en sangre ad libitum de los péptidos acilados se redujeron después de 1 día de tratamiento.

#### EJEMPLO 21

**[0324]** Se construyeron los siguientes péptidos coagonistas de glucagón acilado como se describe esencialmente en el Ejemplo 19.

(A) "Quimera-2 Aib2 Lys10-C18 Cys24 (40K)": secuencia de aminoácidos de glucagón nativo (SEQ ID NO: 1) que comprende las siguientes modificaciones: Glu en la posición 16, Gln en la posición 17, Ala en la posición 18, Lys en la posición 20, Glu en la posición 21, Ile en la posición 23, y Ala en la posición 24, y una amida C-terminal ("Quimera 2"), modificada adicionalmente con AIB en la posición 2, una Lys 10 acilada con un ácido graso C18 y una Cys en la posición 24 pegilada con un grupo PEG de 40K;

(B) "Quimera-2 Aib2 Lys10-C16 Cys24 (40K)": Quimera 2 modifica adicionalmente con AIB en la posición 2, una Lys10 acilada con un ácido graso C16 y una Cys24 pegilada con un grupo PEG de 40K;

(C) "Glucagón Lys10-C18 E16 K20 Cys24 (40K)": secuencia de aminoácidos de glucagón nativo (SEQ ID NO: 1) que comprende las siguientes modificaciones: Glu en la posición 16, Lys en la posición 20, y amida C-terminal ("E16K20-glucagón-NH2") se modificó adicionalmente con una Lys10 acilada con un ácido graso C18 y una Cys24 pegilada con un grupo PEG de 40K;

(D) "Glucagon Lys10-TrpC16 E16 K20 Cys24 (40K)": E16K20-glucagón-NH2 se modificó adicionalmente con Lys10

unida a un espaciador de Trp que se aciló con un ácido graso C16;  
 (E) "Glucagón Lys10-TrpC18 E16 K20 Cys24 (40K)": E16K20-glucagón-NH2 se modificó adicionalmente con Lys10 unida a un espaciador de Trp que se aciló con un ácido graso C18.

- 5 [0325] Los péptidos coagonistas de glucagón acilados se ensayaron para determinar sus actividades en los receptores de glucagón y GLP-1 generalmente como se describe en el Ejemplo 14. La EC<sub>50</sub> en cada uno de los receptores de glucagón y en comparación con los controles (GLP-1 (7-37) OH (aminoácidos 7-37 de GLP-1), glucagón (1-29) OH (SEQ ID NO: 1), y Quimera 2 Cys24 (40K) (Quimera 2 con un PEG de 40K en Cys 24)) son como se muestran en la tabla 16.

10

TABLA 16

	EC <sub>50</sub> en el Receptor de Glucagón (nM)	EC <sub>50</sub> en el Receptor de GLP-1 (nM)
GLP-1 (7-37) OH	>1000,00	0,04
Glucagón (1-29) OH	0,07	7,5
Quimera 2 Cys24 (40K)	2,83	0,04
Quimera-2 Aib2 Lys10-C18 Cys24 (40K)	8,55	0,14
Quimera-2 Aib2 Lys10-C16 Cys24 (40K)	17,41	0,05
Glucagón Lys10-C18 E16 K20 Cys24 (40K)	0,84	0,15
Glucagón Lys10-TrpC16 E16 K20 Cys24 (40K)	0,54	0,23
Glucagón Lys10-TrpC18 E16 K20 Cys24 (40K)	1,29	1,64

## EJEMPLO 22

- 15 [0326] Los siguientes péptidos coagonistas de glucagón acilados se construyeron como se describe esencialmente en el Ejemplo 19:

(A) Péptido A: secuencia de aminoácidos de glucagón nativo (SEQ ID NO: 1) que comprende las siguientes modificaciones: Glu en la posición 16, Lys en la posición 20, y amida C-terminal ("E 16K20-glucagón-NH2");

(B) péptido B: E16K20-glucagón-NH2 que comprende además una Lys10 acilada con un ácido graso C16;

20 (C) péptido C: E16K20-glucagón -NH2 que comprende además una Lys10 acilada con un ácido graso C18;

(D) péptido D: E16K20-glucagón-NH2 que comprende además una Lys10 unida a un Glu (un residuo espaciador) acilado con un ácido graso C16;

(E) péptido E: E16K20-glucagón-NH2 que comprende además una Lys10 unida a un Trp (un residuo espaciador) acilado con un ácido graso C18.

25

[0327] La actividad de los péptidos se ensayó en general, según el Ejemplo 14, y la EC<sub>50</sub> en cada uno de los receptores de glucagón y GLP-1 se muestran en la Tabla 17.

TABLA 17

	EC <sub>50</sub> en el Receptor de Glucagón (nM)	EC <sub>50</sub> en el Receptor de GLP-1 (nM)
GLP-1 OH	>1000	0,037
Glucagón (1-29) OH (SEQ ID N°: 1)	0,098	10
Péptido A	0,203	0,188
Péptido B	0,236	0,125
Péptido C	0,086	0,032
Péptido D	0,062	0,056
Péptido E	0,044	0,031

30

## EJEMPLO 23

[0328] Se construyó un péptido coagonista de glucagón que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 con las siguientes modificaciones: Glu en la posición 16, Gln en la posición 17, Ala en la posición 18, Lys en la posición 20, Glu en la posición 21, Ile en la posición 23, Ala en la posición 24, Val en la posición 27, Lys en la posición 28 y amida C-terminal ("Quimera 1"). Las versiones truncadas en C-terminal de la Quimera 1 se construyeron mediante la supresión de los aminoácidos en la posición 29 de la Quimera 1 ("Chi 1 (1-28)"), o mediante la supresión de los aminoácidos en ambas posiciones 28 y 29 de la Quimera 1 ("Chi 1 (1-27)").

- 40 [0329] Un péptido similar al glucagón que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 con las siguientes modificaciones: Glu en la posición 16, amida C-terminal ("E16 GlucNH2") también se truncó en C-terminal, mediante la eliminación del aminoácido en la posición 29 ("E16 GlucNH2 (1-28)") o mediante la eliminación de aminoácidos en ambas posiciones 28 y 29 ("E16 GlucNH2 (1-27)").

- 45 [0330] La actividad en el receptor de glucagón y el receptor de GLP-1 de los péptidos truncados, así como en los péptidos no truncados, se sometieron a ensayo para la actividad funcional generalmente según el Ejemplo 14. La

deleción de aminoácidos en las posiciones 28 y 29 del péptido E16 GlucNH2 o del péptido Quimera 1 no afectó significativamente la actividad del péptido en el receptor de glucagón. La deleción de aminoácidos en las posiciones 28 y 29 de E16 GlucNH2 no cambió apreciablemente la potencia del péptido en el receptor de GLP-1. La deleción de aminoácidos en las posiciones 28 y 29 de la quimera 1 no afectó su actividad en el receptor de GLP-1.

**[0331]** La deleción del aminoácido en la posición 29 del péptido Quimera 1 o del péptido E16 GlucNH2 no afectó significativamente la actividad en el receptor de glucagón o en el receptor de GLP-1.

#### EJEMPLO 24

**[0332]** Los ratones con obesidad inducida por dieta (DIO) fueron inyectados por vía intraperitoneal en el punto de tiempo -15 min con 0,2, 2, 20, o 70 nmol/kg de uno de los siguientes:

(A) vehículo solo,

(B) secuencia de aminoácidos de glucagón nativo (SEQ ID NO: 1) que comprende las siguientes modificaciones: Glu en la posición 16, Gln en la posición 17, Ala en la posición 18, Lys en la posición 20, Glu en la posición 21, Ile en la posición 23, y Ala en la posición 24 y una amida C-terminal ("Quimera 2") modificado adicionalmente para comprender AIB en la posición 2 y Cys en la posición 24, cuya Cys está pegilada con un PEG de 40K ("Quimera-2-AIB<sup>2</sup> Cys<sup>24</sup>-40kD") ,

(C) Quimera 2 modificada adicionalmente para comprender AIB en la posición 2, Lys en la posición 10, cuya Lys está acilada con un ácido graso C8, y Cys en la posición 24, cuya Cys está pegilada con un PEG de 40K ("Quimera-2 AIB<sup>2</sup>K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD ") , o

(D) Quimera 2 modificada para comprender AIB en la posición 2, Lys en la posición 10, cuya Lys está acilada con un ácido graso C16, y Cys en la posición 24, cuya Cys está pegilada con un PEG de 40K ("Quimera-2 AIB<sup>2</sup>K<sup>10</sup>-C16 Cys<sup>24</sup>-40kD").

**[0333]** Se inyectó una solución salina que comprende 25% (v/v) de glucosa a una dosis de 1,5 g/kg de peso corporal en el punto de tiempo 0 min. Los niveles de glucosa en sangre se midieron en los puntos de tiempo -15, 0, 15, 30, 60, y 120 min.

**[0334]** Las figuras 15 a 17 muestran los niveles de glucosa en sangre (mg/dl) de ratones inyectados con 2, 20, y 70 nmol/kg, respectivamente, en los puntos de tiempo indicados. Para todas las dosis probadas, Quimera-2 AIB<sup>2</sup>K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD demostró la mayor capacidad para disminuir la glucosa en sangre en los ratones. Como se muestra en la figura 17, este péptido tenía una actividad similar a la de la Quimera-2 AIB<sup>2</sup>Cys<sup>24</sup>-40kD.

#### EJEMPLO 25

**[0335]** Se inyectaron ratones DIO por vía intraperitoneal en el punto de tiempo -24 h con 70 nmol/kg de uno de los siguientes:

(A) vehículo solo,

(B) Quimera-2 AIB<sup>2</sup>Cys<sup>24</sup>-40kD, como se describe anteriormente en el Ejemplo 24,

(C) Quimera-2 AIB<sup>2</sup>K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD, como se describe anteriormente en el Ejemplo 24, o

(D) Quimera-2 AIB<sup>2</sup>K<sup>10</sup>-C16 Cys<sup>24</sup>-40kD, como se describe anteriormente en el Ejemplo 24.

**[0336]** Se inyectó una solución salina que comprende 25% (v/v) de glucosa a una dosis de 1,5 g/kg de peso corporal en el punto de tiempo 0 min. Los niveles de glucosa en sangre se midieron en los puntos de tiempo 0, 15, 30, 60, y 120 min.

**[0337]** La Figura 18 demuestra los niveles de glucosa en sangre (mg/dL) de los ratones en los puntos de tiempo indicados. Los tres péptidos demuestran una actividad significativa en la reducción de la glucosa en sangre en los ratones.

#### EJEMPLO 26

**[0338]** Se inyectaron ratones DIO por vía intraperitoneal con vehículo solo o 15 o 70 nmol/kg de uno de los siguientes:

(A) Quimera-2 AIB<sup>2</sup>Cys<sup>24</sup>-40kD, como se describe anteriormente en el Ejemplo 24,

(B) Quimera-2 AIB<sup>2</sup>K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD, como se describe anteriormente en el Ejemplo 24, o

(C) Quimera-2 AIB<sup>2</sup>K<sup>10</sup>-C16 Cys<sup>24</sup>-40kD, como se describe anteriormente en el Ejemplo 24.

**[0339]** El peso corporal se midió antes de la inyección y en los días 1, 3, 5, y 7 después de la inyección.

**[0340]** La Figura 19 demuestra el % de cambio del peso corporal para cada grupo de ratones. En ambas dosis ensayadas, Quimera-2 AIB<sup>2</sup>K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD y Quimera-2 AIB<sup>2</sup>K<sup>10</sup>Cys<sup>24</sup>-40kD demuestran una capacidad comparable para reducir el peso corporal. A la dosis más alta probada, Quimera-2 AIB<sup>2</sup>K<sup>10</sup>-C16 Cys<sup>24</sup>-40kD demuestra una capacidad significativa para reducir el peso corporal.

EJEMPLO 27

5 **[0341]** Se sintetizó un péptido de la SEQ ID NO: 555, que comprende una tirosina en la posición 1 y un puente de lactama entre E16 y K20, (y una amida en lugar del carboxilato C-terminal) esencialmente como se describió anteriormente y se ensayó in vitro la actividad en los receptores de GLP-1 y glucagón mediante el ejemplo 14. La EC50 del péptido en cada receptor se muestra en la tabla 18.

TABLA 18

Receptor	EC <sub>50</sub> (nM)	Desviación Estándar	Actividad Relativa
Glucagón	0,044	0,151	343,18%
GLP-1	0,062	0,062	100,00%

Actividad relativa es la actividad relativa a la hormona nativa del receptor indicado.

10 **[0342]** Basándose en estos datos, se determinó que el péptido de SEQ ID NOs: 555 era un péptido coagonista de glucagón/GLP-1 de ejemplo.

EJEMPLO 28

15 **[0343]** Se sintetizaron un péptido de la SEQ ID NO: 1 (glucagón (1-29)), un péptido de SEQ ID NO: 1 con una amida sustituyendo el carboxilato C-terminal (glucagón (1-29a)), y un péptido de SEQ ID NO: 1 con AIB en cada una de las posiciones 2 y 16 y una amida sustituyendo el carboxilato C-terminal (glucagón (1-29a) Aib<sup>2</sup> Aib<sup>16</sup>) esencialmente como se describe anteriormente. Estos péptidos se ensayaron a continuación in vitro para la actividad en el receptor de glucagón y el receptor de GLP-1 mediante los métodos descritos en el Ejemplo 14. La EC50 de cada péptido se muestra en la Tabla 19.

TABLA 19

Péptido	Receptor de Glucagón		Receptor de GLP-1	
	EC <sub>50</sub> (nM)	DE	EC <sub>50</sub> (nM)	DE
Glucagón (1-29)	0,04	0,01	3,65	0,21
Glucagón (1-29a) Aib <sup>2</sup> Aib <sup>16</sup>	0,09	0,02	0,10	0,01
Glucagón (1-29a)	ND	ND	0,50	0,05
GLP-1(1-31)OH	ND	ND	0,03	0,00

DE = desviación estándar

EJEMPLO 29

25 **[0344]** Los siguientes péptidos se sintetizaron como se ha descrito anteriormente, esencialmente:  
 (1) Glucagón (1-29), como se describe en el Ejemplo 28,  
 (2) Glucagón (1-29a) Aib<sup>2</sup> Aib<sup>16</sup> (como se describe en Ejemplo 28) con una Cys en la posición 24 y una Lys en la posición 10 unida covalentemente a un Trp que comprende un ácido graso C16 ("Glucagón (1-29a) Aib<sup>2</sup> Lys<sup>10</sup>-Trp-C16 Aib<sup>16</sup> Cys<sup>24</sup>"),  
 (3) Glucagón (1-29a) Aib<sup>2</sup> Lys<sup>10</sup>-Trp-C16 Aib<sup>16</sup> Cys<sup>24</sup> en el que la Cys comprende un grupo PEG de 40 kD ("Glucagón (1-29a) Aib<sup>2</sup> Lys<sup>10</sup>-Trp-C16 Aib<sup>16</sup> Cys<sup>24</sup>-40kD"),  
 (4) Glucagón (1-29a) Aib<sup>2</sup> Lys<sup>10</sup>-Trp-C16 Aib<sup>16</sup> Cys<sup>24</sup> que comprende Aib en la posición 20 ("Glucagón (1-29a) Aib<sup>2</sup> Lys<sup>10</sup>-Trp-C16 Aib<sup>16</sup> Aib<sup>20</sup> Cys<sup>24</sup>"), y  
 (5) Glucagón (1-29a) Aib<sup>2</sup> Lys<sup>10</sup>-Trp-C16 Aib<sup>16</sup> Aib<sup>20</sup> Cys<sup>24</sup> en el que la Cys comprende un grupo PEG de 40 kD ("Glucagón (1-29a) Aib<sup>2</sup> Lys<sup>10</sup>-Trp-C16 Aib<sup>16</sup> Aib<sup>20</sup> Cys<sup>24</sup>-40kD").  
 Estos péptidos se ensayaron a continuación in vitro para la actividad en el receptor de GLP-1 y los receptores de glucagón mediante los métodos del Ejemplo 14. La EC50 de cada péptido se muestra en la Tabla 20.

TABLA 20

Péptido	Receptor de Glucagón		Receptor de GLP-1	
	EC <sub>50</sub> (nM)	DE	EC <sub>50</sub> (nM)	DE
Glucagón (1-29)	0,04	0,01		
Glucagón (1-29a) Aib <sup>2</sup> Lys <sup>10</sup> -Trp-C16 Aib <sup>16</sup> Cys <sup>24</sup>	0,25	0,02	0,24	0,03
Glucagón (1-29a) Aib <sup>2</sup> Lys <sup>10</sup> -Trp-C16 Aib <sup>16</sup> Cys <sup>24</sup> -40K	0,29	0,03	0,19	0,02
Glucagón (1-29a) Aib <sup>2</sup> Lys <sup>10</sup> -Trp-C16 Aib <sup>16</sup> Aib <sup>20</sup> Cys <sup>24</sup>	2,06	0,02	1,15	0,19
Glucagón (1-29a) Aib <sup>2</sup> Lys <sup>10</sup> -Trp-C16 Aib <sup>16</sup> Aib <sup>20</sup> Cys <sup>24</sup> -40K	2,37	0,24	0,60	0,06
GLP-1(1-31)OH			0,02	0,01

EJEMPLO 30

45 **[0345]** Los efectos in vivo de los péptidos de glucagón acilados y pegilados se ensayaron en ratones DIO. Específicamente, se inyectaron 6 grupos de ratones DIO (8 ratones por grupo), cada grupo con un peso corporal

inicial promedio de 58 g, por vía intraperitoneal con 10, 20, 40, o 80 nmol/kg de un péptido similar al glucagón acilado y pegilado o un vehículo de control una vez a la semana durante 2 semanas. Los péptidos similares al glucagón acilados y pegilados utilizadas en el estudio fueron Quimera-2 AIB<sup>2</sup> K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD (como se describe en el Ejemplo 26) y el péptido AK<sup>10</sup>-C<sub>14</sub> (como se describe en Ejemplo 20).

**[0346]** Los cambios en el peso corporal y la ingesta de alimentos por parte de los ratones se midieron en los días 0, 1, 3, 5, 7, 8, 10, 12, y 14 después de la inyección. Los niveles de glucosa en sangre de los ratones fueron monitorizados durante los 14 días. Las pruebas de tolerancia a la glucosa se llevaron a cabo mediante la inyección de glucosa al 25% en solución salina 1 hora o 24 horas después de la administración del péptido acilado o pegilado y la medición de los niveles de glucosa en sangre a -60, 0, 15, 30, 60, o 120 min después de la inyección de glucosa.

**[0347]** Como se muestra en la figura 20, el peso corporal total de los ratones inyectados con 40 o 80 nmol/kg de péptido Péptido AK<sup>10</sup>-C<sub>14</sub> acilado y pegilado se redujo en comparación con los ratones inyectados con el vehículo de control.

**[0348]** Como se muestra en la Figura 21, los niveles de glucosa en sangre de los ratones inyectados con 20, 40, o 80 nmol/kg de péptido AK<sup>10</sup>-C<sub>14</sub> o con 20 nmol/kg de Quimera-2 AIB<sup>2</sup> K<sup>10</sup>-C8 Cys<sup>24</sup>-40kD en respuesta a una inyección de glucosa se redujo en comparación con el vehículo de control.

EJEMPLO 31

**[0349]** Los péptidos análogos de glucagón acilados que comprenden o que carecen de un puente intramolecular covalente se construyeron mediante síntesis en fase sólida y se ensayaron para la actividad in vitro en los receptores de glucagón y GLP-1. La EC<sub>50</sub> (nM) en cada uno de los receptores y el % de actividad del péptido en relación con el péptido nativo en el receptor correspondiente se muestra en la Tabla 21.

TABLA 21

Nombre del péptido	SEQ ID NO:	EC <sub>50</sub> en el receptor de GLP-1 (nM)	% de Actividad de GLP-1	EC <sub>50</sub> en el receptor de Glucagón (nM)	% de Actividad de glucagón
DMIA1, K10(C14), [E16/K20]-Gluc Amida	607	0,050	30%	0,027	203,7%
DMIA1, K10(C16), [E16/K20]-Gluc Amida	608	0,015	100%	0,014	392%
DMIA1, K10(C18), [E16/K20]-Gluc Amida	609	0,011	136%	0,13	42,3%
AIB2, AIB16, K10(C14) Gluc Amida	610	0,024	33,3%	0,044	77,3%
AIB2, AIB16, K10(C16) Gluc Amida	611	0,011	72,3%	0,020	170%
AIB2, AIB16, K10(C18) Gluc Amida	612	0,009	88,9%	0,016	212,5%
dS2, E16/K20, K10(C14) Gluc Amida	613	0,128	6,3%	0,155	21,9%
dS2, E16/K20, K10(C16) Gluc Amida	614	0,041	19,5%	0,076	44,7%
dS2, E16/K20, K10(C18) Gluc Amida	615	0,025	60%	0,028	196%

**[0350]** Se construyeron varios análogos de glucagón que carecían de un puente intramolecular covalente y que comprendían un AIB en la posición 2, un AIB en la posición 16, y un grupo acilo graso unido a través de un espaciador a un residuo de Lys en la posición 10, como se describe esencialmente en el presente documento. Los análogos de glucagón acilados diferían por el tipo de espaciador, la presencia o ausencia de pegilación, y/o por el tamaño del grupo acilo. Los análogos de glucagón acilados se analizaron por la actividad in vitro en el receptor de glucagón y el receptor de GLP-1 como se describe esencialmente en el Ejemplo 14. Un resumen de la estructura y la actividad in vitro en los receptores de glucagón y GLP-1 de cada péptido se muestra en las tablas 22 y 23.

TABLA 22

Secuencia de aminoácidos estructural del análogo de glucagón: HXQGTFTSDKSKYLDRRAQDFVQWLMNT-NH <sub>2</sub> en la que X = AIB (SEQ ID NO: 562)					
Nombre del péptido	SEQ ID NO:	Espaciador	Tamaño del Grupo Acilo	EC <sub>50</sub> en el Receptor de	EC <sub>50</sub> en el Receptor de

			Graso	Glucagón (nM)	GLP-1 (nM)
con glucagón	1	n/a	n/a	0,031 ± 0,314	
Con GLP-1		n/a	n/a		0,036 ± 0,010
26	637	Ninguno	Ninguno	0,653 ± 0,285	0,475 ± 0,046
50	563	Ninguno	C16	0,572 ± 0,084	0,291 ± 0,060
82	564	Ala-Ala	C16	0,024 ± 0,001	0,108 ± 0,018
83	565	γ-Glu-γ-Glu	C16	0,014 ± 0,002	0,043 ± 0,005
84	566	B-Ala-β-Ala	C16	0,011	0,004
85	567	Ácido 6-amino-hexanoico	C16	0,010	0,005
86	568	Leu-Leu	C16	0,011	0,006
87	569	Pro-Pro	C16	0,017	0,009
77*	570	Ninguno	C14	21,94 ± 14,47	1,458 ± 0,132
78*	571	γ-Glu-γ-Glu	C14	0,319 ± 0,091	0,103 ± 0,023
81*	573	Ala-Ala	C14	0,597 ± 0,175	0,271 ± 0,019
79*	575	Ala-Ala	C16	0,102 ± 0,011	0,055 ± 0,001
80*	576	γ-Glu-γ-Glu	C16	0,108 ± 0,028	0,042 ± 0,008

\*Indica que el péptido comprendía un residuo de Cys en la posición 24 (en lugar de Gln), cuya Cys estaba unida covalentemente a un grupo PEG de 40 kDa.

TABLA 23

Secuencia de aminoácidos estructural del análogo de glucagón: HXQGTFTSDKSKYLDXRRRAQDFVQWLMNT-NH <sub>2</sub> en la que X = AIB (SEQ ID NO: 562)					
Nombre del péptido	SEQ ID NO:	Espaciador	Tamaño del Grupo Acilo Graso	EC <sub>50</sub> en el Receptor de Glucagón (nM)	EC <sub>50</sub> en el Receptor de GLP-1 (nM)
con glucagón	1	n/a	n/a	0,008 ± 0,003	
Con GLP-1		n/a	n/a		0,004 ± 0,001
77**		Ninguno	C14	0,144 ± 0,029	0,063 ± 0,012
78**		γ-Glu-γ-Glu	C14	0,009 ± 0,001	0,008 ± 0,001
81**		Ala-Ala	C14	0,027 ± 0,006	0,018 ± 0,001
79**		Ala-Ala	C16	0,006 ± 0,001	0,008 ± 0,001
80**		γ-Glu-γ-Glu	C16	0,010 ± 0,001	0,008 ± 0,001

\*\* péptido que comprende Cys en la posición 24 (en lugar de Gln), cuya Cys no estaba unida covalentemente a un grupo PEG

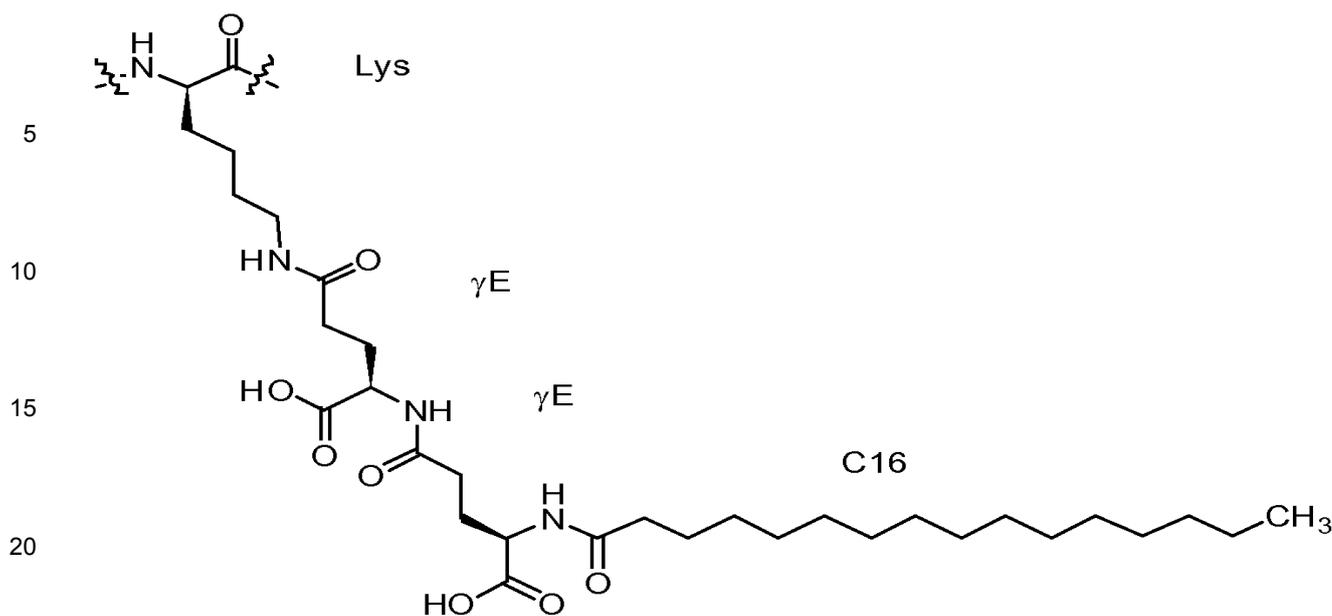
- 5 **[0351]** Como se muestra en las Tablas 22 y 23, los péptidos que comprenden un grupo acilo graso unido a través de un espaciador aumentó significativamente su potencia en comparación con los péptidos que comprendían un grupo acilo graso unido directamente a la cadena principal peptídica.

## EJEMPLO 32

- 10 **[0352]** Se inyectaron por vía subcutánea ratones DIO (8 ratones por grupo), cada uno con un peso corporal promedio de 48,7 g, diariamente durante siete días con vehículo solo, con 30 nmol/kg o 100 nmol/kg de un péptido análogo de glucagón acilado, o con el análogo de GLP-1 de acción prolongada, liraglutide (Novo Nordisk, Dinamarca). Los análogos de glucagón acilados fueron los siguientes:
- 15 "(C16) Glucagón amida" comprendía la secuencia de aminoácidos de glucagón de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1) con la Tyr en la posición 10 modificada a un residuo de Lys acilada, en el que la Lys acilada comprendía un grupo acilo graso C16, y el carboxilato C-terminal está sustituido por un grupo amida;
- "γE-γE-C16 Glucagón amida" comprendía la misma estructura de C16 Glucagón amida, excepto que el grupo acilo graso C16 se unía a la Lys en la posición 10 a través de un dipéptido espaciador gamma-Glu-gamma-Glu (véase la estructura de Lys acilada abajo);

20

25



"AA-C16 Glucagón amida" comprendía la misma estructura de C16 Glucagón amida, excepto que el grupo acilo graso C16 se unía a la Lys en la posición 10 a través de un dipéptido espaciador Ala-Ala; y "βAβA-C16 Glucagón amida" comprendía la misma estructura de C16 Glucagón amida, excepto que el grupo acilo graso C16 se unía a la Lys en la posición 10 a través de un dipéptido separador βAβA.

**[0353]** El peso corporal de los ratones se controló diariamente y el cambio total en el peso corporal (%) se muestra en la figura 22. Como se muestra en la figura 22, la mayoría de los péptidos similares al glucagón acilados en cada dosis causó una reducción en el peso corporal. Mientras Liraglutide demostró una disminución aproximada del 12% en el peso corporal, el péptido análogo de glucagón  $\gamma E-\gamma E-C16$  Glucagón amida exhibió la mayor capacidad de causar pérdida de peso en ratones a la dosis coincidente. Incluso la dosis más baja de  $\gamma E-\gamma E-C16$  Glucagón amida causó una disminución sustancial en el peso corporal.

**[0354]** La masa grasa de los ratones se midió en el día 7 del estudio. Como se muestra en la Figura 23, los ratones a los que se administró 100 nmol/kg de  $\gamma E-\gamma E-C16$  Glucagón amida exhibió la masa de grasa más baja.

**[0355]** También se monitorizaron los niveles de glucosa en sangre de los ratones durante el transcurso del ensayo. Como se muestra en la figura 24, el péptido análogo del glucagón  $\gamma E-\gamma E-C16$  Glucagón amida a la dosis más alta funcionó tan bien como liraglutide para disminuir los niveles de glucosa en sangre en ratones.

EJEMPLO 33

**[0356]** La acilación de un péptido análogo de glucagón que tiene actividad de GLP-1 se evaluó de la siguiente manera. Se modificó un péptido análogo de glucagón no acilado que comprendía la estructura de la Quimera 2 con AIB en la posición 2 y Cys en la posición 24 (que comprende una molécula de PEG de 40 kDa) para comprender un residuo de Lys acilado en la posición 10. El péptido análogo de glucagón no acilado comprendía la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 580. La Lys en la posición 10 se aciló con un grupo acilo graso C8, C14, C16, o C18 y los péptidos acilados comprendían las estructuras de SEQ ID NOs: 534-537, respectivamente. La actividad in vitro en el receptor de GLP-1 del péptido no acilado y versiones aciladas del mismo se analizó tal como se describe esencialmente en el presente documento. La EC<sub>50</sub> en el receptor de GLP-1 de cada péptido se muestra en la Tabla 24.

TABLA 24

Secuencia del péptido análogo de glucagón HXQGTFTSDYSKYLDEQAAKEFICWLMNT-NH <sub>2</sub> en la que X = AIB (SEQ ID NO: 580)		
	EC <sub>50</sub> (nM)	DE
GLP-1	0,026	0,003
Péptido análogo de glucagón no-acilado (SEQ ID NO: 580)	0,095	0,015
Péptido análogo de glucagón acilado con C <sub>8</sub> (SEQ ID NO: 534)	0,058	0,002

Péptido análogo de glucagón acilado con C <sub>14</sub> (SEQ ID NO: 535)	0,044	0,005
Péptido análogo de glucagón acilado con C <sub>16</sub> (SEQ ID NO: 536)	0,033	0,005
Péptido análogo de glucagón acilado con C <sub>18</sub> (SEQ ID NO: 537)	0,011	0,001

## EJEMPLO 34

5 **[0357]** Los péptidos análogos de glucagón se sintetizaron mediante síntesis de péptidos en fase sólida tal como se describe en este documento y se acilaron en cualquiera de las posiciones 10 o 30 del péptido. Los péptidos y su estructura fueron las siguientes:

10 "Péptido dS2E16K20K30-C14 Gluc amida" comprendía la secuencia de aminoácidos HXQGTFTSDYSKYLDERRAKDFVQWLMNTK-amida (SEQ ID NO: 581), en la que X en la posición 2 es D-Ser, en la que la Lys en la posición 30 se acila con un grupo acilo graso C14, y el carboxilato C-terminal se sustituye por una amida;

"Péptido dS2K10(C14)E16K20-Gluc amida" comprendía la secuencia de aminoácidos HXQGTFTSDKSKYLDERRAKDFVQWLMNT-amida (SEQ ID NO: 582); en la que X en la posición 2 es D-Ser, en la que la Lys en la posición 10 se acila con un grupo acilo graso C14, y el carboxilato C-terminal se sustituye por una amida;

15 "Péptido dS2E16K20K30-C16Gluc amida" comprendía la secuencia de aminoácidos HXQGTFTSDYSKYLDERRAKDFVQWLMNTK-amida (SEQ ID NO: 583), en la que X en la posición 2 es D-Ser, en la que la Lys en la posición 30 se acila con un grupo acilo graso C16, y el carboxilato C-terminal se sustituye por una amida;

20 "Péptido dS2K10(C16)E16K20-Gluc amida" comprendía la secuencia de aminoácidos HXQGTFTSDKSKYLDERRAKDFVQWLMNT-amida (SEQ ID NO: 584); en la que X en la posición 2 es D-Ser, en la que la Lys en la posición 10 se acila con un grupo acilo graso C16, y el carboxilato C-terminal se sustituye por una amida;

25 "Péptido Quimera 2-AIB2-K10-acilado" comprendía la secuencia de aminoácidos HXQGTFTSDKSKYLDEQAAKEFICWLMNT-amida (SEQ ID NO: 585); en la que X en la posición 2 es AIB, la K en la posición 10 se acila con un grupo acilo graso C18, Cys en la posición 24 comprende una molécula de PEG de 40 kDa, y el carboxilato C-terminal se sustituye por una amida; y

30 "Péptido Quimera 2-AIB2-K30-acilado", comprendía la secuencia de aminoácidos HXQGTFTSDYSKYLDERRAKDFVQWLMNTK-amida (SEQ ID NO: 586), en la que X en la posición 2 es AIB, la K en la posición 10 se acila con un grupo acilo graso C18, Cys en la posición 24 comprende una molécula de PEG de 40 kDa, y el carboxilato C-terminal se sustituye por una amida.

35 **[0358]** La actividad in vitro en el receptor de glucagón y el receptor de GLP-1 de cada péptido se analizó esencialmente como se describe en el Ejemplo 14. Los resultados se muestran en la Tabla 25.

TABLA 25

Nombre del péptido	Posición en la que se encuentra el grupo acilo	EC50 en el receptor de glucagón (nM)	EC50 en el receptor de GLP-1 (nM)
Péptido dS2E16K20K30-C14 Gluc Amida	30	3,53	0,84
Péptido dS2K10(C14)E16K20- Gluc Amida	10	0,155	0,041
Péptido dS2E16K20K30-C16 Gluc Amida	30	4,89	3,05
dS2K10(C16)E16K20- Gluc Amida	10	0,076	0,041
Péptido Quimera 2-AIB2-K10-acilado	30	N/A	0,465
Péptido Quimera 2-AIB2-K30-acilado	10	N/A	0,007

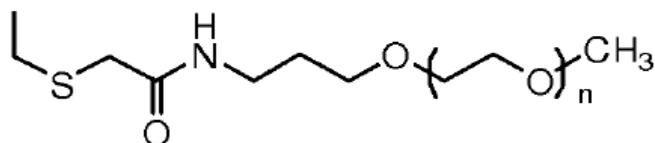
## EJEMPLO 35

40 **[0359]** Se empleó la síntesis de péptidos en fase sólida para el ensamblaje de la secuencia, XSQGTFTSDYSKYLDERRAKDFVCWLMNT-NH<sub>2</sub>, en la que X = DMIA (SEQ ID NO: 587). Después de la desprotección selectiva del Glu en la posición 16 y la Lys en la posición 20, el péptido se cicló a través de un puente de lactama en resina. El péptido bruto después de la escisión se purificó a continuación mediante RP-HPLC preparativa y se caracterizó por MS (calculado para [M+H]: 3479,9, encontrado 3480,9). La PEGilación se llevó a cabo mezclando el precursor del péptido y PEG de 40 kDa funcionalizado con yodoacetilo (NOF) (1:1) en urea 7 M/tampón Tris 50 mM, pH 8,5, a temperatura ambiente durante 45 minutos para formar un enlace tioéter covalente

45 entre el PEG y una Cys del péptido, como se muestra a continuación

50

## Péptido



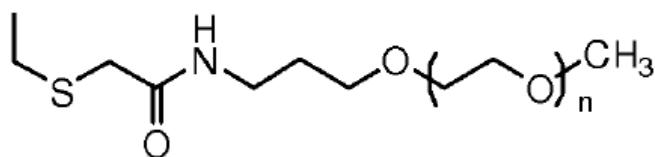
El péptido PEGilado se purificó mediante HPLC preparativa y se recogieron las fracciones deseadas y se liofilizaron para dar un polvo de color blanquecino. El producto se confirmó por MALDI-TOF-MS (44000-46000, pico ancho).

[0360] La actividad in vitro en el receptor de GLP-1 y el receptor de glucagón se ensayaron como se describe esencialmente en el Ejemplo 14. Las EC50 en el receptor de GLP-1 y el receptor de glucagón eran de 0,327 nM y 0,042 nM, respectivamente.

## EJEMPLO 36

[0361] Se empleó la síntesis de péptidos en fase sólida para la preparación del péptido precursor, HXEGTFTSDYSKYLDTRAAEFVWL-NH<sub>2</sub>, en el que X = AIB (SEQ ID NO: 589). El péptido bruto se purificó a continuación mediante RP-HPLC preparativa y se caracterizó por MS (calculado para [M+H]: 3412,8, encontrado 3413,9). La PEGilación se llevó a cabo mezclando el precursor del péptido y PEG de 40 kDa funcionalizado con yodoacetilo (NOF) (1:1) en urea 7 M/tampón Tris 50 mM, pH 8,5, a temperatura ambiente durante 45 minutos para formar un enlace tioéter covalente entre el PEG y una Cys del péptido, como se muestra a continuación

## Péptido



El péptido PEGilado se purificó mediante HPLC preparativa y se recogieron las fracciones deseadas y se liofilizaron para dar un polvo de color blanquecino. El producto se confirmó por MALDI-TOF-MS (44000-46000, pico ancho).

[0362] La actividad in vitro en el receptor de GLP-1 y el receptor de glucagón se ensayaron como se describe esencialmente en el Ejemplo 14. Las EC50 en el receptor de GLP-1 y el receptor de glucagón eran de 0,027 nM y 33 nM, respectivamente.

## EJEMPLO 37

[0363] Los siguientes péptidos análogos de glucagón que comprenden una cadena principal del péptido J HS-X-GTFTSDYSKYLDTRAAEFVWL(Nie)DE (SEQ ID NO: 591) o el péptido K

HS-X-GTFTSDYSKYLD (Aib) RRAADFVAVLMDE (SEQ ID NO: 592)

con modificación adicional en la posición 3 se sintetizaron mediante síntesis de péptidos en fase sólida como se describe esencialmente en el presente documento. Los péptidos se ensayaron para determinar la actividad in vitro en el receptor de glucagón tal como se describe esencialmente en el Ejemplo 14. La EC50 (nM) de cada péptido se muestra en la Tabla 26.

TABLA 26

Cadena principal del Péptido	Aminoácido en la posición 3	SEQ ID NO:	EC50 en el receptor Glucagón (nM)	% de actividad*
J	Q	593	0,24	25%
J	C(Acm)	594	0,18	33%
J	Dab(Ac)	595	0,31	19%
J	Dap(urea)	596	0,48	13%
J	Q(Me)	597	0,48	13%
J	M(O)	598	0,91	7%

J	Orn(Ac)	599	0,92	7%
K	Q	600	0,39	15%
K	Dab(Ac)	601	0,07	86%
K	Q(Me)	602	0,11	55%

Q = glutamina; C(Acm) = acetamidometil-cisteína; Dab(Ac) = ácido acetildiaminobutanoico; Dap(urea) = ácido carbamoil-diaminopropanoico; Q(Me) = metilglutamina; M(O) = metionina-sulfóxido; Om(Ac) = acetilornitina.

[0364] Tal como se muestra en la Tabla 26, múltiples aminoácidos se pueden colocar en la posición 3 sin una pérdida sustancial de actividad en el receptor de glucagón, y, en algunos casos, la modificación de hecho aumentó la actividad, por ejemplo, Dab(Ac) y Q(Me) en la cadena principal del péptido K.

5

## EJEMPLO 38

[0365] Los péptidos análogos de glucagón que comprenden Dab(Ac) en la posición 3 en varias esqueletos del análogo de glucagón se sintetizaron como se describe esencialmente en el presente documento y se analizó la actividad in vitro en el receptor de glucagón. Las estructuras y actividades de cada péptido se muestran en la Tabla 27.

10

TABLA 27

Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:	EC50 (nm) en Receptor de Glucagón	% de actividad*
Glucagón de tipo salvaje	1	0,026	100
HSQGTFTSDYSKYLDsRRAQDFVQWLMDT	642	0,015	173
HSDab(Ac)GTFTSDYSKYLDAibRRAADFVAWLLDE	603	0,069	37
HSDab(Ac)GTFTSDYSKYLDAibRRAADFVAWLLDT GPSSGAPP PS amida	604	0,023	113
HSDab(Ac)GTFTSDYSKYLDAibRRASDFVSWLLDE	605	0,048	54
HSDab(Ac)GTFTSDYSKYLDAibRRATDFVTWLLDE	606	0,057	46

## 15 EJEMPLO 39

[0366] Se sintetizó esencialmente como se describe en el presente documento un primer péptido análogo de glucagón (AIB2, AIB16, K10 (C16) Gluc amida) que comprende la SEQ ID NO: 1 con AIB en las posiciones 2 y 16, Lys en la posición 10, en el que la Lys en la posición 10 estaba unida covalentemente a un grupo acilo graso C16, y una amida en lugar del carboxilato C-terminal. Un segundo péptido análogo de glucagón (AIB2, AIB16, K10 (C16), K30 Gluc amida) que tiene la misma estructura que el primer péptido análogo de glucagón, excepto que una Lys se añadió al extremo C-terminal. La actividad in vitro de los péptidos se ensayó como se describe esencialmente en el Ejemplo 14 y se ensayó adicionalmente en una solución que comprende plasma humano al 20%. La EC50 (nM) en cada receptor para los péptidos se muestra en la Tabla 28.

20

TABLA 28

Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO:	EC50 (nm) en el Receptor de Glucagón	EC50 (nm) en el Receptor de Glucagón (plasma humano al 20%)	EC50 (nm) en el Receptor de GLP-1	EC50 (nm) en el Receptor de GLP-1 (plasma humano al 20%)
Glucagón	1	0,026	0,046		
GLP-1				0,022	0,028
AIB2, AIB6, K10(C16) Glucagón Amida	563	0,052	0,023	0,026	0,014
AIB2, AIB6, K10(C16), K30 Glucagón Amida	622	0,761	0,313	0,031	0,017

## EJEMPLO 40

[0367] El descubrimiento de la leptina documentó la existencia de un sistema endocrino que regula el equilibrio de energía y la adiposidad corporal. También reclutó interés e inversión en la investigación de la obesidad como un medio para identificar estrategias ambientales y farmacológicas para gestionar lo que se ha convertido en una enfermedad epidémica mundial. El tratamiento farmacológico suficientemente eficaz y seguro para la obesidad todavía tiene que emerger y la cirugía constituye la única opción probada para la pérdida de peso sostenida. Se describe en este documento que la eficacia combinatoria de agonismo del receptor en dos receptores hormonales endocrinos potente para lograr efectos potentes inductores de la saciedad y lipolíticos en un único péptido de

30

35

duración sostenida de acción. Se estudiaron farmacológicamente en modelos de obesidad para roedores dos análogos de glucagón específicos con actividad en el GLP1-R comparable a GLP-1 nativo, pero que difieren entre sí en su nivel de agonismo del receptor de glucagón. Una administración semanal de estos péptidos pegilados seleccionados de una serie de análogos de alta potencia con actividad de glucagón y GLP-1 diferencial normalizó la adiposidad y los niveles de tolerancia a la glucosa en ratones obesos inducidos por la dieta (peso corporal promedio de aproximadamente 50 g) en un mes. La pérdida de peso corporal era una consecuencia de la pérdida de grasa corporal como resultado de la disminución de la ingesta de alimentos y el aumento del gasto energético, lo que aumentó con el nivel de agonismo del receptor de glucagón. Estos compuestos coagonistas también normalizaron el metabolismo de la glucosa y lípidos, incluyendo la esteatosis hepática. Los efectos fueron dependientes de la dosis y se repitieron con éxito en ratas obesas inducidas por la dieta. Estos estudios preclínicos indican que cuando se aumenta el agonismo de GLP-1 completo con un grado adecuado de la activación del receptor de glucagón, la reducción de la grasa corporal se puede acelerar sustancialmente y de manera segura. Los resultados mostrados en el presente documento establecen una base para los ensayos clínicos y sugieren una opción de tratamiento novedoso atractivo para el síndrome metabólico.

#### EJEMPLO 41

**[0368]** Los siguientes materiales y métodos se refieren a los experimentos descritos en los Ejemplos 42-51.

#### *Síntesis de péptidos Boc y escisión*

**[0369]** La síntesis de péptidos se realizó utilizando 0,2 mmol de resina de 4-metilbenzhdilamina (MBHA) (Midwest Biotech, Fishers, Indiana) en un sintetizador de péptidos Applied Biosystems 430A modificado. La síntesis de péptidos en fase sólida utilizó la neutralización in situ para química Boc (Schnolzer, M. et al, International Journal of Peptide Research y Therapeutics, 13: 31-44 (2007)). Se trataron las resinas de peptidilo completadas con HF/p-cresol (10:0,5 v/v) a 0°C durante 1 h. Se extrajo el HF al vacío y el péptido desprotegido se precipitó y se lavó en éter dietílico. El péptido se disolvió en acetonitrilo al 20%/ácido acético al 1% y se liofilizó. La mayoría de los péptidos fueron preparados mediante química Boc. Se utilizaron los siguientes grupos protectores de cadena lateral para Boc-aminoácidos (Midwest Biotech): Arg (Tos), Asp (OchHex), Asn (Xan), Glu (OchHex), His (BOM), Lys (2-C1-Z), Ser (Bz1), Thr (Bz1), Trp (CH0), Tyr (Br-Z). Los pesos moleculares de los péptidos se confirmaron por ionización por electrospray o espectrometría de masas MALDI-TOF y se purificaron como se ha descrito.

#### *Síntesis de lactamas*

**[0370]** Los péptidos ciclados con una formación de lactama de i a i + 4 se sintetizaron sobre resina. Se sustituyeron éster Glu(OH)-OH gamma (Peptides International, Louisville, Kentucky) y Lys(Fmoc)-OH (Peptides International) por Glu (OchHex) y Lys (2-C1-Z) en posiciones que participan en la formación de lactama. La resina de peptidilo totalmente protegida se trató con piperidina al 20% en DMF durante 45 minutos para eliminar los grupos protectores Fmoc y OFm. En la resina, se consiguió la formación de lactamas después del tratamiento con 5 equivalentes de hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris-pirrolidino-fosfonio (PyBOP) (Fluka) en DMF/DIEA durante 5 h. La formación de lactama se confirmó por análisis con ninhidrina y la reducción de masa de 18 con relación a la forma abierta del péptido.

#### *Purificación de péptidos.*

**[0371]** Después de la escisión de la resina, los extractos de péptido en bruto se analizaron por HPLC analítica de fase inversa. Las separaciones analíticas se llevaron a cabo en TFA al 0,1% con un gradiente de acetonitrilo en una columna Zorbax C8 (0,46 X 5 cm). Tras el análisis analítico, el extracto bruto se purificó por cromatografía semi-preparativa en TFA al 0,1% con un gradiente de acetonitrilo en una columna Vydac C4 o C18 (2,2 X 25 cm). Los péptidos pegilados se purificaron utilizando las mismas condiciones. Las fracciones preparativas se analizaron por la pureza (> 95%) mediante HPLC analítica de fase inversa utilizando las condiciones mencionadas para las separaciones analíticas. Las masas de péptidos y la pureza se confirmaron mediante espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI-MS) o espectrometría de masas de desorción/ionización láser asistida por matriz-tiempo de vuelo (MALDI-TOF). Los péptidos pegilados mostraron un amplio rango de masas que abarcaba 43400 por MALDI-TOF. Los péptidos purificados se liofilizaron y se almacenaron a 4°C.

#### *Pegilación de péptidos.*

**[0372]** Los péptidos purificados se mezclaron en una relación molar 1:1 con metoxi poli(etilenglicol) maleimido-propionamida-40K (Chirotech Technology Ltd, Cambridge) en urea 7 M/Tris 50 mM, pH 8,0. El progreso de la reacción se controló por HPLC analítica de fase inversa y el péptido libre se consumió en 30 minutos. La reacción se inactivó en TFA al 0,1%, se purificó y caracterizó como se ha descrito.

#### *Síntesis de AMPC mediada por receptor de glucagón y GLP-1*

[0373] Cada análogo de péptido se ensayó para determinar su capacidad para estimular la producción de AMPc a través de los receptores de glucagón (Gcg) y GLP-1. Se cotransfectaron células HEK293 con los ADNc de GcgR o GLP-1R y un gen indicador de luciferasa unido a un elemento de respuesta a AMPc (CRE). Las células fueron privadas de suero durante 16 h mediante el cultivo en DMEM (Invitrogen, Carlsbad, CA) y se suplementaron con suero de crecimiento bovino al 0,25% (HyClone, Logan, UT). Las diluciones en serie de los análogos de glucagón y GLP-1 se añadieron a placas de 96 pocillos recubiertas de poli-D-lisina (BD Biosciences, San Jose, CA) que contenían las células HEK293 cotransfectadas, y las placas se incubaron durante 5 horas a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>. Después de la incubación, se añadió a cada pocillo un volumen equivalente (100 µl) de reactivo de sustrato de luminiscencia LucLite (Perkin-Elmer, Wellesley, MA) y la placa durante 3 min a 800 rpm. La placa se incubó durante 10 min en un ciclo de oscuro y claro y se cuantificó en un contador de centelleo líquido MicroBeta-1450 (Perkin-Elmer, Wellesley, MA). Las concentraciones con 50% de eficacia (EC50) se calcularon mediante el uso de software Origin (OriginLab, Northampton, MA).

#### *Mediciones de dicroísmo circular.*

[0374] Los péptidos se disolvieron en tampón fosfato 10 mM pH 5,9 con concentraciones crecientes de TFE, y se cuantificaron las concentraciones de péptido. Cada muestra se diluyó a 10 µM para las mediciones de CD. Los datos de CD se recogieron en un espectropolarímetro de dicroísmo circular JASCO J-715 con corriente constante de nitrógeno y control de temperatura de la celda de longitud de trayectoria de 1 mm fijada a 25°C. Los datos espectrales se acumularon durante 5 barridos de 270-190 nm con una velocidad de barrido de 100 nm/min y paso de longitud de onda de 1 nm. La señal del disolvente se restó y los datos se suavizaron (Savitzky y Golay, Anal Chem. 36: 1627 (1964)); en el software JASCO Spectra Manager. Los valores en miligrados obtenidos se convirtieron a la elipticidad de residuo promedio con unidades de deg-cm<sup>2</sup>·dmo<sup>-1</sup>. Los valores de elipticidad de residuo promedio calculados se introdujeron en DICHROWEB (Whitmore y Wallace, Biopolymers 89: 392-400 (2008); Whitmore y Wallace, Nucleic Acids Research 32: W668-W673 (2004) para obtener los valores de porcentajes de helicidad.

#### *Animales.*

[0375] Se obtuvieron ratones C57BL/6 de los Laboratorios Jackson y se alimentaron con una dieta diabotogénica de Research Diets, una dieta alta en sacarosa con un 58% kcal de grasa. Los ratones eran individuales o estaban en grupo en un ciclo de 12:12 h de luz-oscuridad a 22°C con acceso libre a comida y agua. Todos los estudios fueron aprobados por y se realizaron según las directrices del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de Cincinnati.

#### *Mediciones de composición corporal.*

[0376] La composición de todo el cuerpo (la grasa y la masa magra) se midió utilizando la tecnología de RMN (EchoMRI, Houston, TX).

#### *Mediciones de la fisiología y balance energético*

[0377] La ingesta y gasto de energía, así como la actividad en la jaula, se evaluaron mediante el uso de un sistema de calorimetría indirecta combinada (TSE Systems, Bad Homburg, Alemania). El consumo de oxígeno y la producción de CO<sub>2</sub> se midieron cada 45 min durante un total de 120 h (incluyendo 12 h de adaptación) para determinar el cociente respiratorio y el gasto de energía. Los patrones de consumo de alimentos y agua y comida se determinaron de forma continua durante 120 h al mismo tiempo que las evaluaciones de la calorimetría indirecta por integración de las escalas en el medio de jaula sellado. Las comidas se definieron como eventos de consumo de alimentos con una duración mínima de 60 s, y un descanso de 300 s entre los eventos de ingesta de alimentos. Se determinó la actividad locomotora en la jaula utilizando un sistema de haz de luz infrarroja multidimensional con haces que rastreaban los niveles de la parte inferior y superior de la jaula, y la actividad se expresa como interrupciones del haz. La actividad motora estacionaria (inquietud) se definió como interrupciones consecutivas de un haz de luz único al nivel inferior de la jaula, movimiento ambulatorio como interrupciones de cualquiera de dos haces de luz diferentes a nivel inferior de la jaula, y parada a dos patas como interrupciones simultáneas de haces de luz en la parte inferior y superior de la jaula.

#### *Parámetros de la sangre.*

[0378] Se recogió sangre tras 6 horas de ayuno de venas de la cola utilizando tubos Microvette recubiertos de EDTA (Sarstedt, Nuremberg, Alemania) y se enfriaron inmediatamente en hielo. Después de 15 minutos de centrifugación a 3.000 g y 4°C, se almacenó plasma a -80°C. Se cuantificó la insulina en plasma mediante un radioinmunoensayo de Linco (RIA de insulina de rata sensible; Linco Research, St. Charles, MO). Se midieron los niveles de TG y colesterol en plasma mediante kits de ensayo enzimáticos (Thermo Electron, Waltham, MA). Las muestras se analizaron de forma individual con la excepción de que muestras agrupadas (0,25 ml) de 5 animales/grupo se sometieron a filtración en gel por cromatografía líquida de rendimiento rápido (FPLC) en dos columnas Superose 6

conectadas en serie para la separación de lipoproteínas. Todos los ensayos se realizaron según las instrucciones del fabricante.

#### *Prueba de tolerancia a la glucosa.*

**[0379]** Para la determinación de tolerancia a la glucosa, los ratones fueron sometidos a 6 h de ayuno y se inyectaron por vía intraperitoneal (i.p.) con 2 g de glucosa/peso corporal kg (50% de D-glucosa (Sigma) en solución salina al 0,9%) para la prueba de tolerancia a la glucosa (GTT). Los niveles de glucosa en sangre de la cola (mg/dl) se midieron usando un glucómetro de mano (TheraSense Freestyle) antes (0 min) y a los 15, 30, 60, 90, y 120 min después de la inyección.

#### *Transferencia Western de WAT HSL.*

**[0380]** Se colocó tejido adiposo en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml y se lisó en tampón RIPA enfriado con hielo (1X PBS, 1% Nonidet P40, doxicolato de sodio al 0,5%, SDS al 0,1% con NaF 50 mM, fluoruro de fenilmetilsulfonilo 0,5 M, vanadato de Na 0,1 mM, aprotinina 20 µg/ml, leupeptina 10 µg/ml) usando un lisador de tejido (Retsch, Inc Newtown, PA Cat. # 85210) a 30 Hz durante 3 min. Las muestras se centrifugaron a 12.000 rpm durante 15 min (4°C), en cuyo momento se retiró el internadante a un nuevo tubo y se sonicó durante 15 segundos en hielo. Las muestras se centrifugaron a 14.000 rpm durante 10 min (4°C) y el internadante se recogió en un nuevo tubo. Las muestras se centrifugaron de nuevo a 19.000 rpm durante 10 min (4°C) y el internadante se recogió en un nuevo tubo. A continuación, se tomó una alícuota de la muestra para el ensayo de proteínas. Las muestras se pusieron a ebullición en 4x tampón SDS/DTT durante 2 min. Se sometieron 50 µg de proteína de lisado de células a SDS/PAGE en geles separadores de acrilamida al 9% (p/v) y se transfirieron a membranas de nitrocelulosa Hybond ECL. Las membranas se bloquearon y se sondearon con anticuerpos primarios de interés (HSL (4107)) de Cell Signaling; Phospho-HSL (Ser 660) (4126) de Cell Signaling). Después del lavado, la detección de anticuerpo primario se realizó utilizando anti-(IgG de conejo) o anti-(IgG de ratón) conjugados a HRP (anticuerpos secundarios anti-conejo y anti-ratón conjugados a HRP se adquirieron de Bio-Rad (170-6515 y 170-6516)) y se detectaron usando quimioluminiscencia potenciada (Amersham Biosciences) y se expusieron a película CL-Xposure (Pierce).

#### *Inmunohistoquímica.*

**[0381]** Se tiñeron secciones embebidas en parafina de tejido blanco adiposo de epidídimo (5 µm) con hematoxilina/eosina tal como se ha descrito (Ogden, CL et al JAMA 295: 1549-1555 (2006)). Para cada bloque de tejido de ratón individual, se cuantificó el tamaño de los adipocitos de 100 células de cada uno de los tres campos de alta potencia diferentes como la medición de área utilizando el software Image Pro Plus 5.1 (Media Cybernetics, Bethesda, MD, EE.UU.)

#### *Tinción con Oil Red.*

**[0382]** Para visualizar la acumulación de lípidos en el tejido hepático, se recogieron secciones transversales de 4-8 mm de los hígados en el sacrificio y se tiñeron con colorante Oil Red O. Las imágenes, tanto a 20X y 40X, se obtuvieron utilizando un microscopio [compuesto de lentes].

#### *Procedimiento de RT-PCR cuantitativa.*

**[0383]** Los animales se sacrificaron por decapitación en el estado alimentado (1-4 h después de la alimentación de la mañana) y se muestrearon diversos tejidos, se sujetaron en congelación, y se almacenaron a - 80°C para la posterior medición de la expresión de ARNm de PEPCK, G6P, y HPRT (constitutivo) mediante PCR cuantitativa en tiempo real (iCycler, BioRad).

**[0384]** El ARN total fue extraído de muestras de tejido congelado usando un kit de tejido lipídico RNeasy (Qiagen, Ca # 74804) utilizando el protocolo estándar. Las concentraciones de ARN y la pureza se determinaron por espectrofotometría usando el Nanodrop. Las plantillas de ADNc para RT-PCR se obtuvieron usando 2 µg de ARN total. La reacción de transcripción inversa se realizó con 10 x tampón de reacción DNasa I, DNasa I, Amp Grade, 1 U/ul, depc-H<sub>2</sub>O, EDTA 25 mM, dNTP Mix 10 mM, oligo(dT)<sub>20</sub> (50 µM), 5X tampón first-strand, DTT 0,1 M, RNaseOUT, y Superscript III (Invitrogen).

**[0385]** Los ADNc sintetizados se amplificaron por PCR usando el colorante fluorescente SYBR Green (BioRad, Ca # 1708882) que contenía una concentración final de 0,5 µM de cebadores directo e inverso. La pureza del producto fue confirmada por curvas de disociación. No se incluyeron controles de plantilla en todos los ensayos, produciendo una amplificación inconsistente. Se utilizó una curva estándar para obtener la concentración relativa de PEPCK o G6P, y los resultados se corrigieron según la concentración de HPRT, utilizado como genes constitutivos. Los resultados se expresan como porcentaje de vehículo, estableciendo el promedio del grupo de vehículo al 100% y entonces calculando cada valor individual de los 3 grupos de animales estudiados.

*Secuencias de cebador.*

**[0386]** Las secuencias de cebador para PEPCK, G6P y HPRT se obtuvieron del sitio web del NIH y se generaron cebadores mediante ADN de IDT.

5

*RT-PCR de Transcripción inversa y cuantitativa en tiempo real*

**[0387]** Se cuantificó la expresión de ARNm de CD68 en RT-PCT a tiempo real como se ha descrito (Nomiyama, T. et al Journal of Clinical Investigation 117: 2877-2888 (2007)). Brevemente, tras el sacrificio, se homogeneizaron 100 mg de tejido adiposo del epidídimo en TRIZOL y el ARNm total se transcribió de forma inversa en ADNc. Las reacciones de PCR se realizaron usando un iCycler (Bio-Rad) y el sistema de SYBR Green I (Bio-Rad). Cada muestra se analizó por triplicado y se normalizó a los valores para la expresión de ARNm de TFIIB. Las secuencias de cebador de ratón utilizadas fueron las siguientes:

CD68, 5'-CAAGGTCCAGGGAGGTTGTG-3' (directo) (SEQ ID NO: 638),  
5'-CCAAAGGTAAGCTGTCCATAAGGA-3' (inverso) (SEQ ID NO: 639);  
y TFIIB, 5'-CTCTCCCAAGAGTCACATGTCC (SEQ ID NO: 640),  
5'-CAATAACTCGGTCCCTACAAC-3' (inverso) (SEQ ID NO: 641).

Análisis estadístico.

**[0388]** A menos que se indique lo contrario, todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando ANOVA de una sola vía GraphPad Prism y estadísticas de la columna. Los valores de P indicados son para el análisis de una vía de la varianza. Todos los resultados se presentan como media  $\pm$  SE. (Datos de activación del receptor es  $\pm$  SD).

## EJEMPLO 42

**[0389]** Se sintetizaron dos péptidos similares a glucagón, péptido X e Y, que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ Id NO: 1 con modificaciones de aminoácidos tal como se ha descrito en el presente documento. Ambos péptidos comprendían AIB en la posición 2, Glu en la posición 16, Gln en la posición 17, Ala en la posición 18, Lys en la posición 20, Glu en la posición 21, Ile en la posición 23 y Cys en la posición 24. La pegilación de 40 kd específica de sitio se logró en la Cys en la posición 24 a través de la reacción con un PEG lineal funcionalizado con maleimida para producir péptido X-PEG e Y-PEG. Los péptidos Y y Y-PEG diferían de los péptidos X y X-PEG, respectivamente, en que se introdujo un único puente de lactama de la cadena lateral en el medio del péptido Y o péptido Y-PEG para estabilizar la estructura secundaria y mejorar el agonismo de glucagón. Las dos cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20 se acoplaron de forma covalente en el transcurso del ensamblaje del péptido como una amida de la cadena lateral. Este macrociclación del péptido representa una lactama de 21 átomos. Los péptidos X-PEG e Y-PEG se ensayaron para determinar la solubilidad y se encontró que eran solubles en tampones fisiológicos a concentraciones que excedían 25 mg/ml, y los péptidos X-PEG e Y-PEG resultaron ser completamente resistentes a la incubación ex vivo con plasma durante periodos de una semana.

## EJEMPLO 43

**[0390]** La conformación secundaria de los péptidos cuando se solubilizan en varias concentraciones de trifluoroetanol acuoso (TFE) se analizó por dicroísmo circular (Figura 25). El glucagón fue el péptido menohelicoidal s probado, y se calculó una helicidad de 10, 15 y 33% en soluciones de TFE de 0, 10 y 20%, respectivamente (Tabla 29). En las mismas condiciones experimentales, el GLP-1 presentaba una mejor helicidad de 14, 29 y 55%, lo que demuestra que estos dos péptidos difieren en la estructura primaria, así como la estructura secundaria. No hubo cambios significativos en la helicidad de los péptidos X e Y cuando se pegilaron, a pesar del hecho de que las porciones pegiladas representan más del 90% de la molécula en masa (Tabla 29). En cambio, la helicidad aparente del péptido Y en tampón de fosfato, en ausencia de TFE fue de aproximadamente el doble que la del péptido X, del 17% al 36%. En consecuencia, las formas pegiladas de estos dos péptidos quiméricos (péptido X-PEG y péptido Y-PEG) diferían apreciablemente en la estructura secundaria (Figura 25) y es probable que las diferencias en las propiedades biológicas sean función de estas diferencias estructurales secundarios.

55

TABLA 29

Péptido	Porcentaje de Helicidad		
	0% TFE	10% TFE	20% TFE
Glucagón	10	15	33
GLP-1	14	29	55
Péptido X	17	34	60
Péptido X-PEG	12	31	-
Péptido Y	36	35	64
Péptido Y-PEG	37	51	-

EJEMPLO 44

**[0391]** Los dos péptidos (péptidos X e Y) y sus derivados pegilados de 40 kD (péptidos X-PEG y Y-PEG) se evaluaron por su capacidad para estimular la síntesis de AMPc en ensayos de reportero CRE-luciferasa basados en células (Figura 26). Como se muestra en la Tabla 30, el glucagón nativo activaba receptores de glucagón en la mitad del máximo a una concentración eficaz (EC50) de  $0,055 \pm 0,014$  nM y el receptor de GLP-1 (GLP-1R) a una concentración mucho más alta, EC50 de  $3,29 \pm 0,39$  nM. En cambio, GLP-1 activaba su receptor con una EC50 de  $0,028 \pm 0,009$  nM y demostró ser altamente específico en que la interacción en el receptor de glucagón (GcgR) se produjo a una EC50 inferior o igual a  $1 \mu\text{M}$ . El intervalo dinámico en la especificidad exhibida para los ligandos nativos en sus receptores es de más de un millón. La potencia del péptido X-PEG en GLP-1R era dos veces la de GLP-1 nativo y aún más mejorada en GcgR en un sentido relativo. Sin embargo, la actividad de GcgR era sólo aproximadamente el 10% de la de glucagón nativo. La introducción de la lactama restauró el agonismo completo de glucagón sin un cambio en GLP-1 R. En consecuencia, el péptido Y-PEG es un coagonista completamente potente casi equilibrado en relación a los ligandos nativos en los dos receptores respectivos. La PEGilación de cada péptido redujo la potencia como mucho diez veces en GcgR y cinco veces en GLP-1R. La pérdida ligeramente mayor de la actividad en GcgR puede ser función de la mayor importancia relativa de la secuencia C-terminal a la interacción del receptor de glucagón. Los péptidos pegilados (péptidos X-PEG y Y-PEG) fueron ligeramente menos potentes en GLP-1R que GLP-1 nativo pero todavía tenía una EC50 subnanomolar. El péptido X-PEG es siete veces más selectivo que la versión de lactama de este péptido, es decir, péptido Y-PEG, en el GLP-1R. Por lo tanto, estos dos péptidos resistentes a DPP-4 son adecuados para experimentos de acción-tiempo in vivo prologados y coincidentes para el agonismo de GLP-1R pero difieren en el agonismo de glucagón.

TABLA 30

Péptido	Receptor de glucagón			Receptor de GLP-1			Selectividad*
	EC50 (nM)	Desviación Estándar	% de actividad del glucagón nativo	EC50 (nM)	Desviación Estándar	% de actividad del GLP-1 nativo	
Glucagón	0,055	0,014	100,00	3,293	0,389	0,86	0,009
GLP-1	>1000	-	<0,008	0,028	0,009	100,00	>12500
Péptido X	0,585	0,125	9,38	0,014	0,002	202,12	21,5
Péptido X-PEG	2,895	0,963	1,90	0,036	0,014	78,41	41,4
Péptido Y	0,055	0,011	99,51	0,013	0,005	219,78	2,21
Péptido Y-PEG	0,667	0,264	8,22	0,059	0,029	47,61	5,79

EJEMPLO 45

**[0392]** Los péptidos pegilados con 40 kd péptidos X-PEG y e Y-PEG se utilizaron como inyecciones individuales subcutáneas (s.c.) semanales en ratones C57B6 obesos inducidos por la dieta (D10). Una sola inyección de 325 nmol/kg de péptido Y-PEG disminuyó el peso corporal durante una semana el 25,8%, de  $50,9 \pm 1,4$  g a  $37,8 \pm 0,8$  g ( $p < 0,0001$ ,  $n = 8/\text{grupo}$ ). La administración comparable del péptido X-PEG fue eficaz pero considerablemente menos potente, ya que la disminución en el peso corporal fue del 9% ( $49,1 \pm 1,51$  g a  $44,68 \pm 1,38$  g). Los ratones de control inyectados con solución salina no cambiaron su peso corporal (antes:  $50,61 \pm 1,32$  g, después:  $50,87 \pm 1,46$  g; figura 27A.). Los cambios de peso corporal fueron el resultado de una disminución de la masa grasa (41,9% para el péptido con lactama, 22,2% para la forma abierta, 2,3% para los controles,  $p < 0,001$ ; Figura 27B) y fueron acompañados de una disminución significativa en la ingesta diaria de alimentos promedio (péptido Y-PEG:  $0,40 \pm 0,29$  g/día, péptido X-PEG:  $1,83 \pm 0,81$  g/día, solución salina:  $2,70 \pm 0,78$  g/día,  $p < 0,0001$ , Figura 27C). La glucosa en sangre se redujo significativamente para ambos péptidos en comparación con el control, y un poco más en el Péptido Y-PEG (Péptido Y-PEG:  $-90,1$  mg/dl, péptido X-PEG:  $-79,6$  mg/dl, control:  $-23,9$  g/dl,  $p = 0,0433$ ; Figura 27D). La diferencia relativa entre los dos péptidos (péptido X-PEG y péptido Y-PEG) no fue estadísticamente significativa.

EJEMPLO 46

**[0393]** En un experimento separado, inyecciones s.c. individuales de seis dosis diferentes (0, 7, 14, 35, 70, 140 y 350 nmol/kg) de péptido Y-PEG y péptido X-PEG demostraron disminuciones dependiente de la dosis de respuesta lineal en el peso corporal y la glucosa en sangre (figura 28A, 28B, 28C y 28D). Esto sugiere que los efectos observados son farmacológicamente relevantes sin toxicidad aparente, aparte de los efectos indirectos de la pérdida rápida y excesiva de peso corporal. La magnitud del efecto fue más prominente con el Péptido Y-PEG e indica que el elemento adicional de agonismo de glucagón mejora la potencia del péptido.

EJEMPLO 47

**[0394]** En un experimento separado, inyecciones s.c. semanales de 70 nmol/kg de péptido Y-PEG o péptido X-PEG disminuyeron el peso corporal de los ratones DIO en un 28,1% y 20,1%, respectivamente ( $p < 0,0001$ ,  $n = 7-8$ /grupo; Figura 29A). Los cambios de peso corporal se asociaron con una disminución de la masa grasa (-62,9% para el péptido Y-PEG, -52,2% para el péptido X-PEG, y 5,1% para los controles,  $p < 0,0001$ ; Figura 29B). Los efectos a largo plazo de estas dosis más bajas en la ingesta de alimentos ( $p = 0,95$ ; Figura 29C) eran menos impresionantes que los efectos a corto plazo con una dosis más alta (Figura 27C.). El gasto de energía se incrementó con Péptido Y-PEG ( $14,60 \pm 0,69$  kcal/[kg\*h]) y el péptido X-PEG ( $17,19 \pm 1,49$  kcal/[kg\*h]) en comparación con el vehículo ( $12,71 \pm 0,45$  kcal/[kg\*h]),  $p = 0,0187$ ), mientras que el cociente respiratorio tendió a disminuir (Figura 29D y 29E;  $0,719 \pm 0,01$  para el péptido Y-PEG,  $0,725 \pm 0,01$  para el péptido X-PEG, y  $0,755 \pm 0,01$  para el vehículo,  $p = 0,1028$ ), lo que indica que el aumento de la termogénesis y la partición de nutrientes alterada pueden explicar el balance energético global negativo. El mayor gasto de energía no se asoció con un cambio en la termogénesis inducida por la actividad física espontánea (NEAT), ya que la actividad locomotora no difirió entre los grupos de tratamiento y los controles ( $p = 0,4281$ ; Figura 29F). Ni la monitorización automatizada en línea de la alimentación aguda ni la monitorización crónica de la ingesta de alimentos revelaron ninguna diferencia en la ingesta calórica ( $p$  automatizada = 0,667,  $p$  crónica = 0,9484; Figura 30A).

**[0395]** Los niveles de glucosa en sangre se redujeron notablemente durante el período de tratamiento comenzando en el día 3 después de la primera inyección (media de la disminución: Péptido Y-PEG -32%, péptido X-PEG -24,5%, controla: -2,7%,  $p < 0,0001$ ; Figura 29G). En respuesta a una estimulación de glucosa intraperitoneal (i.p.) en el Día 3, los picos de glucosa en sangre (Figura 29H) y los perfiles (AUC) (Figura 30F) fueron marcadamente más bajos en los dos grupos tratados (péptido Y-PEG  $14183 \pm 1072$ , péptido X-PEG  $13794 \pm 824,1$ ) en comparación con los controles tratados con vehículo ( $34125 \pm 3142$ ,  $p < 0,0001$ ). Después de un mes de tratamiento con Péptido Y-PEG o péptido X-PEG, la insulina plasmática fue menor en los grupos de tratamiento (1194 pg/ml, 1034 pg/ml,  $p = 0,0244$ ) en comparación con los controles (2675 pg/ml), lo que sugiere una sensibilidad mejorada a la insulina (Figura 29I). Los niveles de péptido C en el plasma tendieron a disminuir después de un mes de tratamiento con Péptido Y-PEG o péptido X-PEG (738,8 pg/ml, 624,7 pg/ml) frente al vehículo (1077 pg/ml) ( $p = 0,108$ ) (Figura 30G).

**[0396]** Para determinar si el fenómeno principal generaliza a través de especies, ambos compuestos se administraron a ratas obesas inducidas por la dieta (peso medio  $777,4 \pm 2,1$  g, dosis 70 nmol/kg/semana, inyección de una vez a la semana, 3 semanas de tratamiento). Péptido Y-PEG y péptido X-PEG cada uno disminuyó el peso corporal (péptido X-PEG: -11,15  $\pm$  0,88%; péptido Y-PEG: -20,58  $\pm$  2,26%, vehículo: 1,09  $\pm$  0,56%) ( $p < 0,0001$ ) y la masa grasa de las ratas DIO (péptido X-PEG: -19,17  $\pm$  2,03%; péptido Y-PEG: -33,76  $\pm$  4,76%, vehículo: 0,65  $\pm$  1,20%;  $p < 0,0001$ ), confirmando una aplicabilidad independiente de la especie de este enfoque de tratamiento anti-obesidad.

#### EJEMPLO 48

**[0397]** El tratamiento s.c. crónico durante 27 días con el péptido X-PEG y péptido Y-PEG disminuyó el colesterol total en ratones DIO ( $106,9 \pm 6,3$  mg/dl y  $200,8 \pm 29,58$  mg/dl, respectivamente) con respecto al vehículo (254,0 25,33 mg/dl,  $p = 0,0441$ ; Figura 31A). En un experimento separado, los ratones DIO recibieron 70 nmol/kg s.c. del péptido X-PEG, péptido Y-PEG o vehículo en los días 0 y 7 y se evaluaron en el día 9. El Péptido Y-PEG disminuyó los triglicéridos en plasma, colesterol LDL y colesterol total (colesterol total 63,0 2,49 mg/dl en comparación con el vehículo  $177,7 \pm 11,8$  mg/dl) ( $p < 0,0001$ ), mientras que potencialmente causaba un cambio de colesterol LDL a HDL (Figura 31B). El Péptido X-PEG disminuyó tanto el colesterol HDL como LDL, pero no tuvo efecto significativo sobre los triglicéridos (Figura 31C). Hubo una disminución significativa en la leptina ( $3343 \pm 723,3$  pg/ml para el péptido Y-PEG;  $7308 \pm 2927$  para el péptido X-PEG, y  $18642 \pm 6124$  para el vehículo;  $p = 0,0426$ ; Figura 31D, 31E, 31F). El tratamiento crónico durante 27 días también normalizó el contenido de lípidos del hígado mientras que los ratones de control DIO mantuvieron una esteatosis hepática significativa (datos no mostrados).

#### EJEMPLO 49

**[0398]** Un mes de tratamiento con péptido X-PEG o péptido Y-PEG produjo un aumento de la fosforilación de la lipasa sensible a hormonas (HSL) en el tejido adiposo blanco (WAT) de ratones DIO (péptido X-PEG:  $1,135 \pm 0,315$ ; Péptido Y-PEG:  $1,625 \pm 0,149$ ; vehículo:  $0,597 \pm 0,204$ ;  $p = 0,0369$ ; Figura 32B), lo que implica un efecto directo específico del glucagón sobre la lipólisis de WAT. Concomitante con la disminución de la masa grasa de los ratones tratados durante dos semanas a una dosis de 35 nmol/kg/semana con el péptido Y-PEG y el péptido X-PEG, hubo una reducción significativa del tamaño de los adipocitos en los tejidos adiposos del epidídimo en comparación con los ratones de control (datos no mostrados). Sin embargo, a pesar de tener menos masa grasa y adipocitos más pequeños, este tratamiento a corto plazo de dos semanas con el péptido Y-PEG y el péptido X-PEG no se asoció con una reducción significativa del contenido de macrófagos del tejido adiposo cuantificado mediante RT-PCR a tiempo real para CD68 (Figura 33C). Los niveles de proteína no acoplante I (UCP1) en el tejido adiposo marrón (BAT) se incrementaron por el péptido X-PEG, pero no por tratamiento con el péptido Y-PEG (Péptido X-PEG  $2,167 \pm 0,429$ , péptido Y-PEG  $1,287 \pm 0,1558$ , y vehículo  $1,0 \pm 0,118$ ;  $p = 0,0264$ ; Figura 32A), consistente con una acción específica de GLP-1 sobre la termogénesis en reposo de BAT. La expresión génica hepática reflectante de la gluconeogénesis hepática no fue afectada por el péptido X-PEG o el péptido Y-PEG (Figura 30H y 30I). La histología

indicó que los islotes pancreáticos tendían a ser más pequeños después del tratamiento con péptido X-PEG (datos no mostrados).

EJEMPLO 50

**[0399]** Con el fin de diseccionar las aportaciones de los componentes agonistas de GLP-1 y GcgR de péptidos X-PEG e Y-PEG, cada uno se administró durante un mes a ratones knock out en el receptor de GLP-1 (GLP-1R -/-) mantenidos a una dieta alta en grasas. El Péptido X-PEG causó una reducción de peso corporal ( $p > 0,05$ ; Figuras 34A y 34B) y la masa grasa ( $p > 0,05$ ; Figura 34C) en comparación con solución salina. El Péptido Y-PEG causó una disminución significativa en el peso corporal ( $p = 0,0025$ ) y la masa grasa ( $p = 0,0025$ ) en los ratones GLP-1R -/- (Figuras 34A-34C). El Péptido X-PEG no tuvo efecto sobre la ingesta de alimentos en ratones GLP-1R -/-, mientras que el péptido Y-PEG suprimió la ingesta de alimentos de manera significativa ( $p = 0,017$ ) (Figura 34D). El Péptido Y-PEG (pero no el péptido X-PEG) tenían una tendencia a aumentar la glucosa en sangre en un ensayo de tolerancia a la glucosa en ausencia de un GLP-1R funcional ( $p = 0,03$ ) (Figuras 34E y 34F), lo que implica que el componente GLP-1 del coagonista es necesario para proteger contra la hiperglucemia inducida por el glucagón.

EJEMPLO 51

**[0400]** Como una evaluación independiente del efecto de los péptidos X-PEG y Y-PEG que puede ser atribuible a agonismo de glucagón, se estudiaron dos agonistas peptídicos adicionales con potencia de GLP-1R comparable, pero actividad GcgR marcadamente diferente. Los dos péptidos (péptidos U y V) están relacionados con los péptidos X-PEG y Y-PEG. Los péptidos U y V comprendían la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 con las siguientes modificaciones: Glu en la posición 16, Gln en la posición 17, Ala en la posición 18, Lys en la posición 20, Glu en la posición 21, Ile en la posición 23, y Cys en la posición 24, pero comprendía una pegilación de 20 kd en la Cys en la posición 24 y no comprendían AIB en la posición 2. El péptido V, además, comprendía una sustitución de Gln3 por Glu que reducía selectivamente el agonismo de glucagón en más de diez veces. Ni el Péptido U ni el péptido V comprendían un puente de lactama. El tratamiento de ratones DIO cada día durante una semana a 50 nmol/kg s.c. con Péptido V reveló un efecto reducido sobre el peso corporal que bajaba en relación con el Péptido U ( $-9,09 \pm 0,80$  vs.  $-13,71 \pm 0,92$  g, respectivamente ( $p < 0,0001$ ; Figura 35A).

EJEMPLO 52

**[0401]** Se sintetizaron péptidos similares al glucagón que comprenden un grupo acilo graso C16 unido a un residuo de Lys a través de un espaciador  $\gamma$ -Glu o un espaciador dipéptido  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu, donde el residuo de Lys se encuentra en la posición 10 o en el extremo C-terminal (en la posición 29), como se describe esencialmente en el presente documento. Los péptidos se ensayaron para determinar las actividades in vitro en los receptores de glucagón y GLP-1 como se describe en el presente documento. Los resultados se muestran en la Tabla 31.

TABLA 31

Péptido	Péptido		SEQ ID NO:	EC50 (nM) en Receptor de Glucagón	EC50 (nM) en Receptor de GLP-1
	Acilado AA	Espaciador			
Chi-2, d-Ser2	Lys10	$\gamma$ E	643	0,011	0,0014
Chi-2, d-Ser2	Lys10	$\gamma$ E- $\gamma$ E	644	0,008	0,003
Chi-2, AIB2	Lys10	$\gamma$ E	645	0,025	0,0014
Chi-2, AIB2	Lys10	$\gamma$ E- $\gamma$ E	646	0,014	0,003
Chi-2, AIB2, E3	Lys10	Ninguno	647	46,084	0,0018
Chi-2, AIB2, E3	Lys10	$\gamma$ E- $\gamma$ E	648	2,922	0,005
Chi-2, AIB2, I7	Lys10	$\gamma$ E	649	0,014	0,004
Chi-2, AIB2, I7	Lys10	$\gamma$ E- $\gamma$ E	650	0,007	0,024 (0,044*)
DMIA1, E16/K20 lactama	Lys10	$\gamma$ E	651	0,019	0,010
DMIA1, E16/K20 lactama	Lys10	$\gamma$ E- $\gamma$ E	652	0,014	0,006
DMIA1, E16/K20 lactama	Lys29	$\gamma$ E	653	0,107	0,004
DMIA1, E16/K20 lactama	Lys29	$\gamma$ E- $\gamma$ E	654	0,025	0,070
AIB2, AIB16, A18, D28	Lys10	$\gamma$ E- $\gamma$ E	655	0,003	0,004
AIB2, AIB16, A18, D28	Lys10	$\gamma$ E	656	0,006	0,004

EJEMPLO 53

**[0402]** Los péptidos que se muestran en la Tabla 32 se sintetizaron como se describe esencialmente en el presente documento:

5

TABLA 32

Nombre del péptido	SEQ ID NO:	Secuencia
Quimera-2 Aib2C24Mal40KPEG	624	H(Aib)QGTFTSDYSKYLDEQAAKEFICWLMNT-amida
Quimera-2 Aib2E16K20lactamC24Mal40KPEG	625	H(Aib)QGTFTSDYSKYLDEQAAKEFICWLMNT-amida
Glucagón Aib2E16K20lactamC24amidaMal40KPEG	626	H(Aib)QGTFTSDYSKYLDERRAKDFVCWLMNT-amida lactama
Glucagón Dmia1E16K20lactamaC24Mal40KPEG	628	(Dmia)SQGTFTSDYSKYLDERRAKDFVCWLMNT-amida lactama
Glucagón Dmia1E16K20lactamaC24Mal40KPEG	629	(Dmia)SQGTFTSDYSKYLDERRAKDFVCWLMNT-OH lactama
Glucagón Dmia1E16K20lactamaC24tioeter40KPEG	630	(Dmia)SQGTFTSDYSKYLDERRAKDFVCWLMNT-amida lactama
Quimera2 Aib2E3C24-Tioeter40K PEG	631	H(Aib)EGTFTSDYSKYLDEQAAKEFICWLMNT-amida
Glucagón DMIA1, E3, E15, E16, K20, C24-Peg	632	(Dmia)SEGTFTSDYSKYLEERRAKDFVC(PEG40K)WLMNT-amida
Glucagón Aib2Aib16C24K10(rErE-C14)C24PEG40KTE)amida	633	H(Aib)QGTFTSDK(rErE-C14)SKYLDAibRRAQDFVC(PEG40KTE)WLMNT-ami
Glucagon Aib2Aib16K10(AA-C14)C24PEG40K TE amida	634	H(Aib)QGTFTSDK(AA-C14)SKYLDAibRRAQDFVC(PEG40KTE)WLMNT-amida
Glucagon Aib2Aib16K10(AA-C16) amida	635	H(Aib)QGTFTSDK(AA-C14)SKYLDAibRRAQDFVC(PEG40KTE)WLMNT-amida
Glucagon Aib2Aib16K10(rErE-C16) amida	636	H(Aib)QGTFTSD K(rErE-C16)SKYLDAibRRAQDFVQWLMNT amida

**[0403]** Todos los péptidos de la Tabla 32 demostraron potentes actividades in vitro en los receptores de glucagón y GLP-1, a excepción de los péptidos de SEQ ID NOs: 624, 631, y 632

10 **[0404]** Los péptidos de la serie A que comprende la secuencia de aminoácidos del glucagón nativo (SEQ ID NO: 1) a excepción de los cambios descritos en la Tabla 33, se sintetizaron como se describe esencialmente en el presente documento.

TABLA 33

Protección de DPP-IV	Estabilización de Hélice Alfa	Posición 3	Cadena principal*	¿Amida C-Terminal?
DMIA en posición 1	AIB en la posición 16	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
AIB en posición 2	AIB en la posición 16	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
d-Ser en posición 2	AIB en la posición 16	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
DMIA en posición 1	AIB en la posición 16	Glu	Tipo salvaje	Sí
AIB en posición 2	AIB en la posición 16	Glu	Tipo salvaje	Sí
d-Ser en posición 2	AIB en la posición 16	Glu	Tipo salvaje	Sí
DMIA en posición 1	AIB en la posición 16 y 20	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
AIB en posición 2	AIB en la posición 16 y 20	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
d-Ser en posición 2	AIB en la posición 16 y 20	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
DMIA en posición 1	AIB en la posición 16 y 20	Glu	Tipo salvaje	Sí

ES 2 579 502 T3

AIB en posición 2	AIB en la posición 16 y 20	Glu	Tipo salvaje	Sí
d-Ser en posición 2	AIB en la posición 16 y 20	Glu	Tipo salvaje	Sí
DMIA en posición 1	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
AIB en posición 2	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
d-Ser en posición 2	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
DMIA en posición 1	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
AIB en posición 2	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
d-Ser en posición 2	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Tipo salvaje	Sí
DMIA en posición 1	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Tipo salvaje	Sí
AIB en posición 2	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Tipo salvaje	Sí
d-Ser en posición 2	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Tipo salvaje	Sí
DMIA en posición 1	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Tipo salvaje	Sí
AIB en posición 2	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Tipo salvaje	Sí
d-Ser en posición 2	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Tipo salvaje	Sí
DMIA en posición 1	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Quimera 2	Sí
AIB en posición 2	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Quimera 2	Sí
d-Ser en posición 2	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Quimera 2	Sí
DMIA en posición 1	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Quimera 2	Sí
AIB en posición 2	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Quimera 2	Sí
d-Ser en posición 2	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Gln (tipo salvaje)	Quimera 2	Sí
DMIA en posición 1	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Quimera 2	Sí
AIB en posición 2	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Quimera 2	Sí
d-Ser en posición 2	Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Quimera 2	Sí
DMIA en posición 1	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Quimera 2	Sí
AIB en posición 2	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Quimera 2	Sí
d-Ser en posición 2	Puente de lactama entre las cadenas laterales de Glu en la posición 16 y Lys en la posición 20	Glu	Quimera 2	Sí

\* indica aminoácidos en las posiciones 17, 28, 21 y 23 como tipo salvaje o como Quimera 2 (Gln en la posición 17, Ala en posición 18, Glu en posición 21 y Ile en posición 23).

**[0405]** Los péptidos que tienen la misma estructura que los péptidos de la serie A, a excepción de que la Met en la posición 27 se sustituye por un norleucina, se sintetizan como se describe esencialmente en el presente documento. Estos péptidos modificados son los péptidos de la serie B.

**[0406]** Los péptidos que tienen la misma estructura que los péptidos de las series A y B, excepto que la Gln en la posición 24 se sustituye por una Cys unida covalentemente a un PEG de 40 kDa, se sintetizan como se describe esencialmente en el presente documento. Estos péptidos pegilados forman los péptidos de la serie C.

**[0407]** Los péptidos que tienen la misma estructura que los péptidos de la serie A, B, o C, excepto que la Tyr en la posición 10 se sustituye por una Lys unida covalentemente a un grupo acilo graso C8, C12, C14, C16, o C18, se sintetizan esencialmente como se describe en el presente documento. Los péptidos acilados con un grupo acilo graso C8 forman los péptidos de la serie D. Los péptidos acilados con un grupo acilo graso C12 forman los péptidos de la serie E. Los péptidos acilados con un grupo acilo graso C14 forman los péptidos de la serie F. Los péptidos acilados con un grupo acilo graso C16 forman los péptidos de la serie G. Los péptidos acilados con un grupo acilo graso C18 forman los péptidos de la serie H.

**[0408]** Los péptidos que tienen la misma estructura que los péptidos de las series D a H, excepto que el grupo acilo graso se une a la Lys en la posición 10 a través de un espaciador, se sintetizan como se describe esencialmente en el presente documento. Los péptidos que comprenden un espaciador  $\gamma$ -Glu- $\gamma$ -Glu forman los péptidos de la serie I. Los péptidos que comprenden un espaciador  $\gamma$ -Glu forman los péptidos de la serie J. Los péptidos que comprenden un espaciador de Ala-Ala forman los péptidos de serie K. Los péptidos que comprenden un espaciador  $\beta$ -Ala- $\beta$ -Ala forman los péptidos de la serie L.

**[0409]** El uso de los términos "un" y "una" y "el/la" y referentes similares en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) se debe interpretar que cubren tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en este documento o se contradiga claramente por el contexto. Los términos "que comprende", "que tiene", "incluyendo", y "que contiene" deben interpretarse como términos abiertos (es decir, que significa "incluyendo, pero no limitado a,") a menos que se indique lo contrario.

**[0410]** La mención de intervalos de valores en este documento no son más que la intención de servir como un método abreviado de referirse individualmente a cada valor separado que cae dentro del intervalo y cada punto final, a menos que se indique lo contrario en este documento, y cada valor separado y punto final se incorpora en la memoria como si hubiera citado individualmente en el presente documento.

**[0411]** Todos los métodos descritos aquí se pueden realizar en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en este documento o se contradiga claramente por el contexto. El uso de cualquier y todos los ejemplos, o lenguaje de ejemplo (por ejemplo, "tal como") proporcionado en este documento, pretende meramente iluminar mejor la invención y no plantea una limitación en el alcance de la invención salvo que se reivindique lo contrario. Ningún lenguaje en la memoria debería interpretarse como una indicación de cualquier elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención.

**[0412]** Las realizaciones preferidas de esta invención se describen en el presente documento, incluyendo el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la invención. Las variaciones de estas realizaciones preferidas pueden llegar a ser evidentes para los expertos normales en la técnica al leer la descripción anterior. Los inventores esperan que los expertos empleen dichas variaciones según sea apropiado, y los inventores pretenden que la invención pueda ser practicada de otra manera que la descrita específicamente en este documento. En consecuencia, esta invención incluye todas las modificaciones y equivalentes de la materia indicada en las reivindicaciones adjuntas según lo permitido por la ley aplicable. Por otra parte, cualquier combinación de los elementos descritos anteriormente en todas las variaciones posibles de los mismos está abarcada por la invención a menos que se indique lo contrario en este documento o se contradiga claramente por el contexto.

#### LISTADO DE SECUENCIAS

##### **[0413]**

<110> Dimarchi, et al.

<120> COAGONISTAS DE RECEPTORES DE GLUCAGON/GLP-1

<130> 29920-207042 (31135/43977C)

<160> 656

<170> PatentIn version 3.5

ES 2 579 502 T3

<210> 1  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 1  
 10 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 15 20 25  
  
 <210> 2  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 25  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
 30  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Arg, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 35  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle  
 40  
  
 <400> 2  
 45 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 Xaa Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Xaa Asn Thr  
 50 20 25  
  
 <210> 3  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55  
  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 60  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
 65  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Asp, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 5 <223> Met, Leu o Nle  
  
 <400> 3  
  
 10 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Gln Xaa Phe Val Gln Trp Leu Xaa Asn Thr  
 15 20 25  
  
 <210> 4  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Gln, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle  
 40  
 <400> 4  
  
 45 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Xaa Trp Leu Xaa Asn Thr  
 50 20 25  
  
 <210> 5  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Asp, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 5 <223> Gln, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 10 <223> Met, Leu o Nle

<400> 5  
 15 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Xaa Phe Val Xaa Trp Leu Xaa Asn Thr  
 20 20 25

<210> 6  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 25 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 30

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Asp, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle  
 40

<400> 6  
 45 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Xaa Phe Val Gln Trp Leu Xaa Asn Thr  
 50 20 25

<210> 7  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 60

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Gln, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 65

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle

ES 2 579 502 T3

<400> 7

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

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Xaa Trp Leu Xaa Asn Thr  
 10 20 25

<210> 8  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 25 <223> Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico

<400> 8

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

30 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

35 <210> 9  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle

50 <400> 9

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

55 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Xaa Asn Thr  
 20 25

60 <210> 10  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

<400> 10

ES 2 579 502 T3

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 5 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 10 <210> 11  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <400> 11  
 25 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 30 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 35 <210> 12  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en la posición 12 y 16  
 <400> 12  
 50 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 60 <210> 13  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)

ES 2 579 502 T3

<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 13

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

10 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 14  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
20 <223> Análogo de glucagón sintético

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
25 <222> (22)..(24)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 22 y 24

<400> 14

30 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
1 5 10 15

35 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Glu Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 15  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
45 <223> Análogo de glucagón sintético

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
50 <222> (24)..(28)  
<223> Anillo de lactama formado entre las cadenas laterales en las posiciones 24 y 28

<400> 15

55 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
1 5 10 15

60 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Glu Trp Leu Met Lys Thr  
20 25

<210> 16  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (20)..(24)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 20 y 24

15 <400> 16  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 20 1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Glu Trp Leu Met Asn Thr  
 25 20 25

<210> 17  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 30 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (24)..(28)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 24 y 28

45 <400> 17

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

55 Arg Arg Ala Asp Asp Phe Val Glu Trp Leu Met Lys Thr  
 20 25

60 <210> 18  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE

ES 2 579 502 T3

<222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

5 <400> 18  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

10 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Glu Trp Leu Met Lys Thr  
 20 25

15 <210> 19  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (30)..(30)  
 <223> Aminoácido variable

<400> 19

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

40 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Xaa  
 20 25 30

45 <210> 20  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Gln, Lys, Arg, Orn o Citrulina

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Gln o Glu

<220>  
 <221> MOD\_RES

<222> (28)..(28)  
 <223> Asn, Asp o Lys  
  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr o Gly  
  
 10 <400> 20  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 15 Arg Arg Ala Xaa Asp Phe Val Xaa Trp Leu Met Xaa Xaa  
 20 25  
  
 20 <210> 21  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 25 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ser, Ala, Gly, N-methyl Ser o ácido aminoisobutírico  
  
 <400> 21  
 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 45  
  
 50 <210> 22  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 65 <400> 22  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 5  
 <210> 23  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 10 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Cys-PEG  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle  
 30 <400> 23  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 35  
 Cys Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Xaa Asn Thr  
 20 25  
 40 <210> 24  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Cys-PEG  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle  
 <400> 24  
 65 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Arg Arg Ala Gln Cys Phe Val Gln Trp Leu Xaa Asn Thr  
 20 25

5 <210> 25  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle

<400> 25

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

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Xaa Asn Thr  
 20 25

40 <210> 26  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Fragmento de péptido sintético que representa los 10 aminoácidos  
 carboxi terminal de Exendina-4

<400> 26

50 Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 1 5 10

55 <210> 27  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60 <220>  
 <223> Fragmento de péptido sintético que representa los 8 aminoácidos  
 carboxi terminal de oxintomodulina

<400> 27

65 Lys Arg Asn Arg Asn Asn Ile Ala  
 1 5

<210> 28

<211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <400> 28  
 10 Lys Arg Asn Arg  
 1  
 <210> 29  
 15 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 20 <223> Fragmento de péptido sintético que representa los 10 aminoácidos  
 carboxi terminal de Exendina-4  
 <220>  
 25 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <400> 29  
 30 Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 1 5 10  
 <210> 30  
 35 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 40 <223> Análogo de glucagón sintético  
 <220>  
 45 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle  
 <400> 30  
 50 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Xaa Asn Thr Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35  
 60  
 <210> 31  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 65 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle  
 <400> 31

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

15 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Xaa Asn Thr Lys Arg Asn  
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala  
 35

20  
 <210> 32  
 <211> 33  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle

35  
 <400> 32

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

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Xaa Asn Thr Lys Arg Asn  
 20 25 30

45  
 Arg

50 <210> 33  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Asp, Glu, ácido homoglutámico, ácido cisteico o ácido homocisteico

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Gln o Lys  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Gln o Glu  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Asn, Lys o un aminoácido ácido  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr, Gly o un aminoácido ácido  
 20  
 <400> 33  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Xaa  
 1 5 10 15  
 25  
 Arg Arg Ala Xaa Asp Phe Val Xaa Trp Leu Met Xaa Xaa  
 20 25  
 30  
 <210> 34  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Asp, Glu, ácido cisteico, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Gln o Lys  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Gln o Glu  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Asn, Asp o Lys  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr o Gly

ES 2 579 502 T3

<400> 34

5 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Xaa Asp Phe Val Xaa Trp Leu Met Xaa Xaa  
 20 25

10

<210> 35  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

20

<400> 35

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

25

Cys Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

30

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

35

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

<400> 36

40 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

45 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Gly Pro Ser  
 20 25 30

50 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

55

<210> 37  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

60

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> 2-butirolactona unida a través de grupos tiol de Cys

65

<400> 37

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser

ES 2 579 502 T3

1 5 10 15

5 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 38  
<211> 29  
10 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
15 <223> Análogo de glucagón sintético

<220>  
20 <221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Grupo Carboximetilo unido a través de grupos tiol de Cys

<400> 38

25 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
30 20 25

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

<220>  
40 <223> Análogo de glucagón sintético

<400> 39

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Ser  
1 5 10 15

45 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Gly Pro Ser  
20 25 30

50 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

<210> 40  
55 <211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
60 <223> Análogo de glucagón sintético

<220>  
65 <221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

<220>  
<221> MOD\_RES

ES 2 579 502 T3

<222> (15)..(15)  
 <223> Glu o Asp  
  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Glu o Asp  
  
 10 <400> 40  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Glu  
 1 5 10 15  
  
 15 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Xaa Thr  
 20 25  
  
 20 <210> 41  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 25 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal; Anillo de lactama entre las cadenas laterales en  
 las posiciones 12 y 16  
  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Glu o Asp  
  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Glu o Asp  
  
 <400> 41  
 55 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Glu  
 1 5 10 15  
  
 60 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Xaa Thr  
 20 25  
  
 65 <210> 42  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>

<223> Análogo de glucagón sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal; Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Glu o Asp

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Glu o Asp

30 <400> 42  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Glu  
 1 5 10 15

35 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Xaa Thr  
 20 25

40 <210> 43  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Glu o Asp

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (20)..(24)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 20 y 24

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Glu o Asp

<400> 43

ES 2 579 502 T3

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Ser  
 1 5 10 15  
 5 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Glu Trp Leu Met Xaa Thr  
 20 25  
 10 <210> 44  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Glu o Asp  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (24)..(28)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 24 y  
 28  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Glu o Thr  
 40 <400> 44  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Ser  
 1 5 10 15  
 45 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Glu Trp Leu Met Lys Xaa  
 20 25  
 50 <210> 45  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (12)..(12)  
 <223> Lys o Glu  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Asp, Glu, ácido homoglutámico, ácido cisteico o ácido homocisteico  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ser, Gln, Glu, Lys, ácido homoglutámico, ácido cisteico o ácido homocisteico  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Gln, Glu o Lys  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Gln, Lys o Glu  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Asn, Lys o un aminoácido ácido  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr, Gly o un aminoácido ácido  
 25  
 <400> 45  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Xaa Tyr Leu Xaa Xaa  
 1 5 10 15  
 30  
 Arg Arg Ala Xaa Asp Phe Val Xaa Trp Leu Met Xaa Xaa  
 20 25  
 35  
 <210> 46  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Gln o Lys  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Gln o Glu  
 60  
 <400> 46  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 65  
 Arg Arg Ala Xaa Asp Phe Val Xaa Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

ES 2 579 502 T3

<210> 47  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 10 <400> 47  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 15 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 20 <210> 48  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 <400> 48  
 30 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 35 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Glu Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 40 <210> 49  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 45 <400> 49  
 50 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Glu Trp Leu Met Lys Thr  
 20 25  
 55 <210> 50  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 60 <400> 50  
 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15  
 65 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly  
 20 25 30

5 <210> 51  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Asp, Glu, ácido homoglutámico, ácido cisteico o ácido homocisteico  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
  
 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Gln, Lys, Arg, Orn, o Citrulina  
  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Asp, Glu, ácido homoglutámico, o ácido homocisteico  
  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Gln o Glu  
  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Asn, Lys o un aminoácido ácido  
  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr, Gly o un aminoácido ácido  
  
 <400> 51  
 50 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Xaa  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Xaa Xaa Phe Val Xaa Trp Leu Met Xaa Xaa  
 20 25  
 55  
  
 60 <210> 52  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

ES 2 579 502 T3

<400> 52

5 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
 1 5 10 15

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

15 <210> 53  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Glu, Orn o Nle

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Asp, Glu, ácido homoglutámico, ácido cisteico o ácido homocisteico

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Gln o Lys

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Gln o Glu

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Asn, Lys o un aminoácido ácido

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr o un aminoácido ácido

55 <400> 53

60 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Xaa  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Xaa Asp Phe Val Xaa Trp Leu Met Xaa Xaa  
 20 25

65 <210> 54  
 <211> 29  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Arg o Gln  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (18)..(18)  
 <223> Arg o Ala  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Asp o Glu  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (23)..(23)  
 <223> Val o Ile  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Gln o Ala  
 30  
 <400> 54  
 35 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Xaa Xaa Ala Lys Xaa Phe Xaa Xaa Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 40  
 <210> 55  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> His, D-His, (Des-amino)His, hidroxil-His, acetyl-His, homo-His o  
 55 ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético (DMIA), N-metil  
 His, alfa-metil His, o ácido imidazol acético  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ser, D-Ser, Ala, D-Ala, Val, Gly, N-metil Ser, ácido aminoisobutírico  
 60 (AIB) o N-metil Ala  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Gln, Glu, Orn o Nle  
 65

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Tyr o Trp  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (12)..(12)  
 <223> Lys, Citrulina, Orn o Arg  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Asp, Glu, ácido cisteico, ácido homoglutámico y ácido homocisteico  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Arg, Gln, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (18)..(18)  
 <223> Arg, Ala, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Gln, Lys, Arg, Orn o Citrulina  
 35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Gln, Glu, Asp, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 40  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (23)..(23)  
 <223> Val o Ile  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Ala, Gln, Glu, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Asn, Arg, Citrulina, Orn, Lys o Asp  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr, Gly, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 65  
 <400> 55

Xaa Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Ser Xaa Tyr Leu Xaa Xaa

ES 2 579 502 T3

	1	5	10	15
5	Xaa Xaa Ala	Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Trp	Leu Xaa Xaa Xaa	
		20	25	
	<210>	56		
	<211>	29		
10	<212>	PRT		
	<213>	Secuencia artificial		
	<220>			
15	<223>	Análogo de glucagón sintético		
	<220>			
	<221>	MOD_RES		
	<222>	(1)..(1)		
20	<223>	His, D-His, (Des-amino)His, hidroxil-His, acetil-His, homo-His, DMIA, N-metil His, alfa-metil His, o ácido imidazol acético		
	<220>			
	<221>	MOD_RES		
25	<222>	(2)..(2)		
	<223>	Ser, D-Ser, Ala, D-Ala, Val, Gly, N-metil Ser, AIB o N-metil Ala		
	<220>			
	<221>	MOD_RES		
30	<222>	(3)..(3)		
	<223>	Gln, Glu, Orn o Nle		
	<220>			
	<221>	MOD_RES		
35	<222>	(15)..(15)		
	<223>	Asp, Glu, ácido cisteico, ácido homoglutámico y ácido homocisteico		
	<220>			
	<221>	MOD_RES		
40	<222>	(16)..(16)		
	<223>	Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico		
	<220>			
	<221>	MOD_RES		
45	<222>	(20)..(20)		
	<223>	Gln, Lys, Arg, Orn o Citrulina		
	<220>			
	<221>	MOD_RES		
50	<222>	(21)..(21)		
	<223>	Gln, Glu, Asp, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina		
	<220>			
	<221>	MOD_RES		
55	<222>	(23)..(23)		
	<223>	Val o Ile		
	<220>			
	<221>	MOD_RES		
60	<222>	(24)..(24)		
	<223>	Ala, Gln, Glu, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina		
	<220>			
	<221>	MOD_RES		
65	<222>	(27)..(27)		
	<223>	Met, Leu o Nle		

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Asn, Lys o Asp  
 5

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr, Gly, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 10

<400> 56  
 Xaa Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Xaa  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Trp Leu Xaa Xaa Xaa  
 20 25

<210> 57  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> His, D-His, (Des-amino)His, hidroxil-His, acetil- His, homo-His,  
 DMIA, N-metil His, alfa-metil His, o ácido imidazol acético  
 30 35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ser, D-Ser, Ala, D-Ala, Val, Gly, N-metil Ser, AIB o N-metil  
 Ala  
 40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Gln, Glu, Orn o Nle  
 45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 50

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Asp, Glu, ácido cisteico, ácido homoglutámico y ácido homocisteico  
 55

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Gln, Lys, Arg, Orn o Citrulina  
 60

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Gln, Glu, Asp, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 65

<220>

<221> MOD\_RES  
 <222> (23)..(23)  
 <223> Val o Ile  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Ala, Gln, Glu, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil Phe  
 10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Asn, Lys o Asp  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr, Gly, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 25 <400> 57  
 Xaa Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Glu  
 1 5 10 15  
 30 Arg Arg Ala Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Trp Leu Xaa Xaa Xaa  
 20 25  
 35 <210> 58  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> His, D-His, (Des-amino)His, hidroxil-His, acetil-His, homo-His,  
 DMIA, N-metil His, alfa-metil His, o ácido imidazol acético  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ser, D-Ser, Ala, D-Ala, Val, Gly, N-metil Ser, AIB o N-metil  
 Ala  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Gln, Glu, Orn o Nle  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Asp, Glu, ácido cisteico, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)

<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

5 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (21)..(21)  
<223> Gln, Glu, Asp, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina

10 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (23)..(23)  
<223> Val o Ile

15 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Ala, Gln, Glu, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina

20 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (27)..(27)  
<223> Met, Leu o Nle

25 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (28)..(28)  
<223> Asn, Lys o Asp

30 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (29)..(29)  
<223> Thr, Gly, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina

35 <400> 58  
Xaa Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Glu  
1 5 10 15

40 Arg Arg Ala Lys Xaa Phe Xaa Xaa Trp Leu Xaa Xaa Xaa  
20 25

45 <210> 59  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Análogo de glucagón sintético

55 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> His, D-His, (Des-amino)His, hidroxil-His, acetil-His, homo-His, DMIA, N-metil His, alfa-metil His, o ácido imidazol acético

60 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Ser, D-Ser, Ala, D-Ala, Val, Gly, N-metil Ser, AIB, o N-metil Ala

65 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(3)  
<223> Gln, Glu, Orn o Nle

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 5 <223> Asp, Glu, ácido cisteico, ácido homoglutámico y ácido homocisteico

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 10 <223> Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (20)..(24)  
 15 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en la posición 20 y 24

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 20 <223> Gln, Glu, Asp, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (23)..(23)  
 25 <223> Val o Ile

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 30 <223> Met, Leu o Nle

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 35 <223> Asn, Lys o Asp

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 40 <223> Thr, Gly, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina

<400> 59

45 Xaa Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Xaa  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Xaa Phe Xaa Glu Trp Leu Xaa Xaa Xaa  
 20 25

50

<210> 60  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

60

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> His, D-His, (Des-amino)His, hidroxil-His, acetil-His, homo-His,  
 65 DMIA, N-metil His, alfa-metil His, o ácido imidazol acético

<220>  
 <221> MOD\_RES

ES 2 579 502 T3

<222> (2)..(2)  
 <223> Ser, D-Ser, Ala, D-Ala, Val, Gly, N-metil Ser, AIB o N-metil Ala

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Gln, Glu, Orn o Nle

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Asp, Glu, ácido cisteico, ácido homoglutámico y ácido homocisteico

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Gln, Lys, Arg, Orn, o Citrulina

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)  
 <223> Gln, Glu, Asp, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (23)..(23)  
 <223> Val o Ile

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (24)..(28)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en la posición 24 y 28

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr, Gly, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina

50 <400> 60  
 Xaa Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Xaa  
 1 5 10 15

55 Arg Arg Ala Xaa Xaa Phe Xaa Glu Trp Leu Xaa Lys Xaa  
 20 25

60 <210> 61  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> posiciones 30 a 40 están presentes solo si la posición 29 es Gly;  
 véase la memoria tal como se presentó para una descripción detallada de las  
 5 sustituciones y realizaciones preferidas

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> His, D-His, (Des-amino)His, hidroxil-His, acetil-His, homo-His,  
 10 DMIA, N-metil His, alfa-metil His, o ácido imidazol acético

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ser, D-Ser, Ala, Val, Gly, N-metil Ser, Aib, N-metil, Ala o  
 15 D-Ala

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (18)..(18)  
 <223> Ala o Arg  
 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Ala, Gln o Cys-PEG  
 25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr-CONH<sub>2</sub>, Cys-PEG, o Gly  
 30

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Cys-PEG o no presente  
 35

<400> 61  
 40 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

45 Arg Xaa Ala Lys Asp Phe Val Xaa Trp Leu Met Asn Xaa Gly Pro Ser  
 20 25 30

50 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 40

<210> 62  
 <211> 40  
 55 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 60

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> posiciones 30 a 40 están presentes solo si la posición 29 es Gly;  
 65 véase la memoria tal como se presentó para una descripción detallada de las  
 sustituciones y realizaciones preferidas

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> His, D-His, (Des-amino)His, hidroxil-His, acetil-His, homo-His,  
 5 DMIA, N-metil His, alfa-metil His, o ácido imidazol acético

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ser, D-Ser, Ala, Val, Gly, N-metil Ser, AIBO, N-metil Ala, o  
 10 D-Ala

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (18)..(18)  
 <223> Ala o Arg  
 15

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Ala, Gln o Cys-PEG  
 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr-CONH<sub>2</sub>, Cys-PEG, o Gly  
 25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Cys-PEG o no presente  
 30

<400> 62  
 35 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Gln Xaa Ala Lys Glu Phe Ile Xaa Trp Leu Met Asn Xaa Gly Pro Ser  
 20 25 30

45 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 40

50 <210> 63  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
 60

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Gln o Lys

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (21)..(21)

ES 2 579 502 T3

<223> Asp, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (24)..(24)  
 <223> Gln, Lys, Cys, Orn, homocisteína o acetil fenilalanina  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 10 <222> (27)..(27)  
 <223> Met, Leu o Nle  
 <400> 63  
 15 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 20 Arg Arg Ala Xaa Xaa Phe Val Xaa Trp Leu Xaa Asn Thr  
 20 25  
 <210> 64  
 <211> 38  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (15)..(15)  
 35 <223> Asp, Glu, ácido homoglutámico, ácido cisteico o ácido homocisteico  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 40 <223> Ser, Glu, Gln, ácido homoglutámico o ácido homocisteico  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 45 <223> Gln o Lys  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 50 <223> Gln o Glu  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 55 <223> Asn, Lys o Asp  
 <400> 64  
 60 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Xaa Xaa  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Xaa Asp Phe Val Xaa Trp Leu Met Xaa Gly Gly Pro Ser  
 65 20 25 30  
 Ser Gly Pro Pro Pro Ser  
 35

5 <210> 65  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 10 <223> Fragmento de Péptido sintético que representa los 10 aminoácidos  
 carboxi terminal de Exendina-4  
  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (11)..(11)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 65  
 20 Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 1 5 10  
  
 25 <210> 66  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 30 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Asp o Asn  
  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr o Gly  
  
 50 <400> 66  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 55 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Xaa Xaa  
 20 25  
  
 60 <210> 67  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 65 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Asp o Asn  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr o Gly  
 15  
 <400> 67  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 20  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Xaa Xaa  
 20 25  
 25  
 <210> 68  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30  
 <220>  
 <223> Análogo de glucagón sintético  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (20)..(24)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 20 y  
 24  
 40  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Asp o Asn  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr o Gly  
 50  
 <400> 68  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 55  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Glu Trp Leu Met Xaa Xaa  
 20 25  
 60  
 <210> 69  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65  
 <220>  
 <223> glucagon analogue

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (24)..(28)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 24 y 28  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 10 <222> (29)..(29)  
 <223> Thr o Gly  
  
 <400> 69  
 15 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
  
 20 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Glu Trp Leu Met Lys Xaa  
 20 25  
  
 <210> 70  
 <211> 29  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35  
 <400> 70  
 40 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 45  
 <210> 71  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 <400> 71  
 60 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 65 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 72  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 20 <400> 72  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 25 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 30 <210> 73  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 50 <400> 73  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 60 <210> 74  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

10 <400> 74  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

15 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

20 <210> 75  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Péptido sintético

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

40 <400> 75  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

45 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

50 <210> 76  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Péptido sintético

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<400> 76  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 65 1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr

ES 2 579 502 T3

20

25

5 <210> 77  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 77

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

30 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

35 <210> 78  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 78

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

60 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

65 <210> 79  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Polipéptido sintético

ES 2 579 502 T3

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 79

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

20 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

25 <210> 80  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 80

45 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

50 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

55 <210> 81  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<400> 81

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

5 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                                  25

<210> 82  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 10 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Polipéptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16

25 <400> 82

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                                  25

35 <210> 83  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 40 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Polipéptido sintético

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20

55 <400> 83

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

60 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                                  25

65 <210> 84  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Polipéptido sintético

5

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <400> 84

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

15 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

20 <210> 85  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

40 <400> 85

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

45 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

50 <210> 86  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 86

ES 2 579 502 T3

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 5  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
 10 <210> 87  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15 <220>  
 <223> Polipéptido sintético  
 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 <400> 87  
 30 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 35 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 40 <210> 88  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> Polipéptido sintético  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 <400> 88  
 60 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 65 <210> 89  
 <211> 29  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Polipéptido sintético  
 5  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 <400> 89  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 25 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 30 20 25  
 <210> 90  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Polipéptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 55  
 <400> 90  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 60 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 65 20 25  
 <210> 91  
 <211> 29  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Polipéptido sintético  
 5  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 20 16  
 <400> 91  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 25 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 30 20 25  
 <210> 92  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Polipéptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 55 <400> 92  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 60 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 65 <210> 93  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Polipéptido sintético

5

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

10

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Amidación C-terminal

15

<400> 93

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

20

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

25

<210> 94  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30

<220>  
 <223> Polipéptido sintético

35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

50

<400> 94

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

55

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

60

<210> 95  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65

<220>  
 <223> Polipéptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

15 <400> 95

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

20 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

25 <210> 96  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

50 <400> 96

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

55 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

60 <210> 97  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

10

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

15

<400> 97

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

20

Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

25

<210> 98  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30

<220>  
 <223> Polipéptido sintético

35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

50

<400> 98

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

55

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

60

<210> 99  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65

<220>  
 <223> Polipéptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

10

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

15

<400> 99

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

20

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

25

<210> 100  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30

<220>  
 <223> Polipéptido sintético

35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

50

<400> 100

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

55

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

60

<210> 101  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65

<220>  
 <223> Polipéptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

10 <400> 101  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

15 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

20 <210> 102  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

45 <400> 102  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

50 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

55 <210> 103  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<220>  
 <221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

10 <400> 103  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

15 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

20 <210> 104  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Amidación C-terminal

40 <400> 104  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

45 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

50 <210> 105  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE

ES 2 579 502 T3

<222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

5 <400> 105  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

10 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

15 <210> 106  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

40 <400> 106  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

45 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

50 <210> 107  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

5 <400> 107  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

10 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

15 <210> 108  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido Aminoisobutírico

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

40 <400> 108  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

45 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

50 <210> 109  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE

ES 2 579 502 T3

<222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 5 <400> 109  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 10 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 15 <210> 110  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Polipéptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 <400> 110  
 35 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 40 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 45 <210> 111  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50 <220>  
 <223> Polipéptido sintético  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 <400> 111

ES 2 579 502 T3

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

5 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10 <210> 112  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Polipéptido sintético

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido Aminoisobutírico

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 112

35 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45 <210> 113  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> análogo de glucagón

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> ácido aminoisobutírico

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 113

ES 2 579 502 T3

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

5 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10 <210> 114  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> análogo de glucagón

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 114

35 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

40 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45 <210> 115  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> análogo de glucagón

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<400> 115

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

65 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5 <210> 116  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 30 <400> 116  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 35 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 40 <210> 117  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 65 <400> 117  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5 <210> 118  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> análogo de glucagón

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<400> 118

25 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

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

35 <210> 119  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> análogo de glucagón

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 119

60 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

65 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

<210> 120  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

20 <400> 120  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

25 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

30 <210> 121  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> análogo de glucagón

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

<400> 121

50 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

55 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

60 <210> 122  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> análogo de glucagón

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 <400> 122  
 10 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 15 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 123  
 <211> 29  
 20 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 40 20  
 <400> 123  
 45 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 50 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 124  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 <400> 124  
  
 10 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
    1                  5                  10                  15  
  
 15 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                  25  
  
 <210> 125  
 <211> 29  
 20 <212> PRT  
    <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 25  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 40  
 <400> 125  
  
 45 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
    1                  5                  10                  15  
  
 50 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                  25  
  
 <210> 126  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 <400> 126  
  
 10 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
    1                  5                  10                  15  
  
 15 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                  25  
  
 <210> 127  
 <211> 29  
 20 <212> PRT  
    <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 25  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35  
 <400> 127  
  
 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
    1                  5                  10                  15  
  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                  25  
  
 45  
 <210> 128  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 55 <220>  
    <221> MISC\_FEATURE  
    <223> Amidación C-terminal  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 60  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 65

ES 2 579 502 T3

<400> 128

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

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
10 20 25

<210> 129  
<211> 29  
<212> PRT  
15 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> análogo de glucagón

20 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

25 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> D-Ala

30 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (12)..(16)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
16

35 <400> 129

40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
45 20 25

<210> 130  
<211> 29  
<212> PRT  
50 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> análogo de glucagón

55 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

60 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> D-Ala

65 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (12)..(16)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
16

ES 2 579 502 T3

<400> 130

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

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10

<210> 131  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

30

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20

35

<400> 131

40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45

<210> 132  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50

<220>  
 <223> análogo de glucagón

55

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

65

<400> 132

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

ES 2 579 502 T3

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5  
 <210> 133  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón

15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

30 <400> 133

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

35 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

40 <210> 134  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> análogo de glucagón

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

65 <400> 134

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

ES 2 579 502 T3

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5  
 <210> 135  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón

15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

25  
 <400> 135  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

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

35  
 <210> 136  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón

45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

60  
 <400> 136  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

65 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

<210> 137

<211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 25 <400> 137  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 30 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
 35 <210> 138  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <400> 138  
 50 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 55 <210> 139  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

ES 2 579 502 T3

<400> 139

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

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10

<210> 140  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20

30

<400> 140

35 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

40

<210> 141  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45

<220>  
 <223> análogo de glucagón

50

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16

60

<400> 141

65 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

ES 2 579 502 T3

5 <210> 142  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 20 <400> 142  
  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 25  
  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 30 <210> 143  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 35 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 50 <400> 143  
  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 55  
  
 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 60 <210> 144  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 65 <220>  
 <223> análogo de glucagón

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 5 <400> 144  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 10 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 15 <210> 145  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 35 <400> 145  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 40 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 45 <210> 146  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 <400> 146  
 65 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

- 5 <210> 147  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>  
 <223> análogo de glucagón
- 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal
- 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16
- 25 <400> 147  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15
- 30 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25
- 35 <210> 148  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial
- 40 <220>  
 <223> análogo de glucagón
- 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal
- 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20
- 55 <400> 148  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15
- 60 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25
- 65 <210> 149  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial
- <220>

<223> análogo de glucagón

5 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal  
<400> 149

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

15 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

20 <210> 150  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> análogo de glucagón

25 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

30 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (12)..(16)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
35 16  
<400> 150

40 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

45 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

50 <210> 151  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial  
<220>  
<223> análogo de glucagón

55 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

60 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (16)..(20)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
65 20  
<400> 151

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu



ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 10 <400> 154  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
 <210> 155  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 <400> 155  
 40 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 50 <210> 156  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 <400> 156

ES 2 579 502 T3

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

5 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10 <210> 157  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> análogo de glucagón

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 157

35 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45 <210> 158  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> análogo de glucagón

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 158

ES 2 579 502 T3

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

5 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10 <210> 159  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> análogo de glucagón

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 159

35 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45 <210> 160  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> análogo de glucagón

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 160

ES 2 579 502 T3

Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 5 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 161  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 15 <223> análogo de glucagón  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 20 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 25 <223> (Des-amino)His  
 <400> 161  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 30 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 35  
 <210> 162  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 40 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 60 <400> 162  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 65 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5 <210> 163  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 30 <400> 163  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 35 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 40 <210> 164  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 65 <400> 164  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5 <210> 165  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
  
 30 <400> 165  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
  
 35 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 40 <210> 166  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
  
 60 <400> 166  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 65 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 65 <210> 167  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón  
 5  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 20  
 <400> 167  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 25  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 30  
 <210> 168  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 55  
 <400> 168  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 60  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 65  
 <210> 169  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

5

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

15

<400> 169  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

20

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

25

<210> 170  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30

<220>  
 <223> análogo de glucagón

35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

50

<400> 170  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

55

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

60

<210> 171  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65

<220>  
 <223> análogo de glucagón

<220>

<221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 15 <400> 171  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 20 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
  
 25 <210> 172  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 30 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 <400> 172  
  
 45 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 50 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 55 <210> 173  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 60 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)

ES 2 579 502 T3

<223> Ácido aminoisobutírico  
 <400> 173  
 5 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 10 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 174  
 <211> 29  
 15 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 30  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 35 20  
 <400> 174  
 40 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 175  
 <211> 29  
 50 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 65  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)

ES 2 579 502 T3

<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 175

5 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

10 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 176  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> análogo de glucagón

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Ácido aminoisobutírico

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (12)..(16)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 176

40 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

45 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 177  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> análogo de glucagón

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Ácido aminoisobutírico

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (16)..(20)

ES 2 579 502 T3

<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 177

5 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
1 5 10 15

10 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 178  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> análogo de glucagón

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Ácido aminoisobutírico

<400> 178

35 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

40

<210> 179  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> análogo de glucagón

50

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

55

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Ácido aminoisobutírico

60

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (16)..(20)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

65

<400> 179

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu

ES 2 579 502 T3

1 5 10 15

5 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 180  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

15

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

25

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 30 16

<400> 180

35 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 181  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

50

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

60

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 65 16

<400> 181

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu

ES 2 579 502 T3

```

1           5           10           15
5 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
    20           25
<210> 182
<211> 29
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> análogo de glucagón
15
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Amidación C-terminal
20
<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Ácido aminoisobutírico
25
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(20)
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y
30 20
<400> 182
35 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys
    1           5           10           15
Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
40           20           25
<210> 183
<211> 29
<212> PRT
45 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> análogo de glucagón
50
<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Amidación C-terminal
55
<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Ácido aminoisobutírico
60 <400> 183
His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
1           5           10           15
65 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr
    20           25

```

<210> 184  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 25  
 <400> 184  
  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 30  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 35  
 <210> 185  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 60  
 <400> 185  
  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 65  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5 <210> 186  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 20 <400> 186  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 25 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
  
 30 <210> 187  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 35 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 55 <400> 187  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 60 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
  
 65 <210> 188  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> análogo de glucagón

5 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

10 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Ácido aminoisobutírico

15 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (16)..(20)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

20 <400> 188  
His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

25 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
20 25

30 <210> 189  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> análogo de glucagón

40 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

45 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> D-Ala  
<400> 189

50 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

55 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

60 <210> 190  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

65 <220>  
<223> análogo de glucagón

<220>  
<221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 <400> 190  
 10 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 15 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 191  
 <211> 29  
 20 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 40 20  
 <400> 191  
 45 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 50 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 192  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 <400> 192  
  
 10 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
    1                  5                  10                  15  
  
 15 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                  25  
  
 <210> 193  
 <211> 29  
 20 <212> PRT  
    <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 25  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 40  
 <400> 193  
  
 45 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
    1                  5                  10                  15  
  
 50 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                  25  
  
 <210> 194  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 <400> 194  
 10 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 15 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 195  
 <211> 29  
 20 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 40 20  
 <400> 195  
 45 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 50 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 196  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 <400> 196  
  
 10 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
    1                  5                  10                  15  
  
 15 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                  25  
  
 <210> 197  
 <211> 29  
 20 <212> PRT  
    <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 25  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 40  
 <400> 197  
  
 45 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
    1                  5                  10                  15  
  
 50 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                  25  
  
 <210> 198  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 <400> 198  
  
 10 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
    1                  5                  10                  15  
  
 15 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
           20                  25  
  
 <210> 199  
 <211> 29  
 20 <212> PRT  
    <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 25  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 40  
 <400> 199  
  
 45 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
    1                  5                  10                  15  
  
 50 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
           20                  25  
  
 <210> 200  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65 <220>  
    <221> MOD\_RES  
    <222> (2)..(2)  
    <223> D-Ala

ES 2 579 502 T3

<400> 200

5 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 10 20 25

<210> 201  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16

35 <400> 201

40 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 45 20 25

<210> 202  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 50 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20

ES 2 579 502 T3

<400> 202

5 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10

<210> 203  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

30 <400> 203

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

35 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

40 <210> 204  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> análogo de glucagón

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16

65 <400> 204

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

5  
 <210> 205  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón

15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Amidación C-terminal

30 <400> 205

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

35  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

40  
 <210> 206  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón

50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 206

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

65  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 207

<211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 207  
 20 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 25 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 30 <210> 208  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 208  
 55 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 60 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 65 <210> 209  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón

ES 2 579 502 T3

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 209

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

25 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

30 <210> 210  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> análogo de glucagón

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 210

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

60 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

65 <210> 211  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

ES 2 579 502 T3

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 211

20 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

25 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

30 <210> 212  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> análogo de glucagón

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 212

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

60 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

65 <210> 213  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

ES 2 579 502 T3

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 213

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

25 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

30 <210> 214  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> análogo de glucagón

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 214

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

60 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

65 <210> 215  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 5 <223> Amidación C-terminal

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 10 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 15 <223> Cys-PEG

<400> 215

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

25 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 216  
 <211> 29  
 30 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón  
 35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 40

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 45 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 50 <223> Cys-PEG

<400> 216

55 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

60 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 217  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 65 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> análogo de glucagón

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 217

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

20 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

25 <210> 218  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> análogo de glucagón

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 218

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

55 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

60 <210> 219  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> análogo de glucagón

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 10 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 219  
 15 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 20 25  
  
 <210> 220  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 25 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 30  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 40 <400> 220  
  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
  
 50 <210> 221  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 55 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 65 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 5 <400> 221  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 10 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 15 20 25  
 <210> 222  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 40 <400> 222  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 45 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
 50 <210> 223  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 5 <400> 223  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 10 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 15 <210> 224  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 224  
 40 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 50 <210> 225  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)

ES 2 579 502 T3

<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 225  
 10 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 15 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 226  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 25 <223> análogo de glucagón  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 30 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 35 <223> (Des-amino)His  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 40 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 45 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 226  
 50 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 227  
 <211> 29  
 60 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 10 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 <220>  
 15 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 227  
 20 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 25 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 228  
 30 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 35 <223> análogo de glucagón  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 40 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 45 <223> (Des-amino)His  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 50 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 55 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 228  
 60 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 65 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 229

ES 2 579 502 T3

<211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 229  
 25 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 30 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 35 <210> 230  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 230  
 65 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr

	20	25
5	<210> 231 <211> 29 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> análogo de glucagón	
15	<220> <221> MISC_FEATURE <223> Amidación C-terminal; Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16	
20	<220> <221> MOD_RES <222> (1)..(1) <223> (Des-amino)His	
25	<220> <221> MOD_RES <222> (24)..(24) <223> Cys-PEG	
30	<400> 231 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu 1 5 10 15	
35	Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr 20 25	
40	<210> 232 <211> 29 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
45	<220> <223> análogo de glucagón	
50	<220> <221> MISC_FEATURE <223> Amidación C-terminal	
55	<220> <221> MOD_RES <222> (1)..(1) <223> (Des-amino)His	
60	<220> <221> MISC_FEATURE <222> (12)..(16) <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16	
65	<220> <221> MOD_RES <222> (24)..(24) <223> Cys-PEG	
	<400> 232	

ES 2 579 502 T3

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

5 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10 <210> 233  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> análogo de glucagón

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 233

40 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

45 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

50 <210> 234  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> análogo de glucagón

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)

ES 2 579 502 T3

<223> Cys-PEG  
 <400> 234  
 5 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 10 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 235  
 <211> 29  
 15 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 30  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 35 16  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 40  
 <400> 235  
 45 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 50 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 236  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 10 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 236  
 15 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 20 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 <210> 237  
 <211> 29  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
 30  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 40  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 45  
  
 <400> 237  
 50 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
  
 55 <210> 238  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60  
  
 <220>  
 <223> análogo de glucagón  
  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 5

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 10 16

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 15

<400> 238  
 20 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 25 20 25

<210> 239  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30

<220>  
 <223> análogo de glucagón  
 35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 50 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 55

<400> 239  
 60 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 65 20 25

<210> 240  
 <211> 29  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 5  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 20  
 <400> 240  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 25  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 30  
 <210> 241  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 55  
 <400> 241  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 60  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 65  
 <210> 242  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

25 <400> 242  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

30 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

35 <210> 243  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Péptido sintético

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

65 <400> 243  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

5  
<210> 244  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10  
<220>  
<223> Péptido sintético

15  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

20  
<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Ácido aminoisobutírico

25  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (12)..(16)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

30  
<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

35 <400> 244

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

40 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

45  
<210> 245  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

50  
<220>  
<223> Péptido sintético

55  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

60  
<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Ácido aminoisobutírico

65  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (16)..(20)  
<223> Lactam ring side chains at positions 16 y 20

<220>

ES 2 579 502 T3

<221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 5 <400> 245  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 10 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 15 <210> 246  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 246  
 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 50 <210> 247  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)

ES 2 579 502 T3

<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 247  
 10 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 15 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 248  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 25 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 30 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 35 <223> Ácido aminoisobutírico  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 40 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 45 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 248  
 50 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 249  
 <211> 29  
 60 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 10 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 <220>  
 15 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 249  
 20 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 25 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 250  
 30 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 35 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 40 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 45 <223> Ácido aminoisobutírico  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 50 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 55 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 250  
 60 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 65 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 251

<211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 251  
 25 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 30 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 35 <210> 252  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 40 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 45 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
  
 <400> 252  
 50 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 55 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 60 <210> 253  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 5 <223> Ácido aminoisobutírico

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 10 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 15 <223> Cys-PEG

<400> 253

20 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

25 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 254  
 <211> 29  
 30 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético  
 35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 45

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 50

<400> 254

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
 60

<210> 255  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65

<220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 15 16  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 20  
 <400> 255  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 25 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 30 20 25  
 <210> 256  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 55 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 60  
 <400> 256  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 65 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

5 <210> 257  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 257  
  
 30 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 35 <210> 258  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 40 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 60 <400> 258  
  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 65 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 259  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 30  
 <400> 259  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 35  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 40  
 <210> 260  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 260

ES 2 579 502 T3

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 5 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 10 <210> 261  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 20 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal; Anillo de lactama entre las cadenas laterales en  
 las posiciones 12 y 16  
 <220>  
 25 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 <220>  
 30 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 261  
 35 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 40 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 45 <210> 262  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 50 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 55 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 60 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 <220>  
 65 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 5 <400> 262  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 10 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 15 <210> 263  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 263  
 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 50 <210> 264  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 65  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)

<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 264  
 10 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 15 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 265  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 25 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 30 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 35 <223> D-Ala  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 40 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 45 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 265  
 50 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 266  
 <211> 29  
 60 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 10 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 <220>  
 15 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 266  
 20 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 25 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 267  
 30 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 35 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 40 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 45 <223> D-Ala  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 50 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 55 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 267  
 60 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 65 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 268

<211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 268  
 25 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 30 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 35 <210> 269  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 269  
 65 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr

20

25

5 <210> 270  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 270

35 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45 <210> 271  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Péptido sintético

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 271

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu



<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

5 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

10 <400> 273

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

15 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
20 25

20 <210> 274  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Péptido sintético

30 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

35 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

<400> 274

40 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

45

50 <210> 275  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

55 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

60 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

65 <400> 275

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

ES 2 579 502 T3

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 5                   20                                   25

<210> 276  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 10 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

30 <400> 276

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 35   1                   5                                   10                                   15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 40                   20                                   25

<210> 277  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 45 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

65 <400> 277

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

ES 2 579 502 T3

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 5  
 <210> 278  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 10 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 30  
 <400> 278  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 35  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 40  
 <210> 279  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 65  
 <400> 279  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 5                   20                   25

<210> 280  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 10 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

25 <400> 280

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

30 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr

35 <210> 281  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Péptido sintético

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

60 <400> 281

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

65 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr

                 20                   25

<210> 282  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 25  
 <400> 282  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 30  
 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 35  
 <210> 283  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 60  
 <400> 283  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 65  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 284  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 25  
 <400> 284  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 30  
 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 35  
 <210> 285  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 285  
 55  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 60  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 65  
 <210> 286  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>

<223> Péptido sintético

5 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

10 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (12)..(16)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

15 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

20 <400> 286  
His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

25 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

30 <210> 287  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético

40 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

45 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (16)..(20)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

50 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

55 <400> 287  
His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

60 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

65 <210> 288  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

5 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

10 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

<400> 288

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

20 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
20 25

25 <210> 289  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Péptido sintético

35 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

40 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (12)..(16)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

45 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

<400> 289

50 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

55 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
20 25

60 <210> 290  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

65 <220>  
<223> Péptido sintético

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 10 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 290  
 15 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 20 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
  
 <210> 291  
 <211> 29  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 40  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 45  
  
 <400> 291  
 50 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 55 <210> 292  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 10  
 <400> 292  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 293  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 50  
 <400> 293  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 60  
 <210> 294  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

20 <400> 294

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

25 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

30 <210> 295  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

60 <400> 295

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

65 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 296  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 30  
 <400> 296  
  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 35  
 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 40  
 <210> 297  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 65  
 <400> 297  
  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5  
 <210> 298  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

35 <400> 298

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

40 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45  
 <210> 299  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

65  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 5 <400> 299  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 10 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 15 20 25  
 <210> 300  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 45 <400> 300  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 50 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 55 <210> 301  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 15 <400> 301  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 20 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 25 <210> 302  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 50 <400> 302  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55 Gln Ala Ala Lys Gly Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 60 <210> 303  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

20 <400> 303  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

25 Gln Ala Ala Lys Gly Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

30 <210> 304  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

60 <400> 304  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

65 Gln Ala Ala Lys Gly Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 305  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (des-amino)His  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 305  
 25  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 30 Gln Ala Ala Lys Gly Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
 35  
 <210> 306  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 306  
 65  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15



ES 2 579 502 T3

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

5 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10 <210> 309  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 309

35 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45 <210> 310  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Péptido sintético

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)

ES 2 579 502 T3

<223> Cys-PEG  
 <400> 310  
 5 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 10 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 311  
 <211> 29  
 15 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 30  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 35 16  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 40  
 <400> 311  
 45 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 50 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 312  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 10 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 312  
 15 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 20 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 <210> 313  
 <211> 29  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 40  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 45  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 50  
  
 <400> 313  
 55 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
  
 60 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 <210> 314  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 65 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 314

20 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

25 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

30 <210> 315  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 315

60 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

65 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 316  
 <211> 29  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 5  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 20 16  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 25  
 <400> 316  
 30 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 35 20 25  
 <210> 317  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 adn  
 60 16  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 65  
 <400> 317  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu



ES 2 579 502 T3

<400> 319

5 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10

<210> 320  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

30

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16

35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

40

<400> 320

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

45

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

50

<210> 321  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55

<220>  
 <223> Péptido sintético

60

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en la posición 16 y 20  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 10  
 <400> 321  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 322  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 40  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 45  
 <400> 322  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 50  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
 55  
 <210> 323  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 65  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES

ES 2 579 502 T3

<222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 15 <400> 323  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 20 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
  
 25 <210> 324  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en la posición 16 y 20  
  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 324  
  
 55 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 60 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
  
 65 <210> 325  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>

<223> Péptido sintético

5 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

10 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> D-Ala

15 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

<400> 325

20 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

25 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

30 <210> 326  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

35 <220>  
<223> Péptido sintético

40 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

45 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> D-Ala

50 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

<400> 326

55 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

60 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

65 <210> 327  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 15 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 20  
 <400> 327  
 25 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 30 20 25  
 <210> 328  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 55 16  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 60  
 <400> 328  
 65 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5 <210> 329  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 329  
  
 35 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 40 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 45 <210> 330  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 50 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)

<223> Cys-PEG  
 <400> 330  
 5 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 10 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 331  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 35  
 <400> 331  
 40 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 45 <210> 332  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 5 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 332  
  
 10 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 15 20 25  
  
 <210> 333  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 40 16  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 45  
 <400> 333  
  
 50 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 55 20 25  
  
 <210> 334  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 5

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 10 16

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 15

<400> 334  
 20 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 25 20 25

<210> 335  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30

<220>  
 <223> Péptido sintético  
 35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 50 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 55

<400> 335  
 60 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 65 20 25

<210> 336  
 <211> 29  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 5  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 20  
 <400> 336  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 25  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 30  
 <210> 337  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 60  
 <400> 337  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 65  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5 <210> 338  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 30 <400> 338  
  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 35  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 40 <210> 339  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 65 <400> 339  
  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

5  
 <210> 340  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

35 <400> 340

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

45  
 <210> 341  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

65  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 5 <400> 341  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 10 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Val Lys Gly  
 15 20 25  
 <210> 342  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 35 <400> 342  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 40 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 45 <210> 343  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 343  
 65 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr

ES 2 579 502 T3

20 25

5 <210> 344  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG

<400> 344

25 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

30

35 <210> 345  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG

50 <400> 345

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15

55 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

60 <210> 346  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG

15 <400> 346

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15

20 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

25 <210> 347  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG

<400> 347

50 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15

55 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

60 <210> 348  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 10 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 348  
 15 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
  
 20 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 <210> 349  
 <211> 29  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 40  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 45  
  
 <400> 349  
 50 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
  
 55 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
  
 <210> 350  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 10  
 <400> 350  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 351  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 40  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 45  
 <400> 351  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 50 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 55 <210> 352  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
  
 10 <400> 352  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
  
 15 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
  
 20 <210> 353  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 25 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 353  
 45 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
  
 50 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
  
 55 <210> 354  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 60 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 5 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 354  
  
 10 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 15 20 25  
  
 <210> 355  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
  
 40 <400> 355  
  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
  
 45 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 50 <210> 356  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 55 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 65  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 5 <400> 356  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 10 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 15 <210> 357  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 357  
 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 45 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
 50 <210> 358  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 65  
 <400> 358  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys

ES 2 579 502 T3

1 5 10 15

5 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 359  
<211> 29  
10 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
15 <223> Péptido sintético

<220>  
20 <221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

<220>  
25 <221> MOD\_RES  
<222> (16)..(16)  
<223> Cys-PEG

<400> 359

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
1 5 10 15

30 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

35 <210> 360  
<211> 29  
<212> PRT  
40 <213> Secuencia artificial

<220>  
45 <223> Péptido sintético

<220>  
50 <221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

<220>  
55 <221> MOD\_RES  
<222> (16)..(16)  
<223> Cys-PEG

<400> 360

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
1 5 10 15

60 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

65 <210> 361  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG

<400> 361

15 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15

20 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

25 <210> 362  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG

<400> 362

50 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15

55 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

60 <210> 363  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 5 <223> (Des-amino)His  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 10 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 363  
  
 15 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 20 25  
  
 <210> 364  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 25 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 40  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 45 <400> 364  
  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 50  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 55 <210> 365  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 60 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65  
  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 10 <400> 365  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 15 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
 20 <210> 366  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 366  
 45 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 50 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 55 <210> 367  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)

<223> D-Ala  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 367  
 10 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 15 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 <210> 368  
 <211> 29  
 20 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 40  
 <400> 368  
 45 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 50  
 <210> 369  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 5 <400> 369  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25  
 15 <210> 370  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 40 <400> 370  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
 45 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 50 <210> 371  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 <220>  
 <221> MOD\_RES

ES 2 579 502 T3

<222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 371  
 5 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
  
 10 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 <210> 372  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 372  
 40 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 45  
  
 <210> 373  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Cys-PEG  
 65

<400> 373

5 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Cys  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly  
 20 25

10

<210> 374  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <400> 374

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

30 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

35 <210> 375  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Péptido sintético

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<400> 375

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

55 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

60 <210> 376  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

65

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 5 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 <400> 376  
 10 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 15 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20  
 <210> 377  
 20 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 25 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 30 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 35 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 <400> 377  
 40 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 <210> 378  
 50 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 55 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 60 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 65 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 <400> 378

ES 2 579 502 T3

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

5 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

10 <210> 379  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 379

30 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

35 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

40 <210> 380  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<400> 380

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

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

60 <210> 381  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal; Anillo de lactama entre las cadenas laterales en  
 5 las posiciones 16y 20  
 <400> 381  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 10 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 15 20 25  
 <210> 382  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 35 16  
 <400> 382  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 40 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 45 20 25  
 <210> 383  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 65 16  
 <400> 383  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 5  
 <210> 384  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 10 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 25  
 <400> 384  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 30  
 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 35  
 <210> 385  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <400> 385  
 50  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 60  
 <210> 386  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <220>

<221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

10 <400> 386  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

15 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

20 <210> 387  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Péptido sintético

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

40 <400> 387  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

45 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

50 <210> 388  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Péptido sintético

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

<400> 388

ES 2 579 502 T3

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

5 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

10 <210> 389  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

<400> 389

30 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

35 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

40 <210> 390  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20

<400> 390

65 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

5 <210> 391  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

30 <400> 391  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

35 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

40 <210> 392  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

50 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

55 <400> 392  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

60 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

65 <210> 393  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 15 20  
 <400> 393  
 20 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 25 20 25  
 <210> 394  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 40  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 45  
 <400> 394  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 50 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 55 <210> 395  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 65  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 10 <400> 395  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20  
 <210> 396  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 35 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 <220>  
 40 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 45 <400> 396  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 50 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 55 <210> 397  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 65 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>

<221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

10 <400> 397

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

20 <210> 398  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Péptido sintético

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

45 <400> 398

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

50 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

55 <210> 399  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60 <220>  
 <223> Péptido sintético

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<220>

<221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 5 <400> 399  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 10 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20  
 15 <210> 400  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 40 <400> 400  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 50 <210> 401  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE

ES 2 579 502 T3

<222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

5 <400> 401  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

10 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

15 <210> 402  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<400> 402

35 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

45 <210> 403  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Péptido sintético

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<400> 403

65 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

5 <210> 404  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
  
 30 <400> 404  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 35 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 40 <210> 405  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> ácido aminoisobutírico  
  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
  
 65 <400> 405  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

5 <210> 406  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 30 <400> 406  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 35 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 40 <210> 407  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 65 <400> 407  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

5 <210> 408  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 <400> 408  
  
 25 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 30 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 35 <210> 409  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 40 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
  
 60 <400> 409  
  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 65 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 <210> 410  
 <211> 29  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 5  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 20 16  
 <400> 410  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 25 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 30 20 25  
 <210> 411  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 55 16  
 <400> 411  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 60 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 65 20 25  
 <210> 412  
 <211> 29  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 5  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 <400> 412  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 25 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 30 20 25  
 <210> 413  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 50  
 <400> 413  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 55 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 60 20 25  
 <210> 414  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

15 <400> 414

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

20 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

25 <210> 415  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

50 <400> 415

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

55 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

60 <210> 416  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

10

<400> 416

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

15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

20

<210> 417  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25

<220>  
 <223> Péptido sintético

30

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

<400> 417

40

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

45

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

50

<210> 418  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55

<220>  
 <223> Péptido sintético

60

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)

ES 2 579 502 T3

<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 <400> 418  
 5 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 10 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20  
 <210> 419  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 20 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 25 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 30 <223> D-Ala  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 35 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
 <400> 419  
 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 <210> 420  
 <211> 29  
 50 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 65  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)

ES 2 579 502 T3

<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

5 <400> 420  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

10 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

15 <210> 421  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 421

40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

45 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

50 <210> 422  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Péptido sintético

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

<400> 422  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu

ES 2 579 502 T3

```

1             5             10             15
5 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr
      20             25
<210> 423
<211> 29
10 <212> PRT
    <213> Secuencia artificial
    <220>
    <223> Péptido sintético
15
    <220>
    <221> MISC_FEATURE
    <223> Amidación C-terminal
20
    <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (2)..(2)
    <223> D-Ala
25
    <220>
    <221> MISC_FEATURE
    <222> (16)..(20)
    <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y
30 20
    <400> 423
35 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
      1             5             10             15
40 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr
      20             25
<210> 424
<211> 29
45 <212> PRT
    <213> Secuencia artificial
    <220>
    <223> Péptido sintético
50
    <220>
    <221> MISC_FEATURE
    <223> Amidación C-terminal
55
    <220>
    <221> MOD_RES
    <222> (2)..(2)
    <223> D-Ala
60
    <220>
    <221> MISC_FEATURE
    <222> (12)..(16)
    <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y
65 16
    <400> 424
His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu

```



ES 2 579 502 T3

1 5 10 15

5 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
20 25

10 <210> 427  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

20 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

25 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> D-Ala

<400> 427

30 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

35 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
20 25

40 <210> 428  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

45 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

50 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> D-Ala

55 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (12)..(16)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

60 <400> 428

65 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
20 25

<210> 429  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
  
 25  
 <400> 429  
  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 30  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 35  
 <210> 430  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 <400> 430  
 50  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 55  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 60  
 <210> 431  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 65 <223> Péptido sintético  
  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 <400> 431  
 5 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 10 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 <210> 432  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 25  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 30 20  
  
 <400> 432  
 35 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 40 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 <210> 433  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 50  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 55  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 60 16  
  
 <400> 433  
 65 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr

ES 2 579 502 T3

20 25

5 <210> 434  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 434

25 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

30 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

35 <210> 435  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Péptido sintético

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 435

55 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

60 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

65 <210> 436  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 5 <223> Amidación C-terminal  
  
 <400> 436  
  
 10 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 15 20 25  
  
 <210> 437  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
  
 35 <400> 437  
  
 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 40 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 45 <210> 438  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 50 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
  
 <400> 438  
  
 65 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

5  
 <210> 439  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

25  
 <400> 439

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

30  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

35  
 <210> 440  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

55  
 <400> 440

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

60  
 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

65  
 <210> 441  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<400> 441

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

15 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

20 <210> 442  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25 <220>  
 <223> Péptido sintético

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 442

40 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

45 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

50 <210> 443  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Péptido sintético

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 443

ES 2 579 502 T3

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

5 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

10 <210> 444  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

<400> 444

Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 30 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 35 20 25

40 <210> 445  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

55 <400> 445

Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 60 1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

65 <210> 446  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

5

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

15

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

20

<400> 446

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

25

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
                   20                    25

30

<210> 447  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35

<220>  
 <223> Péptido sintético

40

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

50

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

55

<400> 447

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

60

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
                   20                    25

65

<210> 448  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

20 <400> 448  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

25 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

30 <210> 449  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

55 <400> 449  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

60 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

65 <210> 450  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

<400> 450

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

20 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

25 <210> 451  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20

<400> 451

50 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

55 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

60 <210> 452  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 10 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 <400> 452  
 15 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 20 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 <210> 453  
 25 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 30 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 35 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 40 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 45 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 <400> 453  
 50 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 <210> 454  
 60 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 65 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 10 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 <400> 454  
 15 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
  
 20 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 <210> 455  
 25 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 30 <223> Péptido sintético  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 35 <223> Amidación C-terminal  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 40 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
  
 <400> 455  
 45 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 50  
  
 <210> 456  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 <400> 456  
  
 10 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 15 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 <210> 457  
 <211> 29  
 20 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> (Des-amino)His  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 40  
 <400> 457  
  
 45 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 50 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 <210> 458  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<400> 458

5 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

10

<210> 459  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

30 <400> 459

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

35 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

40

<210> 460  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45

<220>  
 <223> Péptido sintético

50

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

60

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20

65 <400> 460

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

5  
 <210> 461  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

30 <400> 461

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

35 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

40 <210> 462  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

65 <400> 462

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

5  
 <210> 463  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

30 <400> 463

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

35 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

40 <210> 464  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<400> 464

60 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

65 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

<210> 465

<211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
  
 25 <400> 465  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 30 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 35 <210> 466  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 40 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
  
 60 <400> 466  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 65 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 <210> 467

<211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 25 <400> 467  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 30 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 35 <210> 468  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 60 <400> 468  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 65 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 <210> 469

<211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 <400> 469  
 20 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 25 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 30 <210> 470  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 35 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y  
 16  
  
 <400> 470  
 55 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 60 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
  
 65 <210> 471  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 471

20 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

25 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

30 <210> 472  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

<400> 472

50 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

55 <210> 473  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60 <220>  
 <223> Péptido sintético

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 5 <400> 473  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 15 <210> 474  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 40 <400> 474  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 50 <210> 475  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 5  
 <400> 475  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 10  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 15  
 <210> 476  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16  
 40  
 <400> 476  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 50  
 <210> 477  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 <220>

<221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 5 <400> 477  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 15 <210> 478  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 <400> 478  
 35 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 40 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 45 <210> 479  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 <400> 479

ES 2 579 502 T3

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

5 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

10 <210> 480  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

35 <400> 480

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

45 <210> 481  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Péptido sintético

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 481

ES 2 579 502 T3

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

5 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

10 <210> 482  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20

35 <400> 482

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Lys  
 1 5 10 15

40 Arg Ala Ala Glu Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

45 <210> 483  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Péptido sintético

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

<400> 483

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 65 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr

20 25

5 <210> 484  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(16)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 12 y 16

<400> 484

30 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

35 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

40 <210> 485  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ala

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<400> 485

65 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asp Thr

20 25

5 <210> 486  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 486

30 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

35

40 <210> 487  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Cys-PEG

60 <400> 487

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

65 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Cys  
 20 25

<210> 488  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Cys-PEG  
  
 25 <400> 488  
  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 30 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
  
 35 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 40  
  
 40  
 <210> 489  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 45 <223> Péptido sintético  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 50 <223> Amidación C-terminal  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 55 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 60 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 65 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 489

ES 2 579 502 T3

1 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 5  
 5 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 10 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 40  
 15 <210> 490  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 490  
 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35  
 50 <210> 491  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 10 <223> Cys-PEG

<400> 491  
 15 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 25 35

<210> 492  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 30 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 492  
 50 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

55 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

60 <210> 493  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>

<221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 15 <400> 493  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 20 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Cys  
 20 25  
  
 25 <210> 494  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 494  
 50 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 55 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 40  
  
 60 <210> 495  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 15 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Cys-PEG  
 20  
 <400> 495  
 25 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 30 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 35 40  
 <210> 496  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 60  
 <400> 496  
 60 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 65 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

5 <210> 497  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Péptido sintético

15 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

20 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Ácido aminoisobutírico

25 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (16)..(20)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

30 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

35 <400> 497

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

40 Arg Ala Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
45 35

50 <210> 498  
<211> 30  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

60 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

65 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Ácido aminoisobutírico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)

<223> Cys-PEG  
 <400> 498  
 5 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 10 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr Ala  
 20 25 30  
 <210> 499  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 35  
 <400> 499  
 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Cys  
 20 25  
 45 <210> 500  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Cys-PEG

ES 2 579 502 T3

<400> 500

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

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

10 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 40

15 <210> 501  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Péptido sintético

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Cys-PEG

45 <400> 501

50 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

55 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 40

60 <210> 502  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 10 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 502  
 15 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 20 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 25 35  
 <210> 503  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 30 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 55 <400> 503  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 60 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 65 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

<210> 504  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 30  
 <400> 504  
  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 35  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 40  
 <210> 505  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético  
  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 20  
  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

ES 2 579 502 T3

<400> 505

5 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
10 20 25

<210> 506  
<211> 29  
<212> PRT  
15 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

20 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

25 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético

30 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético

35 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (16)..(20)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
40 20

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (29)..(29)  
<223> Cys-PEG

45 <400> 506

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
50 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Cys  
55 20 25

<210> 507  
<211> 40  
<212> PRT  
60 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

65 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético  
 5

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 10 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Cys-PEG  
 15

<400> 507  
 20 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 25 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 30 35 40

<210> 508  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35

<220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético  
 45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 50 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Cys-PEG  
 55

<400> 508  
 60 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 65 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
35 40

5  
<210> 509  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10  
<220>  
<223> Péptido sintético

15  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

20  
<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético

25  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (16)..(20)  
<223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

30  
<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

35 <400> 509

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

40 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
20 25 30

45 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

50  
<210> 510  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

55  
<220>  
<223> Péptido sintético

60  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

65  
<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético

<220>  
<221> misc\_feature

ES 2 579 502 T3

<222> (2)..(2)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

15 <400> 510  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

20 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

25 <210> 511  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

55 <400> 511  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

60 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

65 <210> 512  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Cys-PEG

25 <400> 512  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

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

35 <210> 513  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Péptido sintético

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

65 <400> 513  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

5 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

10 <210> 514  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

35 <400> 514  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45 <210> 515  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 515

55 Gly Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 1 5 10

60 <210> 516  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MOD\_RES

<222> (12)..(12)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 516  
 5 Gly Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 1 5 10  
 <210> 517  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 20 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 25 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 30 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 35 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 517  
 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 518  
 50 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 55 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 60 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 65 <223> Cys-PEG  
 <400> 518

ES 2 579 502 T3

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

5 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10 <210> 519  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 519

35 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45 <210> 520  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Péptido sintético

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Cys-PEG

<400> 520

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

5 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Cys  
                   20                                  25  
 <210> 521  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 10 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 20 <400> 521  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1                  5                                  10                                  15  
 25 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Gly Pro Ser  
                   20                                  25                                  30  
 30 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                   35  
 35 <210> 522  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 40 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 45 <223> Amidación C-terminal  
 <400> 522  
 50 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1                  5                                  10                                  15  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
                   20                                  25                                  30  
 55 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
                   35  
 60 <210> 523  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 5 <400> 523  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Lys Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 15 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35  
 20 <210> 524  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <400> 524  
 35 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 40 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Val Lys Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35  
 45 <210> 525  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 60 <400> 525  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 65 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

5  
<210> 526  
<211> 39  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10  
<220>  
<223> Péptido sintético

15  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

20  
<400> 526

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

25 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Gly Gly Pro Ser  
20 25 30

30 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
35

35  
<210> 527  
<211> 30  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

40  
<220>  
<223> Péptido sintético

45  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

50  
<400> 527

50 His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly  
1 5 10 15

55 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly  
20 25 30

60  
<210> 528  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

65  
<220>  
<223> Péptido sintético

65  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 5

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales en las posiciones 16 y  
 10 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 15

<400> 528  
 20 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 25 20 25

<210> 529  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30

<220>  
 <223> Péptido sintético  
 35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético  
 45

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 50

<400> 529  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

55 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

60 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

65 <210> 530  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Ácido alfa, alfa-dimetil imidazol acético

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 530

20 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

25 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

30 <210> 531  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Cys-PEG

<400> 531

60 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

65 Arg Arg Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys  
 35 40

5 <210> 532  
 <211> 41  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (40)..(40)  
 <223> Cys-PEG  
  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (41)..(41)  
 <223> Cys-PEG  
  
 35 <400> 532  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30  
  
 40 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Cys Cys  
 35 40  
  
 45 <210> 533  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 50 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Amidación C-terminal

ES 2 579 502 T3

<400> 533

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

5

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

10

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

15

<210> 534  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20

<220>  
 <223> Péptido sintético

25

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Quimera 2 AIB2 K10-C8 Cys 24-40K

30

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con ácido graso C8

45

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 534

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

50

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

55

<210> 535  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60

<220>  
 <223> Péptido sintético

65

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Quimera 2 AIB2 K10-C14 Cys 24-40K

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con ácido graso C14  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 20  
 <400> 535  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 25  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 30  
 <210> 536  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Quimera 2 AIB2 K10-C16 Cys24-40K  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con ácido graso C16  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 <400> 536  
 65 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5 <210> 537  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Quimera 2 AIB2 K10-C18 Cys24-40K

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con ácido graso C18

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

<400> 537

40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45

50 <210> 538  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Quimera 2 K10-C18 Cys24-40K

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con ácido graso C18

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 5 <400> 538  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 10 1 5 10 15  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 15 20 25  
 <210> 539  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagon E16 K20 K10-C18 Cys24-40K  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con ácido graso C18  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 40 <400> 539  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 50 <210> 540  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagon E16 K20 K10-W-C18  
 65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)

ES 2 579 502 T3

<223> Unida covalentemente a residuo de Trp que comprende un ácido graso C18

<400> 540

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

10 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 541

<211> 29

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Péptido sintético

<220>

<221> MISC\_FEATURE

25 <223> Glucagon E16 K20 K10-W-C16 Cys24-40K

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (10)..(10)

30 <223> Unida covalentemente a residuo de Trp que comprende un ácido graso C16

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (24)..(24)

35 <223> Cys-PEG

<400> 541

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

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 542

<211> 29

50 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

55 <223> Péptido sintético

<220>

<221> MISC\_FEATURE

60 <223> Glucagon E16 K20 K10-C16

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (10)..(10)

65 <223> Unida covalentemente a un ácido graso C16

<400> 542

ES 2 579 502 T3

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 5 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 10 <210> 543  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagon E16 K20 K10-C16  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a residuo de Trp que comprende un ácido graso C16  
 <400> 543  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 35 1 5 10 15  
 40 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 45 <210> 544  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagon E16 K20 K10-C18  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a un ácido graso C18  
 <400> 544  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5  
 <210> 545  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagon E16 K20

20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<400> 545

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

30 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

35  
 <210> 546  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagon E16 K20 K10-w-C16 Cys 24-40K

50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a residuo de Trp que comprende un ácido graso C16

55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

60 <400> 546

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

65 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

ES 2 579 502 T3

5 <210> 547  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagon E16 K20 K10-C18 Cys24-40K  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a un ácido graso C18  
  
 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 30 <400> 547  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 35 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 40 <210> 548  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagon E16 K20 K10-C18 Cys24-40K  
  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a residuo de Trp que comprende un ácido graso C18  
  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
  
 <400> 548  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu

ES 2 579 502 T3

1 5 10 15

5 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 549  
<211> 29  
10 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
15 <223> Péptido sintético

<220>  
20 <221> MISC\_FEATURE  
<223> Glucagon E16 K20 K10-C16 amida

<220>  
25 <221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

<220>  
30 <221> MOD\_RES  
<222> (10)..(10)  
<223> Unida covalentemente a residuo de Glu que comprende un ácido graso C16

<220>  
35 <221> MOD\_RES  
<222> (24)..(24)  
<223> Cys-PEG

<400> 549

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

40 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

45 <210> 550  
<211> 28  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
<223> Péptido sintético

<220>  
55 <221> MISC\_FEATURE  
<223> Quimera 2 truncada por un aminoácido

<400> 550

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

65 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn  
20 25

<210> 551

<211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <220>  
 10 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Quimera 2 truncada por dos aminoácidos  
  
 <400> 551  
 15 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met  
 20 20 25  
  
 <210> 552  
 <211> 28  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> aa 1-28, E16 K20 C-terminal amida  
 35  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 40 <400> 552  
  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 45  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn  
 20 25  
  
 50 <210> 553  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 55 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 <220>  
 60 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> aa 1-27 E16 K20 C-terminal amida  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 65 <223> Amidación C-terminal  
  
 <400> 553

ES 2 579 502 T3

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

5 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Lys Met  
 20 25

10 <210> 554  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Norleucina

<400> 554

30 His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

35 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Xaa Asn Thr  
 20 25

40 <210> 555  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Péptido sintético

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> mt-138

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama de las cadenas laterales en las posiciones 16 y 20

60 <400> 555

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

65 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Val Asn Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser  
 20 25 30

70 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35

<210> 556  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Quimera 2 con AIB en 16  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 <400> 556  
 25 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 30 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 35  
 <210> 557  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 60  
 <400> 557  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 65  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 65  
 <210> 558  
 <211> 29  
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 5  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a un residuo Trp que comprende un ácido graso C16  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG  
 30  
 <400> 558  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 35  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 40  
 <210> 559  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido Aminoisobutírico  
 60  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a un residuo Trp que comprende un ácido graso C16  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido Aminoisobutírico

ES 2 579 502 T3

<400> 559

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

5

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10

<210> 560  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> Péptido sintético

20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

30

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a un residuo Trp que comprende un ácido graso C16

35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

45

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Cys-PEG

50

<400> 560  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

55

Arg Arg Ala Xaa Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

60

<210> 561  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65

<220>  
 <223> Péptido sintético

<220>

<221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a un residuo Trp que comprende un ácido graso C16  
  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (20)..(20)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 25 <400> 561  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 30 Arg Arg Ala Xaa Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 35 <210> 562  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 40 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 <400> 562  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 60 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 65 20 25  
  
 <210> 563  
 <211> 29

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 5 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido 50  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un Grupo acilo graso C16  
  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 <400> 563  
  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 35  
  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 40  
  
 <210> 564  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido 82  
  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador Ala-Ala  
  
 <220>

ES 2 579 502 T3

<221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 5 <400> 564  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 10 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
 15 <210> 565  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido 83  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un Grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-  
 Glu-gamma-Glu  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 <400> 565  
 50 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 55 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 60 <210> 566  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<223> Péptido 84  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 5 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 10 <223> Ácido aminoisobutírico  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 15 <223> Acilado con un Grupo acilo graso C16 a través de un espaciador beta-Ala-beta-Ala  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 20 <223> Ácido aminoisobutírico  
 <400> 566  
 25 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 30 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 <210> 567  
 <211> 29  
 35 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido 85  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un Grupo acilo graso C16 a través de un espaciador ácido  
 60 6-aminohexanoico  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 65  
 <400> 567  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa

ES 2 579 502 T3

	1		5		10		15
--	---	--	---	--	----	--	----

5 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

10 <210> 568  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

20 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Péptido 86

25 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

30 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Ácido aminoisobutírico

35 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (10)..(10)  
<223> Acilado con un Grupo acilo graso C16 a través de un espaciador Leu-Leu

40 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (16)..(16)  
<223> Ácido aminoisobutírico

40 <400> 568

His	Xaa	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Lys	Ser	Lys	Tyr	Leu	Asp	Xaa
1				5					10					15	

45 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

50 <210> 569  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

55 <220>  
<223> Péptido sintético

60 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Péptido 87

65 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

<220>  
<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un Grupo acilo graso C16 a través de un espaciador Pro-Pro  
  
 10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 15 <400> 569  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 20 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 25 <210> 570  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 30 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido 77\*  
  
 40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C14  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Pegylated  
  
 65 <400> 570  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5 <210> 571  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Péptido sintético

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido 78\*

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C14 a través de un espaciador gamma-Glu-gamma-Glu

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Pegilado

<400> 571

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

50 <210> 572  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Péptido sintético

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido 78

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<220>

<221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

5

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C14 a través de un espaciador gamma-Glu-gamma-Glu

10

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

15

<400> 572

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

20

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

25

<210> 573  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30

<220>  
 <223> Péptido sintético

35

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido 81\*

40

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

50

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C14 a través de un espaciador Ala-Ala

55

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

60

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Pegilado

<400> 573

65

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

- 5 <210> 574  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>  
 <223> Péptido sintético
- 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido 81
- 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal
- 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico
- 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C14 a través de un espaciador Ala-Ala
- 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico
- <400> 574
- 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

- 45
- 50 <210> 575  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial
- <220>  
 <223> Péptido sintético
- 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido 79\*
- 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal
- 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador Ala-Ala  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Pegilado  
 15  
 <400> 575  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 20  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 25  
 <210> 576  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido 80\*  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-  
 Glu-gamma-Glu  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Pegilado  
 65  
 <400> 576  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5  
 <210> 577  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> gamma-Glu-gamma-Glu C16 Glucagon Amida

20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16

<400> 577

30 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

35 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

40  
 <210> 578  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45  
 <220>  
 <223> Péptido sintético

50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

55  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> gamma-Glu-gamma-Glu-C16 Glucagon Amida

60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-Glu-gamma-Glu

65  
 <400> 578

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

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

5 <210> 579  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> AA-C16 Glucagon Amida  
  
 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un Grupo acilo graso C16 a través de un espaciador Ala-Ala  
  
 30 <400> 579  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
  
 35 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 40 <210> 580  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Quimera 2, AIB2, Lys10, Cys24-PEG  
  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Pegilado  
  
 <400> 580  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr

	20	25
5	<210> 581 <211> 30 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Péptido sintético	
15	<220> <221> MISC_FEATURE <223> Péptido dS2E16K20K30-C14 Gluc Amida	
20	<220> <221> MISC_FEATURE <223> Amidación C-terminal	
25	<220> <221> MOD_RES <222> (2)..(2) <223> D-Ser	
30	<220> <221> MOD_RES <222> (30)..(30) <223> Acilado con un grupo acilo graso C14	
35	<400> 581 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu 1 5 10 15	
40	Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys 20 25 30	
45	<210> 582 <211> 29 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
50	<220> <223> Péptido sintético	
55	<220> <221> MISC_FEATURE <223> Péptido dS2K10(C14)E16K20-Gluc Amida	
60	<220> <221> MISC_FEATURE <223> Amidación C-terminal	
65	<220> <221> MOD_RES <222> (2)..(2) <223> D-Ser	
	<220> <221> MOD_RES <222> (10)..(10) <223> Acilado con un grupo acilo graso C14	
	<400> 582	

ES 2 579 502 T3

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 5 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 10 <210> 583  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 20 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido ds2E16K20K30-C16 Gluc Amida  
 <220>  
 25 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 30 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ser  
 <220>  
 35 <221> MOD\_RES  
 <222> (30)..(30)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16  
 <400> 583  
 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys  
 20 25 30  
 45 <210> 584  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 50 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido ds2K10(C16)E16K20-Gluc Amida  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 <220>  
 65 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ser

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16  
 5  
 <400> 584  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 15  
 <210> 585  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido Quimera 2-AIB2-K10-acylated  
 30  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 40  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C18  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Pegilado  
 <400> 585  
 50 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 55 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 60  
 <210> 586  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<223> Péptido Quimera 2-AIB2-K30-acilado

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 5 <223> Amidación C-terminal

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 10 <223> Ácido aminoisobutírico

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 15 <223> Pegilado

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (30)..(30)  
 20 <223> Acilado con un grupo acilo graso C18

<400> 586

25 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr Lys  
 20 25 30

30

<210> 587  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

40

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> DMIA

50 <400> 587

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

55 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

60 <210> 588  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> DMIA

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las  
 posiciones 16 y 20

15 <400> 588

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

20 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

25 <210> 589  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

45 <400> 589

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

50 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

55 <210> 590  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60 <220>  
 <223> Péptido sintético

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<220>  
 <221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Pegilado  
  
 10 <400> 590  
 His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
  
 15 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20  
  
 20 <210> 591  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 25 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido J  
  
 35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa es un análogo de glutamina  
  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa es Norleucina  
  
 <400> 591  
  
 45 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Thr  
 1 5 10 15  
  
 50 Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
 20 25  
  
 55 <210> 592  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Péptido K  
  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa es a Glutamine analog

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 5 <223> Xaa es Aib  
  
 <400> 592  
  
 10 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Ala Asp Phe val Ala Trp Leu Met Asp Glu  
 15 20 25  
  
 <210> 593  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa es Norleucina  
 30  
 <400> 593  
  
 35 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Thr  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Ala Glu Phe val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
 40 20 25  
  
 <210> 594  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa es Acetamidometil-cisteína  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa es Norleucina  
  
 60 <400> 594  
  
 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Thr  
 1 5 10 15  
  
 65 Arg Arg Ala Ala Glu Phe val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
 20 25

5 <210> 595  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa es ácido Acetildiaminobutanoico  
 15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa es Norleucina  
 20 <400> 595  
 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Thr  
 1 5 10 15  
 25 Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
 20 25  
 30 <210> 596  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa es ácido carbamoildiaminopropanoico  
 45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa es Norleucina  
 50 <400> 596  
 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Thr  
 1 5 10 15  
 55 Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
 20 25  
 60 <210> 597  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65 <220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa es Metilglutamina  
 5

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa es Norleucina  
 10

<400> 597  
 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Thr  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
 20 25

<210> 598  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25

<220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa es Metionina sulfóxido  
 30

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa es Norleucina  
 35

<400> 598  
 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Thr  
 1 5 10 15

<45>  
 Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
 20 25

<210> 599  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50

<220>  
 <223> Péptido sintético  
 55

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Acetilornitina  
 60

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa es Norleucina  
 65

<400> 599

5 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Thr  
1 5 10 15

Arg Arg Ala Ala Glu Phe Val Ala Trp Leu Xaa Asp Glu  
20 25

10 <210> 600  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Péptido sintético

20 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (16)..(16)  
<223> Xaa es Ácido aminoisobutírico

25 <400> 600

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
1 5 10 15

30 Arg Arg Ala Ala Asp Phe Val Ala Trp Leu Met Asp Glu  
20 25

35 <210> 601  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Péptido sintético

45 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(3)  
<223> Xaa es ácido Acetildiaminobutanoico

50 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (16)..(16)  
<223> Xaa es Ácido aminoisobutírico

55 <400> 601

His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
1 5 10 15

60 Arg Arg Ala Ala Asp Phe Val Ala Trp Leu Met Asp Glu  
20 25

65 <210> 602  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa es Metilglutamina

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa es Ácido aminoisobutírico

15 <400> 602  
 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

20 Arg Arg Ala Ala Asp Phe Val Ala Trp Leu Met Asp Glu  
 20 25

25 <210> 603  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa es ácido Acetildiaminobutanoico

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa es Ácido aminoisobutírico

45 <400> 603  
 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

50 Arg Arg Ala Ala Asp Phe Val Ala Trp Leu Leu Asp Glu  
 20 25

55 <210> 604  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60 <220>  
 <223> Péptido sintético

65 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<220>  
 <221> MOD\_RES

<222> (3)..(3)  
 <223> Xaa es ácido Acetildiaminobutanoico  
  
 <220>  
 5 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa es Ácido aminoisobutírico  
  
 <400> 604  
 10 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 15 Arg Arg Ala Ala Asp Phe Val Ala Trp Leu Leu Asp Thr Gly Pro Ser  
 20 25 30  
  
 20 Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser  
 35  
  
 <210> 605  
 <211> 29  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 30  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 35 <223> Xaa es ácido Acetildiaminobutanoico  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 40 <223> Xaa es Ácido aminoisobutírico  
  
 <400> 605  
 45 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Ala Ser Asp Phe Val Ser Trp Leu Leu Asp Glu  
 50 20 25  
  
 <210> 606  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 60  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa es ácido Acetildiaminobutanoico  
 65  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)

ES 2 579 502 T3

<223> Xaa es Ácido aminoisobutírico  
 <400> 606

5 His Ser Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

10 Arg Arg Ala Thr Asp Phe Val Thr Trp Leu Leu Asp Glu  
 20 25

<210> 607  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa es Dmia

30

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a un grupo acilo graso C14

35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las  
 posiciones 16 y 20

40

<400> 607

45 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

50 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 608  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55

<220>  
 <223> Péptido sintético

60

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

65

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> DMIA

ES 2 579 502 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 5 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C16

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(20)  
 10 <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las  
 posiciones 16 y 20

<400> 608

15 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

20 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 609  
 <211> 29  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético  
 30

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> DMIA  
 40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C18  
 45

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las  
 50 posiciones 16 y 20

<400> 609

55 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

60 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 610  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 65 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C14

20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<400> 610

25 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

30 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

35 <210> 611  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Péptido sintético

45 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C16

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

<400> 611

65 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 612  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C18  
  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 30 <400> 612  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 35 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 40 <210> 613  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ser  
  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C14  
  
 <400> 613  
  
 65 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15



5 <210> 616  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 10 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 20 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a un grupo acilo graso C14  
  
 30 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 <400> 616  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 35 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 40 <210> 617  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 45 <220>  
 <223> Péptido sintético  
  
 50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
  
 55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
  
 60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C14 a través de un espaciador  
 gamma-Glu-gamma-Glu  
  
 65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico

ES 2 579 502 T3

<400> 617

5 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

10

<210> 618

<211> 29

<212> PRT

15 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

20

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal

25

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Ácido aminoisobutírico

30

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (10)..(10)

<223> Unida covalentemente a un grupo acilo graso C14 a través de un

espaciador Ala-Ala

35

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (16)..(16)

<223> Ácido aminoisobutírico

40

<400> 618

45 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

50

<210> 619

<211> 29

<212> PRT

55 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

60

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<223> Amidación C-terminal

65

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (2)..(2)

<223> Ácido aminoisobutírico

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C16 a través de un espaciador  
 5 gamma-Glu-gamma-Glu

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 10 <223> Ácido aminoisobutírico

<400> 619  
 15 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 20 25

<210> 620  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 25 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético  
 30

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 40

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C16 a través de un espaciador  
 45 Ala-Ala

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 50

<400> 620  
 55 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 60 20 25

<210> 621  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 65

<220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C16  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 20  
 <400> 621  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 25  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 30  
 <210> 622  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C16  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Ácido aminoisobutírico  
 60  
 <400> 622  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 65  
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr Lys  
 20 25 30

<210> 623  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> beta-Ala-beta-Ala - C16 Glucagon Amida  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador beta-Ala-beta-Ala  
 25  
 <400> 623  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 30 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 35  
 <210> 624  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 45  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Quimera-2 Aib2C24Mal40KPEG  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa es Aib  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Unida covalentemente a PEG de 40kDa a través de tioéter producido mediante la reacción de péptido con un PEG activado con maleimida  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> AMIDACIÓN  
 <400> 624  
 65 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

ES 2 579 502 T3

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                                  25

- 5 <210> 625  
    <211> 29  
    <212> PRT  
    <213> Secuencia artificial
- 10 <220>  
     <223> Péptido sintético
- 15 <220>  
     <221> MISC\_FEATURE  
     <223> Quimera-2 Aib2E16K20lactamC24Ma140KPEG
- 20 <220>  
     <221> MOD\_RES  
     <222> (2)..(2)  
     <223> Xaa es Aib
- 25 <220>  
     <221> MISC\_FEATURE  
     <222> (16)..(20)  
     <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las  
           posiciones 16 y 20
- 30 <220>  
     <221> MOD\_RES  
     <222> (24)..(24)  
     <223> Unida covalentemente a PEG de 40kDa a través de tioéter producido  
           mediante la reacción de péptido con un PEG activado con maleimida
- 35 <220>  
     <221> MOD\_RES  
     <222> (29)..(29)  
     <223> AMIDACIÓN
- 40 <400> 625  
     His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
     1                          5                          10                          15
- 45 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
                   20                                  25
- 50 <210> 626  
    <211> 29  
    <212> PRT  
    <213> Secuencia artificial
- 55 <220>  
     <223> Péptido sintético
- 60 <220>  
     <221> MISC\_FEATURE  
     <223> Glucagón Aib2E16K20lactamC24amidaMa140KPEG
- 65 <220>  
     <221> MOD\_RES  
     <222> (2)..(2)  
     <223> Xaa es Aib
- <220>

<221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las  
 5 posiciones 16 y 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Unida covalentemente a PEG de 40kDa a través de tioéter producido  
 10 mediante la reacción de péptido con un PEG activado con maleimida  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 15 <223> AMIDACIÓN  
 <400> 626  
 20 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 25 20 25  
 <210> 627  
 <400> 627  
 30 000  
 <210> 628  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagon Dmia1E16K20lactamC24Ma140KPEG  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa es Dmia  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las  
 55 posiciones 16 y 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Unida covalentemente a PEG de 40kDa a través de tioéter producido  
 60 mediante la reacción de péptido con un PEG activado con maleimida  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 65 <223> AMIDACIÓN  
 <400> 628

ES 2 579 502 T3

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

5 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10 <210> 629  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido sintético

20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagon Dmia1E16K20lactamC24Ma140KPEG

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa es Dmia

30 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las  
 posiciones 16 y 20

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Unida covalentemente a PEG de 40kDa a través de tioéter producido  
 mediante la reacción de péptido con un PEG activado con maleimida

40 <400> 629

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

45 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

50 <210> 630  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> Péptido sintético

60 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagón Dmia1E16K20lactamC24thioether40KPEG

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa es Dmia

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<222> (16)..(20)  
 <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las posiciones 16 y 20

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Unida covalentemente a PEG de 40kDa a través de tioéter producido mediante la reacción de péptido con un PEG activado con maleimida

10 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> AMIDACIÓN

15 <400> 630

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

20 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

25 <210> 631  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Quimera2 Aib2E3C24-Thioether40K PEG(NOF)

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa es Aib

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Unida covalentemente a PEG de 40kDa a través de tioéter producido mediante la reacción de péptido con un PEG activado con maleimida

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> AMIDACIÓN

55 <400> 631

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

60 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

65 <210> 632  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético  
 5  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa es Dmia  
 10  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Unida covalentemente a PEG de 40kDa  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> AMIDACIÓN  
 20  
 <400> 632  
 Xaa Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 25  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
 30  
 <210> 633  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagón Aib2Aib16C24K10(rErE-C16) C24PEG40K amida  
 45  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa es Aib  
 50  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C14 a través de un espaciador  
 gamma-Glu-gamma-Glu  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa es Aib  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Unida covalentemente a PEG de 40kDa a través de tioéter producido  
 mediante la reacción de péptido con un PEG activado con haloacetilo  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)

ES 2 579 502 T3

<223> AMIDACIÓN  
 <400> 633

5 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

10 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 634  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagón Aib2Aib16K10(AA-C14)C24PEG40K TE amida

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa es Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a un grupo acilo graso C14 a través de un  
 espaciador Ala-Ala

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa es Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (24)..(24)  
 <223> Unida covalentemente a PEG de 40kDa a través de tioéter producido  
 mediante la reacción de péptido con un PEG activado con haloacetilo

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> AMIDACIÓN

<400> 634

55 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

60 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 635  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 5 <223> Glucagón Aib2Aib16K10(AA-C16) amida

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 10 <223> Xaa es Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 15 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C16 a través de un espaciador  
 Ala-Ala

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 20 <223> Xaa es Aib

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 25 <223> AMIDACIÓN

<400> 635

30 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15

35 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

<210> 636  
 <211> 29  
 40 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Péptido sintético  
 45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Glucagon Aib2Aib16K10(rErE-C16) amida  
 50

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa es Aib  
 55

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Unida covalentemente a grupo acilo graso C16 a través de un espaciador  
 60 gamma-Glu-gamma-Glu

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa es Aib  
 65

<220>  
 <221> MOD\_RES

ES 2 579 502 T3

<222> (29)..(29)  
 <223> AMIDACIÓN  
  
 <400> 636  
 5 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 10 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 <210> 637  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 20 <223> Péptido sintético  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 25 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa es Aib  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 30 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa es Aib  
  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 35 <222> (29)..(29)  
 <223> AMIDACIÓN  
  
 <400> 637  
 40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
  
 45 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25  
  
 <210> 638  
 <211> 20  
 50 <212> DNA  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Cebador sintético  
 55  
 <400> 638  
 caaggtccag ggaggttggtg 20  
  
 60 <210> 639  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Secuencia artificial  
  
 65 <220>  
 <223> Cebador sintético  
  
 <400> 639

ccaaaggtaa gctgtccata agga 24

5 <210> 640  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Cebador sintético

<400> 640  
 ctctccaag agtcacatgt cc 22

15 <210> 641  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Cebador sintético

25 <400> 641  
 caataactcg gtcccctaca ac 22

30 <210> 642  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 642

40 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25

45 <210> 643  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> Péptido sintético

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> D-Ser

65 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un Grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-Glu

ES 2 579 502 T3

<400> 643

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

10 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 644  
<211> 29  
<212> PRT  
15 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

20 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

25 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> D-Ser

30 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (10)..(10)  
<223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-  
35 Glu-gamma-Glu

<400> 644

40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

45 Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
20 25

<210> 645  
<211> 29  
<212> PRT  
50 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

55 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

60 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa es Aib

65 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (10)..(10)  
<223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-  
Glu

ES 2 579 502 T3

<400> 645

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

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
10 20 25

<210> 646  
<211> 29  
<212> PRT  
15 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

20 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

25 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa es Aib

30 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (10)..(10)  
<223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-  
35 Glu-gamma-Glu

<400> 646

40 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
45 20 25

<210> 647  
<211> 29  
<212> PRT  
50 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido sintético

55 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Amidación C-terminal

60 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa es Aib

65 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (10)..(10)  
<223> Acilado con un grupo acilo graso C16

ES 2 579 502 T3

<400> 647

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

5

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10

<210> 648  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> Péptido sintético

20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa es Aib

30

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-Glu-gamma-Glu

35

<400> 648

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45

<210> 649  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50

<220>  
 <223> Péptido sintético

55

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa es Aib

65

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-Glu

ES 2 579 502 T3

<400> 649

His Xaa Gln Gly Thr Phe Ile Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

5

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

10

<210> 650  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> Péptido sintético

20

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

25

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa es Aib

30

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-Glu-gamma-Glu

35

<400> 650

His Xaa Gln Gly Thr Phe Ile Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

40

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

45

<210> 651  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50

<220>  
 <223> Péptido sintético

55

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

60

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa es Dmia

65

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un Grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-Glu

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 5 <223> Anillo de lactama entre las cadenas laterals de los aminoácidos en las  
 posiciones 16 y 20  
 <400> 651  
 10 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 15 20 25  
 <210> 652  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 30  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa es Dmia  
 35  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-  
 40 Glu-gamma-Glu  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las  
 45 posiciones 16 y 20  
 <400> 652  
 50 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 55 20 25  
 <210> 653  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 60 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 65  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 5 <223> Xaa es Dmia

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 10 <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las posiciones 16 y 20

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 15 <222> (29)..(29)  
 <223> Acilado con un Grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-Glu

<400> 653  
 20 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

25 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Lys  
 20 25

30 <210> 654  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35 <220>  
 <223> Péptido sintético

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal

45 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa es Dmia

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (16)..(20)  
 <223> Anillo lactama entre las cadenas laterales de los aminoácidos en las posiciones 16 y 20

55 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Acilado con un Grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-Glu-gamma-Glu

60 <400> 654  
 Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

65 Arg Arg Ala Lys Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Lys  
 20 25

<210> 655  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 15  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa es Aib  
 20  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un Grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-  
 Glu-gamma-Glu  
 25  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa es Aib  
 30  
 <400> 655  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
 1 5 10 15  
 35  
 Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
 20 25  
 40  
 <210> 656  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45  
 <220>  
 <223> Péptido sintético  
 50  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Amidación C-terminal  
 55  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa es Aib  
 60  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Acilado con un grupo acilo graso C16 a través de un espaciador gamma-  
 Glu  
 65  
 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Xaa es Aib

ES 2 579 502 T3

<400> 656

His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Lys Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa  
1 5 10 15

5

Arg Ala Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asp Thr  
20 25

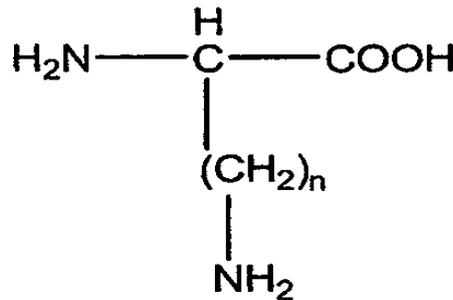
**REIVINDICACIONES**

1. Péptido similar a glucagón que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 con  
 5 (i) un aminoácido en la posición 10 que está acilado con un ácido graso C4 a C30 o está alquilado con un alquilo C4 a C30, y  
 (ii) un ácido aminoisobutírico (AIB) en la posición 16,  
 en el que dicho péptido similar a glucagón muestra una mayor actividad en el receptor de GLP-1 en comparación con el glucagón nativo,  
 10 en el que dicho péptido similar a glucagón comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 con hasta diez modificaciones de aminoácidos, opcionalmente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 modificaciones de aminoácidos.

2. Péptido similar a glucagón, según la reivindicación 1, que comprende una amida C-terminal.

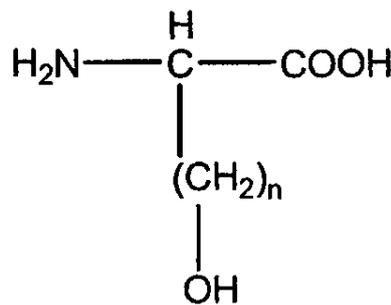
3. Péptido similar a glucagón, según la reivindicación 1 ó 2, que comprende una sustitución de aminoácido en la  
 15 posición 1, la posición 2, o las posiciones 1 y 2, en el que la sustitución o sustituciones de aminoácidos consiguen resistencia a la proteasa DPP-IV, opcionalmente, en el que la Ser en la posición 2 está sustituida por un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en: D-serina, alanina, D-alanina, valina, glicina, N-metil serina, N-metil alanina, y ácido aminoisobutírico, opcionalmente, en el que la His en la posición 1 está sustituida por un aminoácido  
 20 seleccionado del grupo que consiste en: D-histidina, ácido alfa,alfa-dimetil imidazol acético (DMIA), N-metil histidina, alfa-metil histidina, ácido imidazol acético, desaminohistidina, hidroxil-histidina, acetil-histidina y homo-histidina.

4. Péptido similar a glucagón, según las reivindicaciones 1 a 3, en el que el aminoácido en la posición 10 del péptido similar a glucagón es un aminoácido de fórmula I:



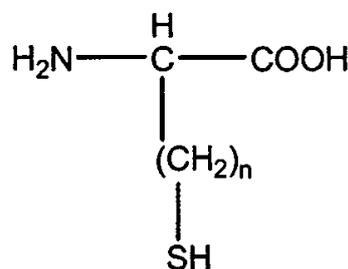
en la que n = 1 a 4

Fórmula II:



en la que n = 1 a 4

o Fórmula III:



en la que n = 1 a 4

- 5 opcionalmente, en el que el aminoácido de Fórmula I es Lys.
5. Péptido similar a glucagón, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende además un espaciador entre el aminoácido en la posición 10 del péptido similar a glucagón y el grupo acilo o grupo alquilo, opcionalmente en el que el espaciador es un aminoácido o un dipéptido.
- 10 6. Péptido similar a glucagón, según la reivindicación 5, en el que el espaciador es un espaciador dipéptido o tripéptido que tiene un esqueleto de péptido de 3 a 10 átomos de longitud.
- 15 7. Péptido similar a glucagón, según la reivindicación 5 ó 6, en el que el espaciador comprende uno o dos aminoácidos cargados negativamente.
8. Péptido similar a glucagón, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el grupo acilo es un grupo acilo graso C8 a C20, opcionalmente un grupo acilo graso C12 a C18, opcionalmente un grupo acilo graso C14 o C16.
- 20 9. Péptido similar a glucagón, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende uno, dos o tres aminoácidos cargados C-terminal al aminoácido en la posición 27.
- 25 10. Péptido similar a glucagón, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el ácido graso C4 a C30 es un grupo acilo graso C14, C16 o C18 unido covalentemente a una Lys en la posición 10.
11. Péptido similar a glucagón, según la reivindicación 10, en el que el aminoácido en la posición 2 es AIB.
- 30 12. Péptido similar a glucagón, según la reivindicación 9 ó 10, que comprende un aminoácido cargado después de la posición 29.
13. Péptido similar a glucagón, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que comprende además una o más modificaciones seleccionadas del grupo que consiste en: Gln en la posición 17, Ala en la posición 18, Glu en la posición 21, Ile en la posición 23 y Ala en la posición 24.
- 35 14. Péptido similar a glucagón, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que el péptido similar a glucagón comprende un grupo hidrófilo, opcionalmente PEG.
- 40 15. Conjugado, dímero o péptido de fusión que comprende un péptido similar a glucagón, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el conjugado comprende el péptido similar a glucagón unido a un grupo conjugado, en el que el dímero comprende dos péptidos similares a glucagón unidos entre sí a través de un enlazador, y en el que el péptido de fusión comprende un segundo péptido fusionado a un extremo terminal del péptido similar a glucagón.
- 45 16. Composición farmacéutica que comprende un péptido similar a glucagón, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, o un conjugado, dímero o péptido de fusión, según la reivindicación 15, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 50 17. Péptido similar a glucagón, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para utilizar en el tratamiento de la diabetes o la reducción del aumento de peso o la inducción de la pérdida de peso en un sujeto, opcionalmente en combinación con otro agente contra la diabetes o contra la obesidad, opcionalmente insulina, una sulfonilurea, tolbutamida, acetohexamida, tolazamida, clorpropamida, glipizida, gliburida, glimepirida, gliclazida, una meglitinida, repaglinida, nateglinida, una biguanida, metformina, fenformina, una tiazolidinadiona, rosiglitazona, pioglitazona, troglitazona, inhibidores de PPAR- $\gamma$ , un inhibidor de la alfa-glucosidasa, miglitol, acarbose, exenatida, pramlintida, un inhibidor de dipeptidil peptidasa-4, vildagliptina, sitagliptina, un inhibidor de transportador de glucosa 1 dependiente de sodio, un activador de glucoquinasa, un antagonista del receptor de glucagón, un inhibidor de fructosa 1,6-bisfosfatasa, un supresor del apetito, un estimulante de tipo fenetilamina, fentermina, dietilpropión, fendimetrazina, benzfetamina, sibutramina, rimonabant, un antagonista de los receptores de cannabinoides, oxintomodulina, fluoxetinatopiramato y fentermina, bupropión y zonisamida, bupropión y naltrexona, un inhibidor de lipasa, orlistat, cetilistat o GT 389-255.
- 60

Figura 1: Estabilidad de Glucagón Cys<sup>21</sup>-maleimidoPEG<sub>5K</sub> (37°C)

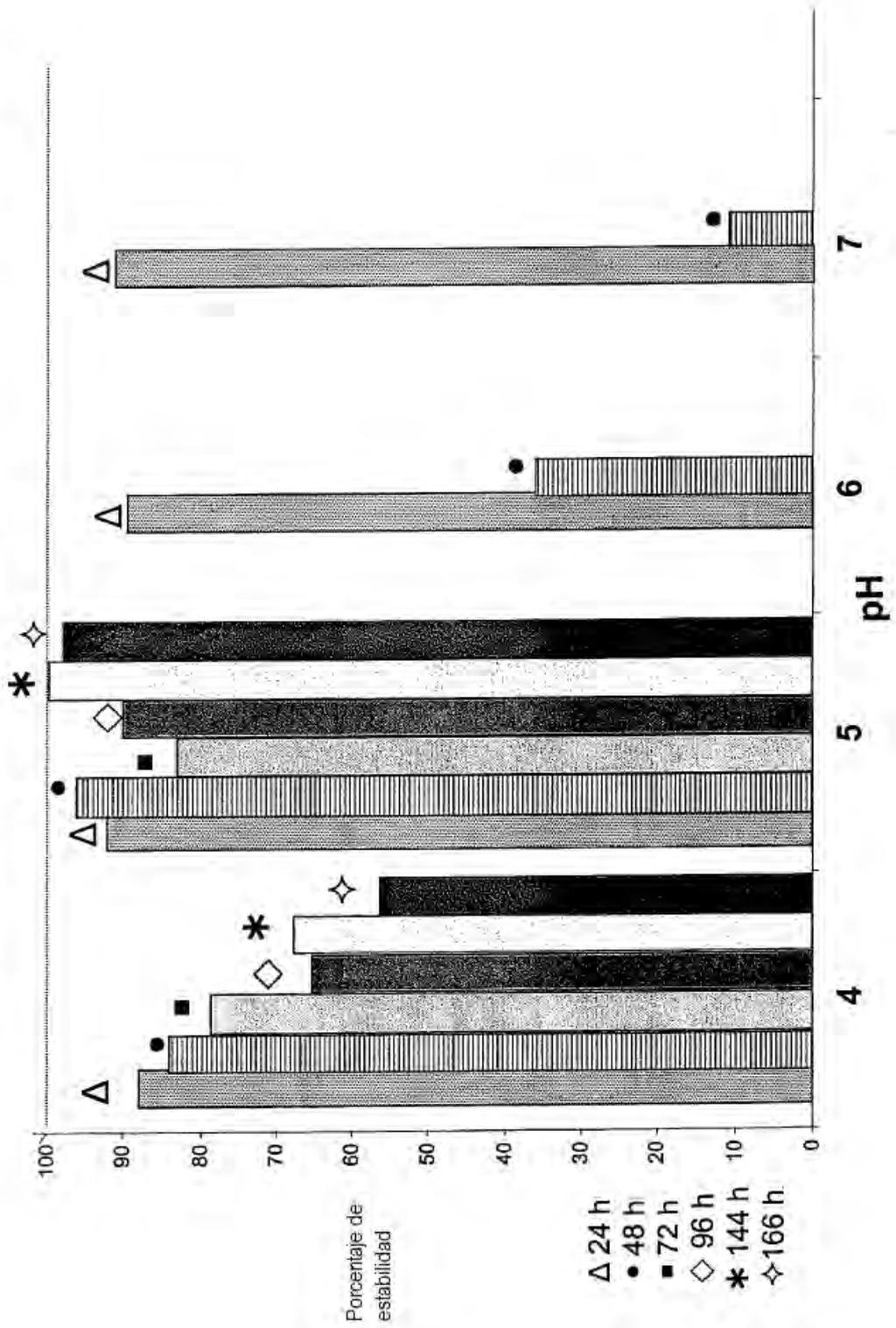
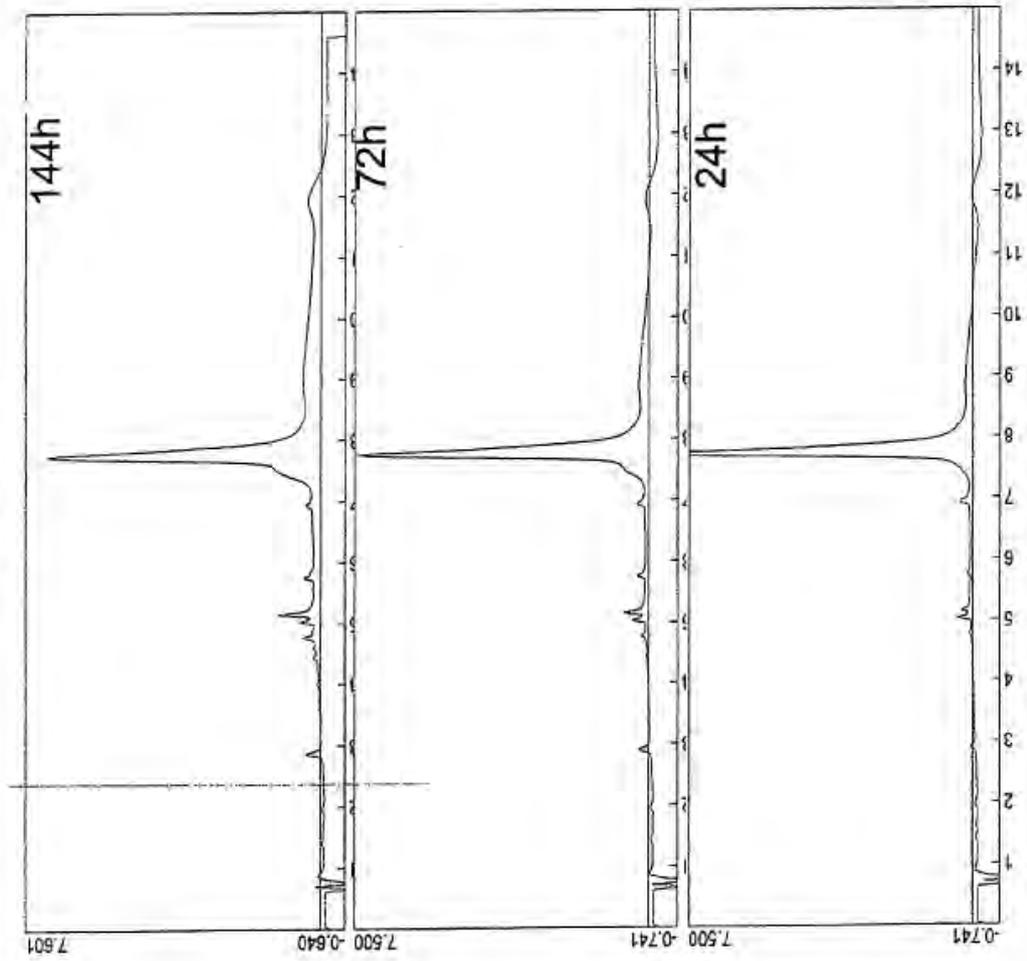


Figura 2: Análisis por HPLC de Glucagón Cys<sup>21</sup>-maleimidoPEG<sub>5K</sub>  
a pH 5 (37°C)



**Figura 3. Inducción de AMPc mediada por receptor de glucagón**

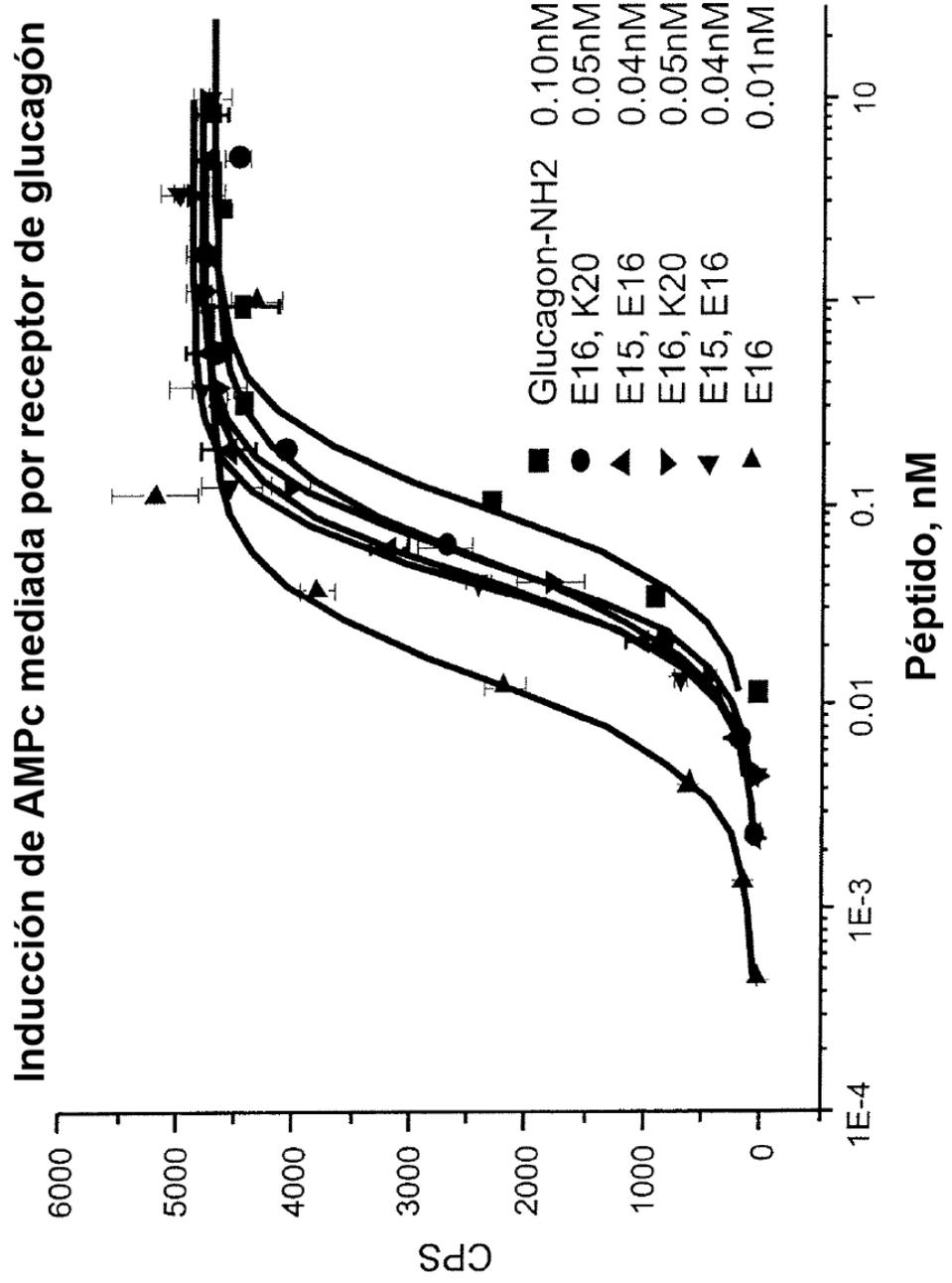


Figura 4A

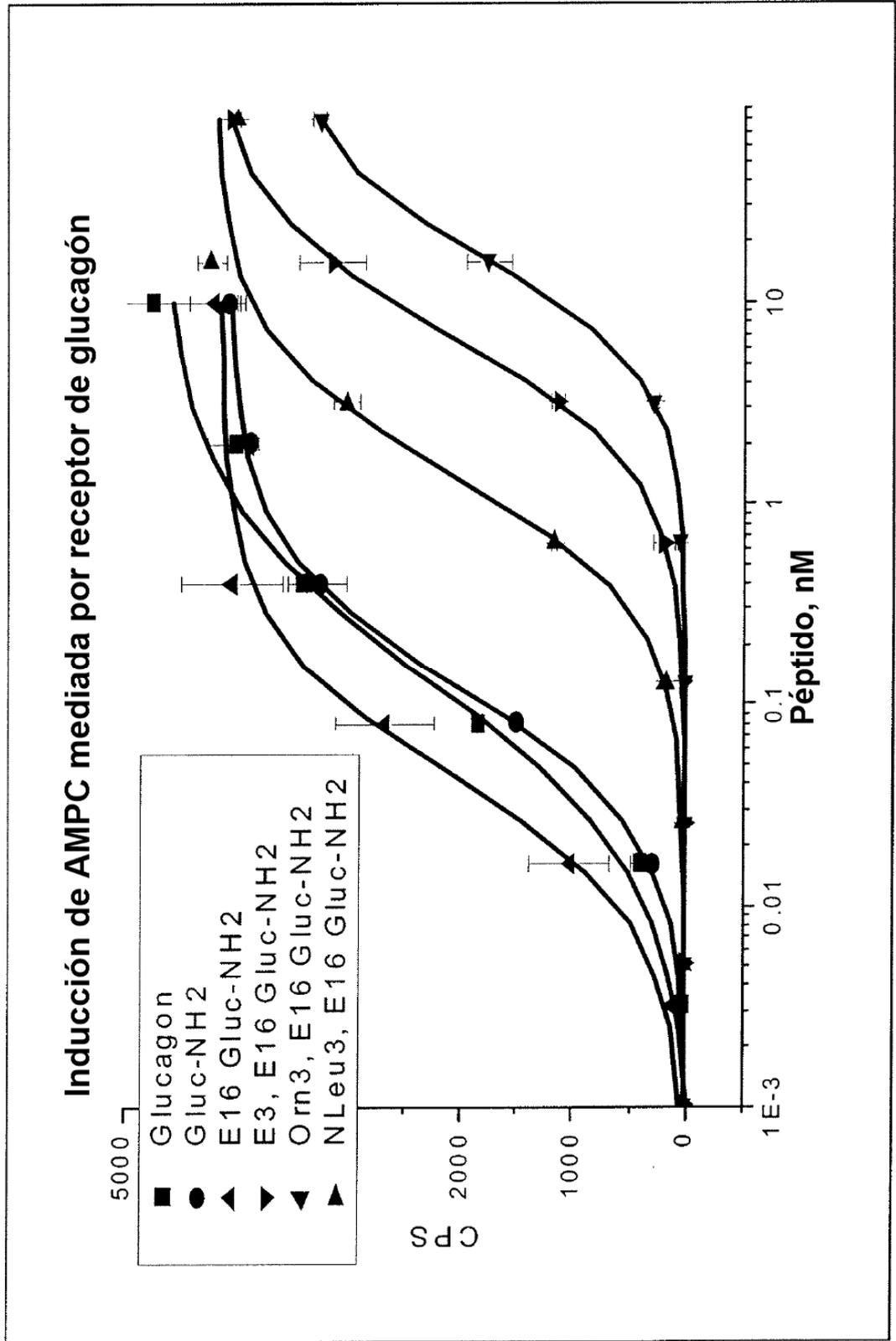


Figura 4B

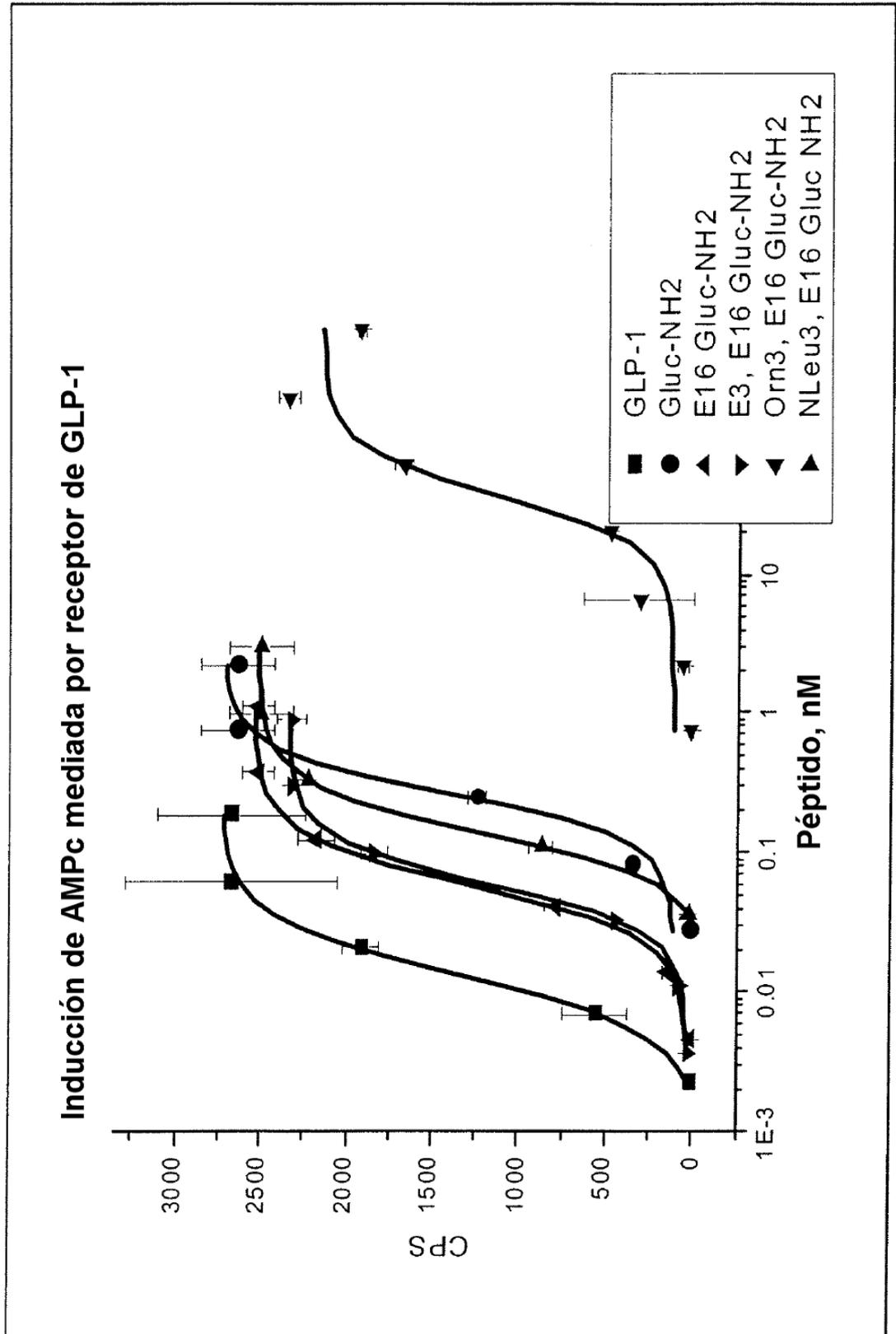


Figura 5A

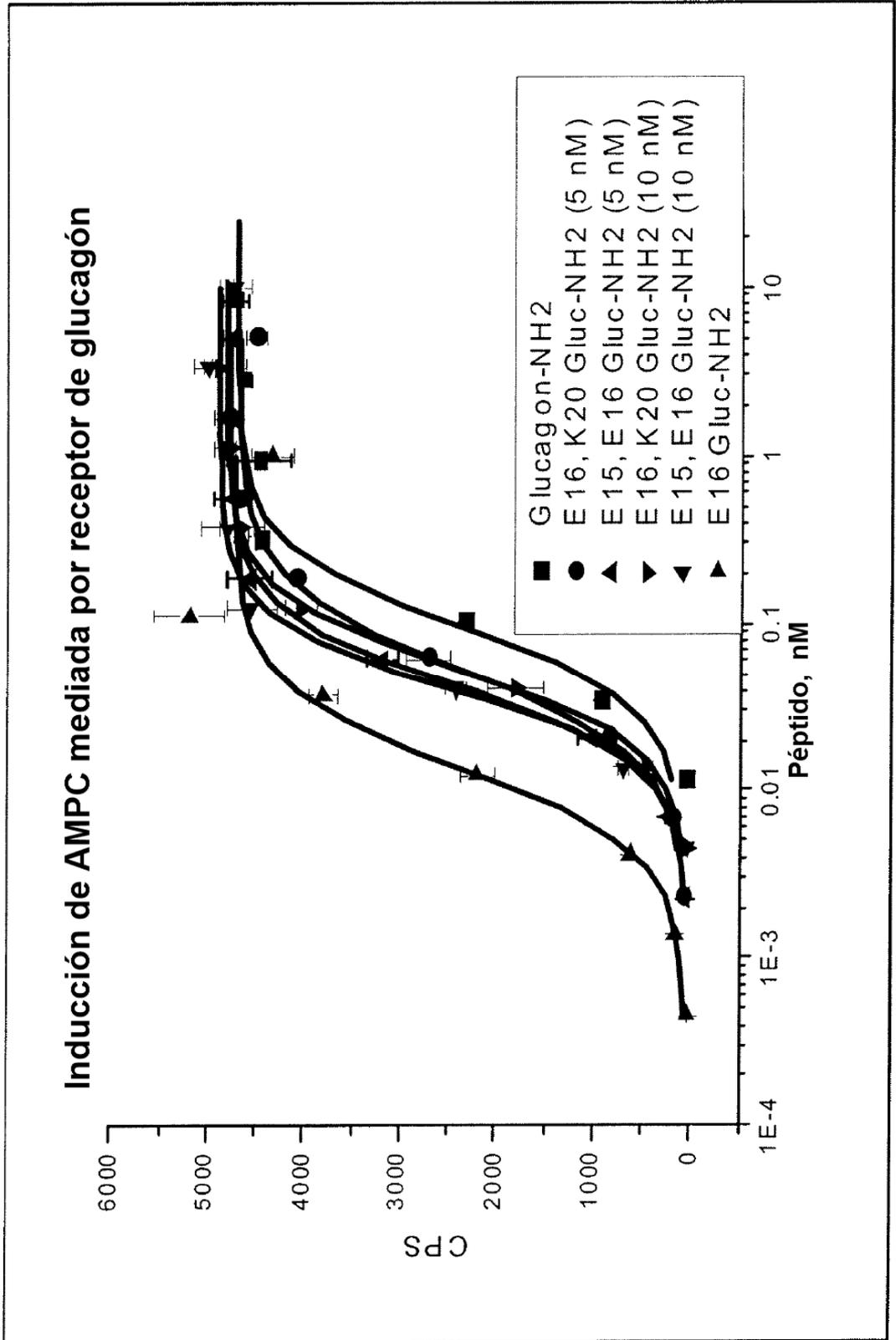


Figura 5B

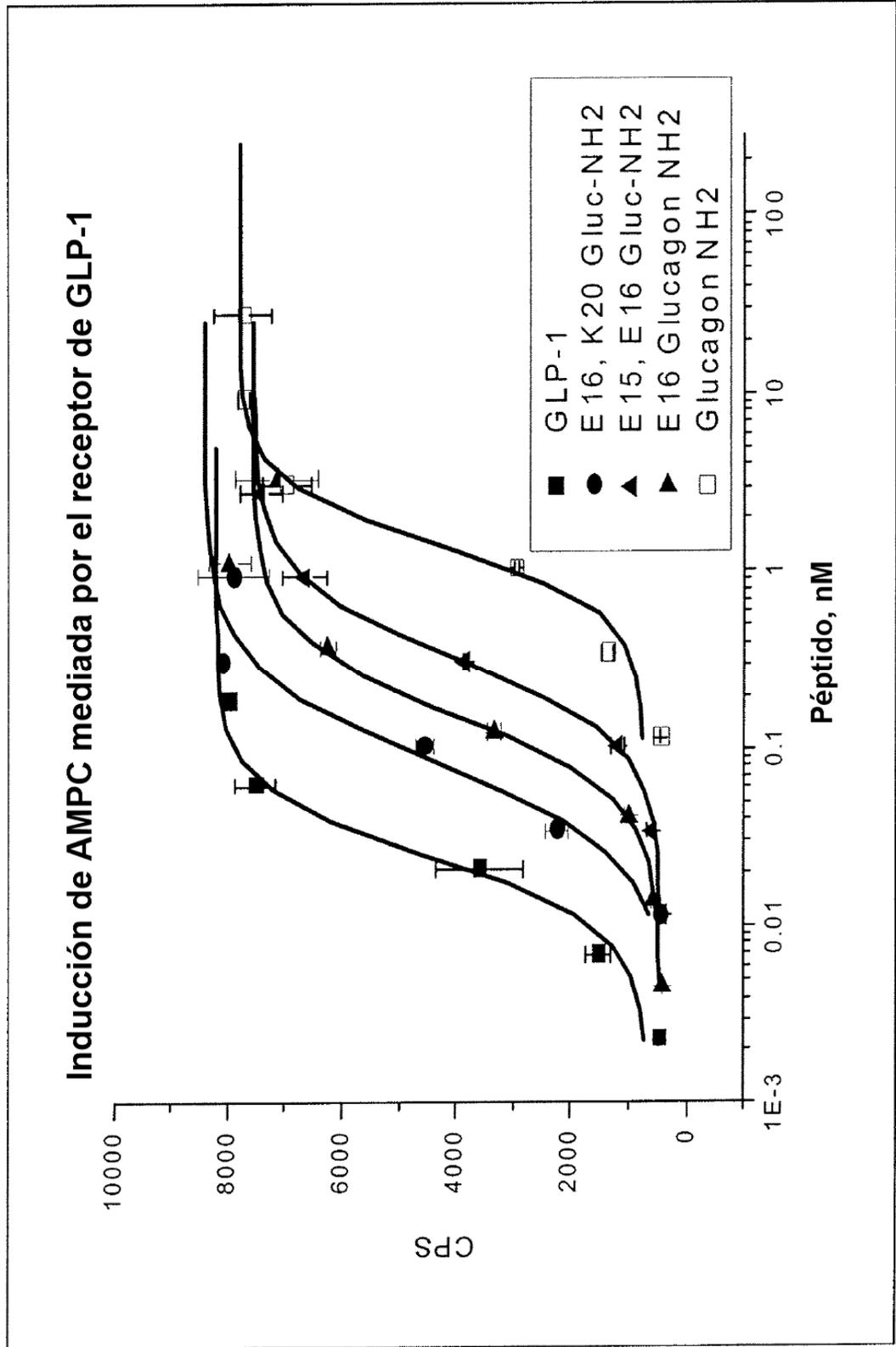


Figura 6A

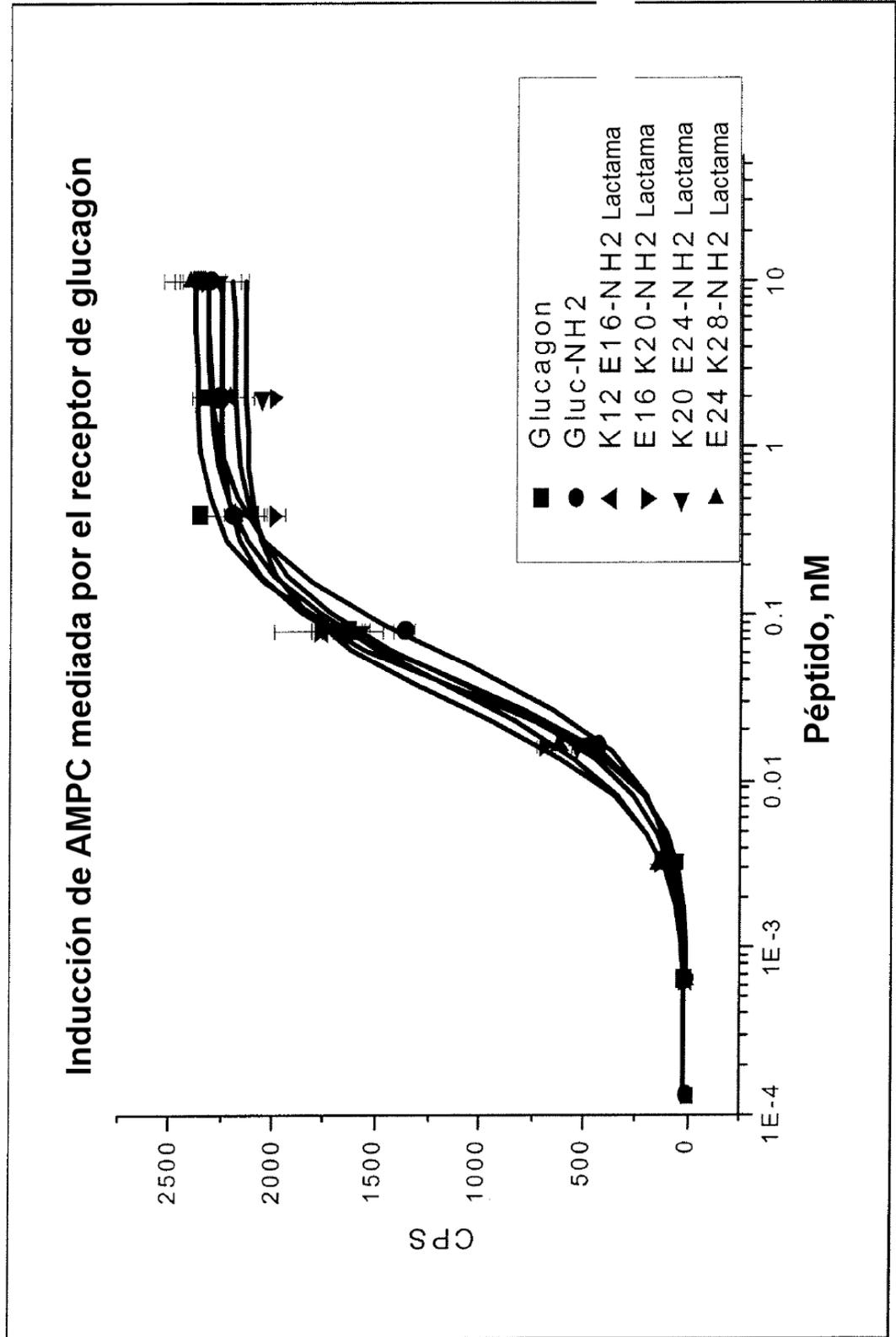


Figura 6B

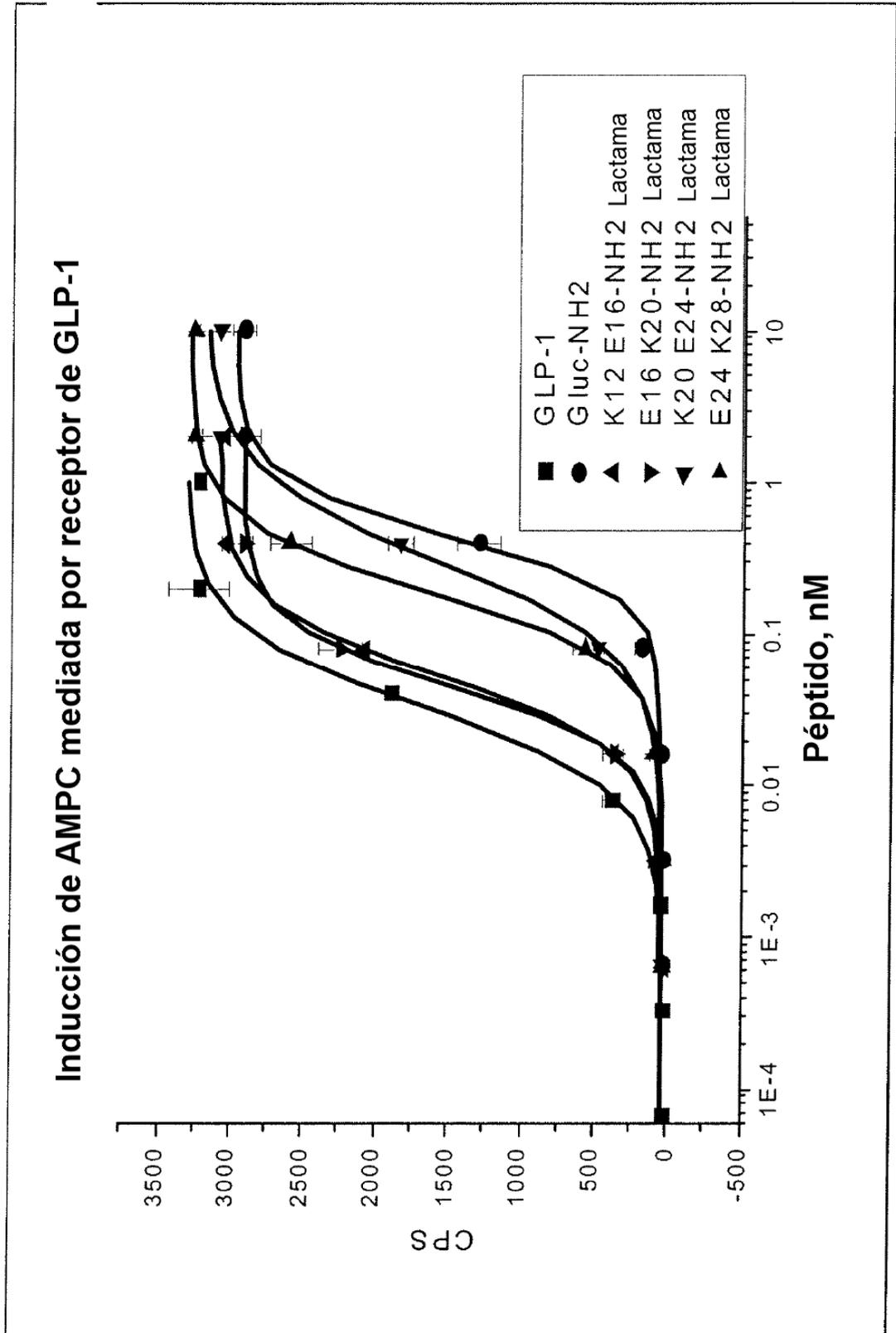


Figura 7A

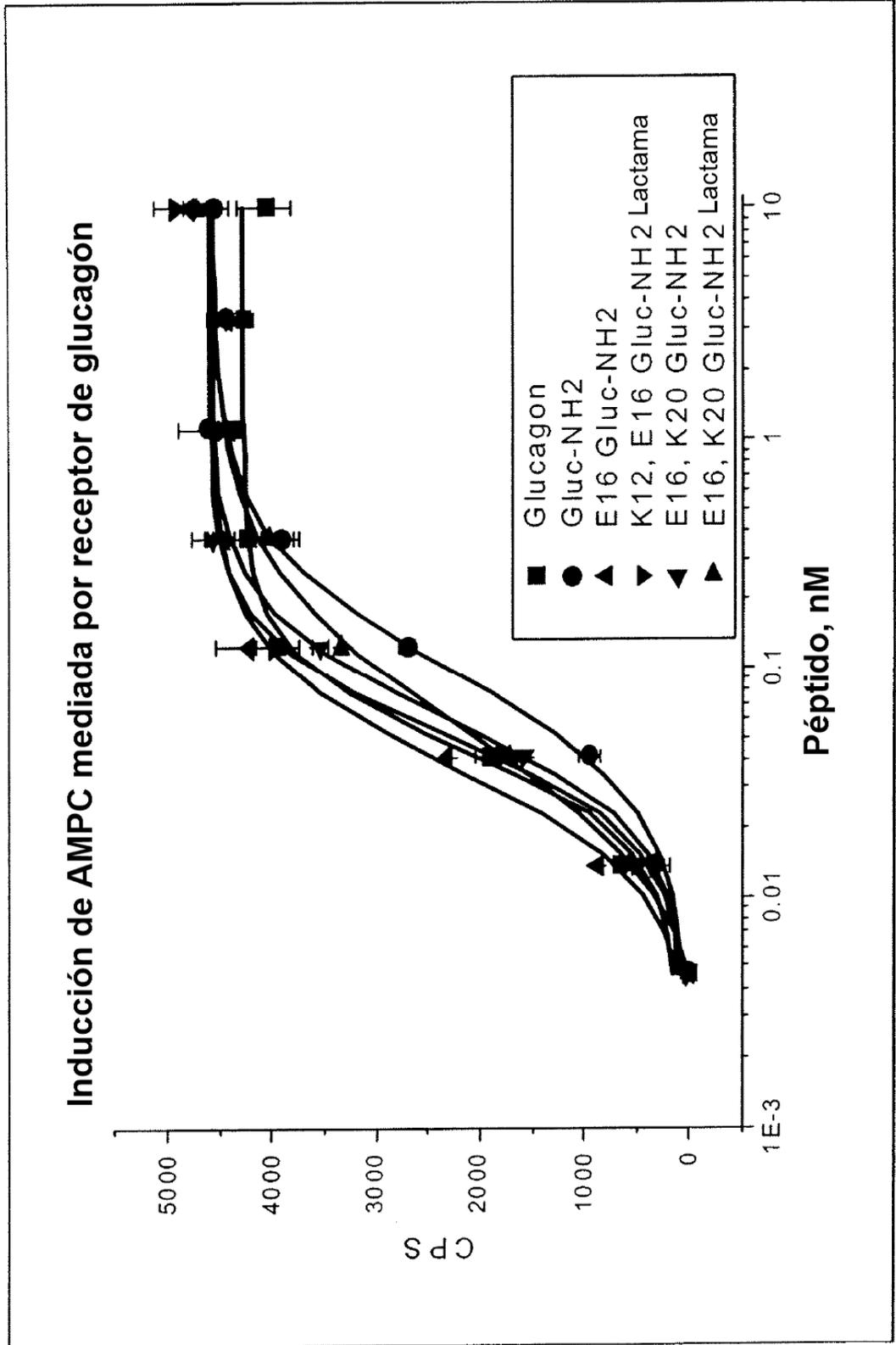


Figura 7B

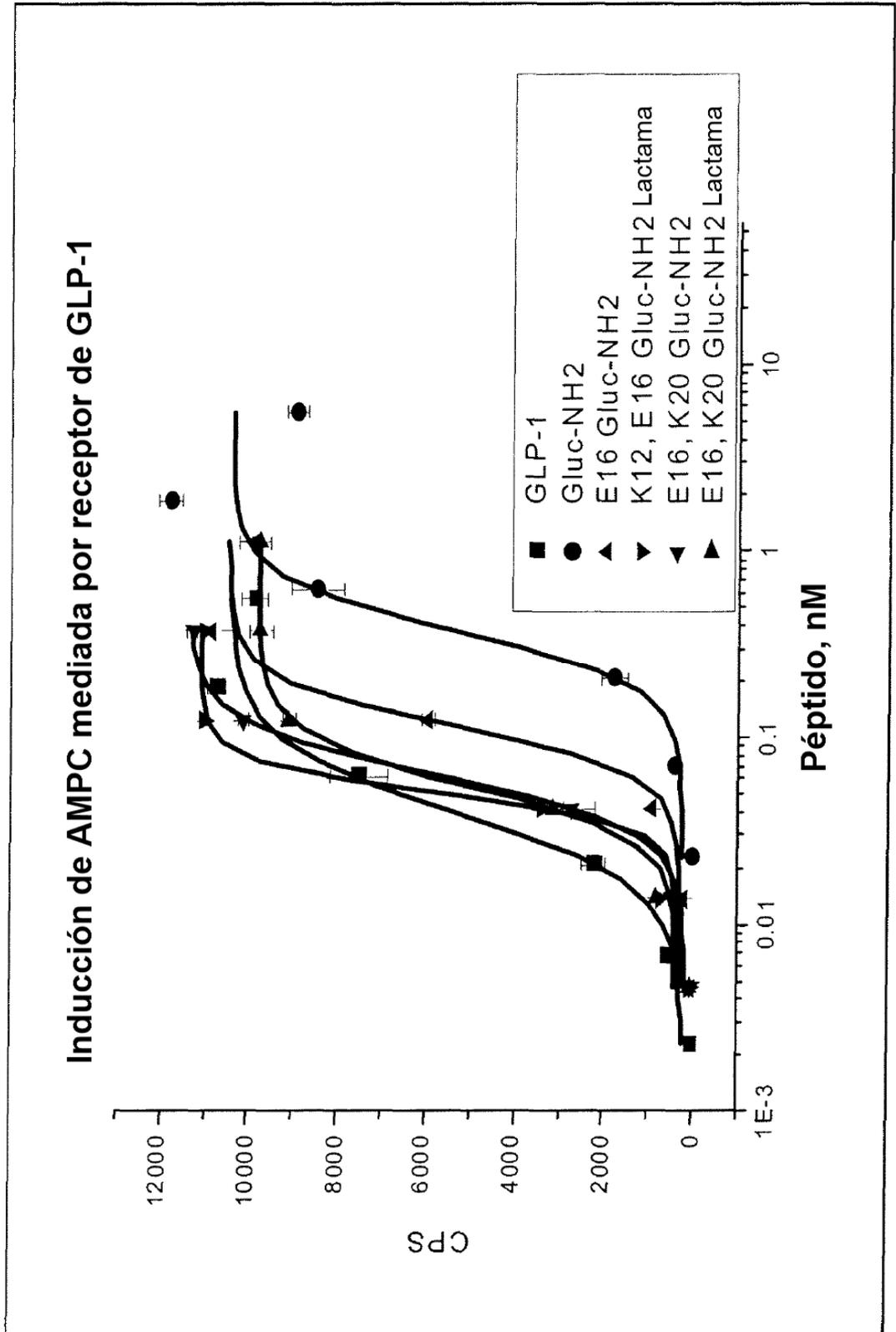


Figura 8A: Modificación en la posición 16 y extremo C-terminal de glucagón

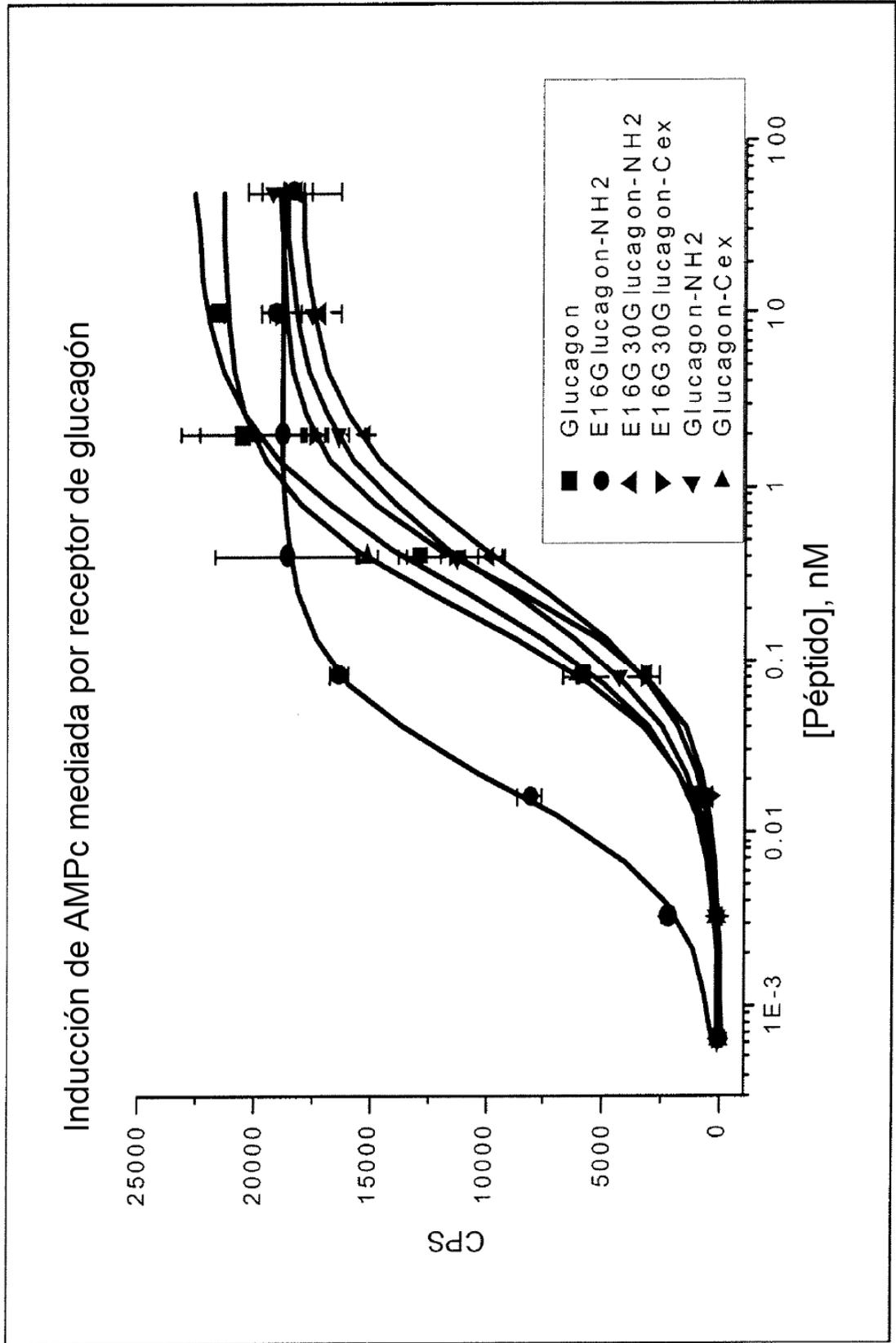


Figura 8B: Modificación en la posición 16 y el extremo C-terminal de glucagón

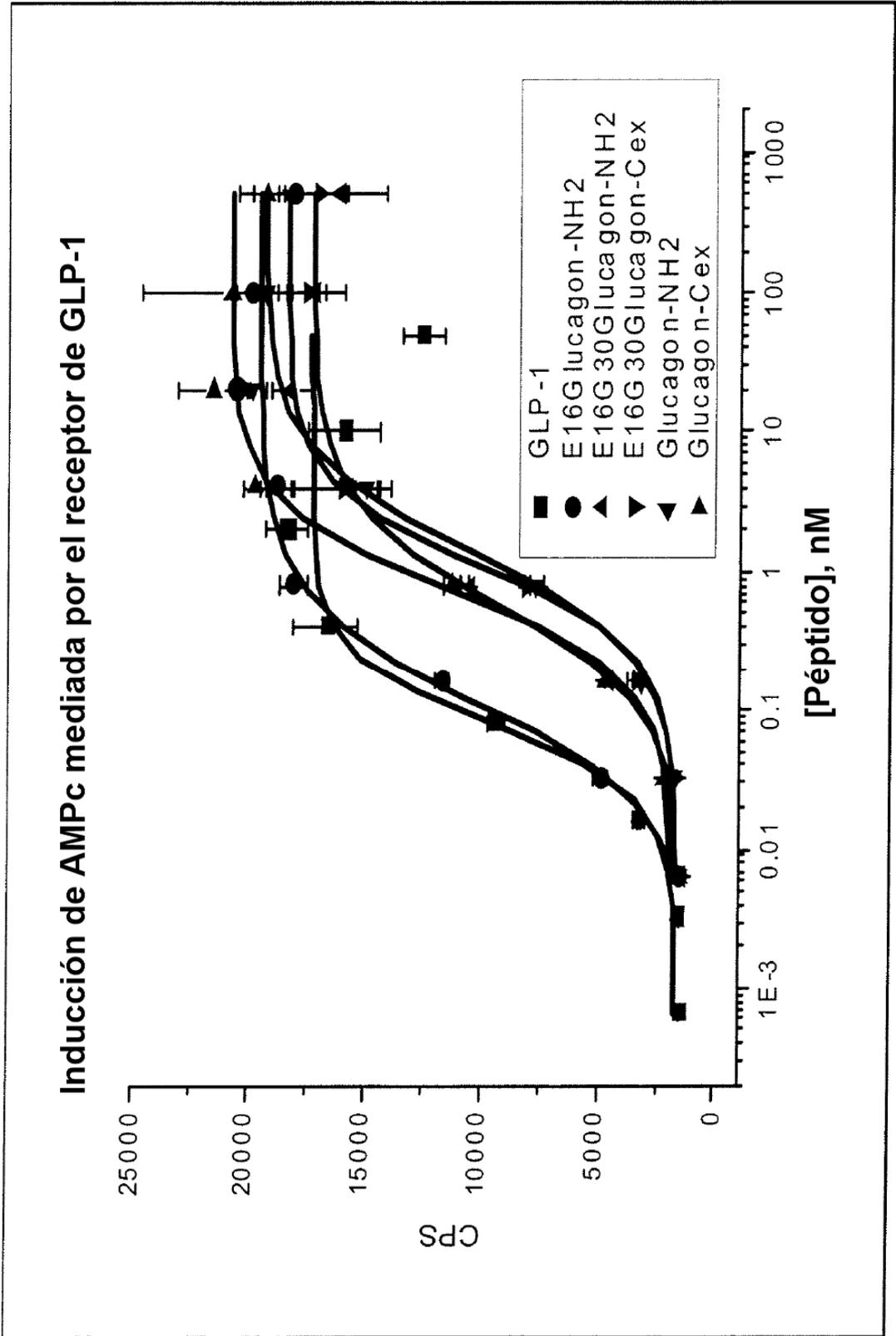
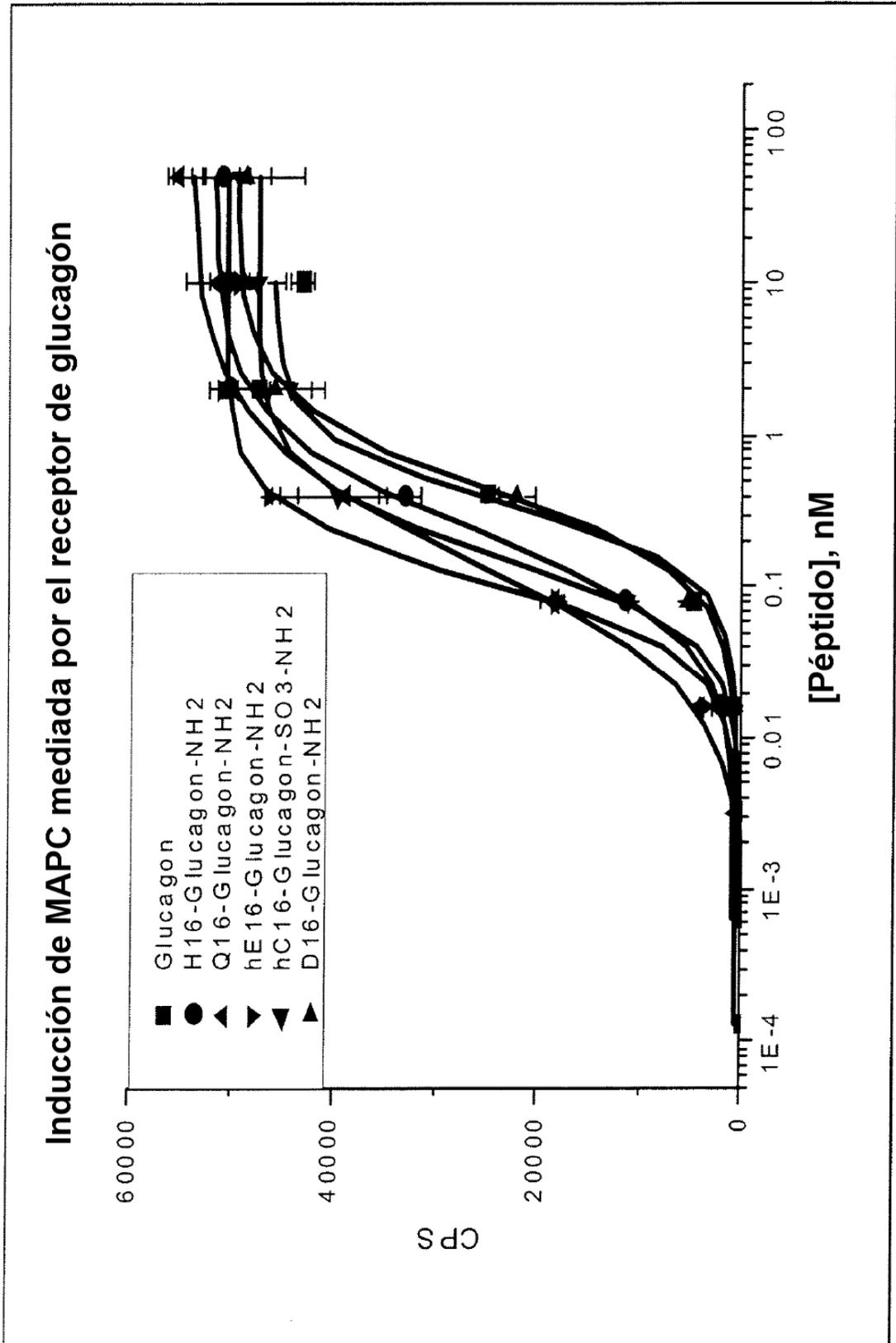


Figura 8C: Sustituciones en la posición 16 de glucagón



8D: Sustituciones en la posición 16 de glucagón

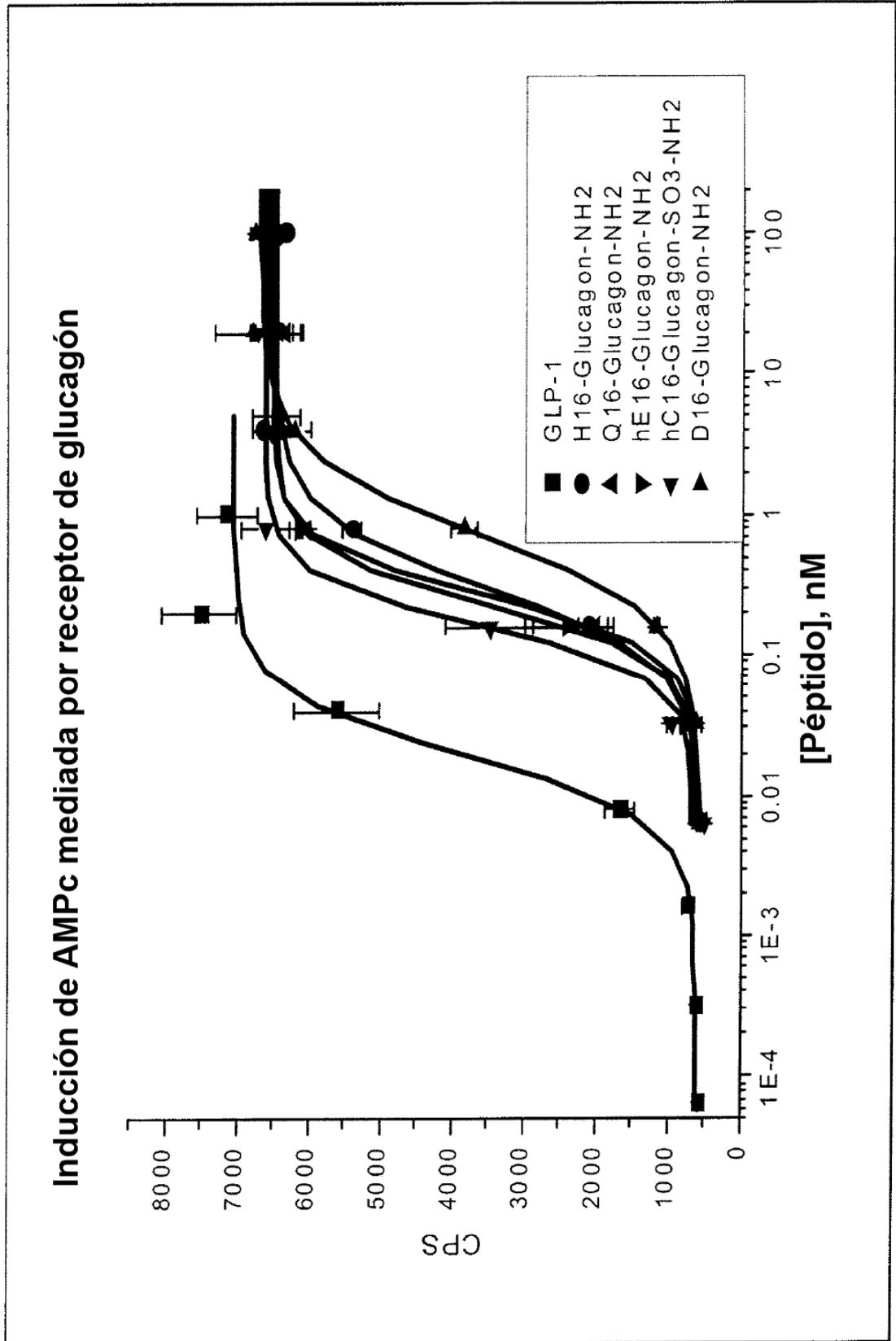


Figura 8E: Sustituciones en la posición 16 de glucagón

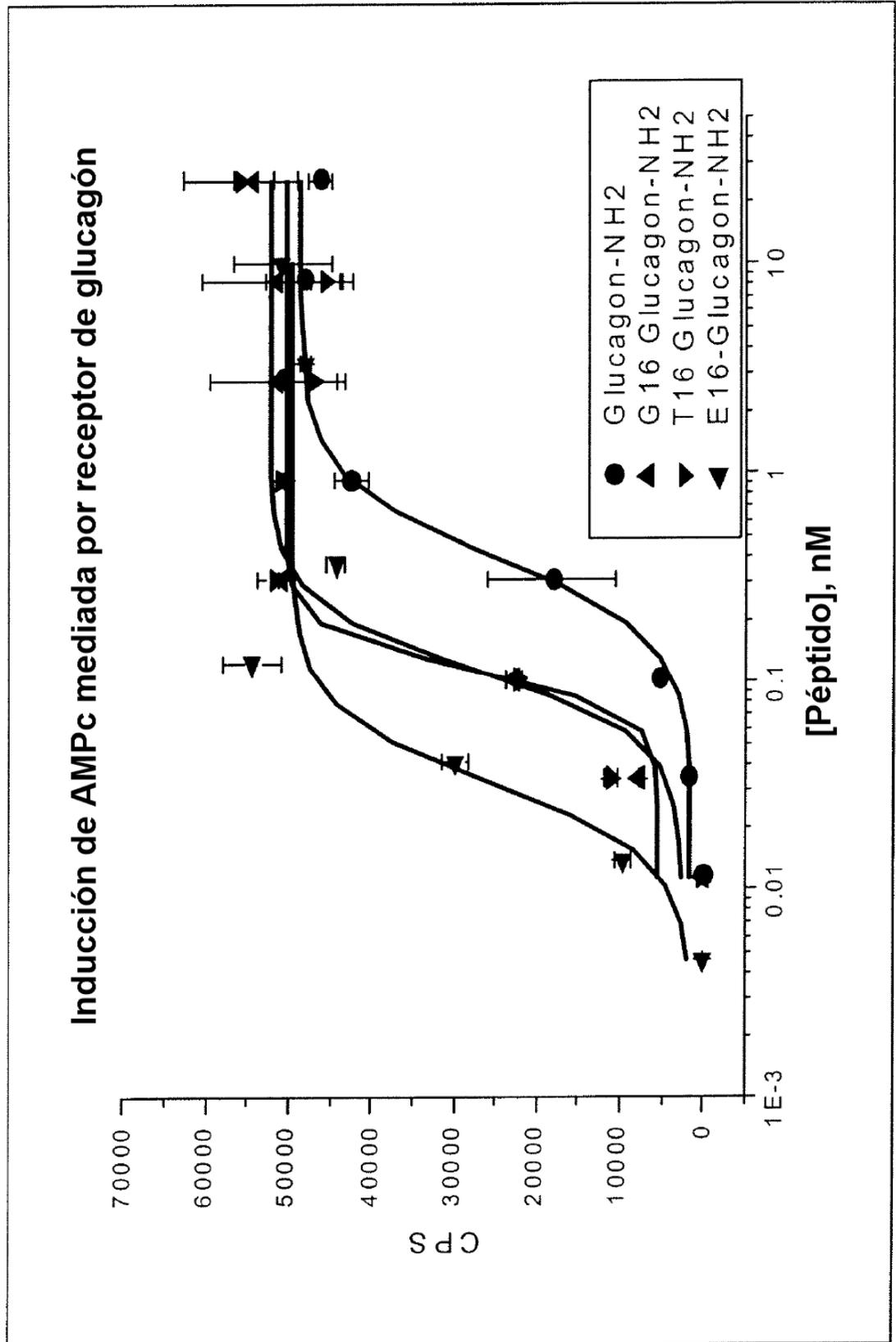


Figura 8F: Sustituciones en la posición 16 de glucagón

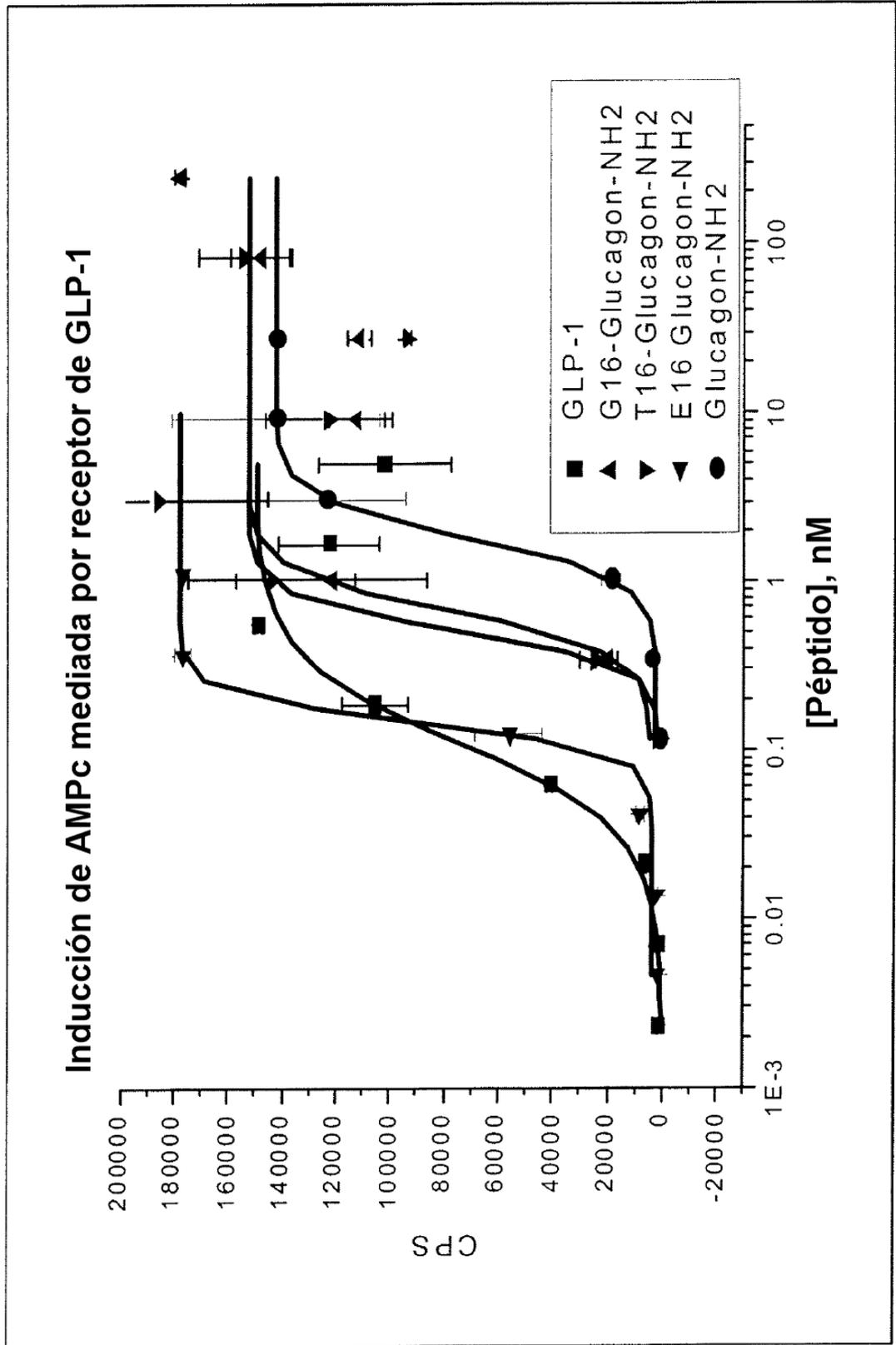


Figura 9A: Inducción de AMPc por análogos de glucagón GLP-1 17-26

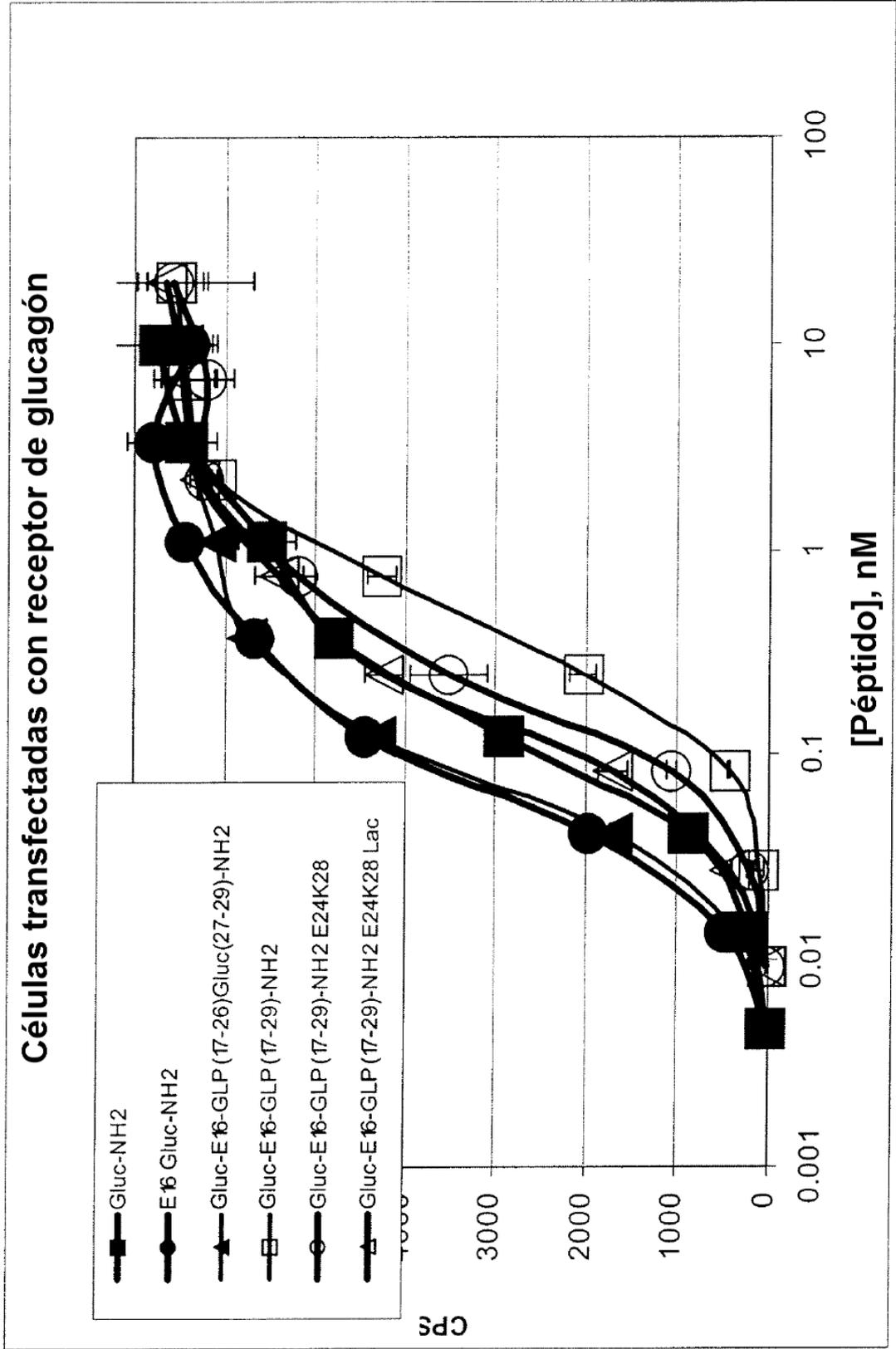
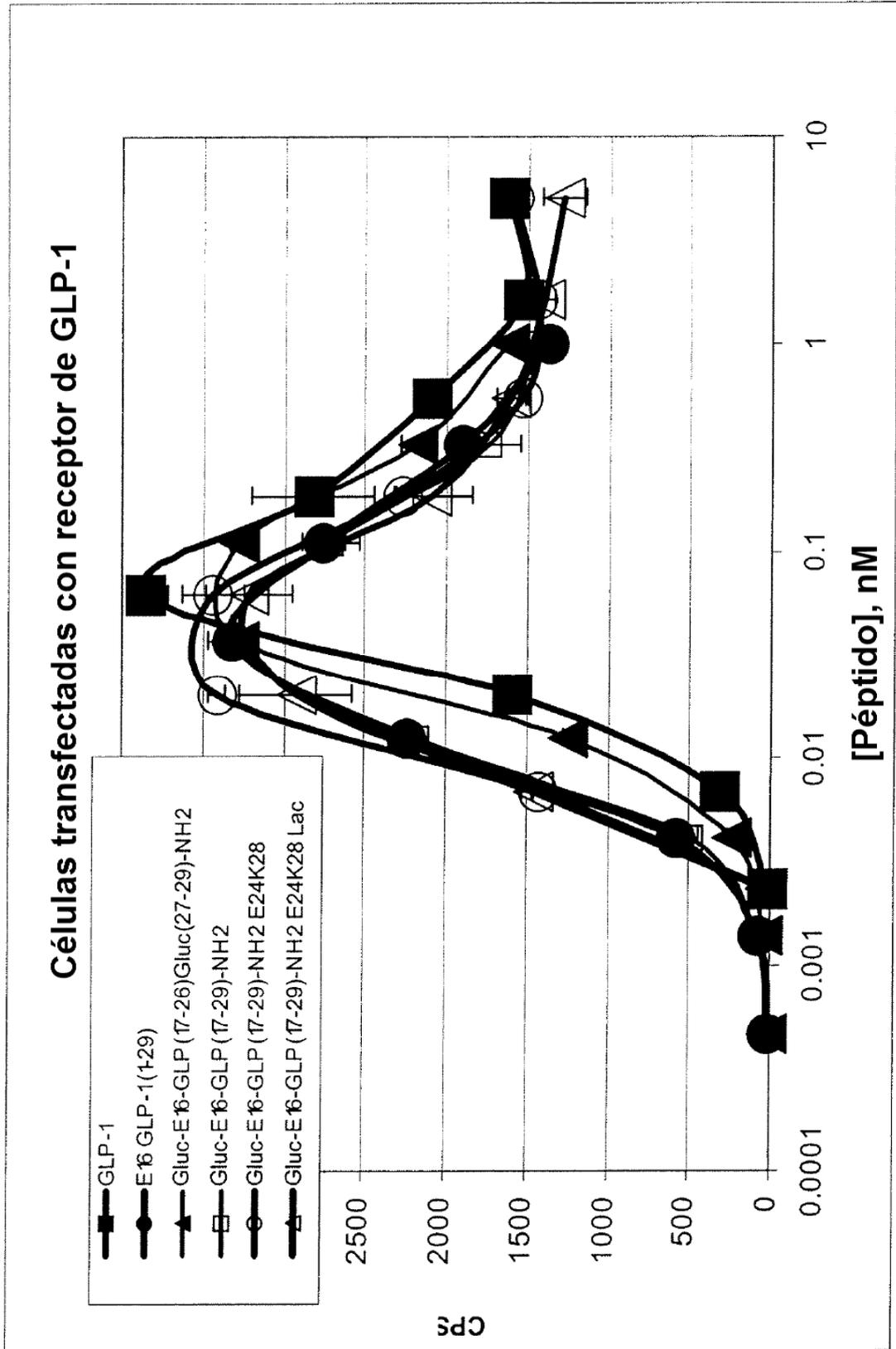


Figura 9B: Inducción de AMPc por análogos de glucagón GLP-1 17-26



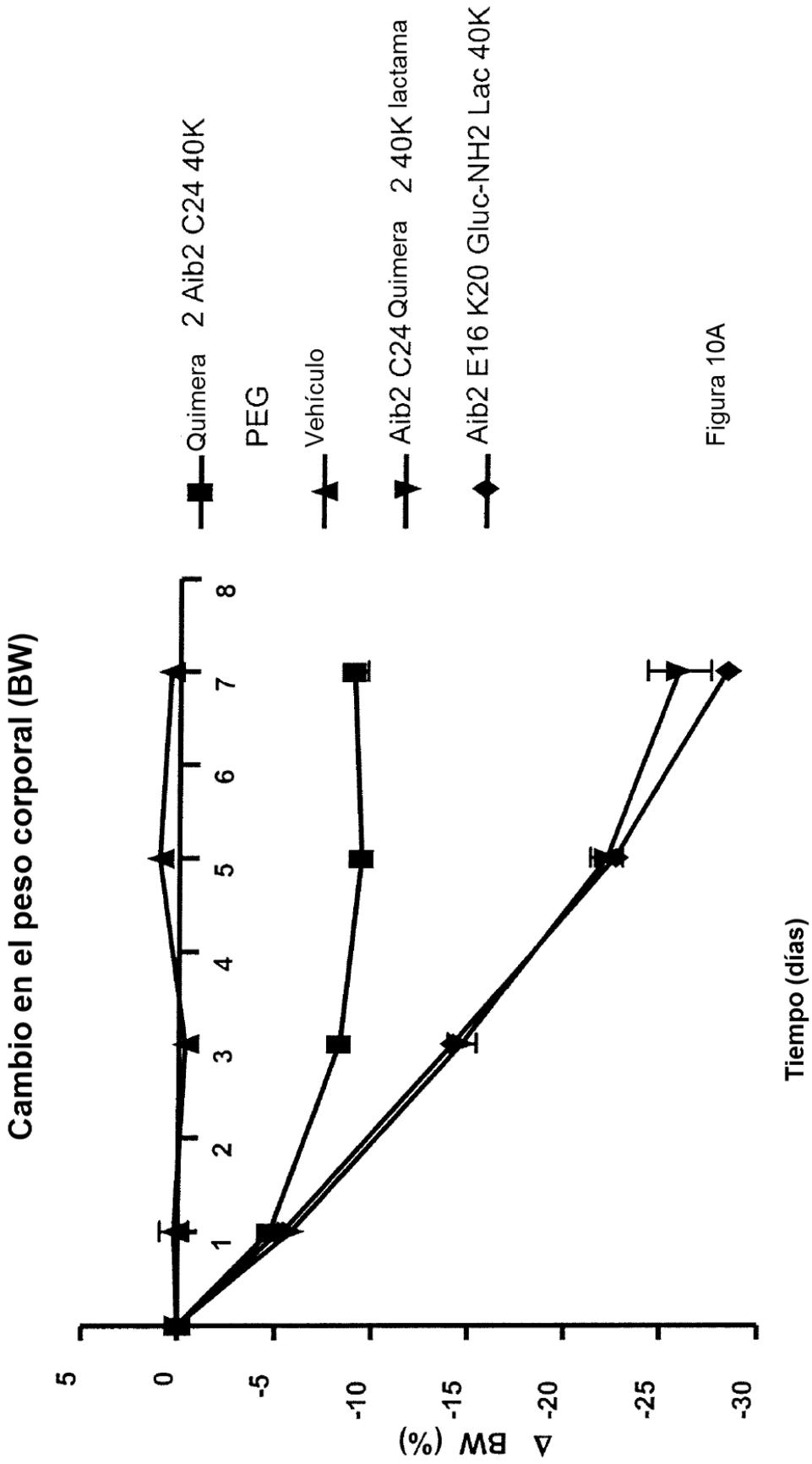


Figura 10A

- Inyección QW subcutánea (325 nmol/kg)
- N=8 ratones DIO por grupo con peso corporal promedio inicial de 51 g

Cambio en el peso corporal (BW)

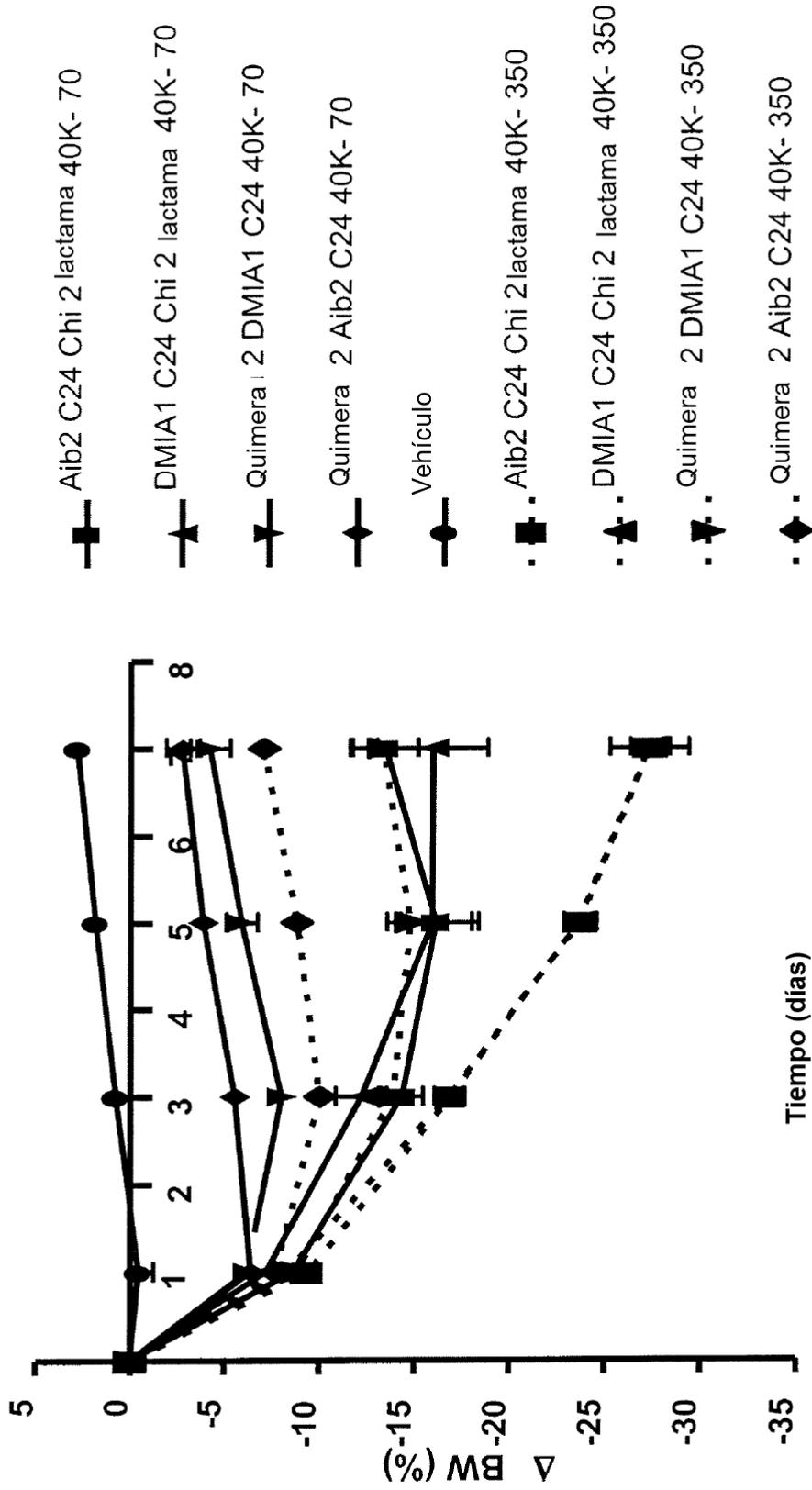


Figura 10B

- Inyecciones QW subcutáneas (70 o 350 nmol/kg)
- N=8 ratones DIO por grupo con un peso corporal promedio inicial de 44 g

### Cambio en el peso corporal (BW)

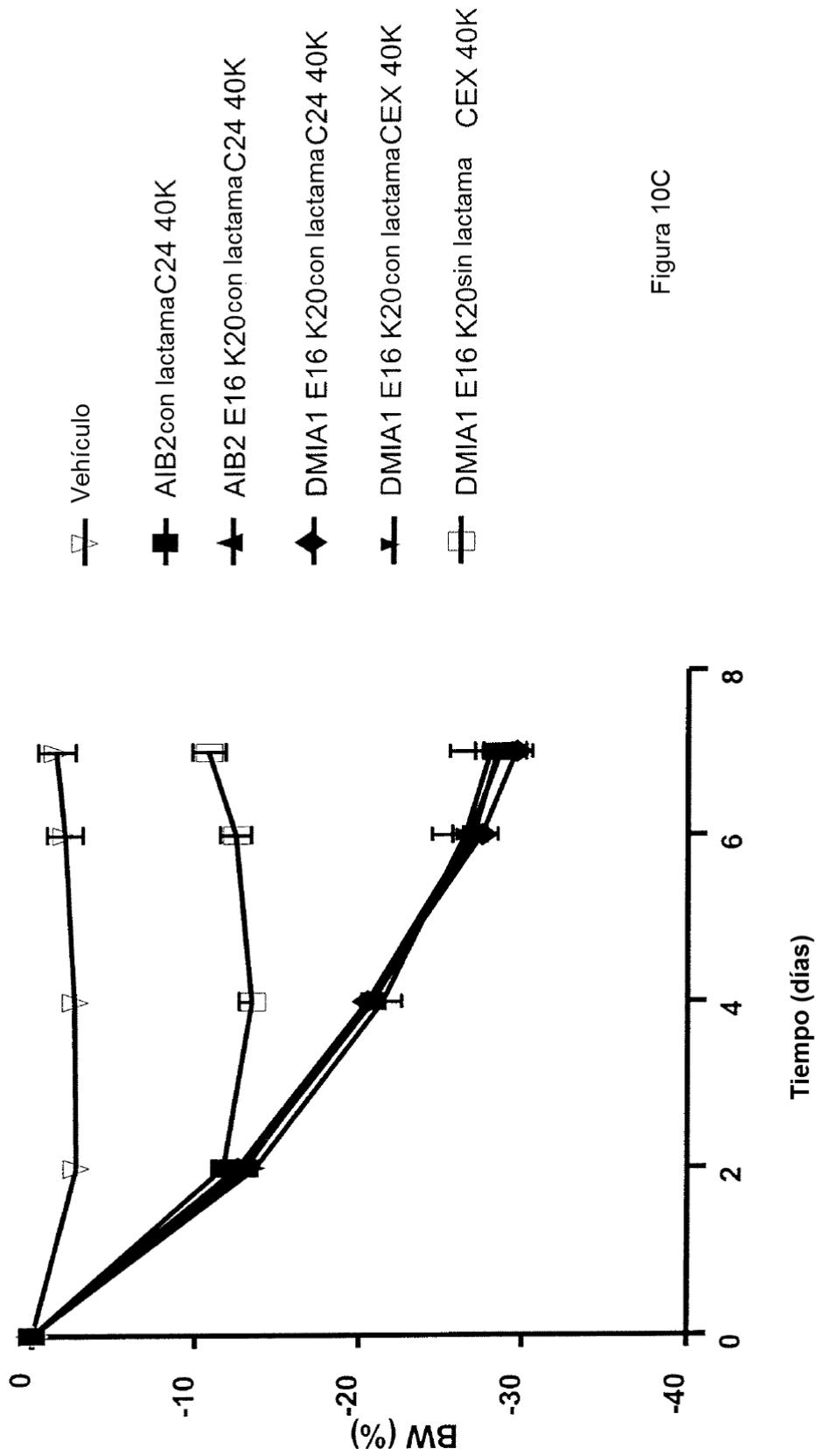


Figura 10C

- Inyección QW subcutánea (QW = 280 nmol/kg/semana)
- N=6 ratones d/O por grupo con peso corporal promedio inicial de 53 g

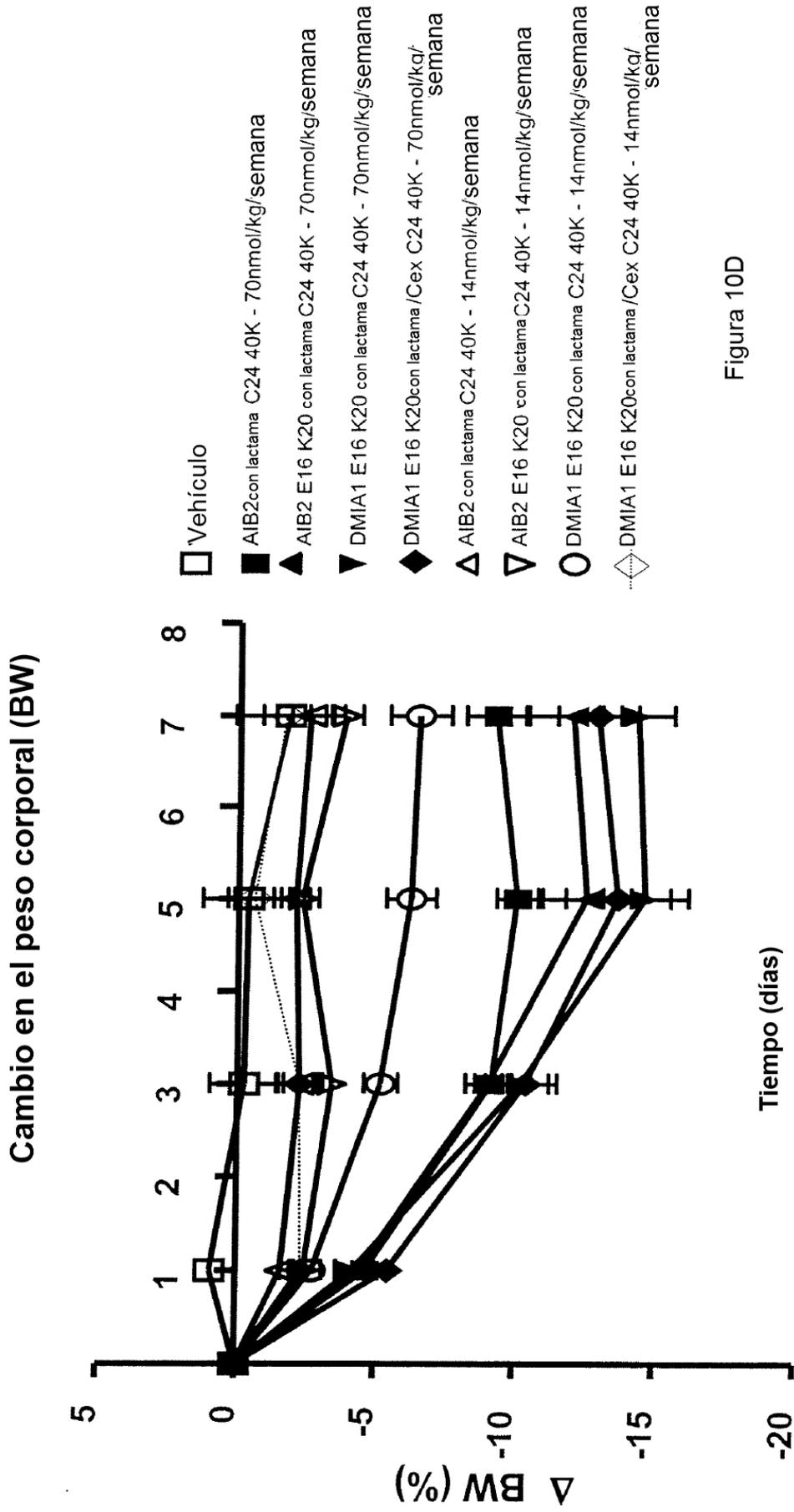


Figura 10D

- Inyección QW subcutánea (QW=70 nmol/kg/sem o 14 nmol/kg/sem)
- N=8 ratones DIO por grupo con peso corporal promedio inicial de 44,3 g

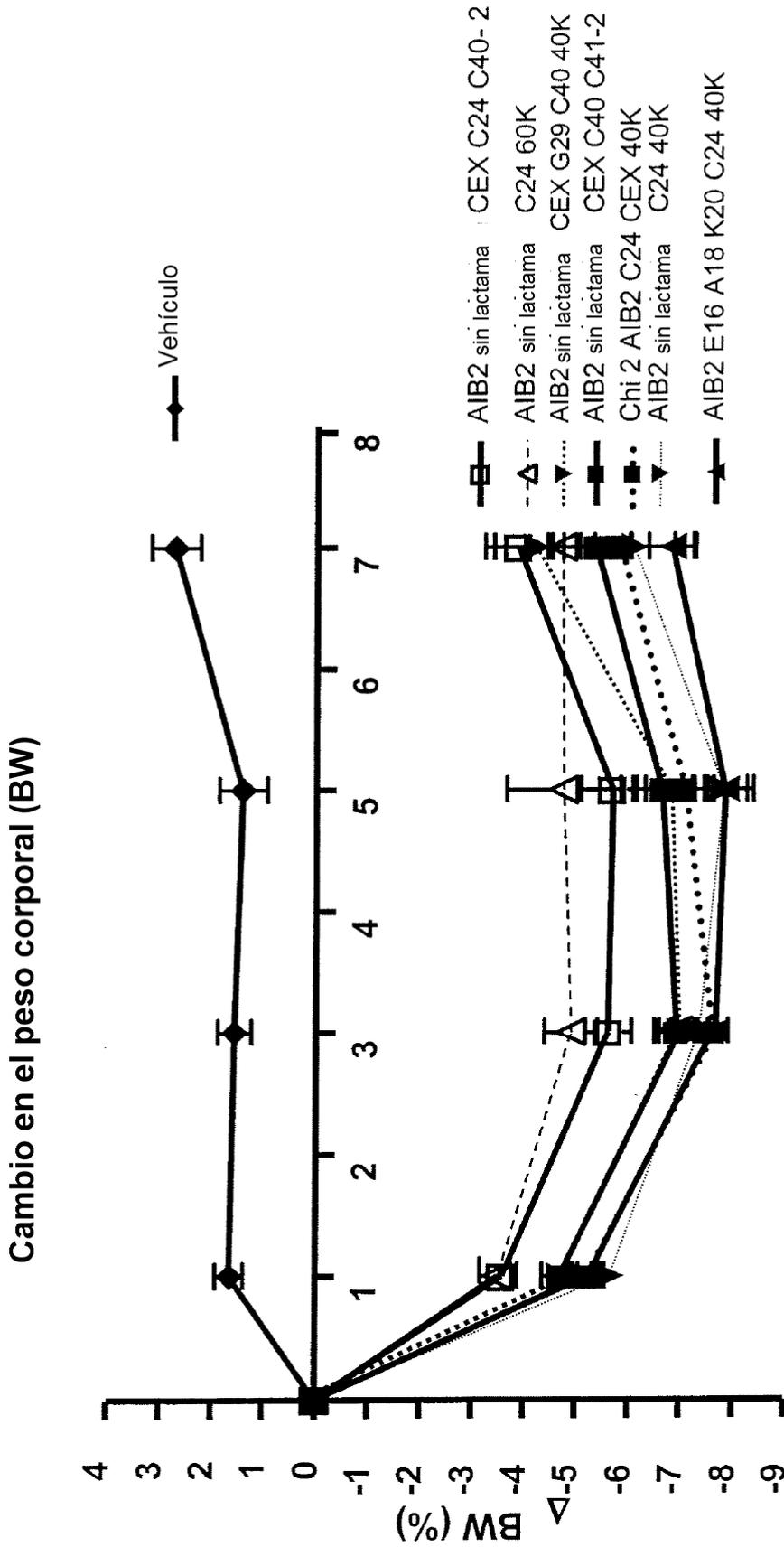


Figura 10E

- Inyección QW subcutánea (QW=70 nmol/kg/semana)
- N=8 ratones DIO por grupo con peso corporal promedio inicial de 46,3 g

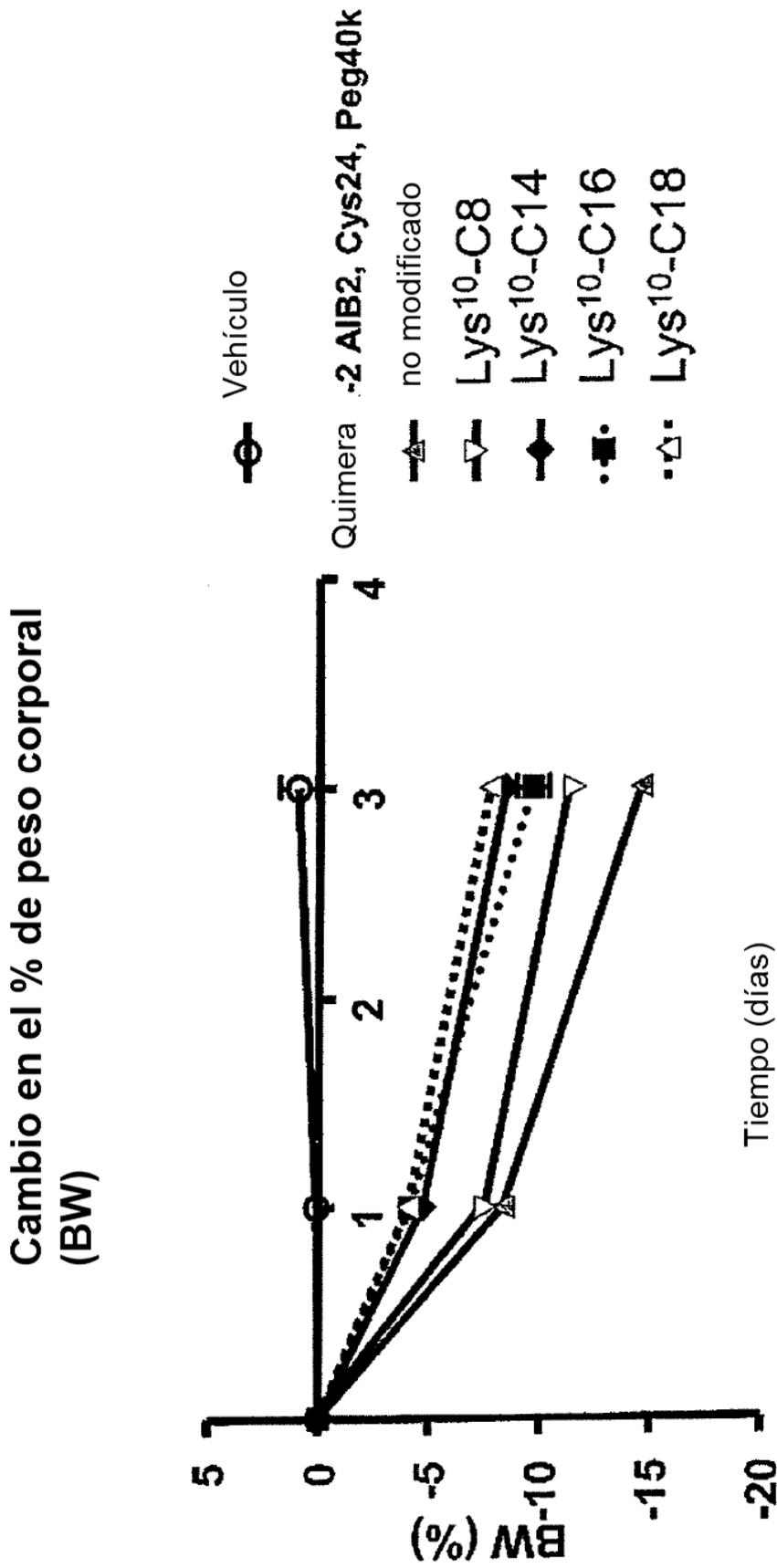


Figura 11

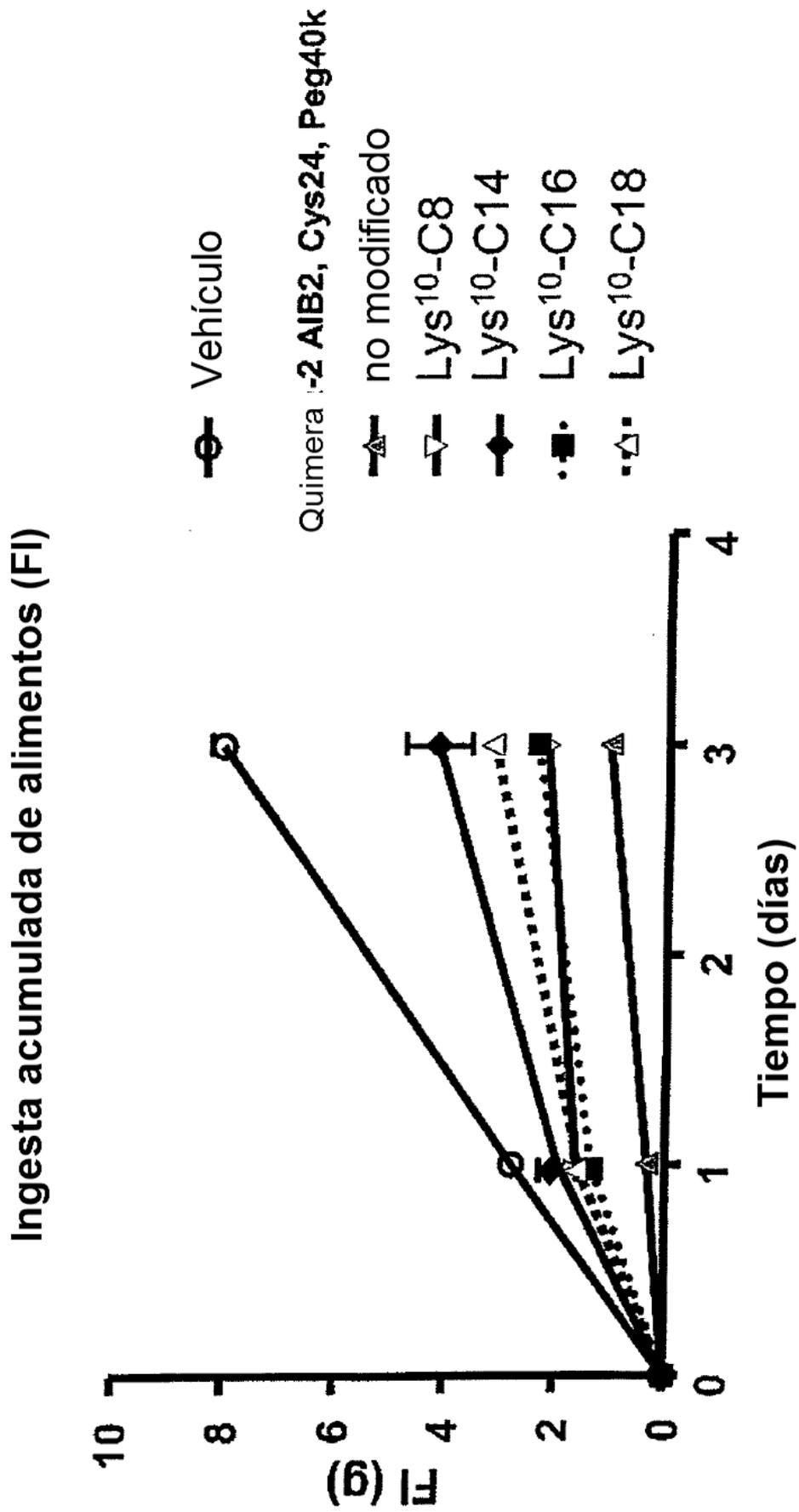


FIGURE 12

Niveles de glucosa en sangre (BG) ad libitum

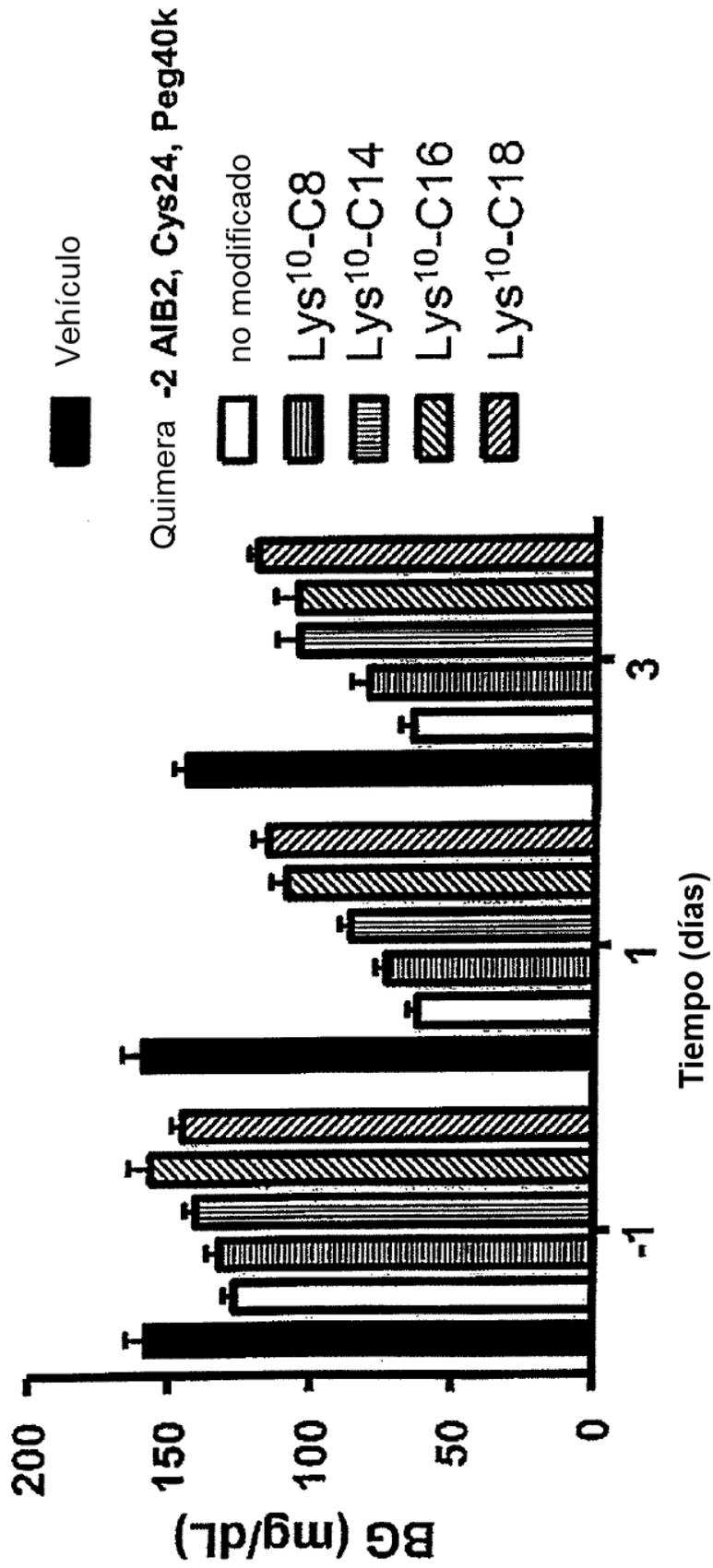


Figura 13

# Análisis in vitro de amidas de glucagón acortadas

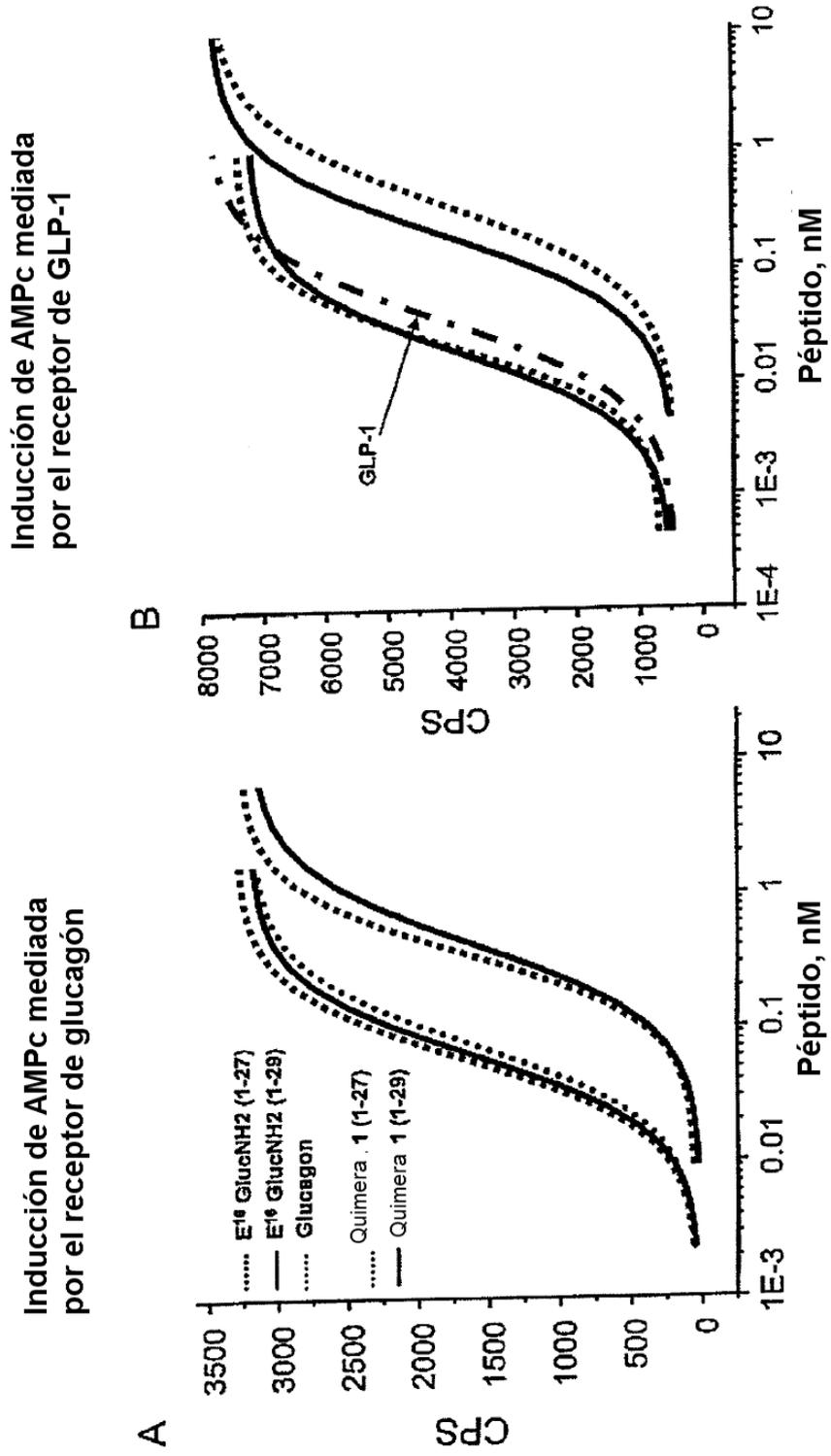


Figura 14

Figura 15

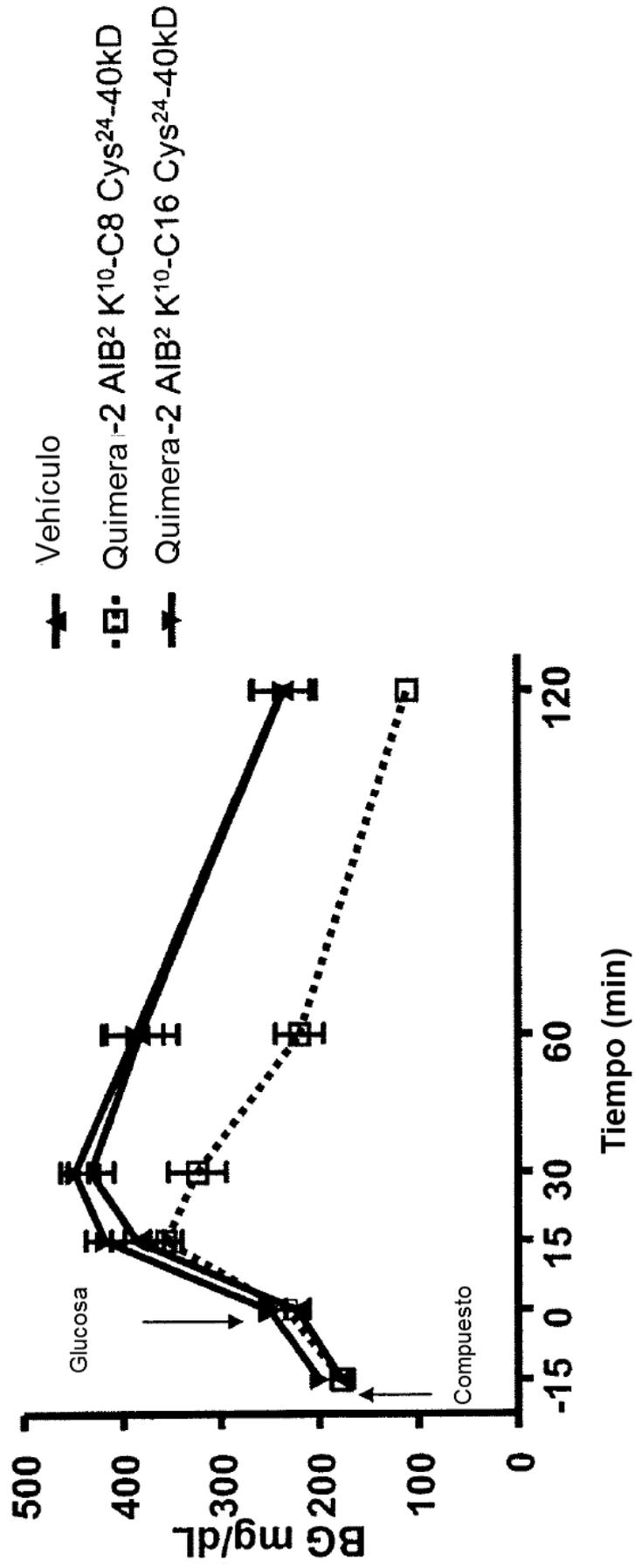


Figura 16

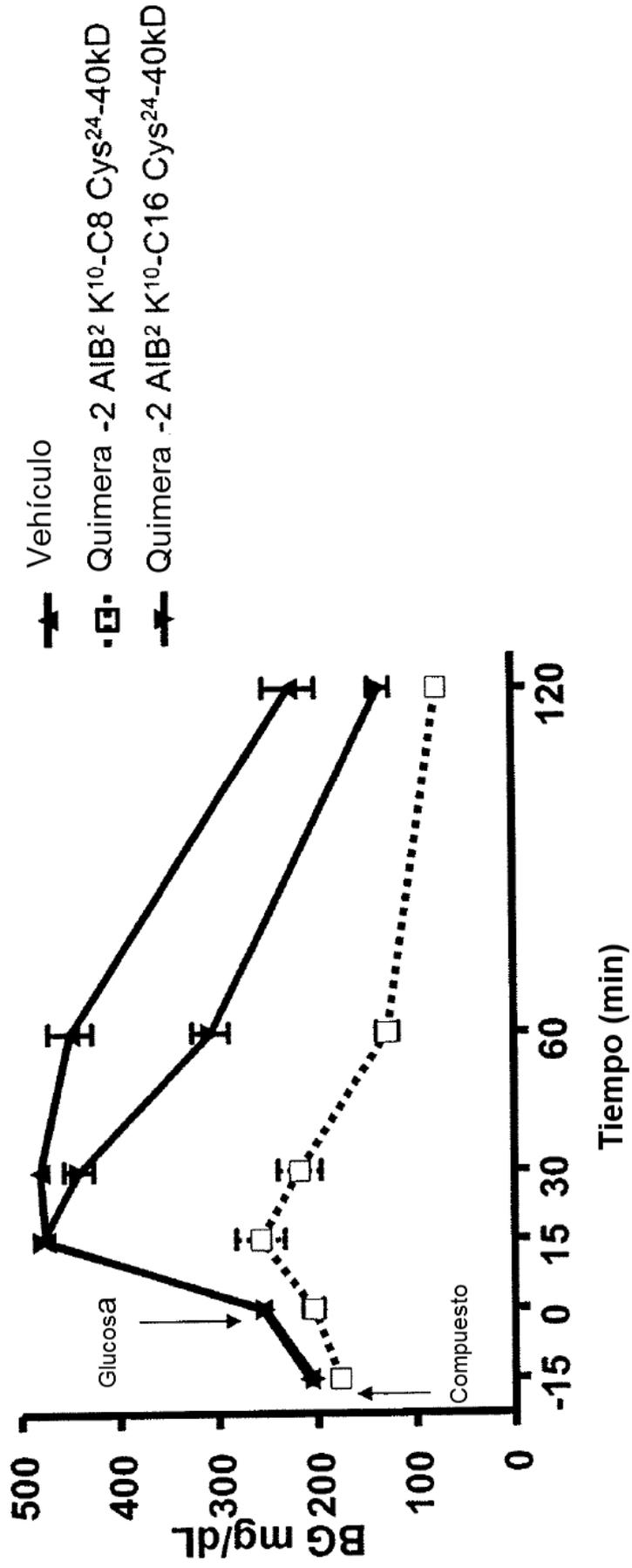


Figura 17

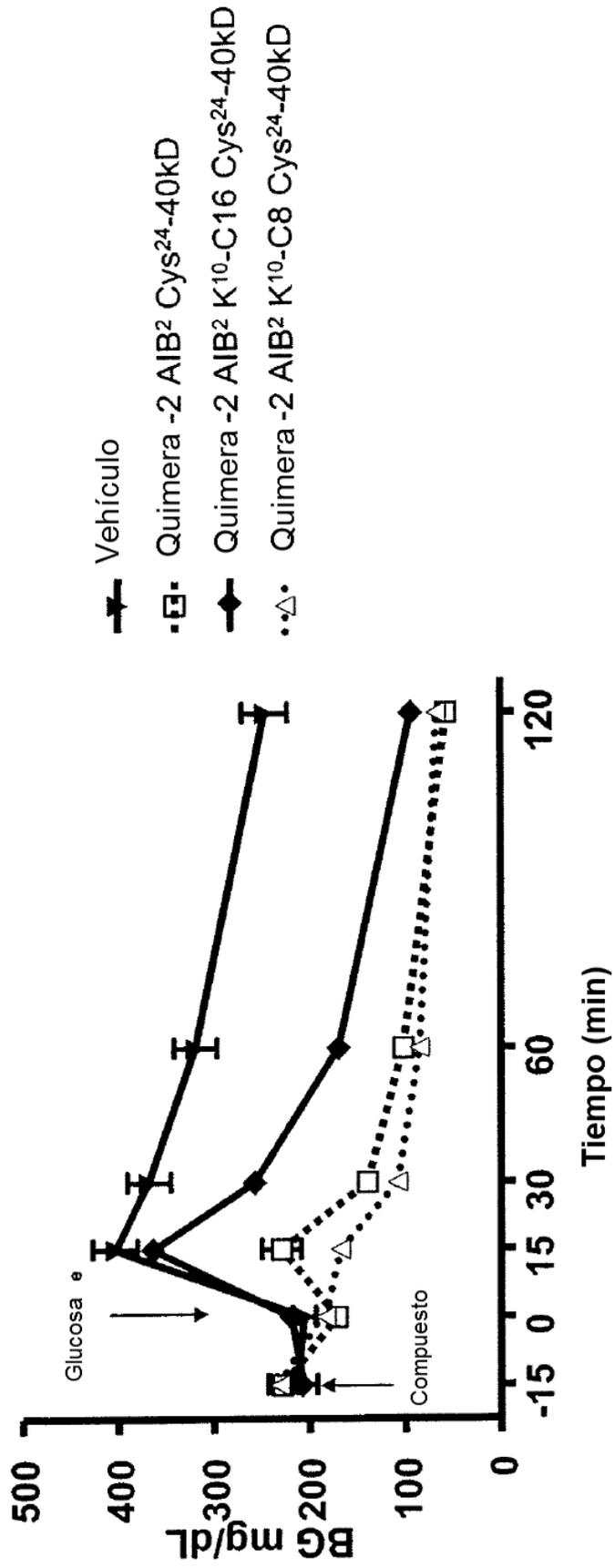


Figura 18

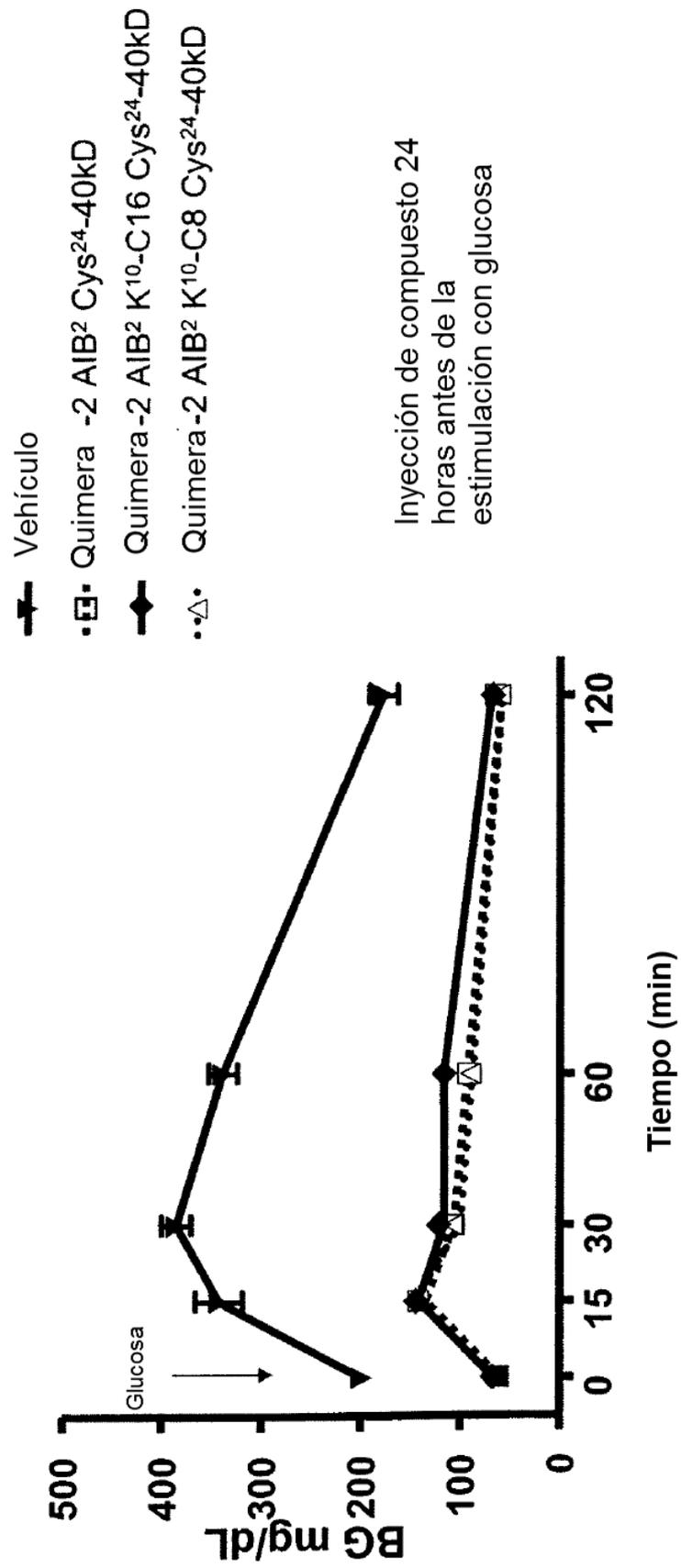


Figura 19

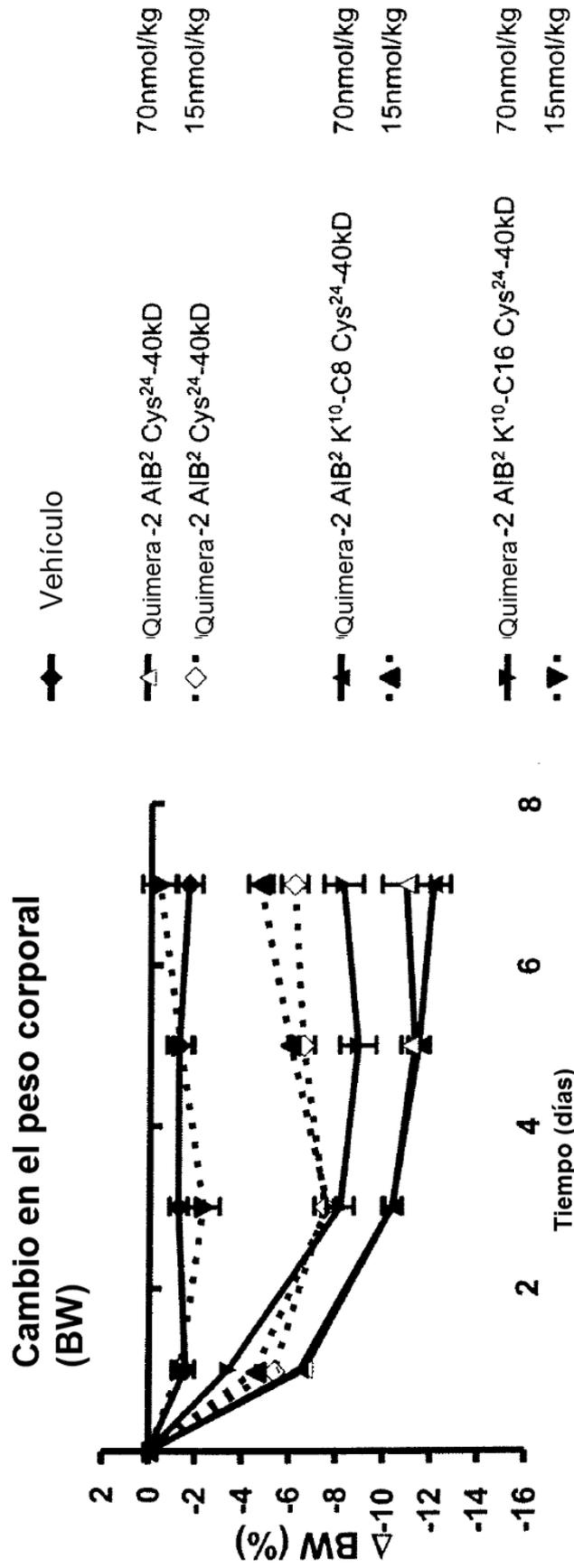


Figura 20

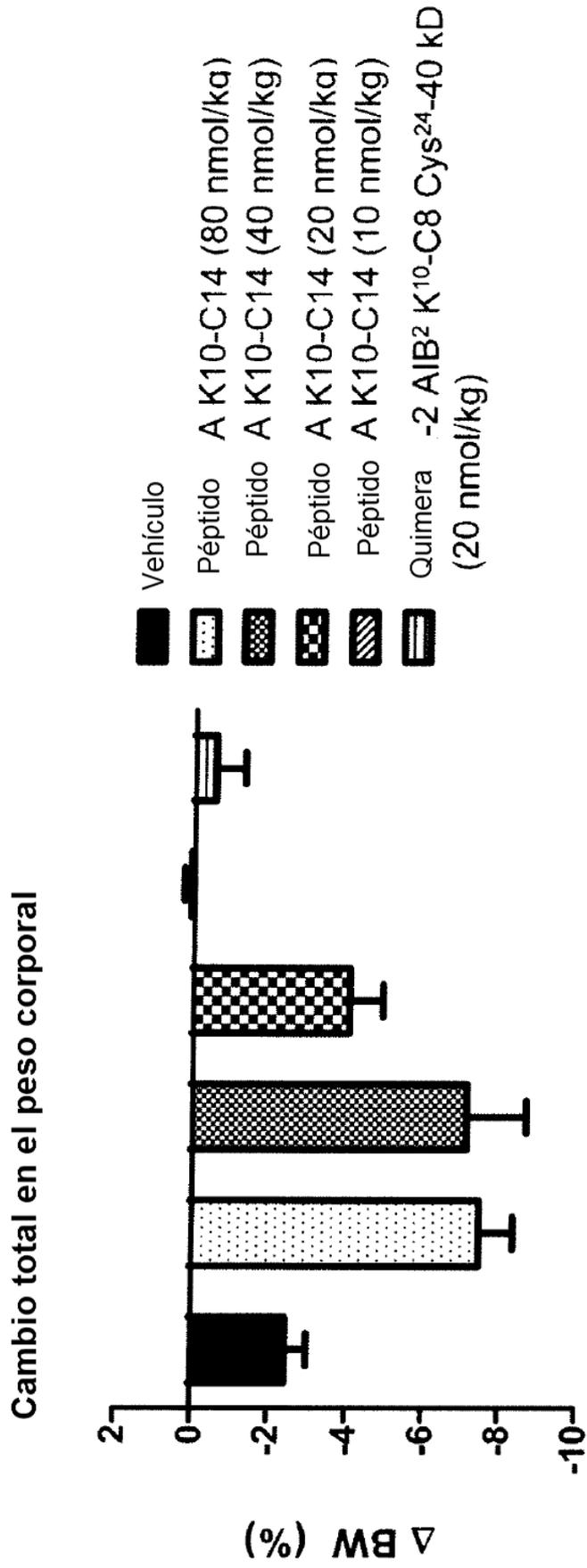


Figura 21

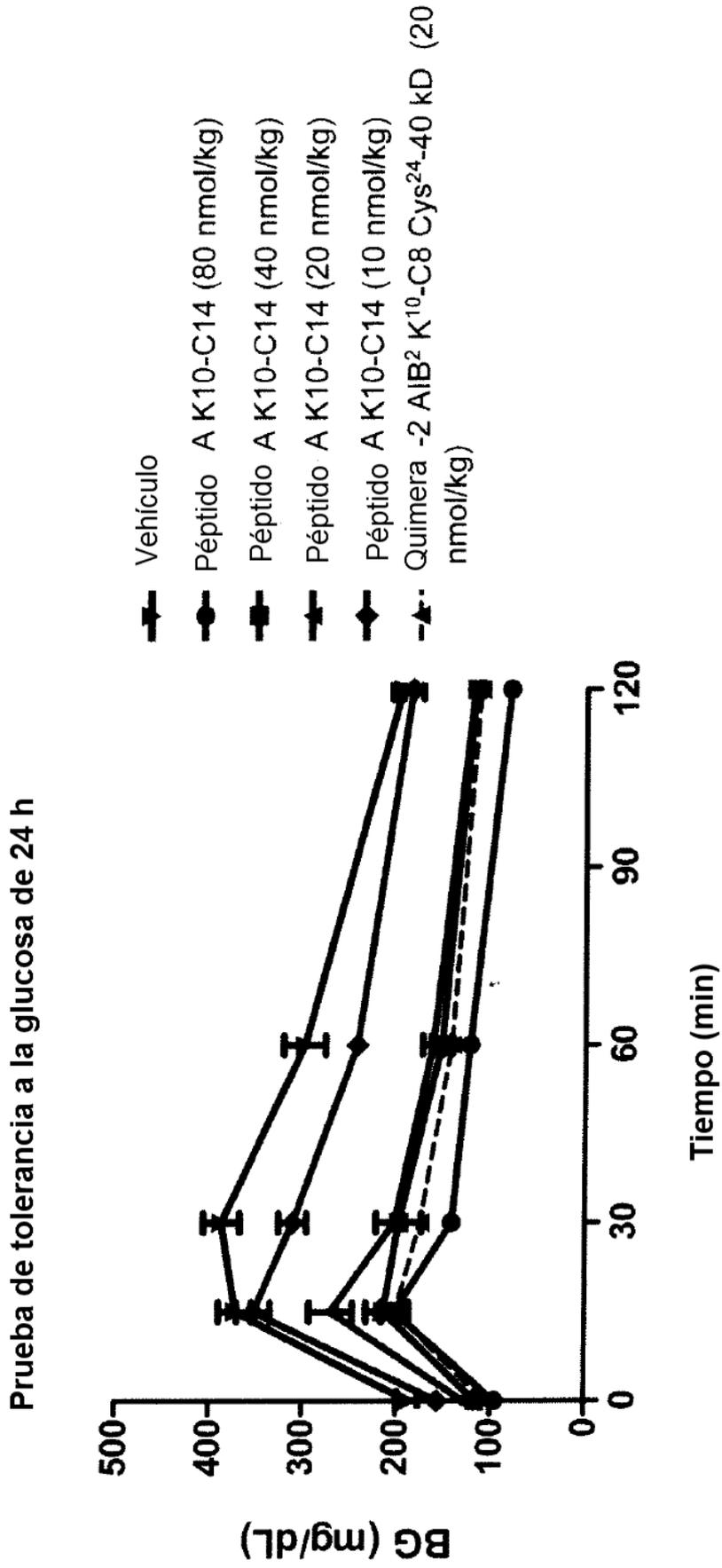


Figura 22

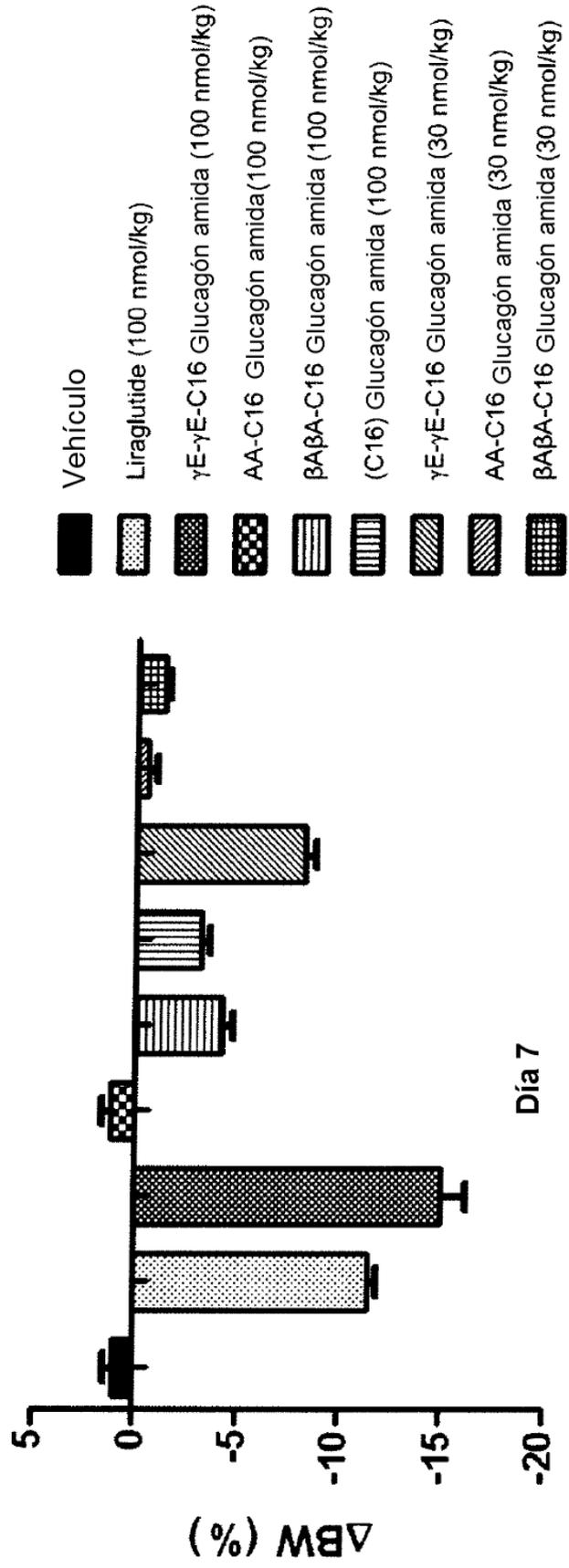


Figura 23

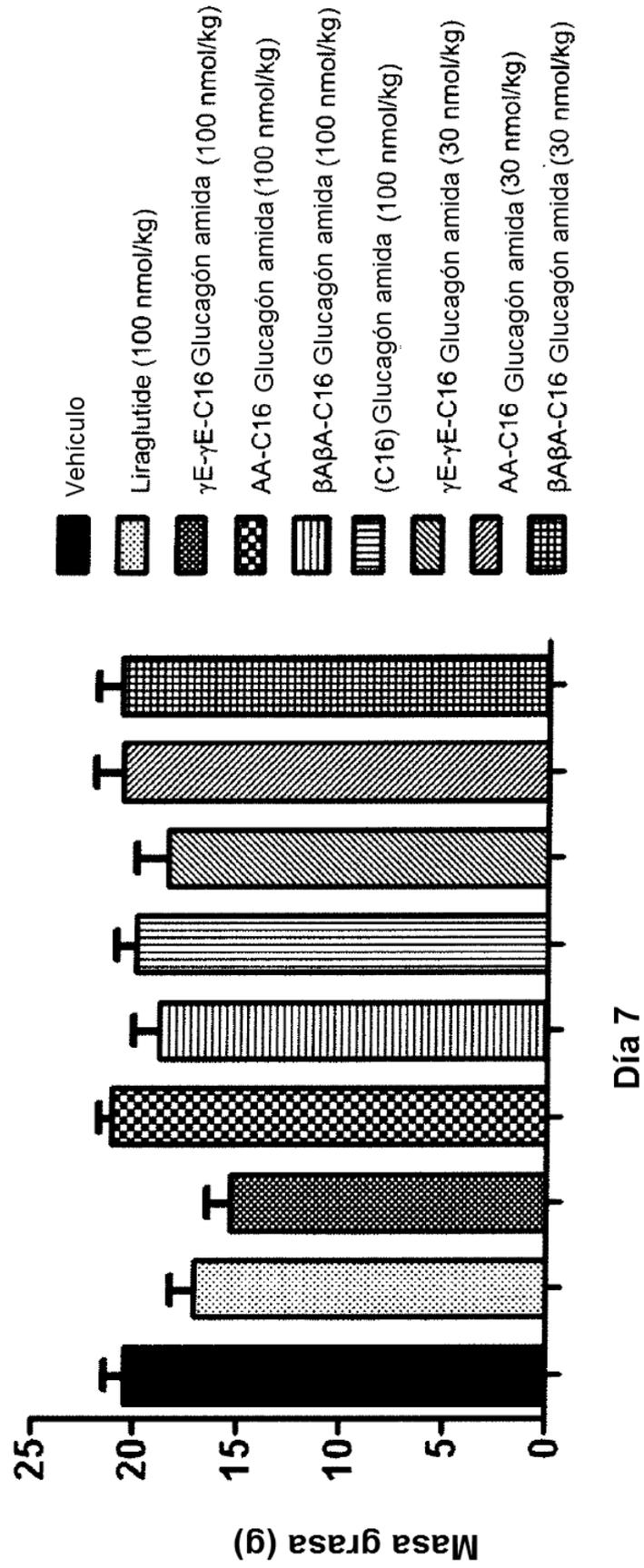


Figura 24

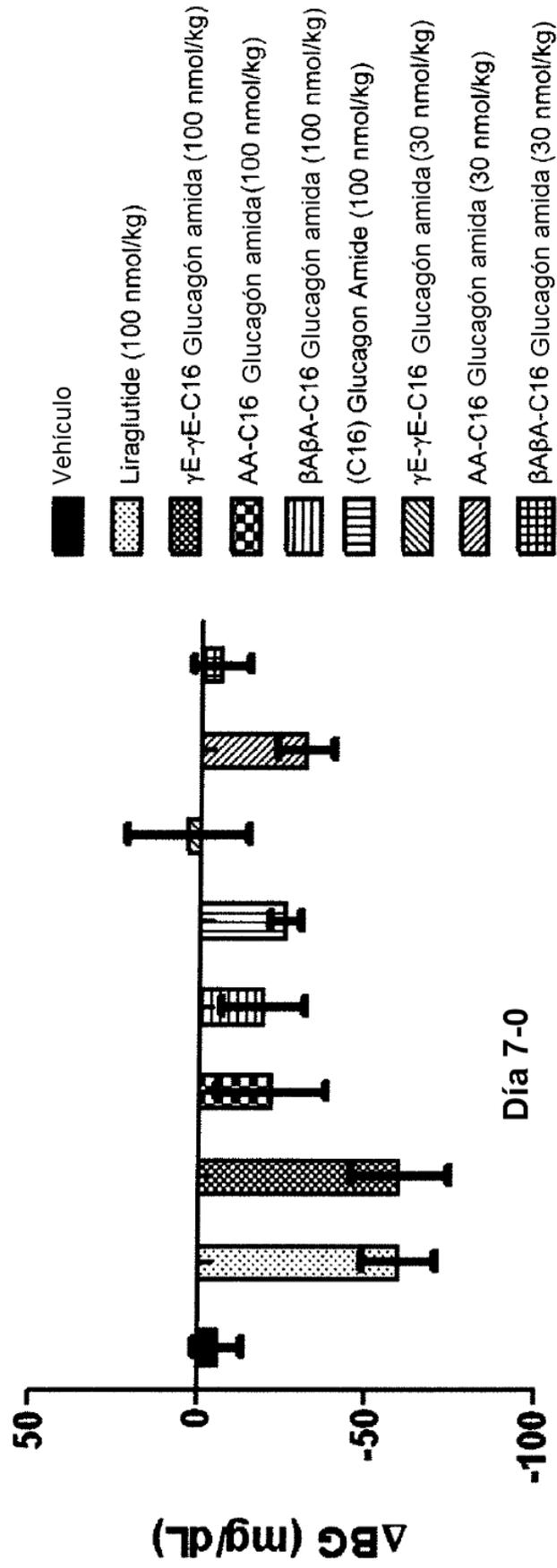


Figura 25

Espectros CD de péptidos PEGilados en fosfato 10 mM pH 5,9

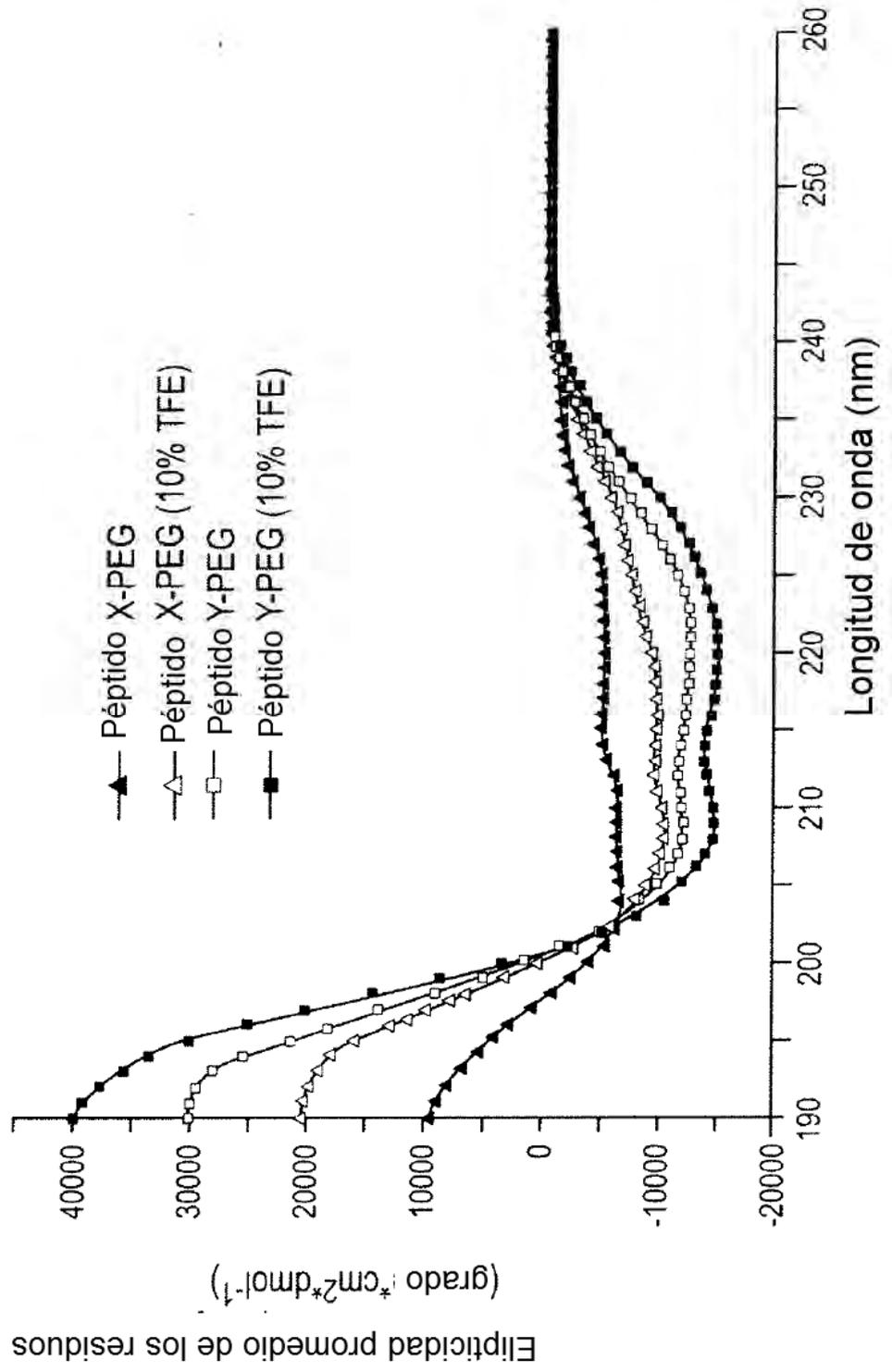


Figura 26

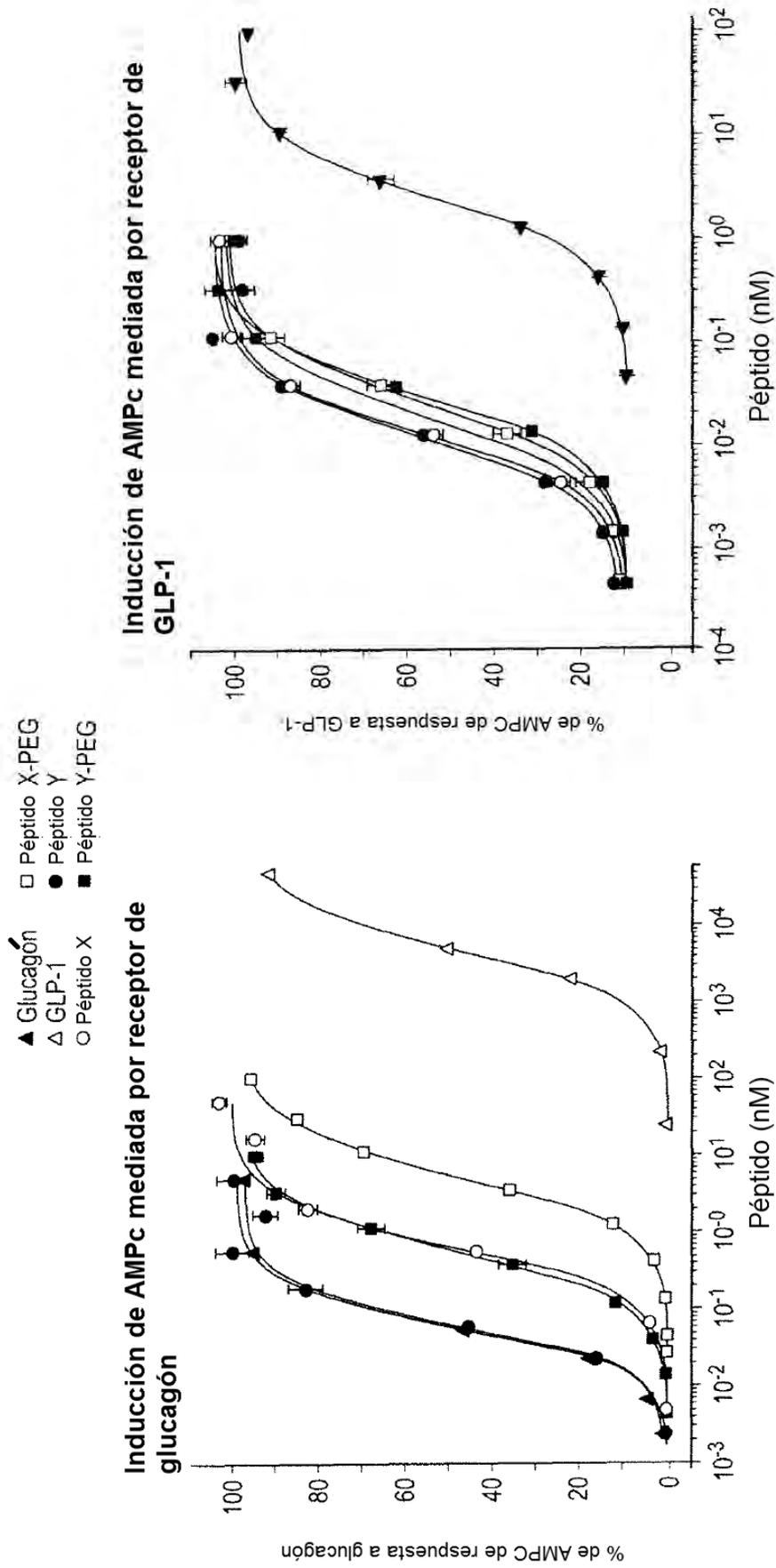


Figura 27

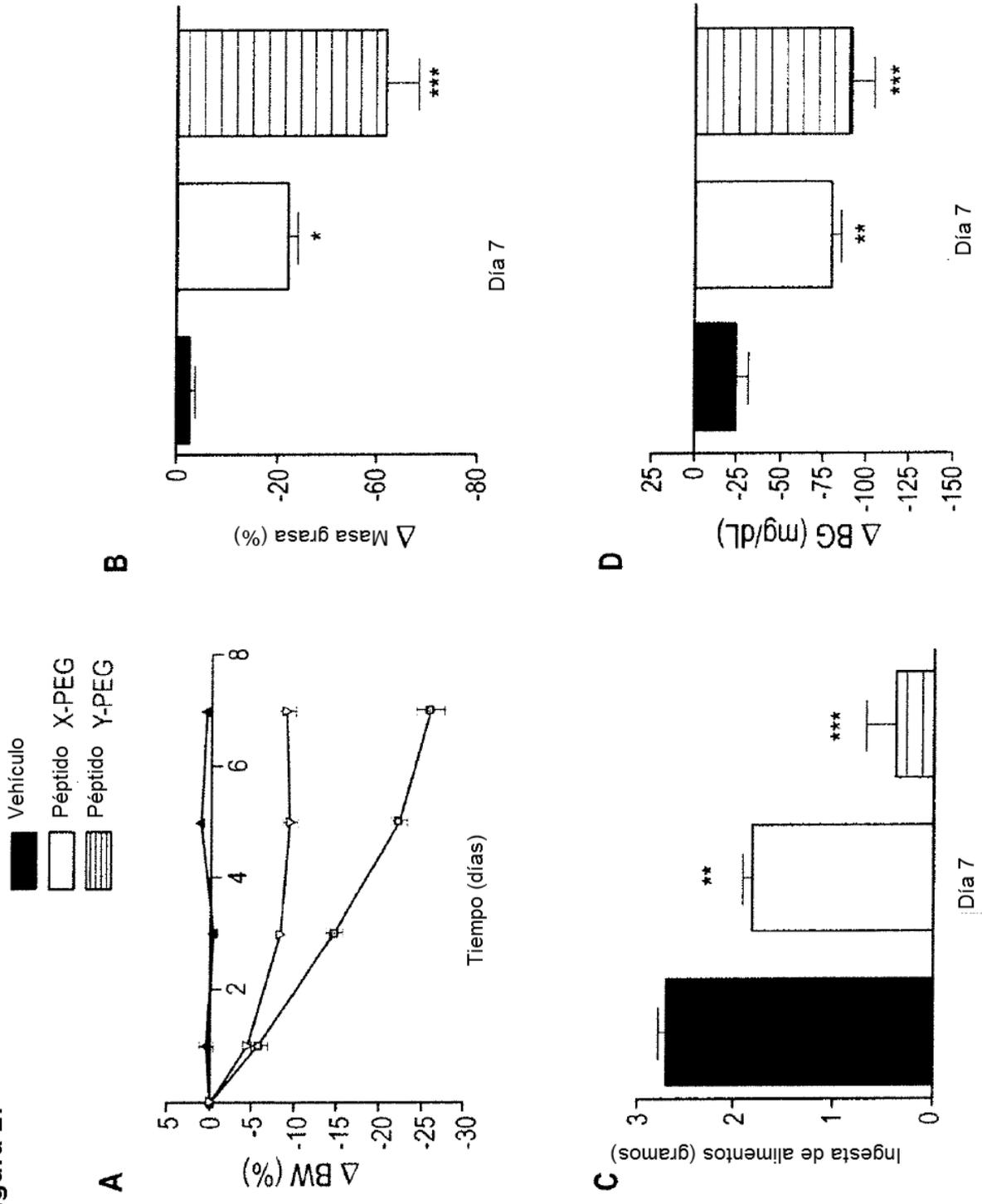
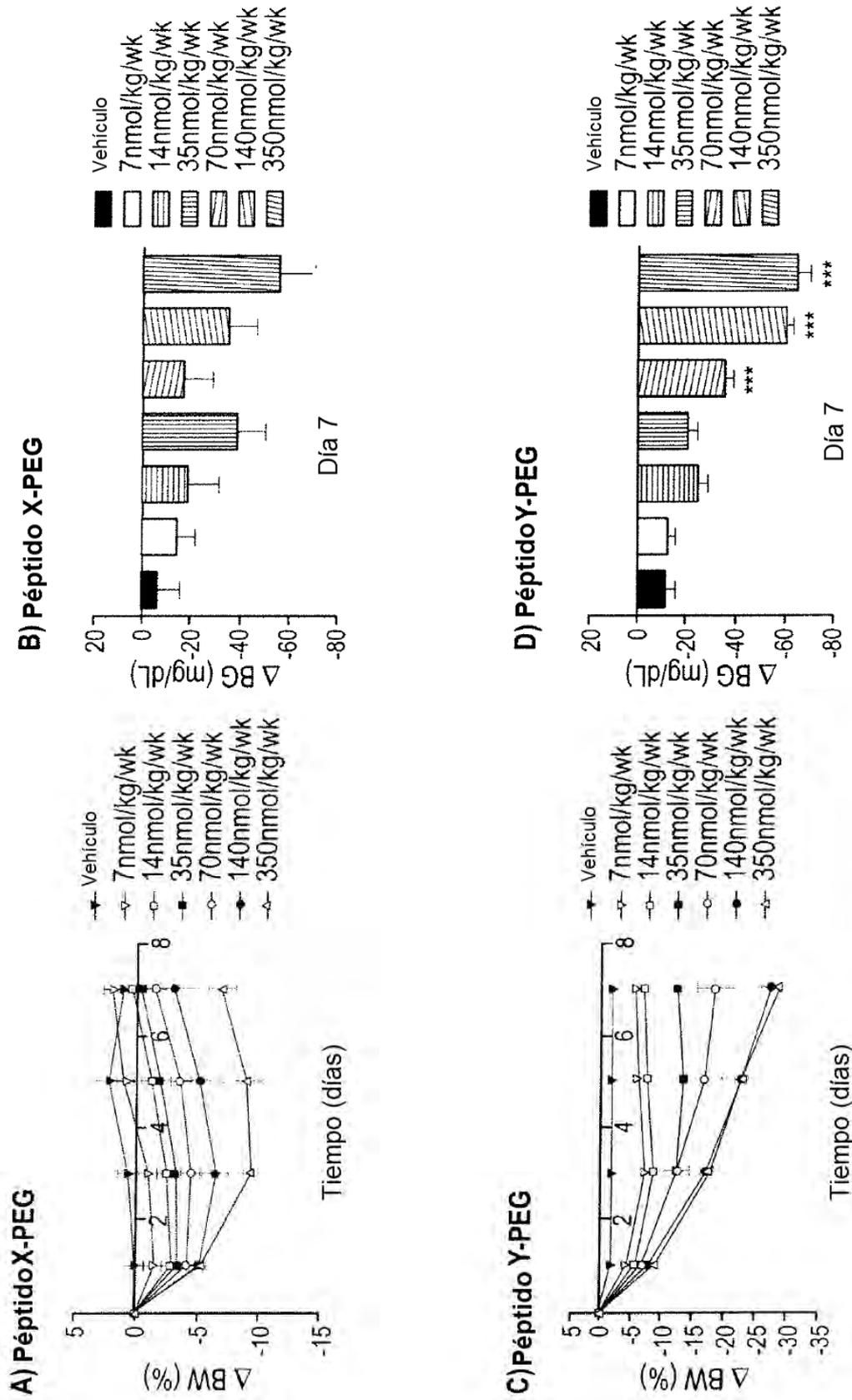


Figura 28



wk = semana

Figura 29

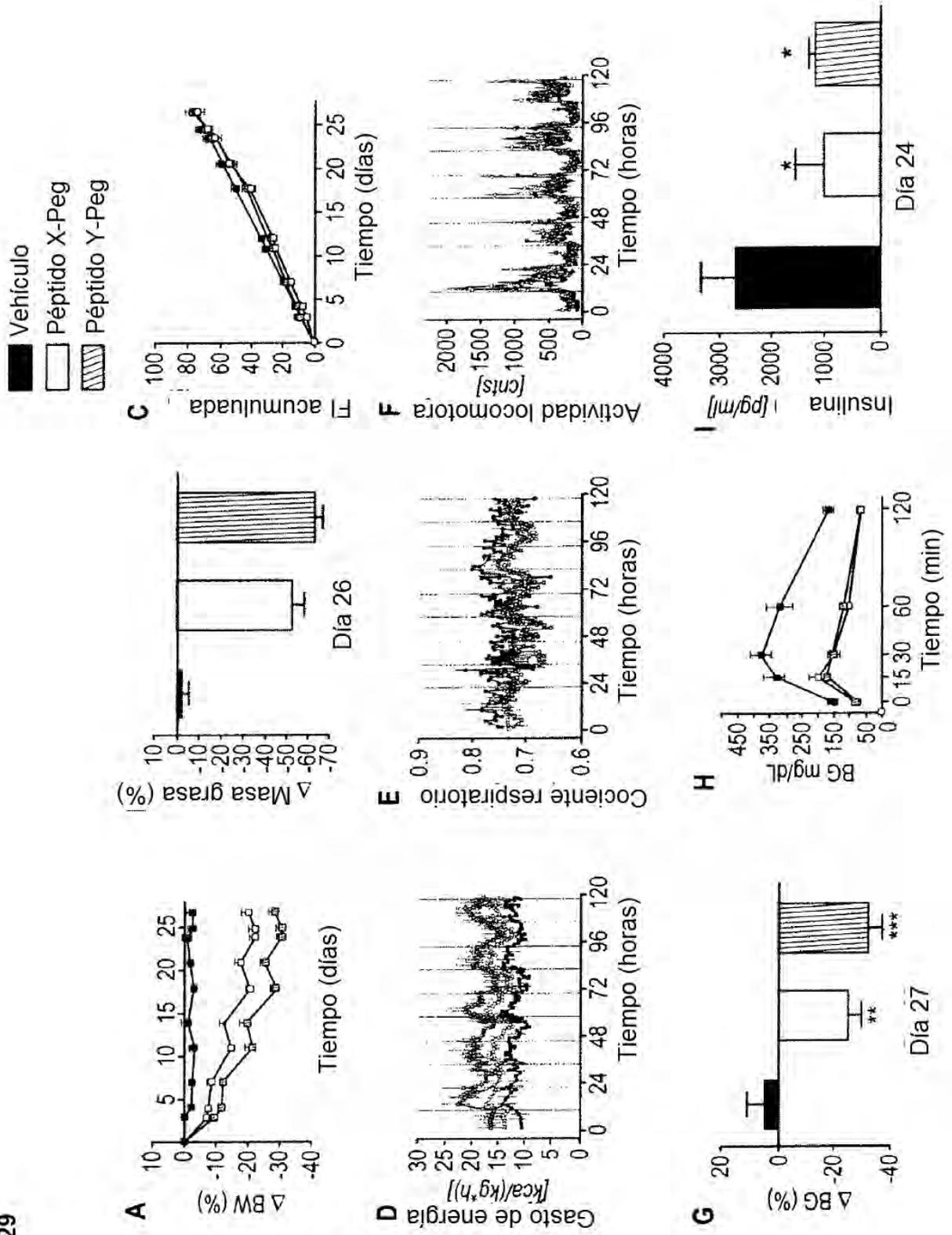


Figura 30

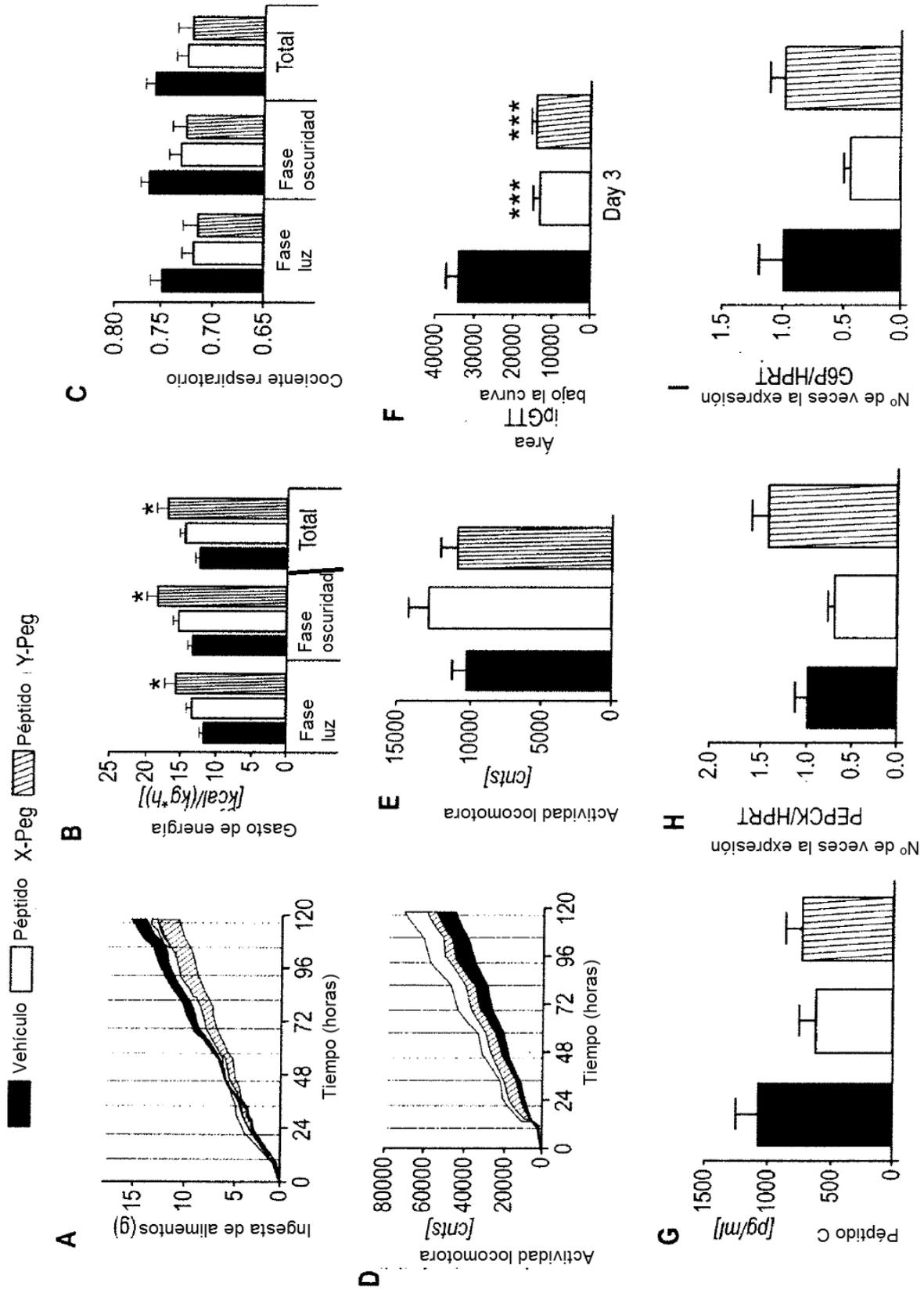


Figura 31

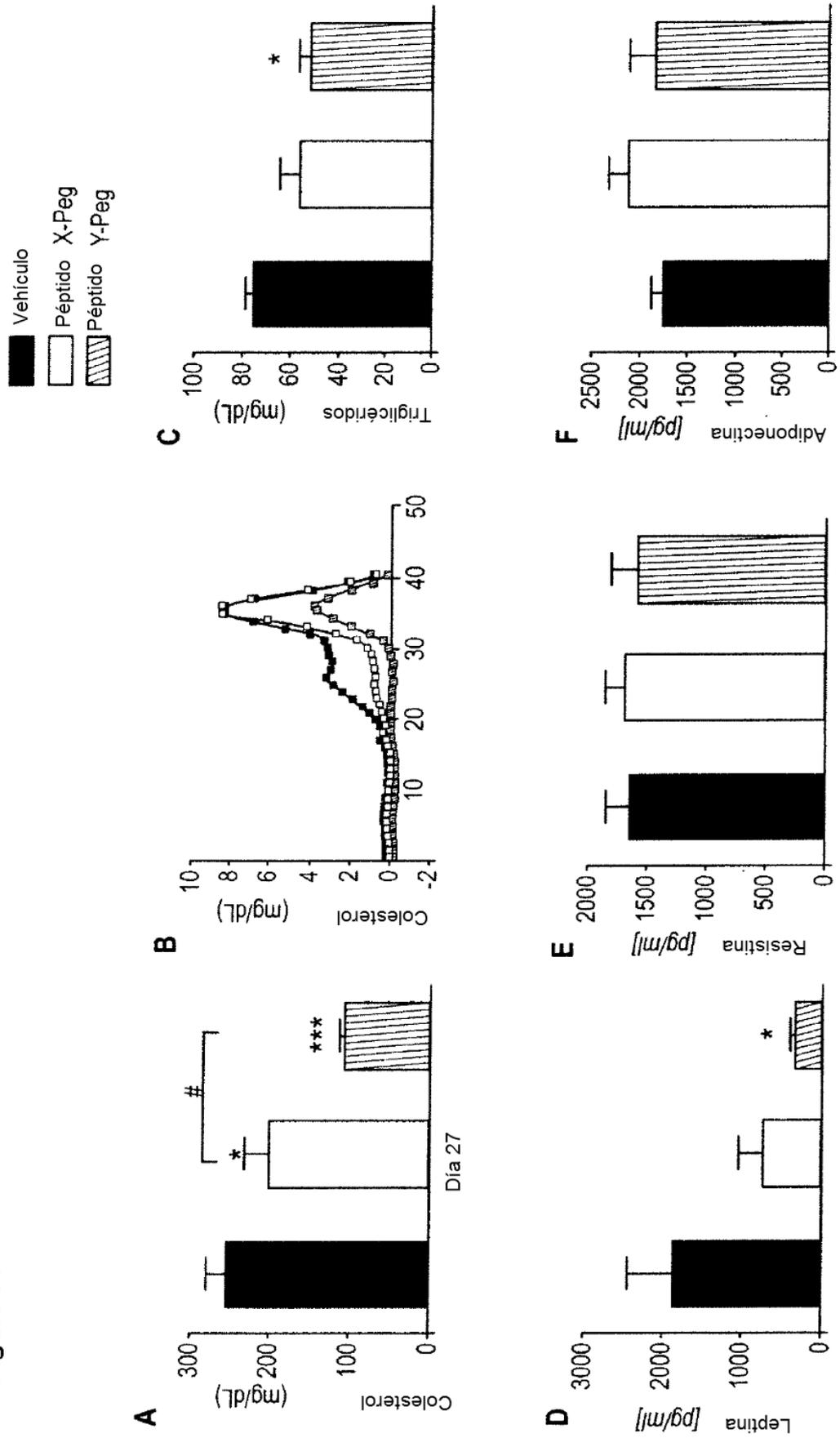
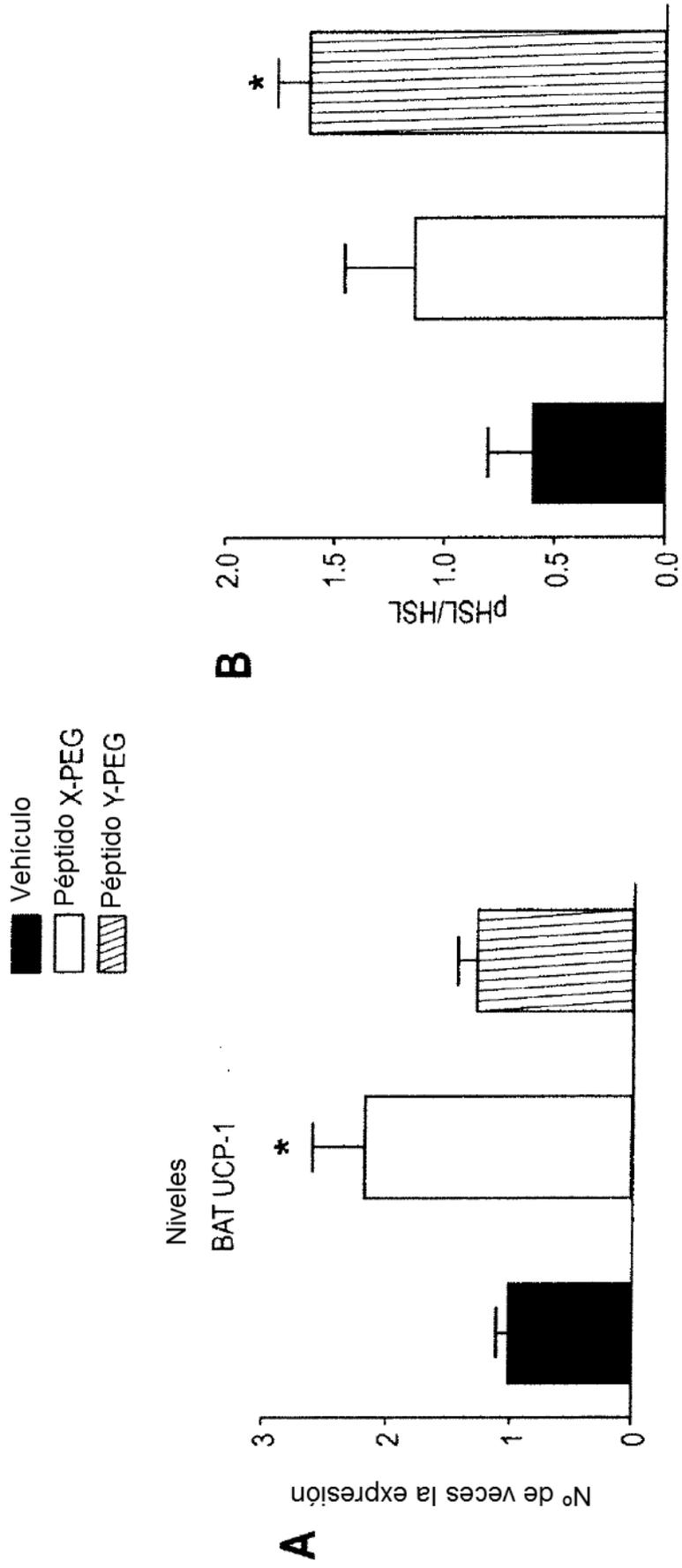


Figura 32



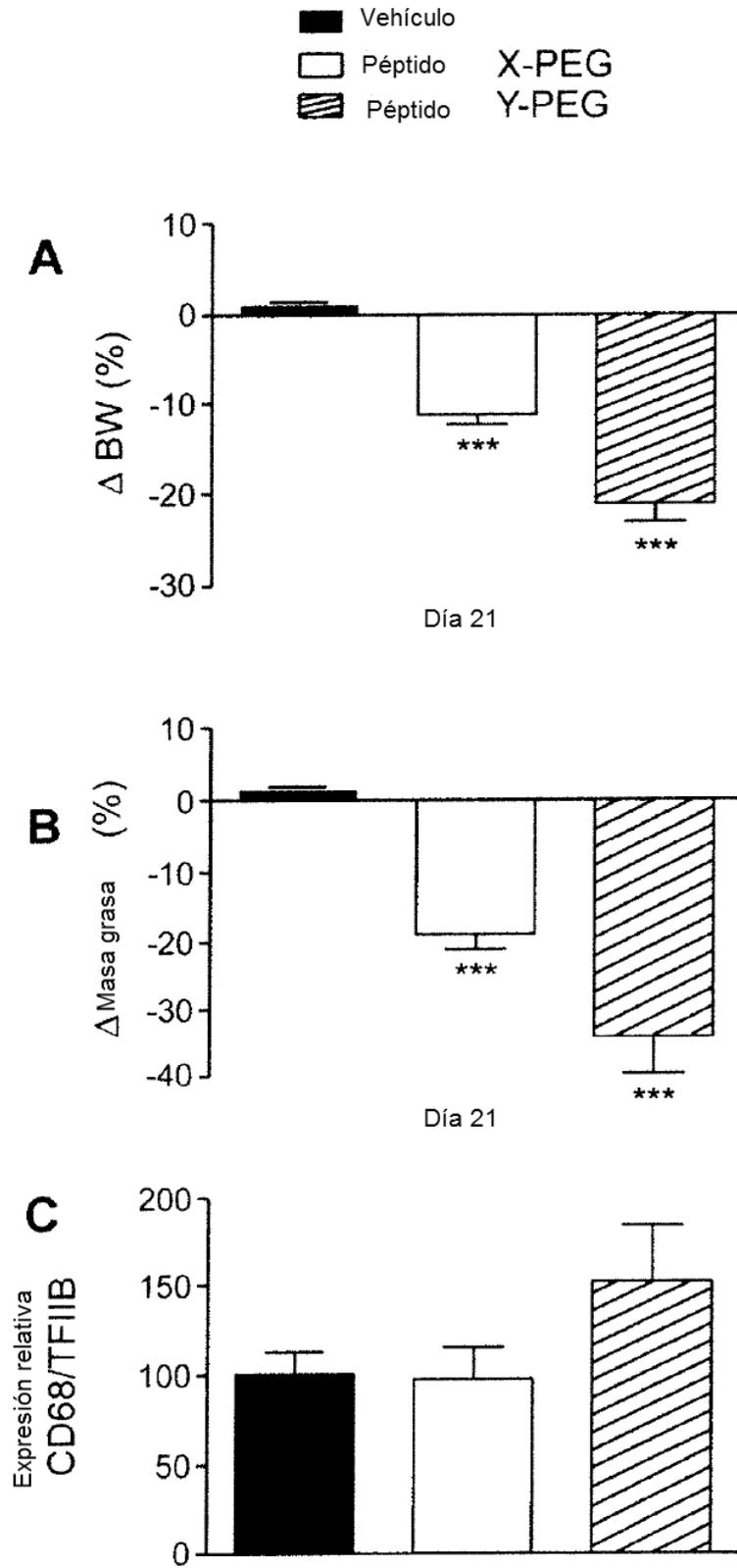


Figura 33

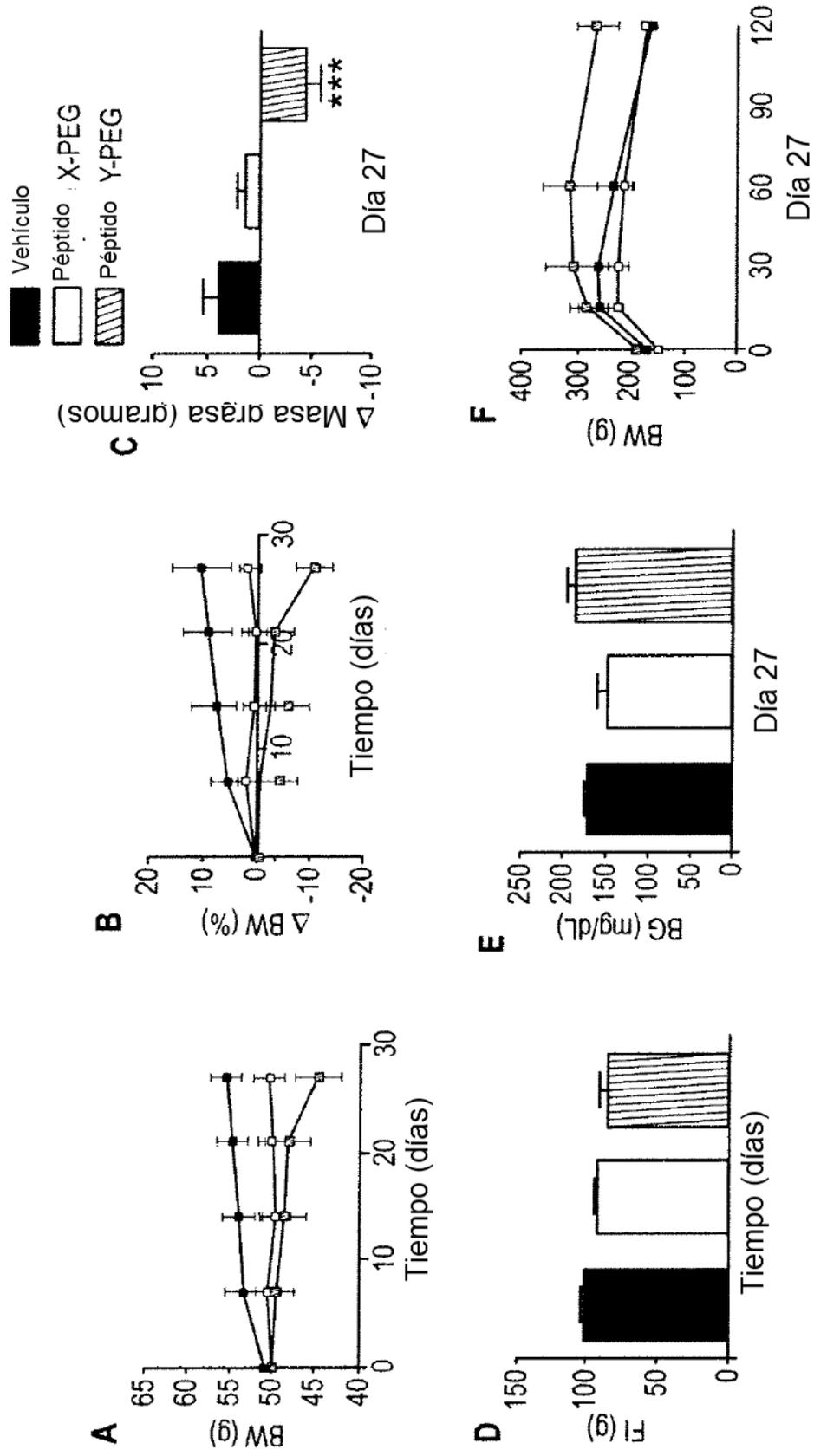


Figura 34

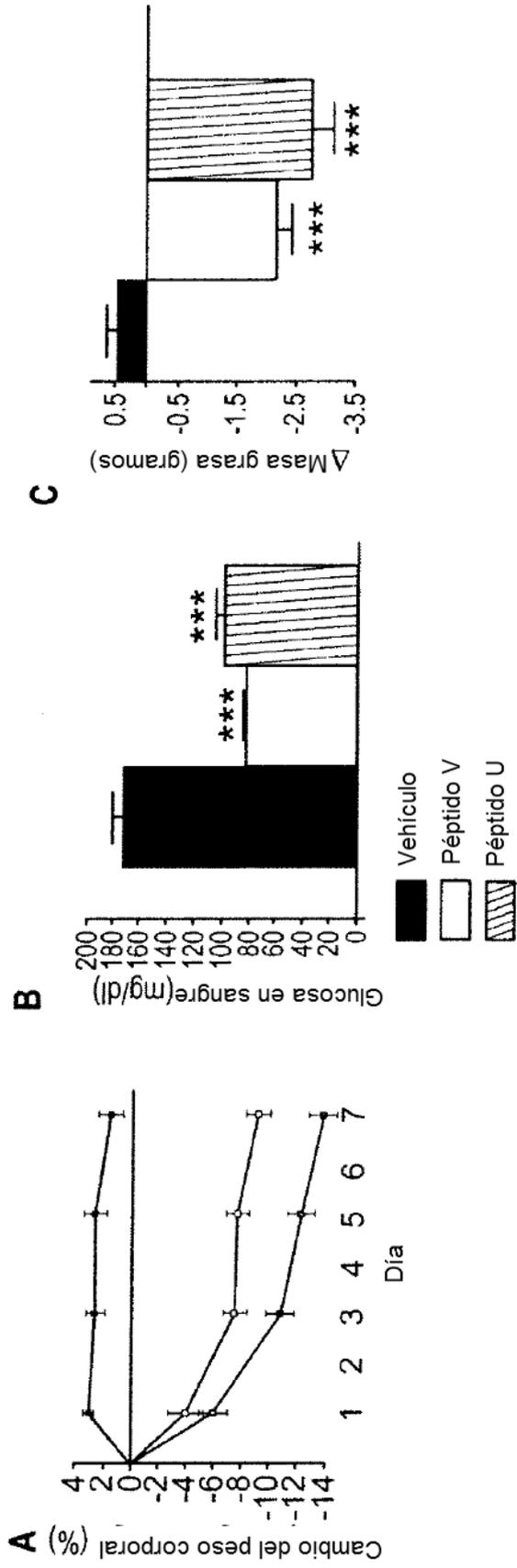


Figura 35