

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 612 278**

51 Int. Cl.:

A01N 43/90 (2006.01)

A01N 61/00 (2006.01)

A01P 3/00 (2006.01)

A61K 38/26 (2006.01)

C07K 14/065 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.04.2012 PCT/EP2012/056642**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.10.2012 WO12140117**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.04.2012 E 12713164 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.10.2016 EP 2696687**

54 Título: **Derivados de GLP-1 doble-acilados**

30 Prioridad:

12.04.2011 EP 11162087

13.04.2011 US 201161474913 P

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

16.05.2017

73 Titular/es:

NOVO NORDISK A/S (100.0%)

Novo Allé

2880 Bagsværd, DK

72 Inventor/es:

WIECZOREK, BIRGIT;

SPETZLER, JANE;

KRUSE, THOMAS;

LINDEROTH, LARS y

KOFOED, JACOB

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 612 278 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

Derivados de GLP-1 doble-acilados

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a derivados de análogos del péptido 1 semejante al glucagón (GLP-1), más en particular a derivados de GLP-1 doble-acilados en K²⁷ y en otro residuo K del péptido, y a su uso farmacéutico.

10 **Antecedentes**

El Journal of Medicinal Chemistry (2000), vol. 43, no. 9, pp. 1664-1669 da a conocer derivados de GLP-1 (7-37) incluidos algunos que son doble-acilados.

15 WO 98/08871 A1 da a conocer una serie de derivados de GLP-1 incluidos algunos que son doble-acilados. Liraglutida, un derivado de GLP-1 mono-acilado para ser administrado una sola vez por día que es comercializado desde 2009 por Novo Nordisk A/S, también se da a conocer en WO 98/08871 A1 (Ejemplo 37).

20 WO 99/43706 A1 da a conocer una serie de derivados de GLP-1 mono y doble-acilados incluidos algunos derivados K^{27,26} y K^{27,34}.

WO 06/097537 A2 da a conocer una serie de derivados de GLP-1 incluida semaglutida (Example 4), un derivado de GLP-1 mono-acilado para administrar una vez por semana que está siendo desarrollado por Novo Nordisk A/S.

25 Angewandte Chemie International Edición 2008, vol. 47, pp. 3196-3201 informa el descubrimiento y la caracterización de una clase de derivados del ácido 4-(p-yodofenil)butírico que supuestamente presentan una interacción de unión no covalente estable, tanto con la seroalbúmina de ratón (MSA) como con la seroalbúmina humana (HSA).

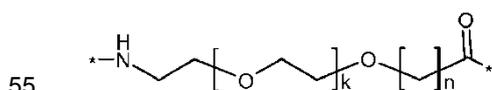
30 **Resumen**

La invención se refiere a derivados de los péptidos GLP-1 según se definen en las reivindicaciones.

35 La presente solicitud da a conocer derivados que son acilados en una lisina que sustituye al ácido glutámico natural en la posición 27, así como en otro residuo de lisina. Las cadenas laterales son fracciones de unión a la albúmina. Comprenden una fracción de prolongación, preferentemente elegida entre diácidos grasos y ácidos grasos con un grupo fenoxi distal, todos opcionalmente sustituidos. Un grupo carboxi del ácido graso o del diácido grasos se acila, opcionalmente a través de un enlazador, a un residuo de lisina del péptido GLP-1, preferentemente en el grupo épsilon-amino de éste.

40 El péptido GLP-1 puede ser un análogo de GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) con un total de hasta diez diferencias de aminoácidos en comparación con GLP-1 (7-37), por ejemplo una o más adiciones, una o más eliminaciones y/o una o más sustituciones.

45 Más en particular, la presente solicitud da a conocer un derivado de un análogo de GLP-1, donde el análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1); un segundo residuo K en una posición correspondiente a la posición T de GLP-1 (7-37), donde T es un número entero en el intervalo 7-37 excepto 18 y 27; y un máximo de diez cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1 (7-37); donde el primer residuo K se denomina K²⁷, y el segundo residuo K se denomina K^T; donde el derivado comprende dos fracciones de unión a la albúmina unidas a K²⁷ y K^T, respectivamente, a través de un enlazador, donde cada fracción de unión a la albúmina comprende una fracción de prolongación que se elige entre HOOC-(CH₂)_x-CO-* y HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-*, donde x es un número entero en el intervalo 6-16, e y es un número entero en el intervalo 3-17, y donde el enlazador consiste en un elemento enlazador de fórmula Quím. 5:



donde k es un número entero en el intervalo 1-5, y n es un número entero en el intervalo 1-5; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

60 La invención también da a conocer dicho derivado para usar como un medicamento, en particular para usar para el tratamiento y/o la prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, como trastornos de la alimentación, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas,

enfermedad crítica, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar los parámetros lipídicos, mejorar la función de las células β , y/o para retrasar o evitar el avance de la enfermedad diabética.

5 La invención da a conocer además productos intermedios en forma de nuevos análogos GLP-1, que son pertinentes para la preparación de ciertos derivados de la invención.

10 Los derivados la invención son biológicamente activos. Asimismo, o alternativamente, tienen un perfil farmacocinético prolongado. Asimismo, o alternativamente, son estables frente a la degradación por las enzimas gastrointestinales. Asimismo, o alternativamente, tienen una elevada biodisponibilidad oral. Estas propiedades son importantes en el desarrollo de la nueva generación de compuestos GLP-1 para la administración subcutánea, intravenosa y/o en particular oral.

Descripción

15 En lo que sigue, las letras griegas pueden ser representadas por su símbolo o el nombre escrito correspondiente, por ejemplo: α = alfa; β = beta; ϵ = épsilon; γ = gamma; ω = omega; etc. Asimismo, la letra griega μ puede ser representada por "u", por ejemplo en $\mu I=ul$, o en $\mu M=uM$.

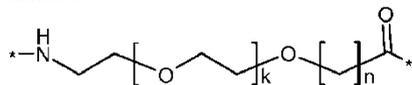
20 Un asterisco (*) en una fórmula química designa i) un punto de unión, ii) un radical, y/o iii) un electrón sin compartir.

25 En un primer aspecto, la invención se refiere a un derivado de un análogo GLP-1, donde el análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1); un segundo residuo K en una posición correspondiente a la posición T de GLP-1(7-37), donde T es un número entero en el intervalo 7-37 excepto 18 y 27; y un máximo de diez cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1 (7-37); donde el primer residuo K se denomina K^{27} , y el segundo residuo K se denomina K^T ; donde el derivado comprende dos fracciones de unión a la albúmina unidas a K^{27} y K^T , respectivamente, a través de un enlazador, donde la fracción de unión a la albúmina comprende una fracción de prolongación que se elige entre la Quím. 1 y la Quím. 2:



35 en las cuales x es un número entero en el intervalo 6-16, e y es un número entero en el intervalo 3-17, y el enlazador consiste en la Quím. 5:

Quím 5



40 donde k es un número entero en el intervalo 1-5, y n es un número entero en el intervalo 1-5; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

Análogos GLP-1

45 La expresión "análogo GLP-1" o "análogo de GLP-1" según se usa en este documento se refiere a un péptido, o un compuesto, que es una variante del péptido-1 semejante al glucagón humano (GLP-1 (7-37)), cuya secuencia está incluida en el listado de secuencias como SEC. ID N°: 1. El péptido que tiene la secuencia de SEC. ID N°: 1 también se puede denominar GLP-1 "natural".

50 En el listado de secuencias, al primer residuo de aminoácidos de SEC. ID N°: 1 (histidina) se le asigna el N° 1. Sin embargo, en lo que sigue, de conformidad con la práctica establecida en el área, este residuo de histidina se conoce como N° 7, y los residuos de aminoácidos siguientes se numeran concordantemente, finalizando con la glicina N° 37. Por lo tanto, generalmente, cualquier referencia en este documento a un número de un residuo de aminoácido o al número de una posición de la secuencia de GLP-1 (7-37) se hace con relación a la secuencia que comienza con His en la posición 7 y termina con Gly en la posición 37.

60 Los análogos GLP-1 de los derivados de la invención de pueden describir por referencia a i) el número del residuo de aminoácido en GLP-1 (7-37) natural que corresponde al residuo de aminoácido que se cambia (es decir la posición correspondiente en GLP-1 natural), y a ii) el cambio real. Los siguientes son ejemplos no limitantes de nomenclatura análoga adecuada.

Un ejemplo no limitante de un análogo GLP-1 del derivado de la invención es un análogo que se cambia para que

comprenda un primer residuo de lisina en una posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1 (7-37), y un segundo residuo de lisina en la posición 12. La secuencia de aminoácidos de este análogo es por lo demás idéntica a la de GLP-1 natural, y este análogo se puede denominar K¹²,K²⁷-GLP-1(7-37). Esta denominación representa la secuencia de aminoácidos de GLP-1 natural donde la fenilalanina en la posición 12 ha sido sustituida por lisina, y el ácido glutámico en la posición 27 ha sido sustituido por lisina.

El análogo GLP-1 que forma parte del derivado de la invención comprende un máximo de diez cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1 (7-37) natural (SEC. ID N°: 1). En otras palabras, es un péptido GLP-1 (7-37) en el cual el número de residuos de aminoácidos ha cambiado en comparación con GLP-1 (7-37) natural (SEC. ID N°: 1). Estos cambios pueden representar, independientemente, una o más sustituciones, adiciones y/o eliminaciones de aminoácidos.

Los siguientes son ejemplos no limitantes de nomenclatura análoga adecuada.

Por ejemplo, el análogo [Aib8,Lys22,Val25,Arg26,Lys27,His31,Arg34]-GLP-1-(7-37) designa un péptido GLP-1 (7-37), el cual, cuando se compara con GLP-1 natural, tiene las sustituciones siguientes: Sustitución de la alanina en la posición 8 con Aib (ácido α -aminoisobutírico), de la glicina en la posición 22 con lisina, de la alanina en la posición 25 con valina, de la lisina en la posición 26 con arginina, del ácido glutámico en la posición 27 con lisina, del triptófano en la posición 31 con histidina y de la lisina en la posición 34 con arginina. Este análogo también puede ser denominado brevemente (8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34R).

Como otro ejemplo, el análogo [Aib8,Lys20,Glu22,Arg26,Lys27,Glu30,Gly34]-GLP-1-(7-34) indica un péptido GLP-1 (7-37), el cual, cuando se compara con GLP-1 natural, cambia por sustitución de la alanina en la posición 8 con Aib, sustitución de la leucina en la posición 20 con lisina, sustitución de la glicina en la posición 22 con ácido glutámico, sustitución de la lisina en la posición 26 con arginina, sustitución del ácido glutámico en la posición 27 con lisina, sustitución de la alanina en la posición 30 con ácido glutámico, sustitución de la lisina en la posición 34 con glicina, y por eliminación de glicina-arginina-glicina C-terminales en las posiciones 35-36-37. Este análogo también se puede denominar brevemente (8Aib, 20K, 22E, 26R, 27K, 30E, 34G, des35-37), donde la referencia a GLP-1 (7-37) está implícita, y "des" representa una eliminación.

Como otro ejemplo más, un análogo que comprende Glu³⁸ y Gly³⁹ se refiere a un péptido GLP-1(7-37), el cual, cuando se compara con GLP-1 natural, comprende una adición del dipéptido de (ácido glutámico-glicina) en el extremo C-terminal de GLP-1 (7-37). Este análogo también se puede decir brevemente que comprende (38E, 39G), donde la referencia a GLP-1 (7-37) está implícita.

Los análogos "que comprenden" ciertos cambios especificados pueden comprender otros cambios, cuando se comparan con SEC. ID N°: 1. Un ejemplo, no limitante, de un análogo que comprende (38E, 39G) es el péptido parte de Quím. 51.

Como resulta evidente de los ejemplos anteriores, los residuos de aminoácidos se pueden identificar por sus nombres completos, sus códigos de una letra y/o sus códigos de tres letras. Estas tres maneras son totalmente equivalentes.

Se pueden usar las expresiones "una posición equivalente a" o "posición correspondiente" para caracterizar al sitio de cambio en una secuencia variante de GLP-1 (7-37) por referencia a GLP-1 (7-37) natural (SEC. ID N°: 1). Las posiciones equivalentes o correspondientes, así como el número de cambios, se deducen fácilmente por ejemplo, mediante simple escritura a mano y examinando de cerca; y/o se puede utilizar un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos, como por ejemplo "align" que es una alineación de Needleman-Wunsch. El algoritmo se describe en Needleman, S.B. y Wunsch, C.D., (1970), Journal of Molecular Biology, 48: 443-453, y el programa de alineación descrito por Myers y W. Miller en "Optimal Alignments in Linear Space" CABIOS (aplicaciones informáticas en las biociencias) (1988) 4:11-17. Para la alineación, se puede usar la matriz de puntuación predeterminada BLOSUM50 y la matriz de identidad predeterminada, y la penalización por el primer residuo en un hueco se puede fijar en -12 o preferentemente en -10, y las penalizaciones para residuos adicionales en un hueco en -2, o preferentemente en -0.5.

Un ejemplo de dicha alineación se inserta a continuación, en el cual la secuencia N° 1 (SEQ_ID_NO_1) es SEC. ID N°: 1, y la secuencia N° 2 (ANÁLOGO) es su análogo (22K, 26R, 27K, 30E, 34G, des35-37):

```
# Secuencias_alineadas: 2
# 1: SEQ_ID_NO_1
# 2: ANÁLOGO
# Matriz: EBLOSUM62
# Penalización_hueco: 10.0
# Extender_penalización: 0.5
```


 # Longitud: 31
 # Identidad: 23/31 (74.2%)
 # Similitud: 25/31 (80.6%)
 # Huecos: 3/31 (9.7%)
 # Puntuación: 117.0
 #

5

SEQ_ID_NO_1 1 HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG 31

|||||.....|:|.|||.

ANALOGUE 1 HAEGTFTSDVSSYLEKQAARKFIEWLVG--- 28

10 En el caso de incluir en la secuencia aminoácidos no naturales como Aib, éstos pueden, a los efectos de la alineación, ser reemplazados por X. Si se desea, X puede ser corregida manualmente más tarde.

15 El término "péptido", como se usa por ejemplo en el contexto de los análogos GLP-1 de los derivados de la invención, se refiere a un compuesto que comprende una serie de aminoácidos interconectados por enlaces amida (o peptídicos).

20 Los péptidos de la invención comprenden al menos cinco aminoácidos constituyentes conectados por enlaces peptídicos. En realizaciones particulares, el péptido comprende al menos 10, preferentemente al menos 15, más preferentemente al menos 20, aún más preferentemente al menos 25 o muy preferentemente al menos 28 aminoácidos.

25 En realizaciones particulares, el péptido está compuesto por al menos cinco aminoácidos constituyentes, compuesto preferentemente por al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, o compuesto muy preferentemente por al menos 28 aminoácidos.

En otras realizaciones particulares, el péptido a) está compuesto por, o b) consiste en, i) 28, ii) 29, iii) 30, iv) 31, v) 32 o vi) 33 aminoácidos.

30 Aún en otra realización particular, el péptido consiste en aminoácidos interconectados por enlaces peptídicos.

Los aminoácidos son moléculas que contienen un grupo amino y un grupo ácido carboxílico, y, opcionalmente, uno o más grupos adicionales, a menudo conocidos como cadenas laterales.

35 El término "aminoácido" incluye aminoácidos proteinogénicos (codificados por el código genético, que incluye los aminoácidos naturales y los aminoácidos estándar), así como los aminoácidos no proteinogénicos (que no se encuentran en proteínas y/o no son codificados por el código genético estándar) y los sintéticos. Por lo tanto, los aminoácidos se pueden elegir del grupo de los aminoácidos proteinogénicos, los aminoácidos no proteinogénicos y/o los aminoácidos sintéticos.

40 Los ejemplos no limitantes de aminoácidos que no son codificados por el código genético son gamma-carboxiglutamato, ornitina y fosfoserina. Los ejemplos no limitantes de aminoácidos sintéticos son los isómeros D de los aminoácidos como D-alanina y D-leucina, Aib (ácido α -aminoisobutírico), β -alanina e histidina (desH, nombre alternativo ácido imidazopropiónico, abreviado Imp).

45 En lo siguiente, se debe entender que todos los aminoácidos para los cuales no se indica el isómero óptico son el isómero L (a menos que se especifique lo contrario).

50 Los derivados y análogos de GLP-1 de la invención tienen actividad de GLP-1. Este término se refiere a la capacidad de unirse al receptor de GLP-1 e iniciar una vía de transducción de la señal que resulta en una acción insulínica u otros efectos fisiológicos, como se sabe en el área. Por ejemplo, los análogos y derivados de la invención pueden ser analizados con relación a su actividad de GLP-1 empleando el ensayo descrito en el ejemplo 33. El ensayo de unión al receptor de GLP-1 descrito en el ejemplo 34 también se puede usar para determinar la actividad de GLP-1 (el experimento de HSA baja).

55 Derivados de GLP-1

El término "derivado" según se usa en el contexto de un péptido GLP-1 o un análogo significa un péptido GLP-1 o un análogo modificado químicamente, en el cual uno o más sustituyentes han sido unidos covalentemente al péptido. El sustituyente también se conoce como cadena lateral.

60

5 En una realización particular, la cadena lateral es capaz de formar agregados no covalentes con albúmina, promoviendo así la circulación del derivado con el torrente sanguíneo, y también es capaz de tener el efecto de prolongar el tiempo de acción del derivado, debido al hecho de que el agregado del derivado de GLP-1 y albúmina sólo se desintegra lentamente para liberar el principio activo farmacéutico. Por lo tanto, el sustituyente o cadena lateral, como un todo se conoce preferentemente como una fracción de unión a la albúmina.

10 En otra realización particular la fracción de unión a la albúmina comprende una porción que es particularmente pertinente para la unión de la albúmina y por lo tanto la prolongación, fracción conocida como fracción de prolongación. La fracción de prolongación puede estar en el extremo opuesto, o cerca, de la fracción de unión a la albúmina, con respecto a su punto de unión al péptido.

15 Aun en otra realización particular, la fracción de unión a la albúmina comprende una fracción en medio de la fracción de prolongación y el punto de unión al péptido, fracción conocida como enlazador, fracción enlazadora, espaciador o semejante. El enlazador puede ser opcional, y por consiguiente en ese caso la fracción de unión a la albúmina puede ser idéntica a la fracción de prolongación.

En realizaciones particulares, la fracción de unión a la albúmina y/o la fracción de prolongación es lipófila, y/o cargada negativamente al pH fisiológico (7.4).

20 La fracción de unión a la albúmina, la fracción de prolongación, o el enlazador se pueden unir covalentemente a un residuo de lisina del péptido GLP-1 por acilación.

25 En una realización preferida, un éster activo de la fracción de unión a la albúmina, que comprende preferentemente una fracción de prolongación y un enlazador, se une covalentemente a un grupo amino de un residuo de lisina, preferentemente su grupo épsilon-amino, bajo formación del enlace amida (este proceso se conoce como acilación).

A menos que se indique lo contrario, cuando se hace referencia a la acilación de un residuo de lisina, se entiende que es el grupo épsilon amina de ésta.

30 Un derivado que comprende dos fracciones de prolongación unidas a un primer y a un segundo residuos K (por ejemplo a K²⁷ y K¹) a través de un enlazador, puede ser conocido como un derivado que ha sido acilado dos veces, doble-acilado, o dual acilado en los grupos épsilon-amino del primer y segundo residuos de lisina, por ejemplo en la posición 27 y T, respectivamente, del péptido GLP-1.

35 Para los propósitos de la presente, las expresiones "fracción de unión a la albúmina", "fracción de prolongación" y "enlazador" pueden incluir las formas sin reaccionar y que reaccionaron de estas moléculas. Sea o no una o la otra forma es claro del contexto donde se utiliza el término.

40 En un aspecto, cada fracción de prolongación comprende, o consiste en, una fracción de prolongación elegida independientemente entre la Quím. 1 y la Quím. 2:



45 en las cuales x es un número entero en el intervalo 6-16, e y es un número entero en el intervalo 3-17.

50 En una realización, $^*(\text{CH}_2)_x^*$ se refiere a un alquileo lineal o ramificado, preferentemente lineal, en el cual x es un número entero en el intervalo 6-16.

En otra realización, $^*(\text{CH}_2)_y^*$ se refiere a un alquileo lineal o ramificado, preferentemente lineal, en el cual y es un número entero en el intervalo 3-17.

55 La expresión "ácido graso" se refiere a ácidos alifáticos monocarboxílicos que tienen entre 4 y 28 átomos de carbono, preferentemente no ramificados, y/o de número par, y pueden ser saturados o insaturados.

La expresión "diácido graso" se refiere a ácidos grasos como los definidos antes pero con un grupo ácido carboxílico adicional en la posición omega. Por lo tanto, los diácidos grasos son ácidos dicarboxílicos.

60 La nomenclatura es la habitual en el área, por ejemplo en las fórmulas anteriores $^*\text{-COOH}$ así como HOOC^* se refieren a carboxi; $^*\text{-C}_6\text{H}_4^*$ a fenileno; $^*\text{-CO}^*$, así como $^*\text{-OC}^*$, a carbonilo ($\text{O}=\text{C}^*$); $\text{C}_6\text{H}_5\text{-O}^*$ a fenoxi. En realizaciones particulares, los aromáticos, como los radicales fenoxi y fenileno, pueden ser, independientemente, orto, meta o para.

Como se explicó antes, los derivados de GLP-1 de la presente invención son doble-acilados, es decir dos fracciones de unión a la albúmina están unidas covalentemente al péptido GLP-1.

5 En una realización particular, las dos fracciones de unión a la albúmina (es decir las cadenas laterales enteras) son similares, preferentemente sustancialmente idénticas, o muy preferentemente, idénticas.

En otra realización particular, las dos fracciones de prolongación son similares, preferentemente sustancialmente idénticas, o muy preferentemente, idénticas.

10 Aún en otra realización particular, los dos enlazadores son similares, preferentemente sustancialmente idénticos, o muy preferentemente, idénticos.

15 La expresión "sustancialmente idénticos" incluye diferencias de identidad que son debidas a la formación de una o más sales, uno o más ésteres y/o uno o más amidas; preferentemente la formación de una o más sales, uno o más ésteres de metilo, y uno o más amidas simples; más preferentemente la formación de no más de dos sales, ésteres de metilo, y/o amidas simples; aún más preferentemente la formación de no más de una sal, un éster de metilo, y/o una amida simple; o muy preferentemente la formación de no más de una sal.

20 En el contexto de los compuestos químicos como las fracciones de unión a la albúmina, las fracciones de prolongación y los enlazadores, la similitud y/o identidad se pueden determinar empleando cualquier programa informático y/o algoritmo adecuado, conocido en el área.

25 Por ejemplo, la similitud de dos fracciones de prolongación, dos enlazadores y/o dos cadenas laterales enteras puede ser determinada adecuadamente empleando huellas moleculares. La huella es un método matemático de representar una estructura química (véase, por ejemplo Chemoinformatics: A textbook, Johann Gasteiger y Thomas Engel (Eds), Wiley-VCH Verlag, 2003).

30 Los ejemplos de huellas adecuadas incluyen, sin limitación, huellas UNITY, huellas MDL y/o huellas ECFP, como huellas ECFP_6 (ECFP significa huellas de conectividad extendida).

En realizaciones particulares, las dos fracciones de prolongación, los dos enlazadores y/o las dos cadenas laterales enteras se representan como a) huellas ECFP_6; b) huellas UNITY y/o c) huellas MDL.

35 El coeficiente de Tanimoto se usa preferentemente para calcular la similitud de dos huellas, ya sea que se use a), b) o c).

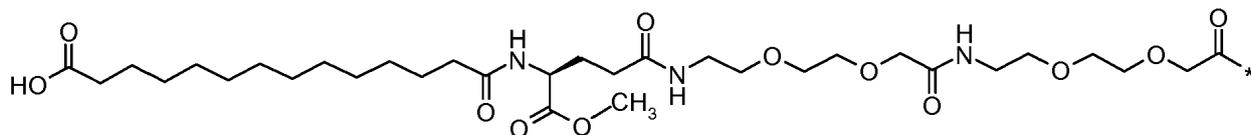
40 En realizaciones particulares, ya sea que se use a), b) o c), las dos fracciones de prolongación, los dos enlazadores, y/o las dos cadenas laterales enteras, respectivamente, tienen una similitud de al menos 0.5 (50%); preferentemente de al menos 0.6 (60%); más preferentemente de al menos 0.7 (70%); o de al menos 0.8 (80%); aún más preferentemente de al menos 0.9 (90%); o muy preferentemente de al menos 0.99 (99%), por ejemplo una similitud de 1.0 (100%).

45 Las huellas UNITY se pueden calcular empleando el programa SYBYL (que se puede obtener de Tripos, 1699 South Hanley Road, St. Louis, MO 63144-2319 EE.UU.). Las huellas ECFP_6 y MDL se pueden calcular empleando el programa Pipeline Pilot (que se puede obtener de Accelrys Inc., 10188 Telesis Court, Suite 100, San Diego, CA 92121, EE.UU.).

50 Por más detalles, véase por ejemplo J. Chem. Inf. Model. 2008, 48, 542-549; J. Chem. Inf. Comput. Sci. 2004, 44, 170-178; J. Med. Chem. 2004, 47, 2743-2749; J. Chem. Inf. Model. 2010, 50, 742-754; así como SciTegic Pipeline Pilot Chemistry Collection: Basic Chemistry User Guide, marzo de 2008, SciTegic Pipeline Pilot Data Modeling Collection, 2008 -ambos de Accelrys Software Inc., San Diego, EE.UU., y las guías http://www.tripos.com/tripos_resources/fileroot/pdfs/Unity_111408.pdf, y http://www.tripos.com/data/SYBYL/SYBYL_072505.pdf.

55 Un ejemplo de un cálculo de similitud se introduce a continuación, en el cual toda la cadena lateral de Quím. 66 se comparó con su éster de metilo, es decir el éster mono metílico de la fracción enlazador a glutamina (Quím. 66a):

Quím. 66a:



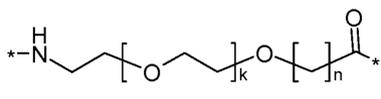
Empleando a) huellas ECFP_6 la similitud es de 0.798, empleando b) huellas UNITY la similitud es de 0.957; y empleando huellas MDL la similitud es de 0.905.

5 En el caso de dos cadenas laterales idénticas (fracciones de unión a la albúmina) el derivado puede ser denominado simétrico.

10 En realizaciones particulares, el coeficiente de similitud es de al menos 0.80, preferentemente de al menos 0.85, más preferentemente de al menos 0.90, aún más preferentemente de al menos 0.95, o muy preferentemente de al menos 0.99.

Cada uno de los dos enlazadores del derivado de la invención puede comprender el primer elemento enlazador siguiente:

15 Quím. 5



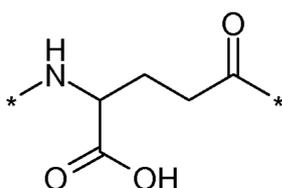
20 donde k es un número entero en el intervalo 1-5, y n es un número entero en el intervalo 1-5.

En una realización particular, cuando k = 1 y n = 1, este elemento enlazador puede ser denominado OEG, o un di-radical del ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico, y/o puede ser representado por la fórmula siguiente:

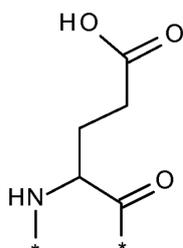
25 Quím. 5a: $*\text{-NH}(\text{CH}_2)_2\text{-O}(\text{CH}_2)_2\text{-O-CH}_2\text{-CO-}^*$.

En otra realización particular, cada enlazador del derivado de la invención puede comprender, independientemente, un segundo elemento enlazador, preferentemente un di-radical Glu, como la Quím. 6 y/o la Quím. 7:

30 Quím. 6:



35 Quím. 7:



donde el di-radical Glu puede estar incluido p veces, donde p es un número entero en el intervalo 1-2.

40 La Quím. 6 también se conoce como gamma-Glu, o brevemente gGlu, debido al hecho de que es el grupo gamma

carboxi del aminoácido glutámico el que puede ser utilizado aquí para la conexión a otro elemento enlazador, o al grupo épsilon-amina de la lisina. Como se explicó antes, el otro elemento enlazador puede ser, por ejemplo, otro residuo de Glu o una molécula de OEG. El grupo amino de Glu puede a su vez formar un enlace amida con el grupo carboxi de la fracción de prolongación, o con el grupo carboxi de, por ejemplo, una molécula de OEG, si estuviera presente, o con el grupo carboxi de, por ejemplo, otra Glu, si estuviera presente.

La Quím. 7 también se conoce como alfa, o brevemente aGlu, o simplemente Glu, debido al hecho de que es el grupo alfa carboxi del aminoácido glutámico el que puede ser utilizado aquí para la conexión a otro elemento enlazador, o al grupo épsilon-amina de la lisina.

Las estructuras anteriores de la Quím. 6 y la Quím. 7 cubren la forma L, así como la forma D de Glu.

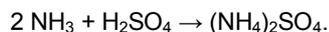
Los derivados de la invención pueden existir como diferentes isómeros con la misma fórmula molecular y secuencia de átomos enlazados, pero difiriendo sólo en la orientación tridimensional de los átomos en el espacio. La estereoisomería de los derivados ejemplificados de la invención se indica en la sección experimental, en los nombres así como en las estructuras, empleando la nomenclatura estándar. A menos que se indique lo contrario la invención se refiere a todos los estereoisómeros del derivado reivindicado.

La concentración plasmática de los derivados de GLP-1 de la invención se puede determinar empleando cualquier método adecuado. Por ejemplo, se pueden usar LC-MS (cromatografía líquida-espectrometría de masas), o un inmunoensayo como RIA (radioinmunoensayo), ELISA (enzimoinmunoensayo de adsorción), y LOCI (inmunoensayo luminiscente de canalización de oxígeno). Los protocolos generales para los ensayos RIA y ELISA adecuados se encuentran, por ejemplo, en WO09/030738 en pp. 116-118. Un ensayo preferido es el ensayo LOCI descrito en los ejemplos 35, 39 y 40 de este documento.

Sal, amida o éster farmacéuticamente aceptable

Los derivados y análogos de la invención pueden estar en forma de una sal, una amida o un éster farmacéuticamente aceptable.

Las sales se forman, por ejemplo, mediante una reacción química entre una base y un ácido, por ejemplo:



La sal puede ser una sal básica, una sal ácida, o ni una ni otra (es decir una sal neutra). Las sales básicas producen iones hidróxido y las sales ácidas iones hidronio, en agua.

Las sales de los derivados de la invención se pueden formar con cationes o aniones añadidos que reaccionan con grupos aniónicos o catiónicos, respectivamente. Estos grupos pueden estar situados en la fracción peptídica y/o en la cadena lateral de los derivados de la invención.

Los ejemplos no limitantes de grupos aniónicos de los derivados de la invención incluyen grupos carboxílicos libres en la cadena lateral, si los hubiera, así como en la fracción peptídica. La fracción peptídica incluye a menudo un grupo ácido carboxílico libre en el extremo C-terminal, y puede también incluir grupos carboxílicos libres en los residuos de aminoácidos internos como Asp y Glu.

Los ejemplos no limitantes de grupos catiónicos en la fracción peptídica incluyen al grupo amino libre en el extremo N-terminal, si estuviera presente, así como cualquier grupo amino libre de los residuos de aminoácidos básicos internos como His, Arg y Lys.

El éster de los derivados de la invención puede, por ejemplo, formarse mediante la reacción de un grupo ácido carboxílico libre con un alcohol o un fenol, lo que conduce al reemplazo de al menos un grupo hidroxilo por un grupo alcóxilo o arilóxilo.

La formación de un éster puede involucrar al grupo carboxílico libre del extremo C-terminal del péptido, y/o a cualquier grupo carboxílico libre de la cadena lateral.

La amida de los derivados de la invención puede formarse, por ejemplo, mediante la reacción de un grupo ácido carboxílico libre con una amina o amina sustituida, o mediante reacción de un grupo amino libre o sustituido con un ácido carboxílico.

La formación de amida puede involucrar al grupo carboxílico libre del extremo C-terminal del péptido, cualquier grupo carboxílico libre de la cadena lateral, el grupo amino libre del extremo N-terminal del péptido, y/o cualquier grupo amino libre o sustituido del péptido, en el péptido y/o de la cadena lateral.

En una realización particular, el péptido o derivado está en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. En otra realización particular, el derivado está en forma de una amida farmacéuticamente aceptable, preferentemente con un grupo amida en el extremo C-terminal del péptido. Aún en otra realización particular, el péptido o derivado está en forma de un éster farmacéuticamente aceptable.

Productos intermedios

En un segundo aspecto, la invención da a conocer productos intermedios.

Un tipo de producto intermedio toma la forma de un análogo GLP-1 que comprende los cambios siguientes en comparación con GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1): (i) 38Q; y/o (ii) 39G; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

Otro producto intermedio en forma de un análogo GLP-1 es un análogo que comprende, preferentemente que tiene, los cambios de aminoácidos siguientes, en comparación con GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1): (i) 22E, 26R, 27K, 34R, 37K; (ii) 22E, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E, 39G; (iii) 22E, 26R, 27K, 34R, 36K, des37; (iv) 22E, 25V, 26R, 27K, 34R, 37K; (v) 8Aib, 20K, 22E, 26R, 27K, 30E, 34G, des35-37; (vi) 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (vii) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34R; (viii) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 34R, des35-37; (ix) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 34R, des36-37; (x) 26H, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (xi) 22K, 25V, 26R, 27K, 30E, 34Q; (xii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38Q; (xiii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34Q, 36K, 38E; (xiv) 22K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xv) 8Aib, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xvi) 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xvii) 22E, 23E, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xviii) 8Aib, 12K, 22E, 26R, 27K, 31 H, 34Q; (ix) 8Aib, 22K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xx) 22E, 26H, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (xxi) 22E, 24K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xxii) 25V, 26R, 27K, 34Q, 36K; (xxiii) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34R; (xxiv) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 34G, des35-37; (xxv) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 34R; (xxvi) 8Aib, 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q; o (xxvii) 8Aib, 22E, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E, 39G; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

Propiedades funcionales

En un primer aspecto funcional, los derivados de la invención tienen una buena potencia. Asimismo, o alternativamente, en un segundo aspecto funcional, tienen un perfil farmacocinético prolongado. Asimismo, o alternativamente, en un tercer aspecto funcional, tienen una elevada biodisponibilidad oral. Asimismo, o alternativamente, en un cuarto aspecto funcional, sus propiedades biofísicas son mejores.

Actividad biológica (potencia)

Según el primer aspecto funcional, los derivados de la invención, así como los péptidos GLP-1 constituyentes como tales, son biológicamente activos o potentes.

En una realización particular, la potencia y/o la actividad se refiere a la potencia in vitro, es decir al comportamiento en un ensayo funcional del receptor de GLP-1, más en particular a la capacidad de estimular la formación de AMPc en una línea celular que expresa el receptor de GLP-1 humano clonado.

La estimulación de la formación de AMPc en un medio que contiene el receptor de GLP-1 humano se puede determinar preferentemente utilizando una línea celular transfectada estable como BHK467-12A (tk-ts13), y/o utilizando para la determinación de AMPc un ensayo funcional del receptor, por ejemplo basado en la competencia entre AMPc formado endógenamente y AMPc marcado con biotina agregado exógenamente, en dicho ensayo AMPc se captura más preferentemente empleando un anticuerpo específico, y/o donde un ensayo más preferido es el ensayo de AMPc AlphaScreen, muy preferentemente el descrito en el ejemplo 33.

La concentración efectiva media (CE₅₀) se refiere generalmente a la concentración que induce una respuesta en la mitad entre la línea de base y el máximo, por referencia a la curva dosis-respuesta. CE₅₀ se usa para medir la potencia de un compuesto y representa la concentración a la cual se observa el 50% de su efecto máximo.

La potencia in vitro de los derivados de la invención se puede determinar como se describió antes, y determinar la CE₅₀ del derivado en cuestión. Cuanto menor la CE₅₀, mayor la potencia.

Un medio adecuado tiene la composición siguiente (concentraciones finales en el ensayo): TRIS-HCl 50 mM; HEPES 5 mM; MgCl₂ 10 mM, 6H₂O; NaCl 150 mM; Tween 0.01%; BSA 0.1%; IBMX 0.5 mM; ATP 1 mM; GTP 1 μM; pH 7.4.

La CE₅₀ de los derivados de la invención es menor o igual a 3500 pM, preferentemente menor o igual a 3200. La CE₅₀ puede ser incluso menor de 1200 pM, preferentemente menor de 1000 pM, incluso más preferentemente

menor de 500 pM o muy preferentemente menor de 200 pM.

En otra realización particular del primer aspecto funcional, la potencia y/o la actividad se refieren a la capacidad de unión al receptor de GLP-1 a una baja concentración de albúmina. La unión al receptor de GLP-1 a baja concentración de albúmina debe ser tan buena como sea posible, correspondiente un valor de CI_{50} bajo. Ésta se puede determinar según se describe en el ejemplo 35. La CI_{50} (albúmina baja) de los derivados de la invención es menor o igual a 500 nM, en muchos es menor de 100 nM, o incluso menor de 10 nM.

En otra realización particular los derivados de la invención son potentes in vivo, lo que se puede determinar, como se sabe en el área, en cualquier modelo animal adecuado así como en ensayos clínicos.

El ratón diabético db/db es un ejemplo de un modelo animal adecuado, y el efecto hipoglucémico puede ser determinado en dichos ratones in vivo, por ejemplo como se describe en el ejemplo 36, o como se describe en el ejemplo 43 de WO09/030738.

Asimismo, o alternativamente, el efecto sobre la ingesta de alimentos in vivo se puede determinar en estudios farmacodinámicos en cerdos, por ej. como se describe en el ejemplo 38.

Prolongación - unión al receptor / albúmina baja y alta

Según el segundo aspecto funcional, los derivados de la invención son prolongados.

Unión al receptor de GLP-1

En una realización particular prolongación se refiere a la capacidad de los derivados de la invención para unirse al receptor de GLP-1 en presencia de una baja y una alta concentración de albúmina, respectivamente, que puede ser determinada como se describe en el ejemplo 34.

Generalmente, la unión al receptor de GLP-1 a baja concentración de albúmina debe ser tan buena como sea posible, correspondiente un valor de CI_{50} bajo. En una realización, albúmina baja se refiere a 0.005% de HSA. En otra realización, albúmina baja se refiere a 0.001% de HSA.

El valor de CI_{50} a una alta concentración de albúmina es una medida de la influencia de la albúmina sobre la unión del derivado al receptor de GLP-1. Como se sabe, los derivados de GLP-1 también se unen a la albúmina. Este es generalmente un efecto deseable, que extiende su vida útil en el plasma. Por consiguiente, el valor de CI_{50} a una concentración de albúmina alta será generalmente mayor que el valor de CI_{50} a una concentración de albúmina baja, correspondiente a una menor unión al receptor de GLP-1, causada por la competencia entre la unión a la albúmina y la unión al receptor de GLP-1.

Una relación alta (valor de CI_{50} (albúmina alta) / valor de CI_{50} (albúmina baja)) se puede tomar por lo tanto como una indicación de que el derivado en cuestión se une bien a la albúmina (puede tener una semivida larga), y también se une *per se* bien al receptor de GLP-1 (el valor de CI_{50} (albúmina alta) es alto, y el valor de CI_{50} (albúmina baja) es bajo). Por otra parte, la unión a la albúmina puede no siempre ser deseable, o la unión a la albúmina puede tornarse muy fuerte. Por lo tanto, los intervalos deseables para CI_{50} (albúmina baja), CI_{50} (albúmina alta) /, y la relación alta/baja pueden variar de compuesto a compuesto, dependiendo del uso al que está destinado y de las circunstancias que rodean dicho uso, y de otras propiedades del compuesto de posible interés.

Un ensayo adecuado para determinar la unión al receptor a una concentración alta y baja de albúmina se da a conocer en el ejemplo 34 de este documento. Los compuestos de la invención tienen una afinidad de unión al receptor muy buena (CI_{50}) en presencia de una concentración de albúmina baja. En promedio la CI_{50} (albúmina baja) de los compuestos analizados en el ejemplo 34 es de 14 nM.

Prolongación - semivida in vivo en ratas

Según el segundo aspecto funcional, los derivados de la invención son prolongados. En una realización particular, la prolongación se puede determinar adecuadamente como la semivida ($T_{1/2}$) in vivo en ratas después de la administración i.v. La semivida en ratas es de al menos 4 horas, y puede ser tan alta como de 10 horas o más.

Un ensayo adecuado para determinar la semivida in vivo en ratas después de la administración i.v. se da a conocer en el ejemplo 39 de este documento.

Prolongación - semivida in vivo en minicerdos

Según el segundo aspecto funcional, los derivados de la invención son prolongados. En una realización particular, la

prolongación puede, también o alternativamente, determinarse como la semivida ($T_{1/2}$) in vivo en minicerdos después de la administración i.v. La semivida es de al menos 12 horas, y puede ser de al menos 24 horas, de al menos 36 horas, de al menos 48 horas, de al menos 60 horas o incluso superior.

- 5 Un ensayo adecuado para determinar la semivida in vivo en minicerdos después de la administración i.v. se da a conocer en el ejemplo 37 de este documento.

Biodisponibilidad oral

- 10 Según el tercer aspecto funcional, los derivados de la invención tienen una elevada biodisponibilidad oral.

La biodisponibilidad oral de derivados de GLP-1 comerciales es muy baja. La biodisponibilidad oral de derivados de GLP-1 en desarrollo para la administración i.v. o s.c. también es baja.

- 15 En consecuencia, existe la necesidad en el área de derivados de GLP-1 para una mayor biodisponibilidad oral. Dichos derivados podrían ser candidatos adecuados para la administración oral, en cuanto que su potencia es generalmente satisfactoria, y/o en cuanto su semivida también es generalmente satisfactoria.

- 20 Los inventores de la presente identificaron una nueva clase de derivados de GLP-1, que tienen una biodisponibilidad oral sorprendentemente alta, y al mismo tiempo una potencia y/o una semivida satisfactoria.

Asimismo, o alternativamente, estos derivados tienen una biodisponibilidad oral sorprendentemente mayor, y al mismo tiempo una elevada afinidad de unión (es decir un bajo valor de CI_{50}) al receptor de GLP-1 a una baja concentración de albúmina.

- 25 Estas características son importantes con vista a obtener una dosis oral diaria baja del principio activo farmacéutico, lo cual es deseable por diversas razones, por ejemplo, economía de producción, probabilidad de posibles problemas de seguridad, así como problemas de comodidad de administración y preocupaciones respecto al medio ambiente.

- 30 Generalmente, el término biodisponibilidad se refiere a la fracción de una dosis administrada del principio activo farmacéutico (API), como un derivado de la invención que alcanza la circulación sistémica sin cambios. Por definición, cuando un API se administra por vía intravenosa, su biodisponibilidad es de 100%. Sin embargo, cuando se administra por otras vías (como oralmente), su biodisponibilidad disminuye (debido a la degradación y/o la absorción incompleta y al metabolismo de primer paso). Es esencial el conocimiento acerca de la biodisponibilidad al calcular dosis para vías no intravenosas de administración.

- 40 La biodisponibilidad oral absoluta compara la biodisponibilidad (estimada como el área bajo la curva, o AUC) del API en la circulación sistémica luego de la administración oral, con la biodisponibilidad del mismo API luego de la administración intravenosa. Es la fracción del API absorbida a través de la administración no intravenosa comparada con la administración intravenosa correspondiente del mismo API. La comparación debe ser normalizada por la dosis si se usan dosis diferentes; consecuentemente, cada AUC se corrige dividiendo entre la dosis administrada correspondiente.

- 45 Se hace un gráfico de concentración plasmática del API en función del tiempo luego de ambas administraciones, oral e intravenosa. La biodisponibilidad absoluta (F) es la AUC-oral corregida por la dosis dividida entre la AUC-intravenosa.

- 50 Los derivados de la invención tienen una biodisponibilidad oral absoluta que es mayor que la de a) liraglutida, y/o b) semaglutida; preferentemente al menos 10% mayor, más preferentemente al menos 20% mayor, aún más preferentemente al menos 30% mayor o muy preferentemente al menos 40% mayor. Antes de analizar la biodisponibilidad oral, los derivados de la invención se pueden formular adecuadamente como se conoce en el área de las formulaciones orales de compuestos insulíntrópicos, por ejemplo, usando una o más de las formulaciones descritas en WO 2008/145728.

- 55 Pruebas predictivas adecuadas de la biodisponibilidad oral se describen en los ejemplos 35 y 40. Según estas pruebas, luego de la inyección directa del derivado de GLP-1 en la luz abdominal de ratas y/o después de la administración por sonda nasogástrica en ratas, se determina su concentración (exposición) plasmática, y se mide la subsiguiente exposición en el plasma del derivado de GLP-1.

- 60 Propiedades biofísicas

Según el cuarto aspecto funcional, los derivados de la invención tienen mejores propiedades biofísicas. Estas propiedades incluyen, pero no exclusivamente, estabilidad física y solubilidad. Las mejores propiedades biofísicas pueden ser el resultado de cambios en las propiedades oligoméricas. Las propiedades biofísicas se pueden medir

empleando métodos biofísicos estándar de química de proteínas. Las propiedades biofísicas de los derivados de la invención se pueden comparar adecuadamente con las de GLP-1 natural.

Otras realizaciones particulares de la invención se describen en la sección titulada "realizaciones particulares".

5

Procesos de producción

La producción de péptidos como GLP-1 (7-37) y análogos GLP-1 es bien conocida en el área.

10 La fracción de GLP-1 de los derivados de la invención (o sus fragmentos), como K¹²,K²⁷-GLP-1(7-37) o un análogo o uno de sus fragmentos, se puede producir por ejemplo mediante síntesis peptídica clásica, por ej., síntesis de péptidos en fase sólida empleando química de t-Boc o Fmoc u otras técnicas bien establecidas, véase, por ej., Greene y Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, 1999, Florencio Zaragoza Dörwald, "Organic Synthesis on solid Phase", Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000, y "Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis", editado por W.C. Chan y P.D. White, Oxford University Press, 2000.

15

Asimismo, o alternativamente, se pueden producir por métodos recombinantes, es decir mediante cultivo de una célula huésped que contenga una secuencia de ADN que codifique el análogo y sea capaz de expresar el péptido en un medio nutritivo adecuado, en condiciones que permitan la expresión del péptido. Los ejemplos no limitantes de células huésped adecuadas para la expresión de estos péptidos son: *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, así como las líneas celulares mamíferas BHK o CHO.

20

Los derivados de la invención que incluyen aminoácidos no naturales y/o un mono o dipéptido mimético unido covalentemente al N-terminal se pueden producir como se describe en la parte experimental. O véase, por ej., Hodgson et al: "The synthesis of peptides and proteins containing non-natural amino acids", Chemical Society Reviews, vol. 33, no. 7 (2004), pp. 422-430; y WO 2009/083549 A1 titulada "Semi-recombinant preparation of GLP-1 analogues".

25

En la parte experimental se incluyen ejemplos específicos de métodos de preparación de varios derivados de la invención.

30

Composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas que contienen un derivado de la invención o una sal, una amida o un éster de éste, farmacéuticamente aceptable, y un excipiente farmacéuticamente aceptable se pueden preparar como se conoce en el área.

35

El término "excipiente" se refiere ampliamente a cualquier componente diferente del principio o los principios activos. El excipiente puede ser una sustancia inerte, una sustancia inactiva y/o una sustancia que no sea medicinalmente activa.

40

El excipiente puede servir para diferentes propósitos, por ejemplo como un portador, vehículo, diluyente, auxiliar de compresión, y/o para mejorar la administración y/o la absorción del principio activo.

45 La formulación de principios farmacéuticamente activos con diversos excipientes es conocida en el área, véase por ej. Remington: The Science and Practice of Pharmacy (por ej. 19^a edición (1995), y ediciones posteriores).

45

Los ejemplos no limitantes de excipientes son: solventes, diluyentes, tampones, conservantes, reguladores de la tonicidad, quelantes y estabilizantes.

50

Los ejemplos de formulaciones incluyen formulaciones líquidas, es decir formulaciones acuosas que contienen agua. Una formulación líquida puede ser una solución o una suspensión. Una formulación acuosa contiene habitualmente al menos 50% p/p de agua, o al menos 60%, 70%, 80% o incluso al menos 90% p/p de agua.

55 Alternativamente, una composición farmacéutica puede ser una formulación sólida, por ej. una composición liofilizada o secada por aspersion, que se puede usar tal cual, o a la que el médico o el paciente le agrega solventes y o diluyentes antes de usarla.

55

60 El pH en una formulación acuosa puede ser cualquiera entre pH 3 y pH 10, por ejemplo entre aproximadamente 7.0 y aproximadamente 9.5; o entre aproximadamente 3.0 y aproximadamente 7.0.

60

Una composición farmacéutica puede contener un tampón. El tampón se puede elegir, por ej., del grupo que consiste en acetato de sodio, carbonato de sodio, citrato, glicilglicina, histidina, glicina, lisina, arginina, fosfato ácido monosódico, fosfato ácido disódico, fosfato de sodio, y tris(hidroximetil)-aminometano, bicina, tricina, ácido málico,

succinato, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido aspártico y sus mezclas.

Una composición farmacéutica puede contener un conservante. El conservante se puede elegir, por ej., del grupo que consiste en fenol, o-cresol, m-cresol, p-cresol, p-hidroxibenzoato de metilo, p-hidroxibenzoato de propilo, 2-fenoxietanol, p-hidroxibenzoato de butilo, 2-feniletanol, alcohol bencílico, clorobutanol y timerosal, bronopol, ácido benzoico, imidurea, clorhexidina, deshidroacetato de sodio, clorocresol, p-hidroxibenzoato de etilo, cloruro de bencetonio, clorfenesina (3p-clorofenoxipropano-1,2-diol) y sus mezclas. El conservante puede estar presente en una concentración entre 0.1 mg/ml y 20 mg/ml.

Una composición farmacéutica puede contener un agente isotónico. El agente isotónico se puede elegir, por ej., del grupo que consiste en una sal (por ej. cloruro de sodio), un azúcar o alcohol de azúcar, un aminoácido (por ej. glicina, histidina, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptófano, treonina), un alditol (por ej. glicerol (glicerina), 1,2-propanodiol (propilenglicol), 1,3-propanodiol, 1,3-butanodiol) polietilenglicol (por ej. PEG400) y sus mezclas. Se puede emplear cualquier azúcar como mono, di, o polisacáridos, o glucanos solubles en agua, incluidas por ejemplo fructosa, glucosa, manosa, sorbosa, xilosa, maltosa, lactosa, sacarosa, trehalosa, dextrano, pululano, dextrina, ciclodextrina, alfa y beta HPCD, almidón soluble, hidroxietil almidón y carboximetilcelulosa de sodio. El alcohol de azúcar se define como un hidrocarburo C4-C8 que tiene al menos un grupo -OH e incluye, por ejemplo, manitol, sorbitol, inositol, galactitol, dulcitol, xilitol y arabitól. En una realización, el aditivo alcohol de azúcar es manitol.

Una composición farmacéutica puede contener un quelante. El quelante se puede elegir, por ej., entre sales del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido cítrico, ácido aspártico y sus mezclas. Una composición farmacéutica puede contener un estabilizante. El estabilizante puede ser por ej. uno o más inhibidores de la oxidación, inhibidores de la agregación, surfactantes y/o uno o más inhibidores de la proteasa. Los ejemplos no limitantes de estos diversos tipos de estabilizantes se dan a conocer a continuación.

La expresión "formación de agregados" se refiere a una interacción física entre las moléculas del polipéptido que resulta en la formación de oligómeros, que pueden permanecer solubles, o grandes agregados visibles que precipitan de la solución. La formación de agregados por un polipéptido durante el almacenamiento de una composición farmacéutica líquida, puede afectar adversamente la actividad biológica de dicho polipéptido, produciendo una pérdida de la eficacia terapéutica de la composición farmacéutica. Además, la formación de agregados puede causar otros problemas como bloqueo de tubos, membranas, o bombas cuando la composición farmacéutica que contiene el polipéptido se administra usando un sistema de infusión.

Una composición farmacéutica puede contener una cantidad de una base de aminoácido suficiente para disminuir la formación de agregados del polipéptido durante el almacenamiento de la composición. La expresión "base de aminoácido" se refiere a uno o más aminoácidos (como metionina, histidina, imidazol, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptófano, treonina) o sus análogos. Cualquier aminoácido puede estar presente en su forma de base libre o en su forma de sal. Cualquier estereoisómero (es decir, L, D o una mezcla de éstos) de la base del aminoácido puede estar presente.

Se puede agregar metionina (u otros aminoácidos o análogos de aminoácidos sulfúricos) para inhibir la oxidación de los residuos de metionina a sulfóxido de metionina cuando el polipéptido que actúa como el agente terapéutico es un polipéptido que contiene al menos un residuo de metionina susceptible de dicha oxidación. Se puede usar cualquier estereoisómero de la metionina (L o D) o sus combinaciones.

Una composición farmacéutica puede contener un estabilizante elegido del grupo de polímeros de alto peso molecular o compuestos de bajo peso molecular. El estabilizante se puede elegir, por ej., entre polietilenglicol (por ej. PEG 3350), alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona, carboxi-/hidroxicelulosa o sus derivados (por ej. H PC, HPC-SL, HPC-L y HPMC), ciclodextrinas, sustancias que contienen azufre como monoglicérol, ácido tioglicólico y 2-metiltioetanol, y diferentes sales (por ej. cloruro de sodio). Una composición farmacéutica puede contener estabilizantes adicionales como, pero no exclusivamente, metionina y EDTA, que protegen al polipéptido contra la oxidación de la metionina, y un surfactante no iónico, que protege al polipéptido contra la agregación asociada a la congelación y descongelación o al cizallamiento mecánico.

Una composición farmacéutica puede contener uno o más surfactantes, preferentemente un surfactante, al menos un surfactante, o dos surfactantes diferentes. El término "surfactante" se refiere a todas las moléculas o iones que están constituidos por una parte soluble en agua (hidrófila), y una parte soluble en grasa (lipófila). El surfactante se puede elegir, por ej., del grupo que consiste en surfactantes aniónicos, surfactantes catiónicos, surfactantes no iónicos y/o surfactantes zwitteriónicos.

Una composición farmacéutica puede contener uno o más inhibidores de la proteasa como, por ej., EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) y/o clorhidrato de benzamida.

Otros ingredientes opcionales de una composición farmacéutica incluyen, por ej., humectantes, emulsionantes,

antioxidantes, incrementadores del volumen, iones metálicos, vehículos oleosos, proteínas (por ej., seroalbúmina humana, gelatina), y/o un zwitterión (por ej., un aminoácido como betaína, taurina, arginina, glicina, lisina e histidina).

5 Además, una composición farmacéutica se puede formular como se sabe en el área de la formulaciones orales de compuestos insulíntrópicos, por ejemplo, usando una o más de las formulaciones descritas en WO 2008/145728.

Una dosis administrada puede contener de 0.01 mg - 100 mg del derivado, o de 0.01-50 mg, o de 0.01-20 mg, o de 0.01-10 mg del derivado.

10 El derivado se puede administrar en forma de una composición farmacéutica. Se puede administrar a un paciente que lo necesita en diversos sitios, por ejemplo, en sitios tópicos como sitios cutáneos o mucosos; en sitios que eluden la absorción como en una arteria, en una vena o en el corazón; y en sitios que implican absorción, como en la piel, debajo de la piel, en un músculo o en el abdomen.

15 La vía de administración puede ser, por ejemplo, lingual; sublingual; bucal; en la boca; oral; en el estómago; en el intestino; nasal; pulmonar, por ejemplo a través de los bronquiolos, los alveolos, o una combinación de éstos; parenteral, epidérmica; dérmica; transdérmica; conjuntival; ureteral; vaginal; rectal; y/u ocular. Una composición puede ser una composición oral, y la vía de administración es oral.

20 Una composición se puede administrar en varias formas farmacéuticas, por ejemplo como una solución; una suspensión; una emulsión; una microemulsión; múltiples microemulsiones; una espuma; un ungüento; una pasta; un yeso; una pomada; un comprimido; un comprimido recubierto; una goma de mascar; un enjuague; una cápsula como cápsulas de gelatina dura o blanda; un supositorio; una cápsula rectal; gotas; un gel; una pulverización; un polvo; un aerosol; un inhalante; gotas oculares; una pomada oftálmica; un enjuague oftálmico; un pesario vaginal; un anillo vaginal; una pomada vaginal; una solución para inyección; una solución de transformación in situ como gelificación, sedimentación, precipitación in situ, y cristalización in situ; una solución de infusión; o como un implante. Una
25 composición puede ser un comprimido, opcionalmente recubierto, una cápsula o una goma de mascar.

30 Una composición puede además combinarse en un portador de fármaco o un sistema de administración de fármacos, por ejemplo para mejorar la estabilidad, la biodisponibilidad y/o la solubilidad. En una realización particular, una composición se puede unir a dicho sistema a través de interacciones covalentes, hidrófobas y/o electrostáticas. El propósito de dicha combinación puede ser, por ejemplo, disminuir los efectos adversos, lograr la cronoterapia y/o aumentar el cumplimiento del paciente.

35 Una composición también se puede usar en la formulación de sistemas de liberación controlada, sostenida, prolongada, retardada, y/o lenta de fármacos.

La administración parenteral se puede realizar por inyección subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa por medio de una jeringa, opcionalmente una jeringa tipo lapicera, o mediante una bomba de infusión.

40 Una composición se puede administrar por vía nasal en forma de una solución, una suspensión o un polvo; o se puede administrar por vía pulmonar en forma de un aerosol líquido o en polvo.

45 La administración transdérmica es otra opción, por ejemplo mediante inyección sin aguja, a partir de un parche como un parche iontoforético, o por vía transmucosa, por ej. bucalmente.

50 Una composición puede ser una formulación estabilizada. La expresión "formulación estabilizada" se refiere a una formulación con mayor estabilidad física y/o química, preferentemente ambas. En general, una formulación debe ser estable durante el uso y el almacenamiento (de conformidad con las condiciones de uso y almacenamiento recomendadas) hasta la fecha de caducidad.

55 La expresión "estabilidad física" se refiere a la tendencia del polipéptido a formar agregados biológicamente inactivos y/o insolubles como resultado de la exposición a estrés termo mecánico, y/o la interacción con interfaces y superficies desestabilizantes (como superficies hidrófobas). La estabilidad física de una formulación acuosa de un polipéptido se puede evaluar mediante inspección visual, y/o mediciones de turbidez luego de la exposición a estrés mecánico/físico (por ej., agitación) a diferentes temperaturas por diversos periodos de tiempo. Alternativamente, la estabilidad física se puede evaluar usando un agente espectroscópico o sonda del estado conformacional del polipéptido como por ej. Tioflavina T o sondas "parche hidrófobo".

60 La expresión "estabilidad química" se refiere a cambios químicos (en particular covalentes) en la estructura del polipéptido que conducen a la formación de productos de degradación química que tienen potencialmente una menor potencia biológica y/o un mayor efecto inmunógeno en comparación con el polipéptido intacto. La estabilidad química se puede evaluar midiendo la cantidad de productos de degradación química a diversos tiempos luego de la exposición a diferentes condiciones ambientales, por ej. por SEC-HPLC y/o RP-HPLC.

El tratamiento con un derivado según la presente invención también se puede combinar con uno o más principios farmacológicamente activos adicionales, por ej. elegidos entre antidiabéticos, agentes antiobesidad, reguladores del apetito, antihipertensivos, agentes para el tratamiento o la prevención de las complicaciones resultantes de, o asociadas a, la diabetes y agentes para el tratamiento y/o la prevención de complicaciones y trastornos resultantes de, o asociados a, la obesidad. Los ejemplos de estos principios farmacológicamente activos son: insulina, sulfonilureas, biguanidas, meglitinidas, inhibidores de la glucosidasa, antagonistas de glucagón, inhibidores de la DPP-IV (dipeptidil peptidasa-IV), inhibidores de las enzimas hepáticas involucradas en la estimulación de la gluconeogénesis y/o la glucogenólisis, moduladores de la absorción de glucosa, compuestos que modifican el metabolismo lipídico, como compuestos antihiperlipidémicos por ejemplo inhibidores de la HMG CoA (estatinas), polipéptidos inhibidores gástricos (análogos de GIP), compuestos que disminuyen la ingesta de alimentos, agonistas de RXR y agentes que actúan sobre el canal de potasio dependiente de ATP de las células β ; colestiramina, colestipol, clofibrato, gemfibrozil, lovastatina, pravastatina, simvastatina, probucol, dextrotiroxina, neteglinida, repaglinida; β -bloqueantes como alprenolol, atenolol, timolol, pindolol, propranolol y metoprolol, inhibidores de ACE (enzima convertidora de angiotensina) como benazepril, captopril, enalapril, fosinopril, lisinopril, alatriopril, quinapril y ramipril, bloqueadores del canal del calcio como nifedipina, felodipina, nicardipina, isradipina, nimodipina, diltiazem y verapamilo y α -bloqueantes como doxazosina, urapidilo, prazosina y terazosina; agonistas de CART (transcrito regulado por la cocaína y la anfetamina), antagonistas de NPY (neuropéptido Y), agonistas de PYY, agonistas del receptor de Y2, agonistas del receptor de Y4, agonistas mixtos del receptor de Y2/Y4, agonistas de MC4 (melanocortina 4), antagonistas de orexina, agonistas de TNF (factor de necrosis tumoral), agonistas de CRF (factor de liberación de corticotropina), antagonistas de CRF BP (proteína de unión al factor de liberación de corticotropina), agonistas de la urocortina, agonistas β_3 , oxintomodulina y análogos, agonistas de MSH (hormona estimulante de los melanocitos), antagonistas de MCH (hormona concentradora de melanocitos), agonistas de CCK (colecistoquinina), inhibidores de la recaptación de serotonina, inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina, compuestos mixtos serotoninérgicos y noradrenérgicos, agonistas de 5HT (serotonina), agonistas de la bombesina, antagonistas de la galanina, hormona de crecimiento, compuestos liberadores de la hormona del crecimiento, agonistas de TRH (hormona liberadora de tirotropina), moduladores de UCP 2 o 3 (proteína desacopladora 2 o 3), agonistas de la leptina, agonistas de DA (bromocriptina, doprexina), inhibidores de la lipasa/amilasa, moduladores RXR (receptor retinoide X), agonistas TR β ; antagonistas de la histamina H3, agonistas o antagonistas del polipéptido inhibidor gástrico (análogos de GIP), gastrina y análogos de la gastrina.

El tratamiento con un derivado según esta invención también se puede combinar con una cirugía que influya en los niveles de glucosa y/o la homeostasis lipídica como la banda gástrica o la derivación gástrica (by-pass).

35 Indicaciones farmacéuticas

En un tercer aspecto, la presente invención también se refiere a un derivado de la invención destinado a ser utilizado como un medicamento.

40 En realizaciones particulares, el derivado de la invención se puede usar para los tratamientos médicos siguientes, todos preferentemente relacionados de una manera o de otra con la diabetes:

- 45 (i) prevención y/o tratamiento de todas las formas de diabetes, como hiperglucemia, diabetes tipo 2, intolerancia a la glucosa, diabetes tipo 1, diabetes no dependiente de insulina, MODY (diabetes juvenil de comienzo tardío), diabetes gestacional, y/o para la reducción de HbA1C;
- (ii) retraso o prevención del avance de la enfermedad diabética, como el avance en la diabetes tipo 2, retraso de la evolución de la intolerancia a la glucosa (IGT) a la diabetes tipo 2 que requiere insulina, y/o retraso de la evolución de la diabetes tipo 2 que no requiere insulina a la diabetes tipo 2 que requiere insulina;
- 50 (iii) mejora de la función de las células β , por ejemplo disminuyendo la apoptosis de las células β , aumentando la función de las células β y/o la masa de las células β , y/o para la restauración de la sensibilidad a la glucosa de las células β ;
- (iv) prevención y/o tratamiento de trastornos cognitivos;
- 55 (v) prevención y/o tratamiento de trastornos de la alimentación, como obesidad, por ej. por disminución de la ingesta de alimentos, reducción del peso corporal, supresión del apetito, inducción de saciedad; tratamiento o prevención del trastorno por atracón, la bulimia nerviosa y/o la obesidad inducida por administración de un antipsicótico o un esteroide; reducción de la motilidad gástrica; y/o retraso del vaciado gástrico;
- 60 (vi) prevención y/o tratamiento de las complicaciones diabéticas, como neuropatías, incluidas neuropatía periférica; nefropatía; o retinopatía;
- (vii) mejora de los parámetros lipídicos, como la prevención y/o el tratamiento de la dislipidemia, disminución de los lípidos séricos totales; disminución de HDL; disminución de LDL densas pequeñas; disminución de VLDL;

disminución de los triglicéridos; disminución del colesterol; aumento del HDL; disminución de los niveles plasmáticos de lipoproteína a (Lp(a)) en un humano; inhibición de la generación de apolipoproteína a (apo(a)) in vitro y/o in vivo;

- 5 (iix) prevención y/o tratamiento de enfermedades cardiovasculares, como síndrome X; aterosclerosis; infarto miocárdico; coronariopatía; accidente cerebrovascular, isquemia cerebral; una cardiopatía temprana o una enfermedad cardiovascular temprana, como hipertrofia del ventrículo izquierdo; arteriopatía coronaria; hipertensión esencial; emergencia hipertensiva aguda; cardiomiopatía; insuficiencia cardíaca; tolerancia al ejercicio; insuficiencia cardíaca crónica; arritmia; disritmia cardíaca; síncope; aterosclerosis; insuficiencia cardíaca crónica leve; angina pectoris; reoclusión de bypass cardíaco; claudicación intermitente (aterosclerosis ocluyente); disfunción diastólica; y/o disfunción sistólica;
- 10 (ix) prevención y/o tratamiento de enfermedades gastrointestinales, como síndrome inflamatorio intestinal; síndrome del intestino delgado o enfermedad de Crohn; dispepsia; y/o úlceras gástricas;
- 15 (x) prevención y/o tratamiento de la enfermedad crítica, como el tratamiento de un paciente críticamente enfermo, un paciente con polinefropatía crítica (CIPNP), y/o un paciente con posible CIPNP; prevención de la enfermedad crítica o la aparición de CIPNP; prevención, tratamiento y/o cura del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) en un paciente; y/o para la prevención o la disminución de la probabilidad de que un paciente sufra bacteriemia, septicemia y/o choque séptico durante la hospitalización; y/o
- 20 (xi) prevención y/o tratamiento del síndrome del ovario poliquístico (PCOS).

En una realización particular, la indicación se elige del grupo que consiste en (i)-(iii) y (v)-(iix), como las indicaciones (i), (ii) y/o (iii); o la indicación (v), la indicación (vi), la indicación (vii) y/o la indicación (iix).

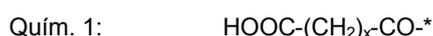
En otra realización particular, la indicación es (i). Aún en otra realización particular la indicación es (v). Todavía en otra realización particular la indicación es (iix).

Se prefieren particularmente las indicaciones siguientes: diabetes tipo 2 y/u obesidad.

Realizaciones particulares

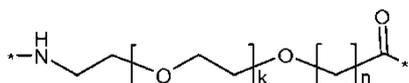
Las siguientes son realizaciones particulares de la invención.

1. Un derivado de un análogo GLP-1, donde el análogo GLP-1 comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1); un segundo residuo K en una posición correspondiente a la posición T de GLP-1 (7-37), donde T es un número entero en el intervalo 7-37 excepto 18 y 27; y un máximo de diez cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1 (7-37); donde el primer residuo K se denomina K²⁷, y el segundo residuo K se denomina K^T; donde el derivado comprende una primera y una segunda fracciones de prolongación unidas a K²⁷ y K^T, respectivamente, a través de un primer y un segundo enlazadores, respectivamente, donde la primera y la segunda fracciones de prolongación se eligen entre la Quím. 1 y la Quím. 2:



en las cuales x es un número entero en el intervalo 6-16, e y es un número entero en el intervalo 3-17, y el primer y el segundo enlazadores tienen la Quím. 5:

Quím 5:

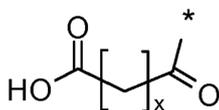


donde k es un número entero en el intervalo 1-5, y n es un número entero en el intervalo 1-5; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

2. El derivado de la realización 1, donde T es un número entero elegido del intervalo 7-37 excepto 18 y 27.
3. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-2, donde T se elige entre cualquiera de los intervalos 7-17, 19-26 y 28-37.
4. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-3, donde T se elige del intervalo 7-17.
5. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-4, donde T es 12.
6. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-3, donde T se elige del intervalo 19-26.
7. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-3 y 6, donde T se elige del grupo que consiste en 20, 22 y 24.
8. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-3 y 6-7, donde T es 20.
9. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-3 y 6-7, donde T es 22 o 24.

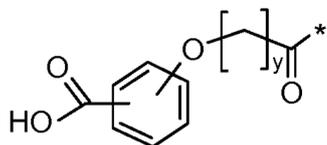
10. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-3, 6-7 y 9, donde T es 22.
 11. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-3, 6-7 y 9, donde T es 24.
 12. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-3, donde T se elige del intervalo 28-37.
 13. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-3 y 12, donde T se elige del grupo que consiste en 36 y 37.
 14. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-3 y 12-13, donde T es 36.
 15. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-3 y 12, donde T es 37.
 16. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-16, donde la posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante escritura a mano y examinando de cerca.
 17. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-16, donde la posición correspondiente a la posición T de GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante escritura a mano y examinando de cerca.
 18. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-17, donde la posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
 19. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-18, donde la posición correspondiente a la posición T de GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
 20. El derivado de la realización 19, donde el programa de alineación es una alineación de Needleman-Wunsch.
 21. El derivado de cualquiera de las realizaciones 19-20, donde se usan la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.
 22. El derivado de cualquiera de las realizaciones 19-21, donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.
 23. El derivado de cualquiera de las realizaciones 19-22, donde la penalización por el primer residuo en un hueco es -10 (menos diez).
 24. El derivado de cualquiera de las realizaciones 19-23, donde la penalización por residuos adicionales en un hueco es -0.5 (menos cero punto cinco).
 25. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-24, donde el análogo no comprende residuos K distintos del primer y segundo residuos K.
 26. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-25, donde la fracción de prolongación tiene la Quím. 1.
 27. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-26, donde x es un número par.
 28. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-27, donde x es 12.
 29. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-28, donde la Quím. 1 es representada por la Quím. 1a:

Quím. 1a:



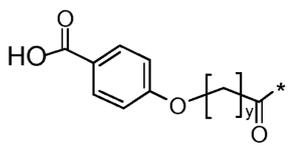
30. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-25, donde la fracción de prolongación tiene la Quím. 2.
 31. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-25 y 30, donde la Quím. 2 es representada por la Quím. 2a:

Quím. 2a:



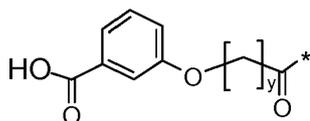
32. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-25 y 30-31, donde y es un número impar.
 33. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-25 y 30-32, donde y es un número entero en el intervalo 9-11.
 34. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-25 y 30-33, donde y es 9.
 35. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-25 y 30-33, donde y es 11.
 36. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-25 y 30-35 donde la Quím. 2 es representada por la Quím. 2b, o la Quím. 2c:

Quím. 2b:



o

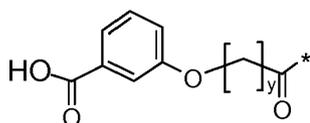
5 Quím. 2b



10 37. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-25 y 30-35 donde la Quím. 2 es representada por la Quím. 2b.

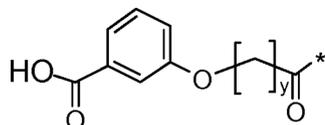
38. El derivado de cualquiera de las realizaciones 31-35, donde la Quím. 2a es representada por la Quím. 2b, o la Quím. 2c:

15 Quím. 2b



o

20 Quím. 2c:



25 39. El derivado de cualquiera de las realizaciones 31-35 y 38, donde la Quím. 2a es representada por la Quím. 2b.

40. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-39, donde la Quím. 5 es un primer elemento enlazador.

41. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-40, donde k es 1.

42. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-41, donde n es 1.

30 43. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-42, donde la Quím. 5 está incluida m veces, donde m es un número entero en el intervalo 1-10.

44. El derivado de la reivindicación 43, donde m es 2.

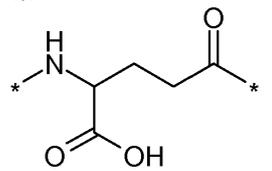
45. El derivado de cualquiera de las realizaciones 43-44, donde, cuando m no es 1, los elementos de Quím. 5 están interconectados a través de uno o más enlaces amida.

35 46. El derivado del cualquiera de las realizaciones 1-45, donde el enlazador comprende además un segundo elemento enlazador.

47. El derivado de la realización 46, donde el segundo elemento enlazador es un di-radical Glu.

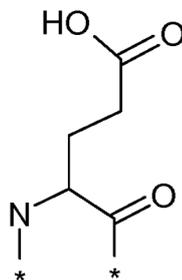
48. El derivado del cualquiera de las realizaciones 46-47, donde el segundo elemento enlazador se elige entre la Quím. 6 y/o la Quím. 7:

40 Quím. 6:



y/o

Quím. 7:



- 5 49. El derivado de la realización 48, donde el segundo elemento enlazador tiene la Quím. 6.
 50. El derivado de cualquiera de las realizaciones 46-49, donde el di-radical Glu está incluido p veces, donde p es un número entero en el intervalo 1-2.
 51. El derivado de la realización 50, donde p es 1.
 52. El derivado de la realización 50, donde p es 2.
- 10 53. El derivado de cualquiera de las realizaciones 46-52, donde el di-radical Glu es un radical de L-Glu.
 54. El derivado de cualquiera de las realizaciones 46-53, donde uno o más di-radicales Glu y uno o más elementos de Quím. 5 están interconectados a través de uno o más enlaces amida.
 55. El derivado de cualquiera de las realizaciones 46-54, donde el enlazador consiste en m veces la Quím. 5 y p veces el di-radical Glu.
- 15 56. El derivado de la realización 55, donde (m,p) es (2,2) o (2,1).
 57. El derivado de la realización 56, donde (m,p) es (2,1).
 58. El derivado de cualquiera de las realizaciones 55-57, donde los m elementos de Quím. 5 y los p di-radicales Glu están interconectados a través de enlaces amida.
 59. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-58, donde el enlazador y la fracción de prolongación están interconectados a través de un enlace amida.
- 20 60. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-59, donde el enlazador y el análogo GLP-1 están interconectados a través de un enlace amida.
 61. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-60, donde el enlazador está unido al grupo épsilon-amino del primer o del segundo residuo K.
- 25 62. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-61, donde el enlazador tiene entre 5 y 41 átomos de C.
 63. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-62, donde el enlazador tiene 17 o 22 átomos de C.
 64. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-63, donde el enlazador tiene 17 átomos de C.
 65. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-63, donde el enlazador tiene 22 átomos de C.
 66. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-65, donde el enlazador tiene entre 4 y 28 heteroátomos.
- 30 67. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-66, donde el enlazador tiene 12 o 16 heteroátomos.
 68. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-67, donde el enlazador tiene 12 heteroátomos.
 69. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-67, donde el enlazador tiene 16 heteroátomos.
 70. El derivado de cualquiera de las realizaciones 66-70, donde los heteroátomos son átomos de N y/u O.
- 35 71. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-70, donde el enlazador tiene entre 1 y 7 átomos de N.
 72. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-71, donde el enlazador tiene 3 o 4 átomos de N.
 73. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-72, donde el enlazador tiene 3 átomos de N.
 74. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-72, donde el enlazador tiene 4 átomos de N.
 75. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-74, donde el enlazador tiene entre 3 y 21 átomos de O.
- 40 76. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-75, donde el enlazador tiene 9 o 12 átomos de O.
 77. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-76, donde el enlazador tiene 9 átomos de O.
 78. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-76, donde el enlazador tiene 12 átomos de O.
 79. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-78, donde el enlazador consiste en dos veces la Quím. 6 y dos veces la Quím. 5, interconectadas a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, donde el enlazador está conectado en su extremo *-NH al extremo *-CO de la fracción de prolongación, y en su extremo *-CO al grupo épsilon-amino de K²⁷ o K^T del análogo GLP-1.
- 45 80. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-78, donde el enlazador consiste en dos veces la Quím. 5 y una vez la Quím. 6, interconectadas a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, donde el enlazador está conectado en su extremo *-NH al extremo *-CO de la fracción de prolongación, y en su extremo *-CO libre al grupo épsilon-amino de K²⁷ o K^T del análogo GLP-1.
- 50 81. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-78, donde el enlazador consiste en una vez la Quím. 6 y dos veces la Quím. 5, interconectadas a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, donde el enlazador está conectado en su extremo *-NH al extremo *-CO de la fracción de prolongación, y en su extremo *-CO al grupo épsilon-amino de K²⁷ o K^T del análogo GLP-1.
- 55 82. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-78, donde el enlazador consiste en una vez la Quím. 6,

dos veces la Quím. 5 y una vez la Quím. 6, interconectadas a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, donde el enlazador está conectado en su extremo *-NH al extremo *-CO de la fracción de prolongación, y en su extremo *-CO al grupo épsilon-amino de K²⁷ o K^T del análogo GLP-1.

- 5 83. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-82, donde las fracciones de prolongación son sustancialmente idénticas.
84. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-83, donde las dos fracciones de prolongación son a) al menos 80%, b) al menos 85%, c) al menos 90%, d) al menos 95% o e) al menos 99% idénticas.
- 10 85. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-83, donde las dos fracciones de prolongación tienen una similitud de a) al menos 0.5; b) al menos 0.6; c) al menos 0.7; d) al menos 0.8; e) al menos 0.9; o f) al menos 0.99.
86. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-85, donde las dos fracciones de prolongación tienen una similitud de 1.0.
87. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-86, donde los dos enlazadores son sustancialmente idénticos.
- 15 88. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-87, donde los dos enlazadores tienen una similitud de al menos 0.5.
89. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-88, donde los 2 enlazadores tienen una similitud de a) al menos 0.6; b) al menos 0.7; c) al menos 0.8; d) al menos 0.9; o e) al menos 0.99.
- 20 90. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-89, donde los dos enlazadores tienen una similitud de 1.0.
91. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-90, donde los dos elementos de unión a la albúmina, como las dos cadenas laterales que consisten en la fracción de prolongación y el enlazador, son sustancialmente idénticos.
- 25 92. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-91, donde los dos elementos de unión a la albúmina, como las dos cadenas laterales que consisten en la fracción de prolongación y el enlazador, son a) al menos 80%, b) al menos 85%, c) al menos 90%, d) al menos 95% o e) al menos 99% idénticos.
93. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-92, donde los dos elementos de unión a la albúmina, como las dos cadenas laterales que consisten en la fracción de prolongación y el enlazador, tienen una similitud de a) al menos 0.5; b) al menos 0.6; c) al menos 0.7; d) al menos 0.8; e) al menos 0.9; o f) al menos 0.99.
- 30 94. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-92, donde los dos elementos de unión a la albúmina, como las dos cadenas laterales que consisten en la fracción de prolongación y el enlazador, tienen una similitud de 1.0.
95. El derivado de cualquiera de las realizaciones 83-94, donde las dos estructuras químicas que se van a comparar se representan como huellas.
- 35 96. El derivado de la realización 95, donde las huellas son a) huellas ECFP₆; b) huellas UNITY; y/o c) huellas MDL.
97. El derivado de cualquiera de las realizaciones 95-96, donde el coeficiente de Tanimoto se usa preferentemente para calcular la similitud, o la identidad, de las dos huellas.
- 40 98. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-97, donde el número de cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante escritura a mano y examinando de cerca.
99. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-98, donde el número de cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
- 45 100. El derivado de la realización 99, donde el programa de alineación es una alineación de Needleman-Wunsch.
101. El derivado de cualquiera de las realizaciones 99-100, donde se usan la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.
- 50 102. El derivado de cualquiera de las realizaciones 99-101, donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.
103. El derivado de cualquiera de las realizaciones 99-102, donde la penalización por el primer residuo en un hueco es -10 (menos diez).
104. El derivado de cualquiera de las realizaciones 99-103, donde la penalización por residuos adicionales en un hueco es -0.5 (menos cero punto cinco).
- 55 105. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-104, donde el o los cambios de aminoácidos son en una o más posiciones correspondientes a las posiciones siguientes en GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1): 8, 12, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 30, 31, 34, 35, 36, 37, 38 y 39.
- 60 106. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-105, donde el análogo comprende al menos uno de los cambios siguientes: Aib⁸, K¹², K²⁰, E²² o K²², E²³, K²⁴, V²⁵, R²⁶ o H²⁶, K²⁷, E³⁰, H³¹, G³⁴ o R³⁴ o Q³⁴, Des³⁵, K³⁶ o Des³⁶, K³⁷ o Des³⁷, E³⁸ o Q³⁸ y/o G³⁹.
107. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-106, donde el segundo residuo K es K¹², y donde el análogo, adicionalmente al cambio K²⁷, comprende además i) un cambio elegido entre G³⁴, R³⁴ y Q³⁴, y ii) un cambio elegido entre R²⁶ y H²⁶.
108. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-106, donde el segundo residuo K es K²⁰, y donde el

- análogo, adicionalmente al cambio K^{27} , comprende además i) un cambio elegido entre G^{34} , R^{34} y Q^{34} , y ii) un cambio elegido entre R^{26} y H^{26} .
- 5 109. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-106, donde el segundo residuo K es K^{22} , y donde el análogo, adicionalmente al cambio K^{27} , comprende además i) un cambio elegido entre G^{34} , R^{34} y Q^{34} , y ii) un cambio elegido entre R^{26} y H^{26} .
- 10 110. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-106, donde el segundo residuo K es K^{24} , y donde el análogo, adicionalmente al cambio K^{27} , comprende además i) un cambio elegido entre G^{34} , R^{34} y Q^{34} , y ii) un cambio elegido entre R^{26} y H^{26} .
- 10 111. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-106, donde el segundo residuo K es K^{36} , y donde el análogo, adicionalmente al cambio K^{27} , comprende además i) un cambio elegido entre G^{34} , R^{34} y Q^{34} , y ii) un cambio elegido entre R^{26} y H^{26} .
- 15 112. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-106, donde el segundo residuo K es K^{37} , y donde el análogo, adicionalmente al cambio K^{27} , comprende además i) un cambio elegido entre G^{34} , R^{34} y Q^{34} , y ii) un cambio elegido entre R^{26} y H^{26} .
- 15 113. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-112, donde el análogo comprende al menos uno de los cambios siguientes: Aib^8 , E^{22} , E^{23} , V^{25} , E^{30} , H^{31} , Des^{35} , Des^{36} , Des^{37} , E^{38} o Q^{38} y/o G^{39} .
- 15 114. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-113, donde el análogo comprende Aib^8 .
- 15 115. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-114, donde el análogo comprende E^{22} .
- 20 116. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-115, donde el análogo comprende E^{23} .
- 20 117. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-116, donde el análogo comprende V^{25} .
- 20 118. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-117, donde el análogo comprende E^{30} .
- 20 119. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-118, donde el análogo comprende H^{31} .
- 20 120. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-119, donde el análogo comprende Des^{37} .
- 25 121. El derivado de la realización 120, donde el análogo comprende Des^{36} .
- 25 122. El derivado de la realización 121, donde el análogo comprende Des^{35} .
- 25 123. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-119, donde el análogo comprende E^{38} o Q^{38} .
- 25 124. El derivado de la realización 123, donde el análogo comprende Q^{38} .
- 25 125. El derivado de la realización 123, donde el análogo comprende E^{38} .
- 30 126. El derivado de cualquiera de las realizaciones 123-125, donde el análogo comprende G^{39} .
- 30 127. El derivado de la realización 122, que es un derivado de GLP-1(7-34) (aminoácidos 1-28 de SEC. ID N°: 1).
- 30 128. El derivado de la realización 121, que es un derivado de GLP-1(7-35) (aminoácidos 1-29 de SEC. ID N°: 1).
- 35 129. El derivado de la realización 120, que es un derivado de GLP-1(7-36) (aminoácidos 1-30 de SEC. ID N°: 1).
- 35 130. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-119, que es un derivado de GLP-1(7-37) (aminoácidos 1-31 de SEC. ID N°: 1).
- 35 131. El derivado de cualquiera de las realizaciones 123-125, que es un derivado de GLP-1(7-38) (aminoácidos 1-31 de SEC. ID N°: 1, más un residuo de aminoácido agregado C-terminalmente).
- 40 132. El derivado de la realización 126, que es un derivado de GLP-1(7-39) (aminoácidos 1-31 de SEC. ID N°: 1, más dos residuos de aminoácidos agregados C-terminalmente).
- 40 133. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene un máximo de nueve cambios de aminoácidos.
- 45 134. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene un máximo de ocho cambios de aminoácidos.
- 45 135. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene un máximo de siete cambios de aminoácidos.
- 45 136. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene un máximo de seis cambios de aminoácidos.
- 50 137. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene un máximo de cinco cambios de aminoácidos.
- 50 138. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene un máximo de cuatro cambios de aminoácidos.
- 55 139. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene un máximo de tres cambios de aminoácidos.
- 55 140. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene un máximo de dos cambios de aminoácidos.
- 55 141. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene un máximo de un cambio de aminoácido.
- 60 142. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-140, donde el análogo tiene un mínimo de un cambio de aminoácido.
- 60 143. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-139, donde el análogo tiene un mínimo de dos cambios de aminoácidos.
- 60 144. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-138, donde el análogo tiene un mínimo de tres

cambios de aminoácidos.

145. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-137, donde el análogo tiene un mínimo de cuatro cambios de aminoácidos.

5 146. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-136, donde el análogo tiene un mínimo de cinco cambios de aminoácidos.

147. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-135, donde el análogo tiene un mínimo de seis cambios de aminoácidos.

148. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-134, donde el análogo tiene un mínimo de siete cambios de aminoácidos.

10 149. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-133, donde el análogo tiene un mínimo de ocho cambios de aminoácidos.

150. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene un mínimo de nueve cambios de aminoácidos.

15 151. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene un cambio de aminoácido.

152. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene dos cambios de aminoácidos.

153. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene tres cambios de aminoácidos.

20 154. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene cuatro cambios de aminoácidos.

155. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene cinco cambios de aminoácidos.

25 156. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene seis cambios de aminoácidos.

157. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene siete cambios de aminoácidos.

158. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene ocho cambios de aminoácidos.

30 159. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene nueve cambios de aminoácidos.

160. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-132, donde el análogo tiene diez cambios de aminoácidos.

35 161. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-160, donde el cambio o los cambios son, independientemente, sustituciones, adiciones y/o eliminaciones.

162. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-161, donde el análogo comprende un análogo GLP-1 de fórmula I:

Formula I: Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-

Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Xaa₂₄-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Lys-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Val-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-

Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉, donde

40

Xaa₇ es L-histidina, imidazopropionilo, α-hidroxi-histidina, D-histidina, desamino-histidina, 2-amino-histidina, β-hidroxi-histidina, homohistidina, N^α-acetil-histidina, N^α-formil-histidina, α-fluorometil-histidina, α-metil-histidina, 3-piridilalanina, 2-piridilalanina o 4-piridilalanina;

45 Xaa₈ es Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Thr, Ser, Lys, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico, ácido (1-aminociclopentil) carboxílico, ácido (1-aminociclohexil) carboxílico, ácido (1-aminocicloheptil) carboxílico o ácido (1-aminociclooctil) carboxílico;

Xaa₁₂ es Lys o Phe;

Xaa₁₆ es Val o Leu;

50 Xaa₁₈ es Ser, Arg, Asn, Gln o Glu;

Xaa₁₉ es Tyr o Gln;

Xaa₂₀ es Leu, Lys o Met;

Xaa₂₂ es Gly, Glu, Lys o Aib;

Xaa₂₃ es Gln, Glu o Arg;

55 Xaa₂₄ es Ala o Lys;

Xaa₂₅ es Ala o Val;

Xaa₂₆ es Val, His o Arg;

Xaa₃₀ es Ala, Glu o Arg;

Xaa₃₁ es Trp o His;

60 Xaa₃₄ es Glu, Asn, Gly, Gln o Arg;

Xaa₃₅ es Gly, Aib o está ausente;

Xaa₃₆ es Arg, Gly, Lys o está ausente;

Xaa₃₇ is Gly, Ala, Glu, Pro, Lys, Arg o está ausente;
 Xaa₃₈ es Ser, Gly, Ala, Glu, Gln, Pro, Arg o está ausente; y
 Xaa₃₉ es Gly o está ausente.

- 5 163. El derivado de la realización 162, donde el análogo es un análogo GLP-1 de fórmula I:
 164. El derivado de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 162-163, donde el péptido de fórmula I es un análogo de GLP-1(7-37) (SEC. ID N° 1).
 165. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-164, donde si Xaa₃₈ está ausente, entonces Xaa₃₉ también está ausente.
- 10 166. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-165, donde si Xaa₃₇ está ausente, entonces Xaa₃₈ y Xaa₃₉ también están ausentes.
 167. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-166, donde si Xaa₃₆ está ausente, entonces Xaa₃₇, Xaa₃₈ y Xaa₃₉ también están ausentes.
- 15 168. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-167, donde si Xaa₃₅ está ausente, entonces Xaa₃₆, Xaa₃₇, Xaa₃₈ y Xaa₃₉ también están ausentes.
 169. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-168, donde Xaa₇ es His; Xaa₈ es Ala o Aib; Xaa₁₂ es Lys o Phe; Xaa₁₆ es Val; Xaa₁₈ es Ser; Xaa₁₉ es Tyr; Xaa₂₀ es Leu o Lys; Xaa₂₂ es Glu, Gly o Lys; Xaa₂₃ es Gln o Glu; Xaa₂₄ es Ala o Lys; Xaa₂₅ es Ala o Val; Xaa₂₆ es His o Arg; Xaa₃₀ es Ala o Glu; Xaa₃₁ es Trp o His; Xaa₃₄ es Gly, Gln, o Arg; Xaa₃₅ es Gly o está ausente; Xaa₃₆ es Arg, Lys o está ausente; Xaa₃₇ es Gly, Lys o está ausente; Xaa₃₈ es Glu o Gln; y Xaa₃₉ es Gly o está ausente.
- 20 170. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-169, donde Xaa₇ es His.
 171. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-170, donde Xaa₈ es Ala.
 172. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-170, donde Xaa₈ es Aib.
 173. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-172, donde Xaa₁₂ es Lys.
- 25 174. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-172, donde Xaa₁₂ es Phe.
 175. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-174, donde Xaa₁₆ es Val.
 176. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-175, donde Xaa₁₈ es Ser.
 177. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-176, donde Xaa₁₉ es Tyr.
 178. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-177, donde Xaa₂₀ es Leu.
- 30 179. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-177, donde Xaa₂₀ es Lys.
 180. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-179, donde Xaa₂₂ es Glu.
 181. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-179, donde Xaa₂₂ es Gly.
 182. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-179, donde Xaa₂₂ es Lys.
- 35 183. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-182, donde Xaa₂₃ es Gln.
 184. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-182, donde Xaa₂₃ es Glu.
 185. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-184, donde Xaa₂₄ es Ala.
 186. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-184, donde Xaa₂₄ es Lys.
 187. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-186, donde Xaa₂₅ es Ala.
 188. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-186, donde Xaa₂₅ es Val.
- 40 189. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-188, donde Xaa₂₆ es His.
 190. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-188, donde Xaa₂₆ es Arg.
 191. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-190, donde Xaa₃₀ es Ala.
 192. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-190, donde Xaa₃₀ es Glu.
 193. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-192, donde Xaa₃₁ es Trp.
- 45 194. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-192, donde Xaa₃₁ es His.
 195. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-194, donde Xaa₃₄ es Gly.
 196. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-194, donde Xaa₃₄ es Gln.
 197. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-194, donde Xaa₃₄ es Arg.
 198. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-197, donde Xaa₃₅ es Gly.
- 50 199. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-198, donde Xaa₃₅ está ausente.
 200. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-199, donde Xaa₃₆ es Arg.
 201. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-199, donde Xaa₃₆ es Lys.
 202. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-199, donde Xaa₃₆ está ausente.
 203. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-202, donde Xaa₃₇ es Gly.
- 55 204. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-202, donde Xaa₃₇ es Lys.
 205. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-202, donde Xaa₃₇ está ausente.
 206. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-205, donde Xaa₃₈ es Glu.
 207. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-205, donde Xaa₃₈ es Gln.
 208. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-205, donde Xaa₃₈ está ausente.
- 60 209. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-208, donde Xaa₃₉ es Gly.
 210. El derivado de cualquiera de las realizaciones 162-208, donde Xaa₃₉ está ausente.
 211. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-210, donde el análogo comprende los cambios de aminoácidos siguientes, en comparación con GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1): (i) 22E, 26R, 27K, 34R, 37K; (ii) 22E, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E, 39G; (iii) 22E, 26R, 27K, 34R, 36K, des37; (iv) 22E, 25V, 26R, 27K,

- 34R, 37K; (v) 8Aib, 20K, 22E, 26R, 27K, 30E, 34G, des35-37; (vi) 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (vii) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34R; (viii) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 34R, des35-37; (ix) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 34R, des36-37; (x) 26H, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (xi) 22K, 25V, 26R, 27K, 30E, 34Q; (xii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38Q; (xiii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34Q, 36K, 38E; (xiv) 22K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xv) 8Aib, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xvi) 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xvii) 22E, 23E, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (iix) 8Aib, 12K, 22E, 26R, 27K, 31 H, 34Q; (ixx) 8Aib, 22K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xx) 22E, 26H, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (xxi) 22E, 24K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xxii) 25V, 26R, 27K, 34Q, 36K; (xxiii) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34R; (xxiv) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 34G, des35-37; (xxv) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 34R; (xxvi) 8Aib, 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q; o (xxvii) 8Aib, 22E, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E, 39G.
212. El derivado de la realización 211, donde el análogo tiene un conjunto de cambios de aminoácidos definidos en cualquiera de (i)-(xxvii).
213. Un compuesto elegido entre las siguientes: Quím. 50, Quím. 51, Quím. 52, Quím. 53, Quím. 54, Quím. 55, Quím. 56, Quím. 57, Quím. 58, Quím. 59, Quím. 60, Quím. 61, Quím. 62, Quím. 63, Quím. 64, Quím. 65, Quím. 66, Quím. 67, Quím. 68, Quím. 69, Quím. 70, Quím. 71, Quím. 72, Quím. 73, Quím. 74, Quím. 75, Quím. 76, Quím. 77, Quím. 78, Quím. 79, Quím. 80 y Quím. 81; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables
214. El compuesto de la realización 213 que es un compuesto según cualquiera de las realizaciones 1-212.
215. Un compuesto caracterizado por su nombre, y elegido de la lista de cada uno de los nombres de los compuestos de los ejemplos 1-32 de este documento, o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.
216. El compuesto de la realización 215 que es un compuesto según cualquiera de las realizaciones 1-214.
217. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-216, que tiene actividad de GLP-1.
218. El derivado de la realización 217, donde la actividad de GLP-1 se refiere a la capacidad de activar al receptor de GLP-1 humano.
219. El derivado de la realización 217, donde la activación del receptor de GLP-1 humano se mide en un ensayo in vitro.
220. El derivado de cualquiera de las realizaciones 217-219, donde la activación del receptor de GLP-1 humano se mide como la potencia de producción de AMPc.
221. El derivado de cualquiera de las realizaciones 217-220, que tiene una potencia correspondiente a una CE₅₀
- a) inferior a 10 000 pM, más preferentemente inferior a 5000 pM, aún más preferentemente inferior a 4000 pM, o muy preferentemente inferior a 3000 pM;
- b) inferior a 2000 pM, preferentemente inferior a 1500 pM, más preferentemente inferior a 1200 pM, aún más preferentemente inferior a 1000 pM, o muy preferentemente inferior a 500 pM;
- c) inferior a 400 pM, preferentemente inferior a 300 pM, más preferentemente inferior a 200 pM, aún más preferentemente inferior a 150 pM, o muy preferentemente inferior a 100 pM; o
- d) inferior a 80 pM, preferentemente inferior a 60 pM, más preferentemente inferior a 40 pM, aún más preferentemente inferior a 30 pM, o muy preferentemente inferior a 20 pM.
222. El derivado de cualquiera de las realizaciones 217-221, donde la potencia se determina como la CE₅₀ para la curva dosis-respuesta que muestra formación de AMPc dependiente de la dosis en un medio que contiene al receptor de GLP-1 humano.
223. El derivado de cualquiera de las realizaciones 219-222, donde se usa una línea celular trasinfectada estable como BHK467-12A (tk-ts13).
224. El derivado de cualquiera de las realizaciones 219-223, donde para la determinación de AMPc se usa un ensayo funcional del receptor.
225. El derivado de cualquiera de las realizaciones 219-224, donde el ensayo se basa en la competencia entre el AMPc formado endógenamente y el AMPc marcado con biotina agregado exógenamente.
226. El derivado de cualquiera de las realizaciones 219-225, en cuyo ensayo el AMPc es capturado empleando un anticuerpo específico.
227. El derivado de cualquiera de las realizaciones 219-226, donde el ensayo es el ensayo de AMPc AlphaScreen.
228. El derivado de cualquiera de las realizaciones 219-227, donde el ensayo se describe en el ejemplo 33.
229. El derivado de cualquiera de las realizaciones 217-228, donde la activación del receptor de GLP-1 humano se mide como la capacidad de unión al receptor en presencia de una concentración de albúmina baja, donde la concentración de albúmina baja es 0.005% de HSA, o, preferentemente, 0.001% de HSA.
230. El derivado de cualquiera de las realizaciones 217-229, para el cual la relación [afinidad de unión al receptor de GLP-1 (C_{I50}) en presencia de 2.0% de HSA (albúmina alta), dividida entre la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (C_{I50}) en presencia de 0.001% de HSA (albúmina baja)] es:
- a) al menos 1.0, más preferentemente al menos 10, aún más preferentemente al menos 25, o muy preferentemente al menos 50;

- b) al menos 60, preferentemente al menos 70, más preferentemente al menos 80, aún más preferentemente al menos 90, o muy preferentemente al menos 100;
- c) al menos 125, preferentemente al menos 150, más preferentemente al menos 200, todavía más preferentemente al menos 250, aún más preferentemente al menos 400, o muy preferentemente al menos 500; o
- d) al menos 600, preferentemente al menos 800, aún más preferentemente al menos 900, o muy preferentemente al menos 1000.
231. El derivado de cualquiera de las realizaciones 217-230, para el cual la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (CI_{50}) en presencia de 0.001% de HSA (albúmina baja) es
- a) inferior a 1000 nM, preferentemente inferior a 750 nM, más preferentemente inferior a 500 nM, o muy preferentemente inferior a 400 nM; o
- b) inferior a 300 nM, preferentemente inferior a 250 nM, más preferentemente inferior a 200 nM, o muy preferentemente inferior a 100 nM; o
- c) inferior a 50.0 nM, preferentemente inferior a 15.0 nM, más preferentemente inferior a 10.0 nM, aún más preferentemente inferior a 5.0 nM, o muy preferentemente inferior a 1.0 nM
- d) inferior a 0.80 nM, preferentemente inferior a 0.60 nM, más preferentemente inferior a 0.40 nM, aún más preferentemente inferior a 0.30 nM, o muy preferentemente inferior a 0.20 nM
232. El derivado de las realizaciones 217-231, para el cual la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (CI_{50}) en presencia de 2.0% de HSA (albúmina alta) es
- a) inferior a 1000 nM, más preferentemente inferior a 900 nM, o muy preferentemente inferior a 800 nM; o
- b) inferior a 500 nM, preferentemente inferior a 400 nM, más preferentemente inferior a 300 nM, aún más preferentemente inferior a 150 nM, o muy preferentemente inferior a 50.0 nM
166. El derivado de cualquiera de las realizaciones 217-232, donde la afinidad de unión al receptor de GLP-1 se mide mediante el desplazamiento de ^{125}I -GLP-1 del receptor.
233. El derivado de cualquiera de las realizaciones 217-232, donde se usa un ensayo de unión de SPA.
234. El derivado de cualquiera de las realizaciones 217-233, donde el receptor de GLP-1 se prepara utilizando una línea celular transinfectada estable.
235. El derivado de cualquiera de las realizaciones 217-234, donde se usa una línea celular de hámster, preferentemente una línea celular de riñón de hámster bebé, como BHK tk-ts13.
236. El derivado de cualquiera de las realizaciones 229-235, donde el valor de CI_{50} se determina como la concentración que desplaza 50% de ^{125}I -GLP-1 del receptor.
237. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-236, que tiene una biodisponibilidad oral, preferentemente una biodisponibilidad oral absoluta, que es superior a la de la semaglutida.
238. El derivado de la realización 237, donde la biodisponibilidad oral se mide en ratas in vivo.
239. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-239, donde la biodisponibilidad oral se mide como la exposición en el plasma después de la inyección directa en la luz intestinal.
240. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-239, para el cual la concentración plasmática (pM) del derivado, determinada 30 minutos después de la inyección de una solución del derivado en el yeyuno de una rata, dividido entre la concentración (μM) de la solución inyectada (exposición corregida por la dosis a los 30 min) es a) de al menos 39, b) de al menos 40; c) de al menos 60; d) de al menos 80; e) de al menos 100; f) de al menos 125; o g) de al menos 150.
241. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-240, para el cual la concentración plasmática (pM) del derivado, determinada 30 minutos después de la inyección de una solución del derivado en el yeyuno de una rata, dividido entre la concentración (μM) de la solución inyectada (exposición corregida por la dosis a los 30 min) es a) de al menos 160, b) de al menos 180, c) de al menos 200; o d) de al menos 250.
242. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-241 donde el derivado de GLP-1 se analiza en una concentración de 1000 uM mezclado con 55 mg/ml de caprato de sodio.
243. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-242, donde se usan ratas Sprague Dawley machos.
244. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-243, donde las ratas tienen un peso corporal al llegar de aproximadamente 240 g.
245. El derivado de las realizaciones 237-244, donde las ratas se mantienen en ayunas durante aproximadamente 18 horas antes del experimento.
246. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-245, donde las ratas reciben anestesia general luego de haber ayunado y antes de la inyección del derivado en el yeyuno.
247. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-246, donde el derivado se administra en la parte proximal del yeyuno (a 10 cm distal del duodeno), o en el intestino medio (a 50 cm proximal del ciego).
248. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-247, donde se inyectan 100 μl del derivado en la luz del yeyuno a través de un catéter con una jeringa, y a continuación se introducen a presión 200 μl de aire dentro de la luz del yeyuno con otra jeringa, que luego se deja conectada al catéter para evitar el retroflujo hacia el catéter.
249. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-248, donde las muestras de sangre (200 μl) se

- extraen de la vena de la cola en tubos de EDTA a intervalos deseados como a los tiempos 0, 10, 30, 60, 120 y 240 min, y se centrifugan 5 minutos, 10 000 G, a 4 °C en el transcurso de 20 minutos.
- 5 250. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-249, donde el plasma se separa (por ej. 75 ul), se congela inmediatamente y se mantiene a -20 °C hasta que se analiza para determinar la concentración plasmática del derivado.
251. El derivado de cualquiera de las realizaciones 237-250, donde se usa LOCI (inmunoensayo luminiscente de canalización de oxígeno) para analizar la concentración plasmática del derivado.
252. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-251, donde el derivado es eficaz para reducir la glucemia en ratones db/db in vivo.
- 10 253. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-252, donde el derivado es eficaz para reducir el peso corporal en ratones db/db in vivo.
254. El derivado de cualquiera de las realizaciones 252-253, donde los ratones db/db se tratan, s.c., con un rango de dosis adecuado del derivado de GLP-1, y la glucemia y/o el peso corporal se determinan a intervalos apropiados.
- 15 255. El derivado de cualquiera de las realizaciones 252-254, donde la dosis del derivado de GLP-1 es de 0.3 nmol/kg, 1.0 nmol/kg, 3.0 nmol/kg, 10 nmol/kg, 30 nmol/kg y 100 nmol/kg, donde kg se refiere el peso corporal del ratón.
256. El derivado de cualquiera de las realizaciones 252-255, donde un grupo de control se trata con vehículo, s.c., preferentemente el medio en el cual el derivado de GLP-1 se disuelve, por ej. con la composición siguiente: fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, 0.05% de tween 80, pH 7.4.
- 20 257. El derivado de cualquiera de las realizaciones 252-256, donde se determina la glucemia y/o se pesan los ratones, en el tiempo -½ h (media hora antes de la dosificación (t = 0)), y en los tiempos 1, 2, 4 y 8 h.
258. El derivado de cualquiera de las realizaciones 252-257, donde la concentración de glucosa se mide usando el método de la glucosa oxidasa.
- 25 259. El derivado de cualquiera de las realizaciones 252-258, donde
- (i) DE₅₀ (peso corporal (BW)) se calcula como la dosis que da lugar a la mitad del efecto máximo sobre delta (por ej., disminución) BW 8 horas después de la administración subcutánea del derivado; y/o
- (ii) DE₅₀ (glucemia (BG)) se calcula como la dosis que da lugar a la mitad del efecto máximo sobre AUC (área bajo la curva) delta (por ej., disminución) BG 8 horas y/o 24 horas después de la administración subcutánea del derivado.
- 30 260. El derivado de cualquiera de las realizaciones 252-259, donde existe una relación dosis-respuesta sigmoidal, preferentemente con una definición clara de la respuesta máxima.
- 35 261. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-260, que tiene un perfil de acción más prolongado que el de la liraglutida.
262. El derivado de la realización 261, donde la prolongación significa la semivida in vivo en una especie animal pertinente.
- 40 263. El derivado de cualquiera de las realizaciones 261-262, donde el animal es a) ratones db/db, b) rata, c) cerdo y/o d) minicerdo.
264. El derivado de la reivindicación 263, donde el animal es un minicerdo.
265. El derivado de cualquiera de las realizaciones 261-264, donde el derivado se administra por vía i) s.c. y/o ii) i.v.
- 45 266. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-265, donde el derivado se administra por vía i.v.
267. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-266, donde la semivida terminal (T_½) después de la administración i.v. en minicerdos es
- a) de al menos 12 horas, preferentemente de al menos 24 horas, más preferentemente de al menos 36 horas, aún más preferentemente de al menos 48 horas, o muy preferentemente de al menos 60 horas;
- 50 b) de al menos 7 horas, preferentemente de al menos 16 horas, más preferentemente de al menos 24 horas, aún más preferentemente de al menos 30 horas, o muy preferentemente de al menos 40 horas;
- c) de al menos 50 horas, preferentemente de al menos 60 horas, más preferentemente de al menos 70 horas, aún más preferentemente de al menos 80 horas, o muy preferentemente de al menos 90 horas.
- 55 268. El derivado de cualquiera de las realizaciones 264-267, donde los minicerdos son minicerdos Göttingen machos.
269. El derivado de cualquiera de las realizaciones 267-268, donde los minicerdos tienen 7-14 meses de vida.
- 60 270. El derivado de cualquiera de las realizaciones 267-269, donde el peso de los minicerdos es de 16-35 kg.
271. El derivado de cualquiera de las realizaciones 267-270, donde los minicerdos se alojan individualmente, y se alimentan una o dos veces al día, preferentemente con dieta para minicerdos SDS.
272. El derivado de cualquiera de las realizaciones 267-271, donde el derivado se administra por vía, i.v., después de al menos 2 semanas de aclimatación.

273. El derivado de cualquiera de las realizaciones 267-272, donde los animales se dejan en ayunas durante aproximadamente 18 h antes de la dosificación y durante al menos 4 h después de la dosificación, y tienen acceso a voluntad al agua durante todo el período.
- 5 274. El derivado de cualquiera de las realizaciones 267-273, donde el derivado de GLP-1 se disuelve en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, 0.05% de tween 80, pH 7.4 hasta una concentración adecuada, preferentemente de 20-60 nmol/ml.
275. El derivado de cualquiera de las realizaciones 267-275, donde las inyecciones intravenosas del derivado se administran en un volumen correspondiente a 1-2 nmol/kg.
- 10 276. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-275, que causa una disminución en la ingesta de alimentos en los cerdos.
277. El derivado de la realización 276, donde la ingesta se reduce con relación a un control, que se trata preferentemente con vehículo o no se trata.
278. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-277, donde
- 15 la ingesta de alimentos (0-24 h) es
- a) 90% o menor en relación con el control tratado con vehículo, b) preferentemente 80% o menor, c) más preferentemente 70% o menor, d) aún más preferentemente 60% o menor, o e) muy preferentemente 50% o menor
- 20 279. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-278, donde la ingesta de alimentos (0-24 h) se refiere a las primeras 24 horas luego de la administración del derivado o vehículo.
280. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-279, donde los cerdos son cerdos Landrace Yorkshire Duroc (LYD) hembras.
281. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-280, donde los cerdos tienen 3 meses de vida.
- 25 282. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-281, donde los cerdos tienen un peso de 30-35 kg.
283. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-282, donde los animales se alojan en un grupo durante 1-2 semanas para la aclimatación.
284. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-283, donde durante el período experimental los animales se colocan en encierros individuales desde la mañana del lunes hasta la tarde del viernes para la
- 30 medición de la ingesta individual de alimentos.
285. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-284, donde los animales se alimentan a voluntad con forraje para cerdos (como Svinefoder, Antonio).
286. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-285, donde la ingesta de alimentos se controla en línea ingresando el peso de la ración cada 15 minutos, usando preferentemente el sistema Mpigwin.
- 35 287. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-286, que se dosifica 0.3, 1.0, 3.0, 10 o 30 nmol/kg.
288. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-287, que se disuelve en un tampón de fosfato (fosfato 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, 0.05% de tween 80, pH 8), preferentemente a las concentraciones de 12, 40, 120, 400 o 1200 nmol/ml.
- 40 289. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-288, donde el tampón de fosfato sirve como vehículo.
290. El derivado de cualquiera de las realizaciones 276-289, donde los animales se dosifican con una única dosis subcutánea del derivado o vehículo (preferentemente con un volumen de dosis de 0.025 ml/kg), en la mañana del día 1, y la ingesta de alimentos se mide durante 4 días después de la dosificación.
- 45 291. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-290, que tiene una semivida ($T_{1/2}$) in vivo en ratas, después de la administración i.v. de a) al menos 4 horas, b) al menos 6 horas, c) al menos 8 horas o d) al menos 10 horas.
292. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-291, que tiene una semivida ($T_{1/2}$) in vivo en ratas, después de la administración i.v. de a) al menos 12 horas, b) al menos 15 horas, c) al menos 18 horas o d) al menos 20 horas.
- 50 293. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-292, que tiene una semivida ($T_{1/2}$) in vivo en ratas, después de la administración i.v. de a) al menos 24 horas, b) al menos 26 horas o c) al menos 30 horas.
294. El derivado de cualquiera de las realizaciones 291-294, donde las ratas son ratas Sprague Dawley machos con un peso corporal de aproximadamente 400 g.
- 55 294. El derivado de cualquiera de las realizaciones 238-294, para el cual se determina el AUC de la curva de exposición plasmática (es decir concentración plasmática en pM vs tiempo) corregida por la dosis (es decir, dividida entre la dosis en pmol del derivado inyectado) desde el tiempo 30 hasta 180 min (es decir el resultado se indica en (min x pM / pmol) o simplemente en min/L).
295. El derivado de la realización 294, donde el AUC de la curva de exposición plasmática corregida por la dosis es
- 60 a) de al menos 50, preferentemente de al menos 100 o más preferentemente de al menos 150 min/L; b) de al menos 200, preferentemente de al menos 250, más preferentemente de al menos 300, o muy preferentemente de al menos 320 min/L; o c) de al menos 1.5 veces, preferentemente de al menos 2 veces, más preferentemente de al menos 3

veces, o muy preferentemente de al menos 4 veces el valor de AUC correspondiente para la semaglutida.

- 5 296. El derivado de cualquiera de las realizaciones 1-295, donde la biodisponibilidad oral se mide en ratas in vivo, como la exposición en el plasma después de la administración por sonda nasogástrica.
297. El derivado de la realización 296, para el cual se determina el AUC de la curva de exposición plasmática (es decir la concentración plasmática en pM vs tiempo) corregida por la dosis (es decir, dividida entre la dosis en pmol del derivado administrado) desde el tiempo 30 a hasta 180 min (es decir el resultado se puede indicar en (min x pM / pmol) o simplemente en min/L).
- 10 298. El derivado de la realización 297, donde el AUC de la curva de exposición plasmática corregida por la dosis es
- a) de al menos 10, preferentemente de al menos 20 o más preferentemente de al menos 30 min/L;
- b) de al menos 40, preferentemente de al menos 50, más preferentemente de al menos 60, o muy preferentemente de al menos 70 min/L; o
- 15 c) de al menos 1.5 veces, preferentemente de al menos 2 veces, más preferentemente de al menos 3 veces, o muy preferentemente al menos 4 veces el valor de AUC correspondiente para la semaglutida.
299. El derivado de cualquiera de las realizaciones 294-298, donde el derivado de GLP-1 se prueba en una concentración de aproximadamente 1000 uM en una solución de 250 mg/ml de N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]caprilato de sodio (SNAC).
- 20 300. El derivado de cualquiera de las realizaciones 294-299, donde se usan ratas Sprague Dawley machos, preferentemente con un peso corporal al llegar de aproximadamente 240 g.
301. El derivado de cualquiera de las realizaciones 294-300, donde las ratas se mantienen en ayunas durante aproximadamente 18 horas antes del experimento.
302. El derivado de cualquiera de las realizaciones 294-301, donde las ratas reciben anestesia general
- 25 luego de haber ayunado y antes de la inyección del derivado en el yeyuno o la administración por sonda nasogástrica, respectivamente.
303. El derivado de cualquiera de las realizaciones 294-302, donde para la inyección en la luz intestinal, el derivado se administra en la parte proximal del yeyuno (a 10 cm distal del duodeno), o en el intestino medio (a 50 cm proximal del ciego), preferentemente en la parte proximal del yeyuno.
- 30 304. El derivado de cualquiera de las realizaciones 294-303, donde se inyectan 100 µl del derivado en la luz del yeyuno a través de un catéter con una jeringa de 1 ml, y a continuación se introducen a presión 200 µl de aire dentro de la luz del yeyuno con otra jeringa, que luego se deja conectada al catéter para evitar el retroflujo hacia el catéter.
305. El derivado de cualquiera de las realizaciones 294-304, donde las muestras de sangre (200 ul) se extraen de la vena de la cola en tubos de EDTA, a intervalos deseados como a los tiempos 0, 10, 30, 60, 120 y 240 min, y se centrifugan 5 minutos, 10 000 G, a 4 °C en el transcurso de 20 minutos.
- 35 306. El derivado de cualquiera de las realizaciones 294-305, donde el plasma se separa (por ej. 75 ul), se congela inmediatamente y se mantiene a -20 °C hasta que se analiza para determinar la concentración plasmática del derivado.
- 40 307. El derivado de cualquiera de las realizaciones 294-306, donde se usa LOCI (inmunoensayo luminiscente de canalización de oxígeno) para analizar la concentración plasmática del derivado.
308. Un producto intermedio en forma de un análogo GLP-1 que comprende los cambios siguientes en comparación con GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1): (i) 38Q; y/o (ii) 39G; uno de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables
- 45 309. El análogo GLP-1 de la realización 308 que comprende (38E, 39G).
310. Un producto intermedio en forma de un análogo GLP-1 que comprende los cambios de aminoácidos siguientes, en comparación con GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1): (i) 22E, 26R, 27K, 34R, 37K; (ii) 22E, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E, 39G; (iii) 22E, 26R, 27K, 34R, 36K, des37; (iv) 22E, 25V, 26R, 27K, 34R, 37K; (v) 8Aib, 20K, 22E, 26R, 27K, 30E, 34G, des35-37; (vi) 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (vii) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34R; (viii) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 34R, des35-37; (ix) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 34R, des36-37; (x) 26H, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (xi) 22K, 25V, 26R, 27K, 30E, 34Q; (xii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38Q; (xiii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34Q, 36K, 38E; (xiv) 22K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xv) 8Aib, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xvi) 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xvii) 22E, 23E, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (ixx) 8Aib, 12K, 22E, 26R, 27K, 31 H, 34Q; (ixx) 8Aib, 22K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xx) 22E, 26H, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (xxi) 22E, 24K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xxii) 25V, 26R, 27K, 34Q, 36K; (xxiii) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34R; (xxiv) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 34G, des35-37; (xxv) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 34R; (xxvi) 8Aib, 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q; o (xxvii) 8Aib, 22E, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E, 39G; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.
- 60 311. El análogo GLP-1 de la realización 310 que tiene un conjunto de cambios de aminoácidos definidos en cualquiera de (i)-(xxvii).
312. Un derivado según cualquiera de las realizaciones 1-307, para usar como un medicamento.
313. Un derivado según cualquiera de las realizaciones 1-307, para usar en el tratamiento y/o la prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, como trastornos de la alimentación,

enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedad crítica, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar los parámetros lipídicos, mejorar la función de las células β , y/o para retrasar o evitar el avance de la enfermedad diabética.

5 314. Un método para tratar o prevenir todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, como trastornos de la alimentación, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedad crítica, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar los parámetros lipídicos, mejorar la función de las células β , y/o para retrasar o evitar el avance de la enfermedad diabética, mediante la administración de una cantidad farmacéuticamente activa de un derivado según cualquiera de las realizaciones 1-307.

10 Las siguientes son realizaciones particulares adicionales de la invención:

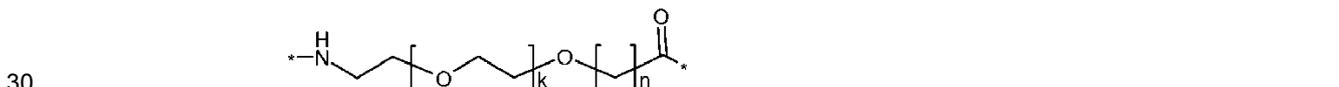
15 1. Un derivado de un análogo GLP-1, donde el análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1); un segundo residuo K en una posición correspondiente a la posición T de GLP-1 (7-37), donde T es un número entero en el intervalo 7-37 excepto 18 y 27; y un máximo de diez cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1 (7-37); donde el primer residuo K se denomina K^{27} , y el segundo residuo K se denomina K^T ; donde el derivado comprende dos fracciones de unión a la albúmina unidas a K^{27} y K^T , respectivamente, donde la fracción de unión a la albúmina comprende una fracción de prolongación elegida entre la Quím. 1 y la Quím. 2:

20 Quím. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_x-\text{CO}^*$

Quím. 2: $\text{HOOC}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-(\text{CH}_2)_y-\text{CO}^*$

25 en las cuales x es un número entero en el intervalo 6-18, e y es un número entero en el intervalo 3-17; con la condición de que cuando la fracción de prolongación tiene la Quím. 1, la fracción de unión a la albúmina comprende además un enlazador de fórmula Quím. 5:

Quím 5:



donde k es un número entero en el intervalo 1-5, y n es un número entero en el intervalo 1-5; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

35 2. El derivado de la realización 1, donde el análogo GLP-1 comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1); un segundo residuo K en una posición correspondiente a la posición T de GLP-1 (7-37), donde T es un número entero en el intervalo 7-37 excepto 18 y 27; y un máximo de diez cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1 (7-37); donde el primer residuo K se denomina K^{27} , y el segundo residuo K se denomina K^T ; donde el derivado comprende dos fracciones de unión a la albúmina unidas a K^{27} y K^T , respectivamente, donde la fracción de unión a la albúmina comprende una fracción de prolongación elegida de Quím. 2:

40 Quím. 2: $\text{HOOC}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-(\text{CH}_2)_y-\text{CO}^*$

45 en la cual y es un número entero en el intervalo 3-17; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

3. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la fracción de unión a la albúmina comprende además un enlazador.

50 4. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador comprende i) un di-radical Glu; y/o ii) un enlazador de fórmula Quím. 5:

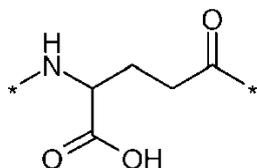
Quím. 5:



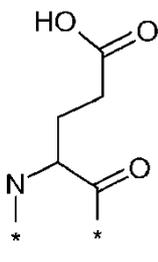
donde k es un número entero en el intervalo 1-5, y n es un número entero en el intervalo 1-5.

5. El derivado del cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el di-radical Glu se elige entre la Quím. 6 y/o la Quím. 7:

Quím. 6:



Quím. 7:



5

preferentemente la Quím. 6.

6. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo GLP-1 comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1); un segundo residuo K en una posición correspondiente a la posición T de GLP-1 (7-37), donde T es un número entero en el intervalo 7-37 excepto 18 y 27; y un máximo de diez cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1 (7-37); donde el primer residuo K se denomina K²⁷, y el segundo residuo K se denomina K^T; donde el derivado comprende dos fracciones de unión a la albúmina unidas a K²⁷ y K^T, respectivamente, donde la fracción de unión a la albúmina comprende

10

15

i) una fracción de prolongación de fórmula Quím. 1:

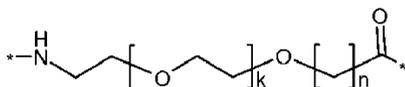


en la cual x es un número entero en el intervalo 6-18; y

20

ii) un enlazador de fórmula Quím. 5:

Quím 5:



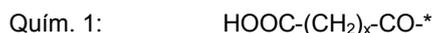
25

donde k es un número entero en el intervalo 1-5, y n es un número entero en el intervalo 1-5; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

30

7. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo GLP-1 comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1); un segundo residuo K en una posición correspondiente a la posición T de GLP-1 (7-37), donde T es un número entero en el intervalo 7-37 excepto 18 y 27; y un máximo de diez cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1 (7-37); donde el primer residuo K se denomina K²⁷, y el segundo residuo K se denomina K^T; donde el derivado comprende dos fracciones de prolongación unidas a K²⁷ y K^T, respectivamente, a través de un enlazador, donde la fracción de prolongación se elige entre la Quím. 1 y la Quím. 2:

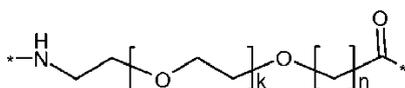
35



40

en las cuales x es un número entero en el intervalo 6-18, e y es un número entero en el intervalo 3-17; y el enlazador tiene la Quím. 5:

Quím. 5:

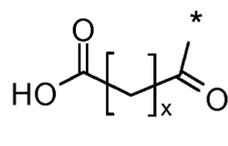


45

donde k es un número entero en el intervalo 1-5, y n es un número entero en el intervalo 1-5; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

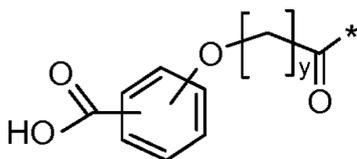
8. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T es un número entero elegido del intervalo 7-37 excepto 18 y 27.
9. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T se elige entre cualquiera de los intervalos 7-17, 19-26 y 28-37.
- 5 10. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T se elige del intervalo 7-17.
11. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T es 12.
12. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T se elige del intervalo 19-26.
13. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T se elige del grupo que consiste en 20, 22 y 24.
- 10 14. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T es 20.
15. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T es 22 o 24 .
16. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T es 22.
17. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T es 24.
18. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T se elige del intervalo 28-37.
- 15 19. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T se elige del grupo que consiste en 36 y 37.
20. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T es 36.
21. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T es 37.
22. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante escritura a mano y examinando de cerca.
- 20 23. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la posición correspondiente a la posición T de GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante escritura a mano y examinando de cerca.
24. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
- 25 25. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la posición correspondiente a la posición T de GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
26. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el programa de alineación es una alineación de Needleman-Wunsch.
- 30 27. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde se usan la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.
28. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.
- 35 29. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la penalización por el primer residuo en un hueco es -10 (menos diez).
30. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la penalización por residuos adicionales en un hueco es - 0.5 (menos cero punto cinco).
31. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo no comprende residuos K distintos del primer y segundo residuos K.
- 40 32. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la fracción de prolongación tiene la Quím. 1.
33. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde x es un número par.
34. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde x es 12.
- 45 35. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la Quím. 1 es representada por la Quím. 1a:

Quím 1a:



- 50 donde x es el definido en cualquiera de las realizaciones anteriores.
36. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la fracción de prolongación tiene la Quím. 2, preferentemente la Quím. 2a:

Quím. 2a:

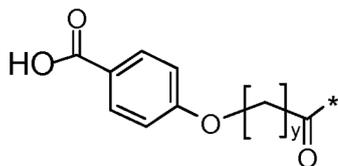


donde y es el definido en cualquiera de las realizaciones anteriores.

- 5 37. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde y es un número impar.
 38. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde y es 9.
 39. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la Quím. 2 es representada por la Quím. 2b, o la Quím. 2c:

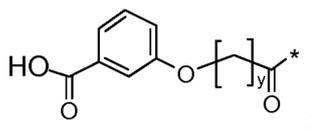
Quím. 2b:

10



Quím. 2c

15

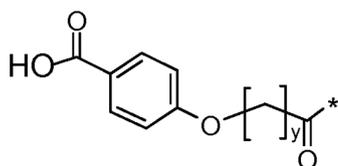


preferentemente por la Quím. 2b;
 donde y es el definido en cualquiera de las realizaciones anteriores.

- 20 39a. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la Quím. 2a es representada por la Quím. 2b, o la Quím. 2c:

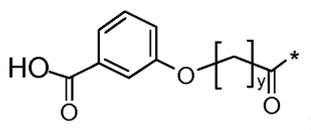
Quím. 2b:

25



Quím. 2c

30



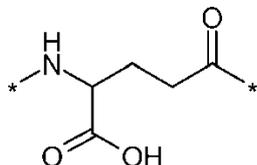
preferentemente por la Quím. 2b;
 donde y es el definido en cualquiera de las realizaciones anteriores.

- 35 40. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que comprende la Quím. 5.
 41. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la Quím. 5 es un primer elemento enlazador.
 42. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde k es 1.
 43. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde n es 1.
 44. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la Quím. 5 está incluida m veces, donde m es un número entero en el intervalo 1-10.
 45. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde m es 2.
 40 46. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde, cuando m no es 1, los elementos de la Quím. 5 están interconectados a través de uno o más enlaces amida.

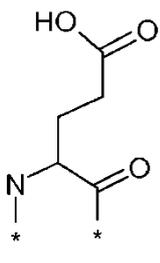
47. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador comprende además un segundo elemento enlazador; preferentemente un di-radical Glu; más preferentemente elegido entre la Quím. 6 y/o la Quím. 7:

5

Quím. 6:



Quím. 7:



10

muy preferentemente la Quím. 6.

48. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el di-radical Glu está incluido p veces, donde p es un número entero en el intervalo 1-2.

49. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde p es 1.

15

50. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde p es 2.

51. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el di-radical Glu es un radical de L-Glu.

52. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el uno o más di-radicales Glu y el uno o más elementos de Quím. 5 están interconectados a través de uno o más enlaces amida.

20

53. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador consiste en m veces la Quím. 5 y p veces el di-radical Glu.

54. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde (m,p) es (2,2) o (2,1), preferentemente (2,1).

25

55. El derivado de las realizaciones anteriores, donde los m elementos de Quím. 5 y los p di-radicales Glu están interconectados a través de enlaces amida.

56. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador y la fracción de prolongación están interconectados a través de un enlace amida.

57. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador y el análogo GLP-1 están interconectados a través de un enlace amida.

30

58. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador está unido al grupo épsilon-amino del primer o del segundo residuo K.

59. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene entre 5 y 41 átomos de C; preferentemente 17 o 22 átomos de C.

60. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene 17 átomos de C.

35

61. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene 22 átomos de C.

62. El derivado de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene entre 4 y 28 heteroátomos; preferentemente 12 o 16 heteroátomos.

63. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene 12 heteroátomos.

64. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene 16 heteroátomos.

40

65. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los heteroátomos son átomos de N y/u O.

66. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene entre 1 y 7 átomos de N; preferentemente 3 o 4 átomos de N.

67. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene 3 átomos de N.

68. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene 4 átomos de N.

45

69. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene de 3 a 21 átomos de O; preferentemente 9 o 12 átomos de O.

70. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene 9 átomos de O.

71. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador tiene 12 átomos de O.

50

72. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador consiste en dos veces la Quím. 6 y dos veces la Quím. 5, interconectadas a través de enlaces amida y en la secuencia indicada,

donde el enlazador está conectado en su extremo *-NH al extremo *-CO de la fracción de prolongación, y en su extremo *-CO al grupo épsilon-amino de K^{27} o K^T del análogo GLP-1.

73. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador consiste en dos veces la Quím. 5 y una vez la Quím. 6, interconectadas a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, donde el enlazador está conectado en su extremo *-NH al extremo *-CO de la fracción de prolongación, y en su extremo *-CO libre al grupo épsilon-amino de K^{27} o K^T del análogo GLP-1.

74. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador consiste en una vez la Quím. 6 y dos veces la Quím. 5, interconectadas a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, donde el enlazador está conectado en su extremo *-NH al extremo *-CO de la fracción de prolongación, y en su extremo *-CO al grupo épsilon-amino de K^{27} o K^T del análogo GLP-1.

75. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador consiste en una vez la Quím. 6, dos veces la Quím. 5 y una vez la Quím. 6, interconectadas a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, donde el enlazador está conectado en su extremo *-NH al extremo *-CO de la fracción de prolongación, y en su extremo *-CO al grupo épsilon-amino de K^{27} o K^T del análogo GLP-1.

76. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde las dos fracciones de prolongación son sustancialmente idénticas; como al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o al menos 99% idénticas.

77. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde las dos fracciones de prolongación tienen una similitud de al menos 0.5; preferentemente de al menos 0.6; más preferentemente de al menos 0.7, o de al menos 0.8; aún más preferentemente de al menos 0.9; o muy preferentemente de al menos 0.99, por ejemplo una similitud de 1.0.

78. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los dos enlazadores tienen una similitud de al menos 0.5; preferentemente de al menos 0.6; más preferentemente de al menos 0.7, o de al menos 0.8; aún más preferentemente de al menos 0.9; o muy preferentemente de al menos 0.99, por ejemplo una similitud de 1.0.

79. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los dos elementos de unión a la albúmina, como las dos cadenas laterales que consisten en la fracción de prolongación y el enlazador, son sustancialmente idénticos; como al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95% o al menos 99% idénticos.

80. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los dos elementos de unión a la albúmina, como las dos cadenas laterales que consisten en la fracción de prolongación y el enlazador, tienen una similitud de al menos 0.5; preferentemente de al menos 0.6; más preferentemente de al menos 0.7, o de al menos 0.8; aún más preferentemente de al menos 0.9; o muy preferentemente de al menos 0.99, por ejemplo una similitud de 1.0.

81. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde las dos estructuras químicas que se van a comparar se representan como huellas, por ejemplo a) huellas ECFP_6; b) huellas UNITY; y/o c) huellas MDL; y donde para cada uno de a), b) y c) el coeficiente de Tanimoto se usa preferentemente para calcular la similitud, o la identidad, de las dos huellas.

82. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el número de cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante escritura a mano y examinando de cerca.

83. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el número de cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.

84. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el programa de alineación es una alineación de Needleman-Wunsch.

85. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde se usan la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.

86. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.

87. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la penalización por el primer residuo en un hueco es -10 (menos 10).

88. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la penalización por residuos adicionales en un hueco es - 0.5 (menos cero punto cinco).

89. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el o los cambios de aminoácidos son en una o más posiciones correspondientes a las posiciones siguientes en GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1): 8, 12, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 30, 31, 34, 35, 36, 37, 38 y 39.

90. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende al menos uno de los cambios siguientes: Aib⁸, K¹², K²⁰, E²² o K²², E²³, K²⁴, V²⁵, R²⁶ o H²⁶, K²⁷, E³⁰ H³¹, G³⁴ o R³⁴ o Q³⁴, Des³⁵, K³⁶ o Des³⁶, K³⁷ o Des³⁷, E³⁸ o Q³⁸ y/o G³⁹.

91. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el segundo residuo K es K¹², y donde el análogo, adicionalmente al cambio K²⁷, comprende además i) un cambio elegido entre G³⁴ y Q³⁴, y ii) un cambio elegido entre R²⁶ y H²⁶.

92. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el segundo residuo K es K²⁰ y donde el análogo, adicionalmente al cambio K²⁷, comprende además i) un cambio elegido entre G³⁴ y Q³⁴, y ii) un

cambio elegido entre R^{26} y H^{26} .

93. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el segundo residuo K es K^{22} y donde el análogo, adicionalmente al cambio K^{27} , comprende además i) un cambio elegido entre G^{34} y Q^{34} , y ii) un cambio elegido entre R^{26} y H^{26} .

94. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el segundo residuo K es K^{24} y donde el análogo, adicionalmente al cambio K^{27} , comprende además i) un cambio elegido entre G^{34} y Q^{34} , y ii) un cambio elegido entre R^{26} y H^{26} .

95. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el segundo residuo K es K^{36} y donde el análogo, adicionalmente al cambio K^{27} , comprende además i) un cambio elegido entre G^{34} y Q^{34} , y ii) un cambio elegido entre R^{26} y H^{26} .

96. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el segundo residuo K es K^{37} y donde el análogo, adicionalmente al cambio K^{27} , comprende además i) un cambio elegido entre G^{34} y Q^{34} , y ii) un cambio elegido entre R^{26} y H^{26} .

97. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende al menos uno de los cambios siguientes: Aib^8 , E^{22} , E^{23} , V^{25} , E^{30} , H^{31} , Des^{35} , Des^{36} , Des^{37} , E^{38} o Q^{38} y/o G^{39} .

98. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende Aib^8 .

99. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende E^{22} .

100. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende E^{23} .

101. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende V^{25} .

102. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende E^{30} .

103. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende H^{31} .

104. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende Des^{35} .

105. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende Des^{36} .

106. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende Des^{37} .

107. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende E^{38} o Q^{38} , preferentemente Q^{38} , o más preferentemente E^{38} .

108. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende G^{39} .

109. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende Des^{35} , Des^{36} y Des^{37} .

110. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende Des^{36} y Des^{37} .

111. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que es un derivado de GLP-1(7-34) (aminoácidos 1-28 de SEC. ID N°: 1).

112. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que es un derivado de GLP-1(7-35) (aminoácidos 1-29 de SEC. ID N°: 1).

113. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que es un derivado de GLP-1(7-36) (aminoácidos 1-30 de SEC. ID N°: 1).

114. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que es un derivado de GLP-1(7-37) (aminoácidos 1-31 de SEC. ID N°: 1).

115. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que es un derivado de GLP-1(7-38) (aminoácidos 1-31 de SEC. ID N°: 1, más un residuo de aminoácido agregado C-terminalmente).

116. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que es un derivado de GLP-1(7-39) (aminoácidos 1-31 de SEC. ID N°: 1, más dos residuos de aminoácidos agregados C-terminalmente).

117. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un máximo de diez cambios de aminoácidos.

118. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un máximo de nueve cambios de aminoácidos.

119. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un máximo de ocho cambios de aminoácidos.

120. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un máximo de siete cambios de aminoácidos.

121. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un máximo de seis cambios de aminoácidos.

122. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un máximo de cinco cambios de aminoácidos.

123. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un máximo de cuatro cambios de aminoácidos.

124. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un máximo de tres cambios de aminoácidos.

125. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un máximo de dos cambios de aminoácidos.

126. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un máximo de un cambio de aminoácido.

127. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un mínimo de un cambio de aminoácido.

128. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un mínimo de dos cambios de aminoácidos.
129. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un mínimo de tres cambios de aminoácidos.
- 5 130. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un mínimo de cuatro cambios de aminoácidos.
131. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un mínimo de cinco cambios de aminoácidos.
- 10 132. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un mínimo de seis cambios de aminoácidos.
133. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un mínimo de siete cambios de aminoácidos.
134. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un mínimo de ocho cambios de aminoácidos.
- 15 135. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un mínimo de nueve cambios de aminoácidos.
136. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un mínimo de diez cambios de aminoácidos.
- 20 137. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene un cambio de aminoácido.
138. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene dos cambios de aminoácidos.
139. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene tres cambios de aminoácidos.
- 25 140. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene cuatro cambios de aminoácidos.
141. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene cinco cambios de aminoácidos.
- 30 142. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene seis cambios de aminoácidos.
143. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene siete cambios de aminoácidos.
144. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene ocho cambios de aminoácidos.
- 35 145. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene nueve cambios de aminoácidos.
146. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo tiene diez cambios de aminoácidos.
- 40 147. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el cambio o los cambios son, independientemente, sustituciones, adiciones y/o eliminaciones.
148. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo a) comprende un análogo GLP-1 de fórmula I; y/o b) es un análogo GLP-1 de fórmula I:

Formula I: Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-Xaa₁₉-Xaa₂₀-

Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Xaa₂₄-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Lys-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Val-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-

Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉, donde

- 45 Xaa₇ es L-histidina, imidazopropionilo, α-hidroxi-histidina, D-histidina, desamino-histidina, 2-amino-histidina, β-hidroxi-histidina, homohistidina, N^α-acetil-histidina, N^α-formil-histidina, α-fluorometil-histidina, α-metil-histidina, 3-piridilalanina, 2-piridilalanina o 4-piridilalanina;
- 50 Xaa₈ es Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Thr, Ser, Lys, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico, ácido (1-aminociclopentil) carboxílico, ácido (1-aminociclohexil) carboxílico, ácido (1-aminocicloheptil) carboxílico o ácido (1-aminociclooctil) carboxílico;
- Xaa₁₂ es Lys o Phe;
- Xaa₁₆ es Val o Leu;
- 55 Xaa₁₈ es Ser, Arg, Asn, Gln o Glu;
- Xaa₁₉ es Tyr o Gln;
- Xaa₂₀ es Leu, Lys o Met;
- Xaa₂₂ es Gly, Glu, Lys o Aib;
- Xaa₂₃ es Gln, Glu o Arg;
- 60 Xaa₂₄ es Ala o Lys;
- Xaa₂₅ es Ala o Val;

Xaa₂₆ es Val, His o Arg;
 Xaa₃₀ es Ala, Glu o Arg;
 Xaa₃₁ es Trp o His;
 Xaa₃₄ es Glu, Asn, Gly, Gln o Arg;
 Xaa₃₅ es Gly, Aib o está ausente;
 Xaa₃₆ es Arg, Gly, Lys o está ausente;
 Xaa₃₇ is Gly, Ala, Glu, Pro, Lys, Arg o está ausente;
 Xaa₃₈ es Ser, Gly, Ala, Glu, Gln, Pro, Arg o está ausente; y
 Xaa₃₉ es Gly o está ausente.

149. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el péptido de fórmula I es un análogo de GLP-1(7-37) (SEC. ID N°: 1).

150. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde si Xaa₃₈ está ausente, entonces Xaa₃₉ también está ausente.

151. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde si Xaa₃₇ está ausente, entonces Xaa₃₈ y Xaa₃₉ también están ausentes.

152. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde si Xaa₃₆ está ausente, entonces Xaa₃₇, Xaa₃₈ y Xaa₃₉ también están ausentes.

153. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde si Xaa₃₅ está ausente, entonces Xaa₃₆, Xaa₃₇, Xaa₃₈ y Xaa₃₉ también están ausentes.

154. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₇ es His; Xaa₈ es Ala o Aib; Xaa₁₂ es Lys o Phe; Xaa₁₆ es Val; Xaa₁₈ es Ser; Xaa₁₉ es Tyr; Xaa₂₀ es Leu o Lys; Xaa₂₂ es Glu, Gly o Lys; Xaa₂₃ es Gln o Glu; Xaa₂₄ es Ala o Lys; Xaa₂₅ es Ala o Val; Xaa₂₆ es His o Arg; Xaa₃₀ es Ala o Glu; Xaa₃₁ es Trp o His; Xaa₃₄ es Gly, Gln, o Arg; Xaa₃₅ es Gly o está ausente; Xaa₃₆ es Arg, Lys o está ausente; Xaa₃₇ es Gly, Lys o está ausente; Xaa₃₈ es Glu o Gln; y Xaa₃₉ es Gly o está ausente.

154a. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₇ es His.

154b. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₈ es Ala.

154b1. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₈ es Aib.

154c. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₁₂ es Lys.

154d. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₁₂ es Phe.

154e. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₁₆ es Val.

154f. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₁₈ es Ser.

154g. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₁₉ es Tyr.

154h. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₀ es Leu.

154i. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₀ es Lys.

154j. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₂ es Glu.

154k. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₂ es Gly.

154l. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₂ es Lys.

154m. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₃ es Gln.

154n. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₃ es Glu.

154o. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₄ es Ala.

154p. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₄ es Lys.

154q. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₅ es Ala.

154r. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores donde Xaa₂₅ es Val.

154s. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₆ es His.

154t. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₂₆ es Arg.

154u. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₀ es Ala.

154v. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₀ es Glu.

154x. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₁ es Trp.

154y. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₁ es His.

154z. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₄ is Gly.

154aa. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₄ es Gln.

154ab. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₄ es Arg.

154ac. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₅ is Gly.

154ad. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₅ está ausente.

154ae. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₆ es Arg.

154af. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₆ es Lys.

154ag. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₆ está ausente.

154ah. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₇ es Gly.

154ai. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₇ es Lys.

154aj. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₇ está ausente.

154ak. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₈ es Glu.

154al. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₈ es Gln.

- 154am. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₈ está ausente.
 154an. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₉ es Gly.
 154ao. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde Xaa₃₉ está ausente.

- 5 155. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende, preferentemente tiene, los cambios de aminoácidos siguientes, en comparación con GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1): (i) 22E, 26R, 27K, 34R, 37K; (ii) 22E, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E, 39G; (iii) 22E, 26R, 27K, 34R, 36K, des37; (iv) 22E, 25V, 26R, 27K, 34R, 37K; (v) 8Aib, 20K, 22E, 26R, 27K, 30E, 34G, des35-37; (vi) 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (vii) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34R; (viii) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 34R, des35-37; (ix) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 34R, des36-37; (x) 26H, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (xi) 22K, 25V, 26R, 27K, 30E, 34Q; (xii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38Q; (xiii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34Q, 36K, 38E; (xiv) 22K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xv) 8Aib, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xvi) 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xvii) 22E, 23E, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xviii) 8Aib, 12K, 22E, 26R, 27K, 31 H, 34Q; (ixx) 8Aib, 22K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xx) 22E, 26H, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (xxi) 22E, 24K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xxii) 25V, 26R, 27K, 34Q, 36K; (xxiii) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34R; (xxiv) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 34G, des35-37; (xxv) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 34R; o (xxvi) 8Aib, 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q.
156. Un compuesto, preferentemente según cualquiera de las realizaciones anteriores, elegido entre las siguientes: Quím. 50, Quím. 51, Quím. 52, Quím. 53, Quím. 54, Quím. 55, Quím. 56, Quím. 57, Quím. 58, Quím. 59, Quím. 60, Quím. 61, Quím. 62, Quím. 63, Quím. 64, Quím. 65, Quím. 66, Quím. 67, Quím. 68, Quím. 69, Quím. 70, Quím. 71, Quím. 72, Quím. 73, Quím. 74, Quím. 75, Quím. 76, Quím. 77, Quím. 78 y Quím. 79; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.
157. Un compuesto, preferentemente según cualquiera de las realizaciones anteriores, caracterizado por su nombre, y elegido de una lista de cada uno de los nombres de los compuestos de los ejemplos 1-30 de este documento, o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.
158. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que tiene actividad de GLP-1.
159. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la actividad de GLP-1 se refiere a la capacidad de activar al receptor de GLP-1 humano.
160. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la activación del receptor de GLP-1 humano se mide en un ensayo in vitro, como la potencia de producción de AMPc.
161. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que tiene una potencia correspondiente a una CE₅₀
- 35 a) inferior a 10 000 pM, más preferentemente inferior a 5000 pM, aún más preferentemente inferior a 4000 pM, o muy preferentemente inferior a 3000 pM;
 b) inferior a 2000 pM, preferentemente inferior a 1500 pM, más preferentemente inferior a 1200 pM, aún más preferentemente inferior a 1000 pM, o muy preferentemente inferior a 500 pM;
 c) inferior a 400 pM, preferentemente inferior a 300 pM, más preferentemente inferior a 200 pM, aún más preferentemente inferior a 150 pM, o muy preferentemente inferior a 100 pM; o
 40 d) inferior a 80 pM, preferentemente inferior a 60 pM, más preferentemente inferior a 40 pM, aún más preferentemente inferior a 30 pM, o muy preferentemente inferior a 20 pM.
162. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la potencia se determina como la CE₅₀ para la curva de dosis-respuesta que muestra la formación de AMPc dependiente de la dosis en un medio que contiene al receptor de GLP-1 humano, preferentemente utilizando una línea celular transinfectada estable como BHK467-12A (tk-ts13), y/o utilizando para la determinación de AMPc un ensayo funcional del receptor, por ejemplo basado en la competencia entre AMPc formado endógenamente y AMPc marcado con biotina agregado exógenamente, en dicho ensayo AMPc se captura más preferentemente empleando un anticuerpo específico, y/o donde un ensayo aún más preferido es el ensayo de AMPc AlphaScreen, muy preferentemente el descrito en el ejemplo 31.
163. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, para el cual la relación [afinidad de unión al receptor de GLP-1 (CI₅₀) en presencia de 2.0% de HSA (albúmina alta), dividida entre la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (CI₅₀) en presencia de 0.005% de HSA (albúmina baja)] es:
- 55 a) al menos 1.0, más preferentemente al menos 10, aún más preferentemente al menos 25, o muy preferentemente al menos 50;
 b) al menos 60, preferentemente al menos 70, más preferentemente al menos 80, aún más preferentemente al menos 90, o muy preferentemente al menos 100;
 c) al menos 125, preferentemente al menos 150, más preferentemente al menos 200, todavía más preferentemente al menos 250, aún más preferentemente al menos 400, o muy preferentemente al menos 500; o
 60 d) al menos 600, preferentemente al menos 800, aún más preferentemente al menos 900, o muy preferentemente al menos 1000.

164. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, para el cual la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (CI_{50}) en presencia de 0.005% de HSA (albúmina baja) es
- 5 a) inferior a 1000 nM, preferentemente inferior a 750 nM, más preferentemente inferior a 500 nM, o muy preferentemente inferior a 100 nM; o
 b) inferior a 50.0 nM, preferentemente inferior a 15.0 nM, más preferentemente inferior a 10.0 nM, aún más preferentemente inferior a 5.0 nM, o muy preferentemente inferior a 1.0 nM.
- 10 165. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, para el cual la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (CI_{50}) en presencia de 2.0% de HSA (albúmina alta) es
- 15 a) inferior a 1100 nM, preferentemente inferior a 1000 nM, más preferentemente inferior a 900 nM, o muy preferentemente inferior a 600 nM; o
 b) inferior a 500 nM, preferentemente inferior a 350 nM, más preferentemente inferior a 200 nM, aún más preferentemente inferior a 100 nM, o muy preferentemente inferior a 50.0 nM.
166. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la afinidad de unión al receptor de GLP-1 se mide mediante el desplazamiento de ^{125}I -GLP-1 del receptor, preferentemente usando un ensayo de unión de SPA.
- 20 167. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el receptor de GLP-1 se prepara usando una línea celular transfectada estable, preferentemente una línea celular de hámster, más preferentemente una línea celular de riñón de hámster bebé, como BHK tk-ts13.
168. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el valor de CI_{50} se determina como la concentración que desplaza 50% de ^{125}I -GLP-1 del receptor.
- 25 169. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que tiene una biodisponibilidad oral, preferentemente una biodisponibilidad oral absoluta, que es superior a la de la semaglutida.
170. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la biodisponibilidad oral se mide en ratas in vivo, como la exposición en el plasma después de la inyección directa en la luz intestinal.
- 30 171. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, para el cual la concentración plasmática (pM) del derivado, determinada 30 minutos después de la inyección de una solución del derivado en el yeyuno de una rata, dividida entre la concentración (μM) de la solución inyectada (exposición corregida por la dosis a los 30 min) es de al menos 39, o de al menos 40; preferentemente de al menos 60; más preferentemente de al menos 80; aún más preferentemente de al menos 100; incluso más preferentemente de al menos 125; o muy preferentemente de al menos 150.
- 35 172. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, para el cual la concentración plasmática (pM) del derivado, determinada 30 minutos después de la inyección de una solución del derivado en el yeyuno de una rata, dividida entre la concentración (μM) de la solución inyectada (exposición corregida por la dosis a los 30 min) es de al menos 160, preferentemente de al menos 180, más preferentemente de al menos 200; o muy preferentemente de al menos 250.
- 40 173. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el derivado de GLP-1 se prueba en una concentración de 1000 μM mezclado con 55 mg/ml de caprato de sodio.
174. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores donde se usan ratas Sprague Dawley machos, preferentemente con un peso corporal al llegar de 240 g.
- 45 175. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde las ratas se mantienen en ayunas durante aproximadamente 18 horas antes del experimento.
176. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde las ratas reciben anestesia general luego de haber ayunado y antes de la inyección del derivado en el yeyuno.
- 50 177. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el derivado se administra en la parte proximal del yeyuno (a 10 cm distal del duodeno), o en el intestino medio (a 50 cm proximal del ciego).
178. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde se inyectan 100 μl del derivado en la luz del yeyuno a través de un catéter con una jeringa, y a continuación se introducen a presión 200 μl de aire dentro de la luz del yeyuno con otra jeringa, que luego se deja conectada al catéter para evitar el retroflujo hacia el catéter.
- 55 179. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde las muestras de sangre (200 μl) se extraen de la vena de la cola en tubos de EDTA, a intervalos deseados como a los tiempos 0, 10, 30, 60, 120 y 240 min, y se centrifugan 5 minutos, 10 000 G, a 4 °C en el transcurso de 20 minutos.
180. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el plasma se separa (por ej. 75 μl), se congela inmediatamente y se mantiene a -20 °C hasta que se analiza para determinar la concentración plasmática del derivado.
- 60 181. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde se usa LOCI (inmunoensayo luminiscente de canalización de oxígeno) para analizar la concentración plasmática del derivado.
182. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el derivado es eficaz para reducir la glucemia en ratones db/db in vivo.
183. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el derivado es eficaz para reducir el

peso corporal en ratones db/db in vivo.

184. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los ratones db/db se tratan, s.c., con un rango de dosis adecuado del derivado de GLP-1, y la glucemia y/o el peso corporal se determinan a intervalos apropiados.

185. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la dosis del derivado de GLP-1 es de 0.3 nmol/kg, 1.0 nmol/kg, 3.0 nmol/kg, 10 nmol/kg, 30 nmol/kg y 100 nmol/kg, donde kg se refiere al peso corporal del ratón.

186. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde un grupo de control se trata con vehículo, s.c., preferentemente el medio en el cual el derivado de GLP-1 se disuelve, por ej. con la composición siguiente: fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, 0.05% de tween 80, pH 7.4.

187. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde se determina la glucemia y/o se pesan los ratones, en el tiempo $-1/2$ h (media horas antes de la dosificación ($t = 0$)), y en los tiempos 1, 2, 4 y 8 h.

188. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la concentración de glucosa se mide usando el método de la glucosa oxidasa.

189. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la Quím.

(i) DE_{50} (peso corporal (BW)) se calcula como la dosis que da lugar a la mitad del efecto máximo sobre delta (por ej., disminución) BW 8 horas después de la administración subcutánea del derivado; y/o

(ii) DE_{50} (glucemia (BG)) se calcula como la dosis que da lugar a la mitad del efecto máximo sobre AUC (área bajo la curva) delta (por ej., disminución) BG 8 horas y/o 24 horas después de la administración subcutánea del derivado.

190. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde existe una relación dosis-respuesta sigmoidal, preferentemente con una definición clara de la respuesta máxima.

191. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que tiene un perfil de acción más prolongado que el de la liraglutida.

192. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde prolongación significa semivida in vivo en una especie animal pertinente, como ratones db/db, ratas, cerdos, y/o, preferentemente, minicerdos; donde el derivado se administra i) s.c. y/o ii) i.v.; preferentemente ii) i.v.

193. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la semivida terminal ($T_{1/2}$) después de la administración i.v. en minicerdos es

a) de al menos 12 horas, preferentemente de al menos 24 horas, más preferentemente de al menos 36 horas, aún más preferentemente de al menos 48 horas, o muy preferentemente de al menos 60 horas;

b) de al menos 7 horas, preferentemente de al menos 16 horas, más preferentemente de al menos 24 horas, aún más preferentemente de al menos 30 horas, o muy preferentemente de al menos 40 horas;

c) de al menos 50 horas, preferentemente de al menos 60 horas, más preferentemente de al menos 70 horas, aún más preferentemente de al menos 80 horas, o muy preferentemente de al menos 90 horas.

194. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los minicerdos son minicerdos Göttingen machos.

195. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los minicerdos tienen 7-14 meses de vida y pesan preferentemente 16-35 kg.

196. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los minicerdos se alojan individualmente, y se alimentan una o dos veces al día, preferentemente con dieta para minicerdos SDS.

197. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el derivado se administra por vía, i.v., después de al menos 2 semanas de aclimatación.

198. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los animales se dejan en ayunas durante aproximadamente 18 h antes de la dosificación y durante al menos 4 h después de la dosificación, y tienen acceso a voluntad al agua durante todo el período.

199. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el derivado de GLP-1 se disuelve en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, 0.05% de tween 80, pH 7.4 hasta una concentración adecuada, preferentemente de 20-60 nmol/ml.

200. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde las inyecciones intravenosas del derivado se administran en un volumen correspondiente a 1-2 nmol/kg.

201. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que aumenta la secreción de insulina estimulada por la glucosa en minicerdos.

202. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los minicerdos son minicerdos Göttingen machos.

203. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los minicerdos tienen 7-14 meses de vida.

204. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los minicerdos se alojan en encierros individuales, y se alimentan una o dos veces al día, preferentemente con dieta para minicerdos SDS.

205. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde una única dosis, opcionalmente después de un período de aumento lineal de la dosis, se administra i.v. o s.c., en la piel fina detrás de la oreja.
- 5 206. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los animales se mantienen en ayunas durante aproximadamente 18 horas antes de la dosificación.
207. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde se analizan un grupo de base y varios grupos de dosis derivados correspondientes a 2-6 niveles diferentes de concentración plasmática, donde el grupo de base a) se trata con vehículo o b) no se trata.
- 10 208. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el nivel de la concentración plasmática es 3000-80 000 pM.
209. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde se realiza una prueba intravenosa de tolerancia a la glucosa (IVGTT) de 1 o 2 horas.
210. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde se administran 0.3 g/kg de glucosa i.v. en un período de 30 segundos, y se extraen muestras de sangre a tiempos adecuados, como los tiempos siguientes (t = 0 corresponde al bolo de glucosa): -10, -5, 0, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120 minutos.
- 15 211. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde se determina la concentración plasmática del derivado, la glucosa y la insulina.
212. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la concentración del derivado se mide a t = 0 min, y, opcionalmente, al final de la prueba (t = 60 min, o t = 120 min).
- 20 213. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la concentración de glucosa se analiza usando el método de la glucosa oxidasa.
214. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el área bajo la curva de la insulina (AUCinsulin) se calcula y se usa como una medida de la secreción de insulina.
- 25 215. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde para al menos una de sus concentraciones, el AUCinsulina es mayor que el AUCinsulina de base, preferentemente al menos 110% de ésta, más preferentemente al menos 120% de ésta, incluso más preferentemente al menos 130% de ésta o muy preferentemente al menos 140% de ésta.
- 30 216. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que causa una disminución de la ingesta de alimentos en cerdos en relación con un control (preferentemente tratado con vehículo o sin tratar); opcionalmente la ingesta de alimentos (0-24 h) puede ser 90% o menor en relación con el control tratado con vehículo, preferentemente 80% o menor, más preferentemente 70% o menor, aún más preferentemente 60% o menor, o muy preferentemente 50% o menor; donde la ingesta de alimentos (0-24 h) se refiere a las primeras 24 horas después de la administración del derivado o el vehículo.
- 35 217. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los cerdos son cerdos Landrace Yorkshire Duroc (LYD) hembras.
218. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los cerdos tienen 3 meses de vida y pesan preferentemente 30-35 kg.
- 40 219. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los animales se alojan en un grupo durante 1-2 semanas para la aclimatación.
220. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde durante el período experimental los animales se colocan en encierros individuales desde la mañana del lunes hasta la tarde del viernes para la medición individual de la ingesta de alimentos.
- 45 221. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los animales se alimentan a voluntad con forraje para cerdos (como Svinefoder, Antonio).
222. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde la ingesta de alimentos se controla en línea, ingresando el peso de la ración cada 15 minutos, preferentemente usando el sistema Mpigwin.
- 50 223. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que se dosifica 0.3, 1.0, 3.0, 10 o 30 nmol/kg, preferentemente disuelto en un tampón de fosfato (fosfato 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, 0.05% de tween 80, pH 8), más preferentemente a concentraciones de 12, 40, 120, 400 o 1200 nmol/ml.
224. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el tampón de fosfato sirve como vehículo.
- 55 225. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde los animales se dosifican con una única dosis subcutánea del derivado o vehículo (preferentemente con un volumen de dosificación de 0.025 ml/kg), en la mañana del día 1, y la ingesta de alimentos se mide durante 4 días después de la dosificación.
226. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que tiene una semivida ($T_{1/2}$) in vivo en ratas, después de la administración i.v. de al menos 4 horas, preferentemente de al menos 6 horas, aún más preferentemente de al menos 8 horas o muy preferentemente de al menos 10 horas.
- 60 227. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que tiene una semivida ($T_{1/2}$) in vivo en ratas, después de la administración i.v. de al menos 12 horas, preferentemente de al menos 15 horas, aún más preferentemente de al menos 18 horas o muy preferentemente de al menos 20 horas.
228. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, que tiene una semivida ($T_{1/2}$) in vivo en ratas, después de la administración i.v. de al menos 24 horas, preferentemente de al menos 26 horas o muy

preferentemente de al menos 30 horas.

229. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde las ratas son ratas Sprague Dawley machos con un peso corporal de aproximadamente 400 g.

5 230. Un producto intermedio en forma de un análogo GLP-1 que comprende los cambios siguientes en comparación con GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1): (i) 38Q; y/o (ii) 39G; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables

231. El análogo GLP-1 de la realización 230 que comprende (38E, 39G).

10 232. Un producto intermedio en forma de un análogo GLP-1 que comprende, preferentemente tiene, los cambios de aminoácidos siguientes, en comparación con GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1): (i) 22E, 26R, 27K, 34R, 37K; (ii) 22E, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E, 39G; (iii) 22E, 26R, 27K, 34R, 36K, des37; (iv) 22E, 25V, 26R, 27K, 34R, 37K; (v) 8Aib, 20K, 22E, 26R, 27K, 30E, 34G, des35-37; (vi) 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (vii) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34R; (viii) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 34R, des35-37; (ix) 8Aib, 22K, 25V, 26R, 27K, 34R, des36-37; (x) 26H, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (xi) 22K, 25V, 26R, 27K, 30E, 34Q; (xii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38Q; (xiii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34Q, 36K, 38E; (xiv) 22K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xv) 8Aib, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xvi) 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (xvii) 22E, 23E, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q, 37K; (viii) 8Aib, 12K, 22E, 26R, 27K, 31 H, 34Q; (ix) 8Aib, 22K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xx) 22E, 26H, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (xxi) 22E, 24K, 26R, 27K, 31 H, 34G, des35-37; (xxii) 25V, 26R, 27K, 34Q, 36K; (xxiii) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34R; (xxiv) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 34G, des35-37; (xxv) 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 34R; o (xxvi) 8Aib, 22E, 24K, 25V, 26R, 27K, 31 H, 34Q; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

233. Un derivado según cualquiera de las realizaciones anteriores, para usar como un medicamento.

25 234. Un derivado según cualquiera de las realizaciones anteriores, para usar en el tratamiento y/o la prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, como trastornos de la alimentación, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedad crítica, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar los parámetros lipídicos, mejorar la función de las células β , y/o para retrasar o evitar el avance de la enfermedad diabética.

30 235. Un método para tratar o prevenir todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, como trastornos de la alimentación, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedad crítica, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar los parámetros lipídicos, mejorar la función de las células β , y/o para retrasar o evitar el avance de la enfermedad diabética, mediante la administración de una cantidad farmacéuticamente activa de un derivado según cualquiera de las realizaciones anteriores.

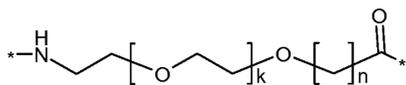
35 Las siguientes son aún otras realizaciones particulares de la invención:

40 1. Un derivado de un análogo GLP-1, donde el análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1); un segundo residuo K en una posición correspondiente a la posición T de GLP-1 (7-37), donde T es un número entero en el intervalo 7-37 excepto 18 y 27; y un máximo de diez cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1 (7-37); donde el primer residuo K se denomina K^{27} , y el segundo residuo K se denomina K^T ; donde el derivado comprende dos fracciones de prolongación unidas a K^{27} y K^T , respectivamente, a través de un enlazador, donde la fracción de prolongación se elige entre la Quím. 1 y la Quím. 2:



50 en las cuales x es un número entero en el intervalo 6-18, e y es un número entero en el intervalo 3-17; y el enlazador tiene la Quím. 5:

Quím. 5:



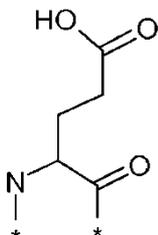
donde k es un número entero en el intervalo 1-5, y n es un número entero en el intervalo 1-5; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

2. El derivado de la realización 1, donde el enlazador comprende además un di-radical Glu elegido entre la Quím. 6 y/o la Quím. 7:

60 Quím. 6:

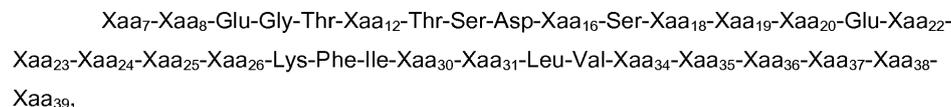


Quím. 7:



- 5 3. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el enlazador está unido al grupo épsilon-amino del primer o del segundo residuo K.
4. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde T es 12, 20, 22, 24, 36 o 37.
5. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo no comprende residuos K distintos del primer y segundo residuos K.
- 10 6. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde x es 12.
7. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde y es 9.
8. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde k es 1.
9. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde n es 1.
- 15 10. El derivado de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el análogo comprende un análogo GLP-1 de fórmula I:

Fórmula I



donde

- 25 Xaa₇ es L-histidina, imidazopropionilo, α-hidroxi-histidina, D-histidina, desamino-histidina, 2-amino-histidina, β-hidroxi-histidina, homohistidina, N^α-acetil-histidina, N^α-formil-histidina, α-fluorometil-histidina, α-metil-histidina, 3-piridilalanina, 2-piridilalanina o 4-piridilalanina;
- Xaa₈ es Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Thr, Ser, Lys, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico, ácido (1-aminociclopentil) carboxílico, ácido (1-aminociclohexil) carboxílico, ácido (1-aminocicloheptil) carboxílico o ácido (1-aminociclooctil) carboxílico;
- 30 Xaa₁₂ es Lys o Phe;
- Xaa₁₆ es Val o Leu;
- Xaa₁₈ es Ser, Arg, Asn, Gln o Glu;
- Xaa₁₉ es Tyr o Gln;
- Xaa₂₀ es Leu, Lys o Met;
- 35 Xaa₂₂ es Gly, Glu, Lys o Aib;
- Xaa₂₃ es Gln, Glu o Arg;
- Xaa₂₄ es Ala o Lys;
- Xaa₂₅ es Ala o Val;
- Xaa₂₆ es Val, His o Arg;
- Xaa₃₀ es Ala, Glu o Arg;
- 40 Xaa₃₁ es Trp o His;
- Xaa₃₄ es Glu, Asn, Gly, Gln o Arg;
- Xaa₃₅ es Gly, Aib o está ausente;
- Xaa₃₆ es Arg, Gly, Lys o está ausente;
- 45 Xaa₃₇ es Gly, Ala, Glu, Pro, Lys, Arg o está ausente;
- Xaa₃₈ es Ser, Gly, Ala, Glu, Gln, Pro, Arg o está ausente; y
- Xaa₃₉ es Gly o está ausente.

11. Un compuesto según cualquiera de las realizaciones anteriores, elegido entre las siguientes: Quím. 50,

Quím. 51, Quím. 52, Quím. 53, Quím. 54, Quím. 55, Quím. 56, Quím. 57, Quím. 58, Quím. 59, Quím. 60, Quím. 61, Quím. 62, Quím. 63, Quím. 64, Quím. 65, Quím. 66, Quím. 67, Quím. 68, Quím. 69, Quím. 70, Quím. 71, Quím. 72, Quím. 73, Quím. 74, Quím. 75, Quím. 76, Quím. 77, Quím. 78 y Quím. 79; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

12. Un producto intermedio en forma de un análogo GLP-1 que comprende los cambios siguientes en comparación con GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1): (i) 38Q; y/o (ii) 39G; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables

13. Un derivado según cualquiera de las realizaciones 1-11, para usar como un medicamento.

14. Un derivado según cualquiera de las realizaciones 1-11, para usar en el tratamiento y/o la prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, como trastornos de la alimentación, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedad crítica, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar los parámetros lipídicos, mejorar la función de las células β , y/o para retrasar o evitar el avance de la enfermedad diabética.

15. Un método para tratar o prevenir todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, como trastornos de la alimentación, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedad crítica, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar los parámetros lipídicos, mejorar la función de las células β , y/o para retrasar o evitar el avance de la enfermedad diabética, mediante la administración de una cantidad farmacéuticamente activa de un derivado según cualquiera de las realizaciones 1-11.

Ejemplos

Esta parte experimental comienza con una lista de abreviaturas y sigue con una sección que incluye métodos generales para la síntesis y la caracterización de los análogos y los derivados de la invención. Luego siguen una serie de ejemplos que se refieren a la preparación de derivados de GLP-1 específicos, y al final una serie de ejemplos que han sido incluidos que se refieren a la actividad de las propiedades de estos análogos y derivados (sección titulada métodos farmacológicos).

Los ejemplos sirven para ilustrar la invención.

Abreviaturas

Las abreviaturas siguientes se usan a continuación, en orden alfabético:

Aib: ácido aminoisobutírico (ácido α -aminoisobutírico)

API: principio activo farmacéutico

AUC: área bajo la curva

BG: glucosa en sangre (glucemia)

BHK: riñón de hámster bebé

BW: peso corporal

Boc: *t*-butiloxicarbonilo

BSA: albúmina sérica bovina

colidina: 2,4,6-trimetilpiridina

DCM: diclorometano

Dde: 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)etilo

DIC: diisopropilcarbodiimida

DIPEA: diisopropiletilamina

DMAP: 4-dimetilaminopiridina

DMEM: medio modificado de Eagle de Dulbecco (DMEM)

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

EGTA: ácido etilenglicoltetraacético

FCS: suero fetal de ternero

Fmoc: 9-fluorenilmetiloxicarbonilo

HATU: (hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio)

HBTU: (hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio)

HEPES: ácido 4-(2-hidroxi-1-piperazinanosulfónico)

HFIP: 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol o hexafluoroisopropanol

HOAt: 1-hidroxi-7-azabenzotriazol

HOBt: 1-hidroxibenzotriazol

HPLC: cromatografía líquida de alto rendimiento

HSA: seroalbúmina humana

IBMX: 3-isobutil-1-metilxantina

Imp: ácido imidazopropiónico (también conocido como des-amino histidina, DesH)

i.v.: por vía intravenosa

ivDde: 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)-3-metilbutilo

- IVGTT: prueba intravenosa de tolerancia a la glucosa
 LCMS: cromatografía líquida-espectroscopía de masas;
 LYD: Landrace Yorkshire Duroc
 MALDI-MS: Véase MALDI-TOF MS
 5 MALDI-TOF MS: desorción/ionización láser asistida por matriz espectroscopía de masas de tiempo de vuelo
 MeOH: metanol
 Mmt: 4-metoxitritilo
 Mtt: 4-metiltritilo
 NMP: N-metil-pirrolidona
 10 OBz: éster benzoílico
 OEG: ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico
 OtBu: éster tert-butílico
 PBS: solución salina tamponada con fosfato
 PD: farmacodinamia
 15 Pen/Strep: penicilina/estreptomicina
 PK: farmacocinética
 RP: fase reversa
 RP-HPLC: cromatografía líquida de alto rendimiento en fase reversa
 RT: temperatura ambiente
 20 Rt: tiempo de retención
 s.c.: por vía subcutánea
 SD: desviación estándar
 SEC-HPLC: cromatografía líquida de alto rendimiento de exclusión por tamaño
 SEM: error estándar de la media
 25 SPA: ensayo de centelleo por proximidad
 SPPS: síntesis peptídica en fase sólida
 tBu: *tert*-butilo
 TFA: ácido trifluoroacético
 TIS: triisopropilsilano
 30 Tris: tris(hidroximetil)aminometano o 2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol
 Trt: tri fenil metilo o tritilo
 Trx: ácido tranexámico
 UPLC: cromatografía líquida de ultra rendimiento

35 **Métodos de preparación**

A. Métodos generales

- Esta sección se refiere a los métodos para la síntesis de péptidos en fase sólida (métodos SPPS, que incluyen los
 40 métodos para la desprotección de aminoácidos, métodos para la escisión del péptido de la resina, y para su
 purificación), así como métodos para detectar y caracterizar el péptido resultante (métodos LCMS, MALDI y UPLC).
 La síntesis de los péptidos en fase sólida puede, en algunos casos, ser mejorada por el uso de dipéptidos protegidos
 en el enlace amida del dipéptido con un grupo que pueda ser escindido en condiciones ácidas por ejemplo, pero no
 exclusivamente, a 2-Fmoc-oxi-4-metoxibencilo o 2,4,6-trimetoxibencilo. En los casos en que está presente una
 45 serina o una treonina en el péptido, se pueden usar dipéptidos de pseudoprolina (véase, por ej. Novobiochem o
 véase también W.R. Sampson (1999), J. Pep. Sci. 5, 403). Los derivados de aminoácidos protegidos utilizados
 fueron los Fmoc-aminoácidos estándar (suministrados por ejemplo por Anaspec, IRIS o Novabiochem). El
 aminoácido N-terminal se protegió con Boc en el grupo alfa amino (por ej. se usó Boc-His(Boc)OH o Boc-His(Trt)-OH
 para los péptidos con His en el extremo N-terminal). El grupo épsilon-amino de las medicinas de la secuencia se
 50 protegieron con Mtt, Mmt, Dde, ivDde o Boc, dependiendo de la ruta para la unión de la fracción de unión a la
 albúmina y el espaciador. La fracción de unión a la albúmina y/o enlazador se pueden unir al péptido por acilación
 del péptido unido a la resina o por acilación en solución del péptido sin proteger. En el caso de unión de la fracción
 de unión a la albúmina y/o el enlazador a la peptidil resina protegida, la unión puede ser modular empleando SPPS y
 bloques de construcción adecuadamente protegidos como, pero no exclusivamente Fmoc-Oeg-OH (ácido Fmoc-8-
 55 amino-3,6-dioxaoctanoico), Fmoc-Trx-OH (ácido Fmoc-tranexámico), Fmoc-Glu-OtBu, éster mono-*tert*-butílico del
 ácido octadecanodioico, éster mono-*tert*-butílico del ácido nonadecanodioico, o éster *tert*-butílico del ácido 4-(9-
 carboxinilo)benzoico.

60 **1. Síntesis de péptido unido a resina**

SPPS método B

El método SPPS B se refiere a la síntesis de una peptidil resina protegida utilizando la química de Fmoc en un
 sintetizador de péptidos Liberty a base de microondas (CEM Corp., Carolina del norte). Una resina adecuada, es una

resina precargada de carga baja Wang que se puede obtener de Novabiochem (por ej. resina de carga baja Fmoc-Lys(Mtt)-Wang, 0.35 mmol/g). La desprotección de Fmoc fue con 5% de piperidina en NMP a una temperatura hasta 70 o 75 °C. La química de acoplamiento fue DIC/HOAt en NMP. Se agregaron a la resina soluciones de aminoácido/HOAt (0.3 M en NMP en un exceso molar de 3-10 veces) seguido de los mismos equivalentes molares de DIC (0.75 M en NMP). Por ejemplo, se usaron las cantidades siguientes de solución de aminoácido/HOAt 0.3 M por acoplamiento para las reacciones a escala siguientes: escala/ml, 0.10 mmol/2.5 ml, 0.25 mmol/5 ml, 1 mmol/15 ml. Los tiempos y las temperaturas de acoplamiento fueron generalmente de 5 minutos a una temperatura hasta 70 o 75 °C. Se usaron tiempos de acoplamiento más largos para reacciones a escalas mayores, por ejemplo 10 min. Los aminoácidos histidina se acoplaron doblemente a 50 °C, o se acoplaron cuádruplemente si el aminoácido anterior estaba impedido estéricamente (por ej. Aib). Los aminoácidos arginina se acoplaron a temperatura ambiente durante 25 min y después se calentaron a 70 o 75 °C durante 5 min. Algunos aminoácidos pero no limitados a Aib, se "acoplaron doblemente", lo que significa que después del primer acoplamiento (por ej. 5 min a 75 °C), la resina se drenó y se agregaron más reactivos (aminoácido, HOAt y DIC), y la mezcla se volvió a calentar (por ej. 5 min a 75 °C). Cuando se deseaba una modificación química de una cadena lateral de lisina, la lisina se incorporaba como Lys(Mtt). El grupo Mtt se eliminó lavando la resina con DCM y suspendiendo la resina en hexafluoroisopropanol puro (sin diluir) durante 20 minutos seguido de lavado con DCM y NMP. La modificación química de la lisina se llevó a cabo mediante síntesis manual (véase método SPPS D) o mediante uno o más pasos automatizados en el sintetizador de péptidos Liberty como se describió antes, usando bloques de construcción protegidos adecuadamente (véase Métodos generales), incluido opcionalmente un acoplamiento manual.

SPPS método D

El método SPPS D se refiere a la síntesis de la peptidil resina protegida empleando la química de Fmoc manual. Ésta se usó habitualmente para la unión de los enlazadores y las cadenas laterales al esqueleto del péptido. Se emplearon las condiciones siguientes a una escala de síntesis de 0.25 mmol. La química de acoplamiento fue DIC/HOAt/colidina en NMP en un exceso molar de 4-10 veces. Las condiciones de acoplamiento fueron 1-6 h a temperatura ambiente. Se llevó a cabo la desprotección de Fmoc con 20-25% de piperidina en NMP (3 x 20 ml, cada 10 min) seguido de lavados con NMP (4 x 20 ml). Se llevó a cabo la desprotección de Dde o ivDde con 2% de hidrazina en NMP (2 x 20 ml, cada 10 min) seguido de lavados con NMP (4 x 20 ml). Se llevó a cabo la desprotección de Mtt o Mmt con 2% de TFA y 2-3% de TIS en DCM (5 x 20 ml, cada 10 min) seguido de DCM (2 x 20 ml), 10% de MeOH y 5% de DIPEA en DCM (2 x 20 ml) y lavados con NMP (4 x 20 ml), o por tratamiento con hexafluoroisopropanol puro (5 x 20 ml, cada 10 min) seguido de lavados como antes. La fracción de unión a la albúmina y/o enlazador se pueden unir al péptido por acilación del péptido unido a la resina o por acilación en solución del péptido sin proteger (véanse las rutas descritas a continuación). En el caso de la unión de la fracción de unión a la albúmina y/o el enlazador a la peptidil resina protegida, la unión puede ser modular utilizando SPPS modular y bloques de construcción adecuadamente protegidos (véase Métodos generales).

Unión al péptido unido a la resina - Ruta I: La fracción de unión a la albúmina o enlazador activada (éster activo o anhídrido simétrico) como el éster mono-(2,5-dioxo-pirrolidin-1-ílico) del ácido octadecanodioico (Ebashi *et al.* EP511600, 4 equivalentes molares con relación al péptido unido a la resina) se disolvió en NMP (25 mL), se agregó a la resina y se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró y la resina se lavó exhaustivamente con NMP, DCM, 2-propanol, metanol y éter dietílico.

Unión al péptido unido a la resina - Ruta II: La fracción de unión a la albúmina se disolvió en NMP/DCM (1:1, 10 ml). Se agregaron el reactivo de activación como HOBt (4 equivalentes molares con relación a la resina) y DIC (4 equivalentes molares con relación a la resina) y la solución se agitó durante 15 min. La solución se agregó a la resina y se añadió DIPEA (4 equivalentes molares con relación a la resina). La resina se agitó 2 a 24 horas a temperatura ambiente. La resina se lavó con NMP (2 x 20 ml), NMP/DCM (1:1; 2 x 20 ml) y DCM (2 x 20 ml).

Unión al péptido en solución - Ruta III: La fracción de unión a la albúmina o enlazador activada (éster activo o anhídrido simétrico) como el éster mono-(2,5-pirrolidinio-1-ílico) del ácido octadecanodioico (Ebashi *et al.* EP511600, 1-1.5 equivalentes molares con relación al péptido) se disolvió en un solvente orgánico como acetonitrilo, THF, DMF, DMSO o en una mezcla de agua/solvente orgánico (1-2 ml) y se agregó a una solución del péptido en agua (10-20 ml) junto con 10 equivalentes molares de DIPEA. En caso de grupos protectores en el residuo de unión a la albúmina como *tert*-butilo, la mezcla de reacción se liofilizó toda la noche y el péptido crudo aislado se desprotegió posteriormente. En caso de grupos de protección *tert*-butilo la desprotección se llevó a cabo disolviendo el péptido en una mezcla de ácido trifluoroacético, agua y triisopropilsilano (90:5:5). Después de 30 minutos la mezcla se evaporó al vacío y el péptido crudo se purificó por HPLC preparativa como se describe más adelante.

SPPS método E

El método SPPS E se refiere a la síntesis de péptidos mediante la química de Fmoc en un sintetizador de péptidos en fase sólida Prelude de Protein Technologies (Tucson, AZ 85714 EE.UU.). Una resina adecuada es una resina precargada de carga baja Wang que se puede obtener de Novabiochem (por ej. resina de carga baja Fmoc-Lys(Mtt)-

Wang, 0.35 mmol/g). La desprotección de Fmoc fue con 25% de piperidina en NMP durante 2 x 10 min. La química de acoplamiento fue DIC/HOAt/colidina en NMP. Se agregaron a la resina soluciones de aminoácido/HOAt (0.3 M en NMP en un exceso molar de 3-10 veces) seguido de los mismos equivalentes molares de DIC (3 M en NMP) y colidina (3 M en NMP). Por ejemplo, se usaron las cantidades siguientes de solución de aminoácido/HOAt 0.3 M por acoplamiento para las reacciones a escala siguientes: escala/ml, 0.10 mmol/2.5 ml, 0.25 mmol/5 ml. Los tiempos de acoplamiento fueron generalmente de 60 minutos. Algunos aminoácidos, incluidos, pero no exclusivamente, arginina, Aib o histidina fueron "doblemente acoplados", lo que significa que después del primer acoplamiento (por ej. 60 min), la resina se drenó y se agregaron más reactivos (aminoácido, HOAt, DIC y colidina), y la mezcla se dejó reaccionar nuevamente (por ej. 60 min). Algunos aminoácidos y derivados de ácidos grasos incluidos, pero no exclusivamente, Fmoc-OEG-OH, Fmoc-Trx-OH, Fmoc-Glu-OtBu, éster mono-tert-butílico del ácido octadecanodioico, éster mono-tert-butílico del ácido nonadecanodioico, o éster tert-butílico del ácido 4-(9-carboxinilo)benzoico se acoplaron durante un tiempo prolongado, por ejemplo 6 horas. Cuando se deseaba una modificación química de una cadena lateral de lisina, la lisina se incorporaba como Lys(Mtt). El grupo Mtt se eliminó lavando la resina con DCM y suspendiendo la resina en hexafluoroisopropanol/DCM (75:25) por 3 x 10 minutos seguido de lavados con DCM y piperidina al 20% y NMP. La modificación química de la lisina se llevó a cabo mediante síntesis manual (véase método SPPS D) o mediante uno o más pasos automatizados en el sintetizador de péptidos Prelude como se describió antes, usando bloques de construcción protegidos adecuadamente (véase Métodos generales).

20 **2. Escisión del péptido de la resina y purificación**

Después de la síntesis la resina se lavó con DCM, y el péptido se escindió de la resina mediante un tratamiento de 2-3 horas con TFA/TIS/agua (95/2.5/2.5 o 92.5/5/2.5) seguido de precipitación con éter dietílico. El péptido se disolvió en un solvente adecuado (como, por ej., ácido acético al 30%) y se purificó por RP-HPLC estándar en una columna C18, 5 µm, usando acetonitrilo/agua/TFA. Las fracciones se analizaron mediante una combinación de los métodos UPLC, MALDI y LCMS, y las fracciones apropiadas se combinaron y liofilizaron.

30 **3. Métodos para la detección y la caracterización**

30 **Métodos LCMS**

LCMS método 1 (LCMS1)

Se usó un espectrómetro de masas LC/MSD TOF (G1969A) de Agilent Technologies para identificar la masa de la muestra después de la elución de un sistema de HPLC Agilent serie 1200. La desconvolución de los espectros de las proteínas se calculó con el software de confirmación de proteínas de Agilent.

Eluyentes:

- 40 A: 0.1 % de ácido trifluoroacético en agua
- B: 0.1 % de ácido trifluoroacético en acetonitrilo
- Columna: Zorbax 5 u, 300SB-C3, 4.8 x 50 mm
- Gradiente: 25% - 95% de acetonitrilo en 15 min

LCMS método 2 (LCMS2)

Se usó un espectrómetro de masas Sciex API 3000 de Perkin Elmer para identificar la masa de la muestra después de la elución de un sistema de HPLC Perkin Elmer Serie 200.

Eluyentes:

- 50 A: 0.05% de ácido trifluoroacético en agua
- B: 0.05% de ácido trifluoroacético en acetonitrilo
- Columna: Waters Xterra MS C-18 X 3 mm di 5 µm
- Gradiente: 5% - 90% de acetonitrilo en 7.5 min a 1.5 ml/min

LCMS método 3 (LCMS3)

Se utilizó un espectrómetro de masas Waters Micromass ZQ para identificar la masa de la muestra luego de la elución de un sistema de HPLC Waters Alliance HT.

60 Eluyentes:

- A: 0.1 % de ácido trifluoroacético en agua
- B: 0.1 % de ácido trifluoroacético en acetonitrilo
- Columna: Phenomenex, Jupiter C4 50 X 4.60 mm id 5 µm
- Gradiente: 10% - 90% de B en 7.5 min a 1.0 ml/min

LCMS método 4 (LCMS4)

Se realizó LCMS4 en un sistema que consistía en un sistema de UPLC Waters Acquity y un espectrómetro de masas LCT Premier XE de Micromass. La bomba de UPLC se conectó a dos recipientes de eluyente que contenían:

A: 0.1% de ácido fórmico en agua

B: 0.1% de ácido fórmico en acetonitrilo

El análisis se realizó a temperatura ambiente mediante inyección de un volumen apropiado de la muestra (preferentemente 2-10 µl) en la columna que se eluyó con un gradiente de A y B. Las condiciones de UPLC, los parámetros del detector y los parámetros del espectrómetro de masas fueron:

Columna: Waters Acquity UPLC BEH, C-18, 1.7 µm, 2.1 mm x 50 mm

Gradiente: lineal 5% - 95% de acetonitrilo durante 4.0 min (alternativamente 8.0 min) a 0.4 ml/min

Detección: 214 nm (salida análoga del TUV (detector UV sintonizable))

MS modo de ionización: API-ES

Barrido: 100-2000 amu (alternativamente 500-2000 amu), paso 0.1 amu

Métodos UPLC y HPLC

Método 05 B5 1

UPLC (método 05_B5_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron con una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían:

A: Na₂SO₄ 0.2 M, H₃PO₄ 0.04 M, 10% de CH₃CN (pH 3.5)

B: 70% de CH₃CN, 30% de H₂O

Se usó el siguiente gradiente lineal: 60% de A, 40% de B a 30% de A, 70% de B en 8 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

Método 05 B7 1

UPLC (método 05_B7_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron con una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían:

A: Na₂SO₄ 0.2 M, H₃PO₄ 0.04 M, 10% de CH₃CN (pH 3.5)

B: 70% de CH₃CN, 30% de H₂O

Se usó el siguiente gradiente lineal: 80% de A, 20% de B a 40% de A, 60% de B en 8 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

Método 04 A2 1

UPLC (método 04_A2_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían:

A: 90% de H₂O, 10% de CH₃CN, bicarbonato de amonio 0.25 M

B: 70% de CH₃CN, 30% de H₂O

Se usó el gradiente lineal siguiente: 90% de A, 10% de B a 60% de A, 40% de B en 16 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

Método 04 A3 1

UPLC (método 04_A3_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron con una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían:

ES 2 612 278 T3

A: 90% de H₂O, 10% de CH₃CN, bicarbonato de amonio 0.25 M
B: 70% de CH₃CN, 30% de H₂O

5 Se usó el gradiente lineal siguiente: 75% de A, 25% de B a 45% de A, 55% de B en 16 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

Método 04 A4 1

10 UPLC (método 04_A4_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron con una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían:

15 A: 90% de H₂O, 10% de CH₃CN, bicarbonato de amonio 0.25 M
B: 70% de CH₃CN, 30% de H₂O

Se usó el gradiente lineal siguiente: 65% de A, 35% de B a 25% de A, 65% de B en 16 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

20

Método 08 B2 1

25 UPLC (método 08_B2_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían:

A: 99.95% de H₂O, 0.05% de TFA
B: 99.95% de CH₃CN, 0.05% de TFA

30

Se usó el gradiente lineal siguiente: 95% de A, 5% de B a 40% de A, 60% de B en 16 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

Método 08 B4 1

35 UPLC (método 08_B4_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían:

40

A: 99.95% de H₂O, 0.05% de TFA
B: 99.95% de CH₃CN, 0.05% de TFA

Se usó el gradiente lineal siguiente: 95% de A, 5% de B a 95% de A, 5% de B en 16 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

45

Método 05 B10 1

50 UPLC (método 05_B10_1): Los análisis de RP se realizaron empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían:

55 A: Na₂SO₄ 0.2 M, H₃PO₄ 0.04 M, 10% de CH₃CN (pH 3.5)
B: 70% de CH₃CN, 30% de H₂O

Se usó el gradiente lineal siguiente: 40% de A, 60% de B a 20% de A, 80% de B en 8 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

Método 01 A4 2

60 UPLC (método 01_A4_2): El análisis de RP se realizó empleando un sistema Waters 600S equipado con un detector de arreglo de diodos Waters 996. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna Symmetry300, C18, 5 µm, 3.9 mm x 150 mm, 42 °C. El sistema de HPLC se conectó a tres depósitos de eluyente

que contenían: A: 100% de H₂O, B: 100% de CH₃CN, C: 1% de ácido trifluoroacético en H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 90% de A, 5% de B, 5% de C a 0% de A, 95% de B, 5% de C en 15 minutos a una velocidad de flujo de 1.0 ml/min.

5 Método 09 B2 1

UPLC (método 09_B2_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían: A: 99.95% de H₂O, 0.05% de TFA; B: 99.95% de CH₃CN, 0.05% de TFA. Se usó el siguiente gradiente lineal: 95% de A, 5% de B a 40% de A, 60% de B en 16 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

15 Método 09 B4 1

UPLC (método 09_B4_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían: A: 99.95% de H₂O, 0.05% de TFA; B: 99.95% de CH₃CN, 0.05% de TFA. Se usó el siguiente gradiente lineal: 95% de A, 5% de B a 5% de A, 95% de B en 16 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

20 Método 05 B8 1

UPLC (método 05_B8_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían: A: Na₂SO₄ 0.2 M, H₃PO₄ 0.04 M, 10% de CH₃CN (pH 3.5); B: 70% de CH₃CN, 30% de H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 50% de A, 50% de B a 20% A, 80% de B en 8 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

30 Método 10 B14 1

UPLC (método 10_B14_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH ShieldRP18, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 50 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían: A: 99.95% de H₂O, 0.05% de TFA; B: 99.95% de CH₃CN, 0.05% de TFA. Se usó el siguiente gradiente lineal: 70% de A, 30% de B a 40% de A, 60% de B en 12 minutos a una velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

40

Método 04 A6 1

UPLC (método 04_A6_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían: A: TRIS 10 mM, 80% de sulfato de amonio 15 mM, 20% de H₂O, pH 7.3; B: 80% de CH₃CN, 20% de H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 95% de A, 5% de B a 10% de A, 90% de B en 16 minutos a una velocidad de flujo de 0,35 ml/min.

50 Método 01 B4 1

HPLC (Método 01_B4_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema Waters 600S equipado con un detector de arreglo de diodos Waters 996. Las detecciones UV se obtuvieron usando una columna Waters C-18 Symmetry 3 mm x 150 mm 3.5 µm. La columna se calentó a 42 °C y se eluyó con un gradiente lineal de 5-95% de acetonitrilo, 90-0% de agua y 5% de ácido trifluoroacético (1.0%) en agua en el transcurso de 15 minutos a una velocidad de flujo de 1 ml/min.

55 Método 04 A7 1

UPLC (método 04_A7_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían: A: TRIS 10 mM, 80% de sulfato de amonio 15 mM, 20% de H₂O, pH 7.3; B: 80% de CH₃CN, 20% de H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 95% de A, 5% de B a 40% de A, 60% de B en 16 minutos a una

velocidad de flujo de 0.40 ml/min.

Método 05 B9 1

5 UPLC (método 05_B9_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían: A: Na₂SO₄ 0.2 M, H₃PO₄ 0.04 M, 10% de CH₃CN (pH 3.5); B: 70% de CH₃CN, 30% de H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 70% de A, 30% de B a 20% de A, 80% de B en 8 minutos a una velocidad de
10 flujo de 0.40 ml/min.

Método 10 B12 1

15 UPLC (método 10_B12_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH ShieldRP18, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 50 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían: A: 99.95% de H₂O, 0.05% de TFA; B: 99.95% de CH₃CN, 0.05% de TFA. Se usó el siguiente gradiente lineal: 50% de A, 50% de B a 0% de A, 100% de B en 16 minutos a una velocidad de flujo de
20 0.40 ml/min.

Método 04 A9 1

25 UPLC (método 04_A9_1): El análisis de RP se realizó empleando un sistema de UPLC Waters equipado con un detector de banda dual. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se obtuvieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH Shield RP18, 1.7 µm, 2.1 mm x 150 mm, 60 °C. El sistema de UPLC se conectó a dos depósitos de eluyente que contenían: A: Na₂SO₄ 200 mM + Na₂HPO₄ 20 mM + NaH₂PO₄ 20 mM en 90% de H₂O/10% de CH₃CN, pH 7.2; B: 70% de CH₃CN, 30% de H₂O. Se usó el gradiente en pasos siguiente: 90% de A, 10% de B a 80% de A, 20% de B en 3 minutos, 80% de A, 20% de B a 50% de A, 50% de B en 17 minutos a una velocidad de flujo 0.40
30 ml/min.

Método MALDI-MS

Los pesos moleculares de los péptidos se determinaron usando espectroscopía de masas de tiempo de vuelo desorción y ionización láser asistida por matriz (MALDI-MS), y se registraron en un Microflex o Autoflex (Bruker). Se
35 utilizó una matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxi cinámico.

Método NMR

Los espectros NMR de protón se registraron utilizando un Bruker Avance DPX 300 (300 MHz) con tetrametilsilano como estándar interno. Los desplazamientos químicos (δ) se indican en ppm y los patrones de división se denominan de la manera siguiente: s, singulete; d, doblete; dd, doble doblete; dt, doble triplete t, triplete, tt, triplete de tripletes; q, cuartete; quint, quintete; sext, sextete m, multiplete, y br = ancho.

B. Síntesis de productos intermedios

1. Síntesis de mono ésteres de diácidos grasos

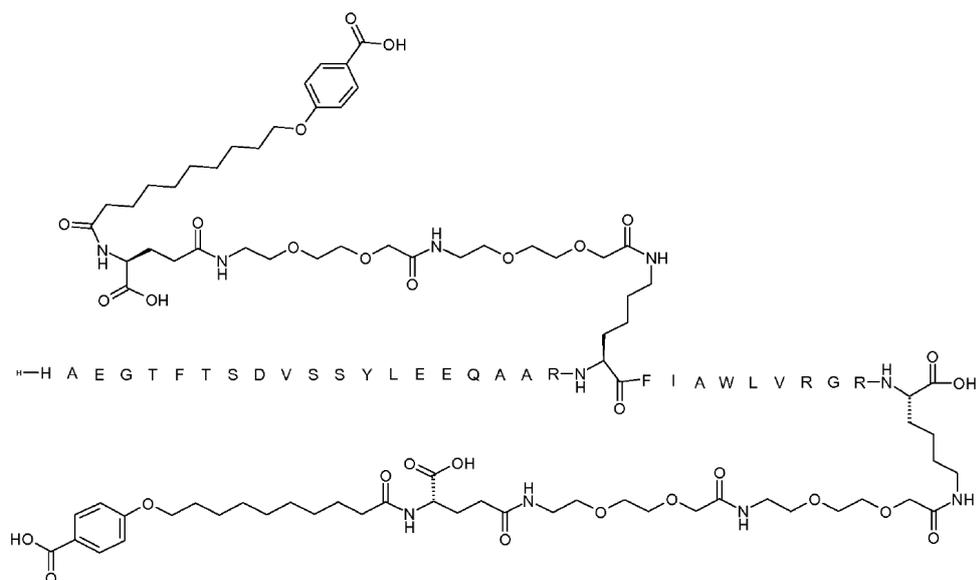
El reflujo durante toda la noche de los diácidos C12, C14, C16 y C18 con Boc-anhídrido, DMAP, y *t*-butanol en tolueno da predominantemente el mono éster de *t*-butilo. Lo obtenido después de la preparación es una mezcla de monoácido, diácido y diéster. La purificación se lleva a cabo mediante lavado, filtración a través de un tapón corto de sílice y cristalización.

B. Síntesis de los compuestos de la invención

Ejemplo 1

60 N^{ε27}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Glu²²,Arg²⁶,Lys²⁷,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 50:



Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 09_B2_1): Rt = 12.4 min

UPLC (método 04_A3_1): Rt = 8.3 min

LCMS4: Rt = 2.0 min, m/z = 1659 (m/3), 1244 (m/4), 996 (m/5)

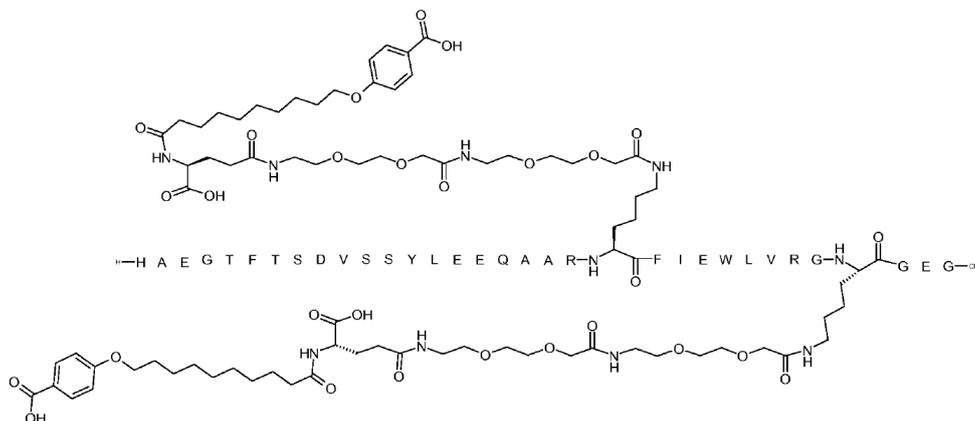
5

Ejemplo 2

N^{E27} -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{E36} -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Glu²²,Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Arg³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil-Glu-Gly

10

15 Quím. 51:



Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 09_B2_1): Rt = 13.1 min

UPLC (método 04_A7_1): Rt = 6.3 min

LCMS4: Rt = 2.1 min, m/z = 1707 (m/3), 1280 (m/4), 1025 (m/5)

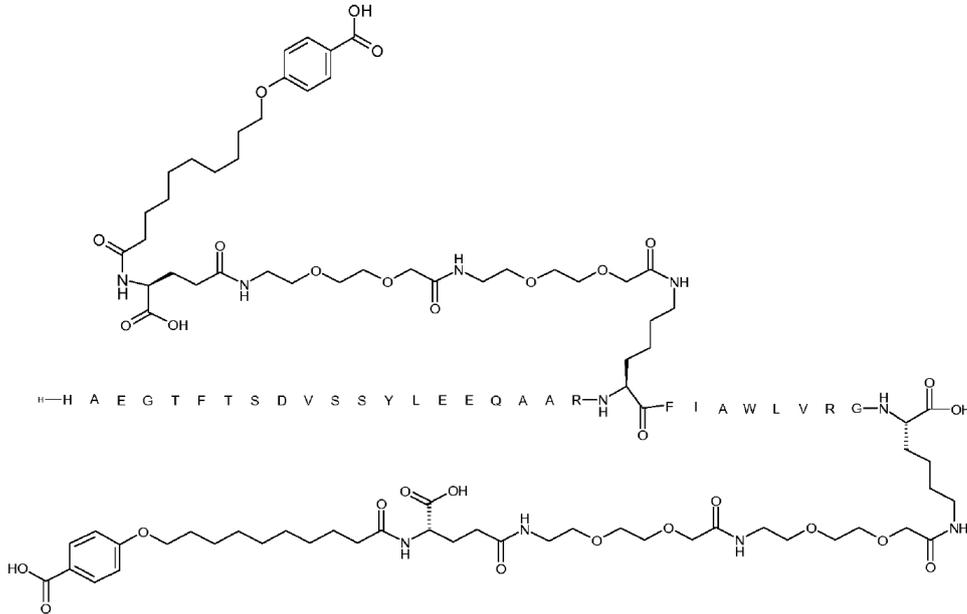
20

Ejemplo 3

N^{E27} -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{E36} -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Glu²²,Arg²⁶,Lys²⁷,Arg³⁴,Lys³⁶],des-Gly37-GLP-1-(7-36)-péptido

25

Quím. 52:

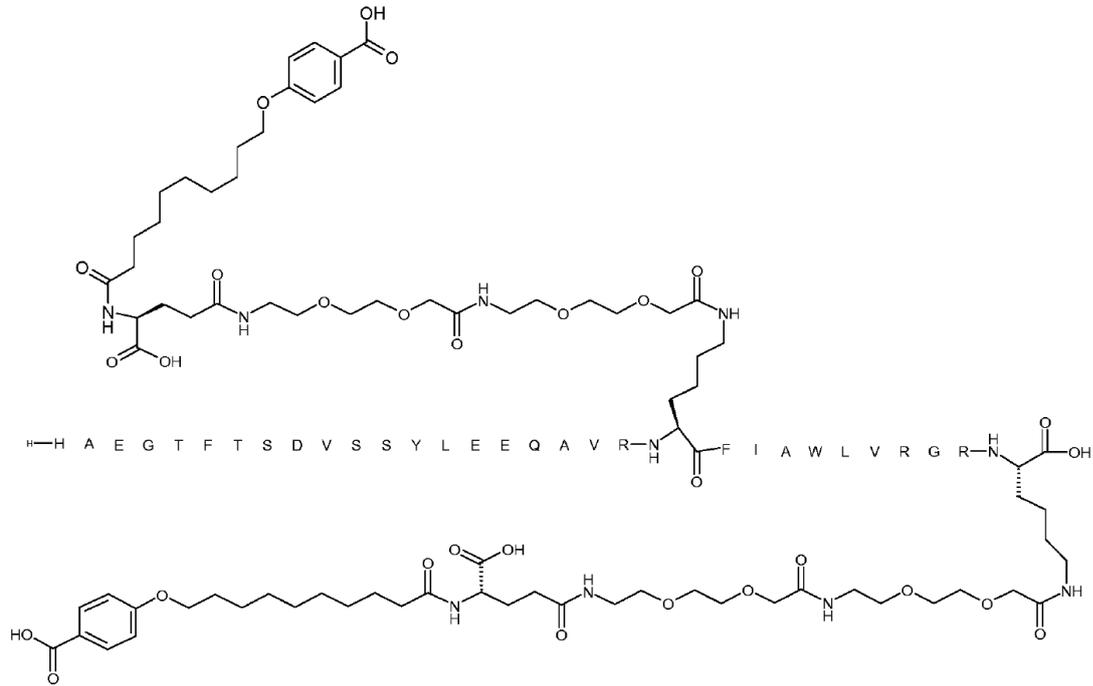


- 5 Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 09_B2_1): Rt = 13.3 min
 UPLC (método 05_B5_1): Rt = 6.5 min
 LCMS4: Rt = 2.3 min, m/z = 1607 (m/3), 1205 (m/4), 964 (m/5)

10 Ejemplo 4

- 15 N^{ε27}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Glu²²,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,Arg³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 53:



Método de preparación: SPPS Método B

5

UPLC (método 09_B2_1): Rt = 13.0 min

UPLC (método 04_A7_1): Rt = 6.9 min

LCMS4: Rt = 2.0 min, m/z = 1668 (m/3), 1251 (m/4), 1001 (m/5)

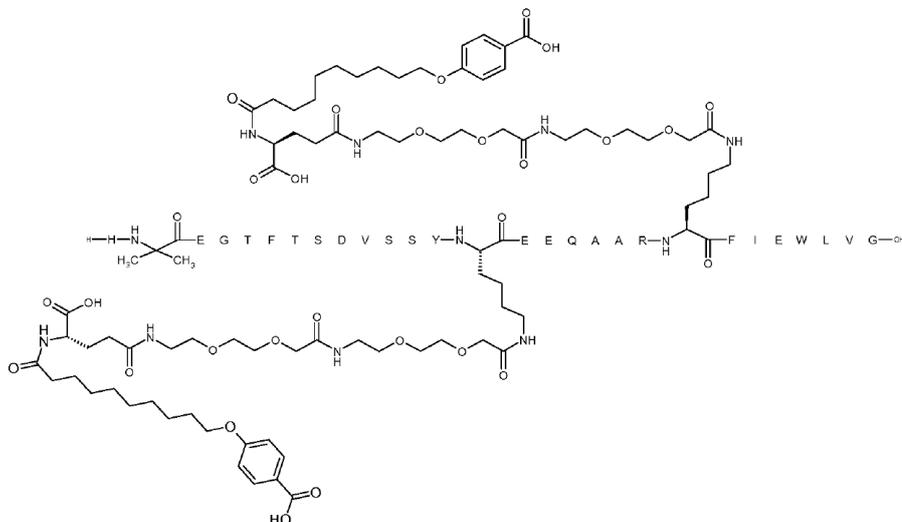
10

Ejemplo 5

15 $N^{\epsilon 20}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], $N^{\epsilon 27}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib⁸,Lys²⁰,Glu²²,Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Gly³⁴]-GLP-1-(7-34)-péptido

20

Quím. 54:



Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 08_B4_1): Rt = 9.02 min
 UPLC (método 04_A6_1): Rt = 4.61 min
 LCMS4: Rt = 2.17 min, m/z = 1540 (m/3), 1155 (m/4)

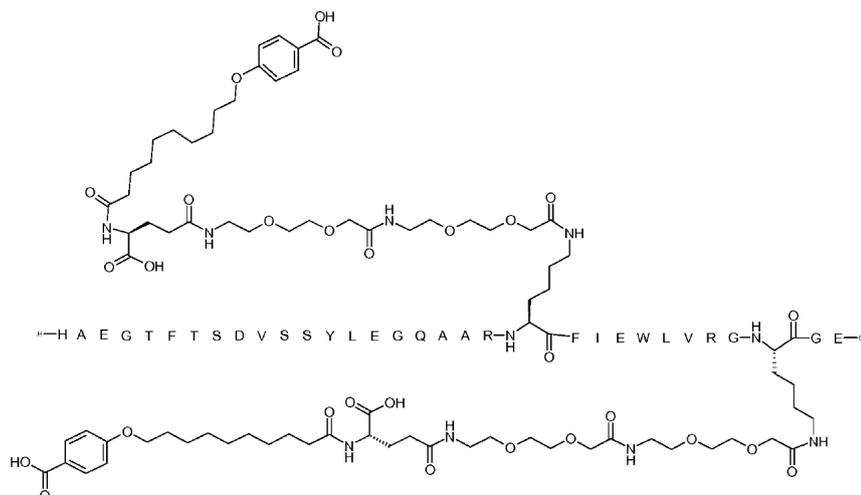
5

Ejemplo 6

10 $\text{N}^{\text{E}27}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], $\text{N}^{\text{E}36}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Arg³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil-Glu

15

Quím. 55:



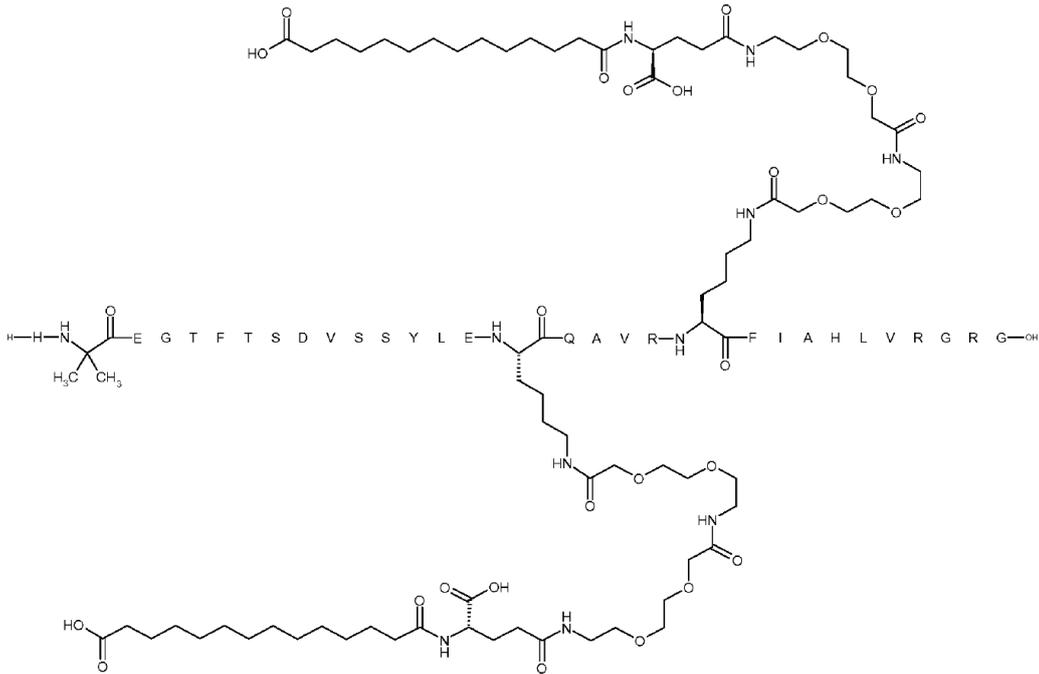
Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 09_B2_1): Rt = 13.0 min
 UPLC (método 05_B5_1): Rt = 5.6 min
 LCMS4: Rt = 2.2 min, m/z = 1664 (m/3), 1248 (m/4), 999 (m/5)

20

Ejemplo 7

5 N^{ε22}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε27}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib⁸,Lys²²,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,His³¹,Arg³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 56:



10

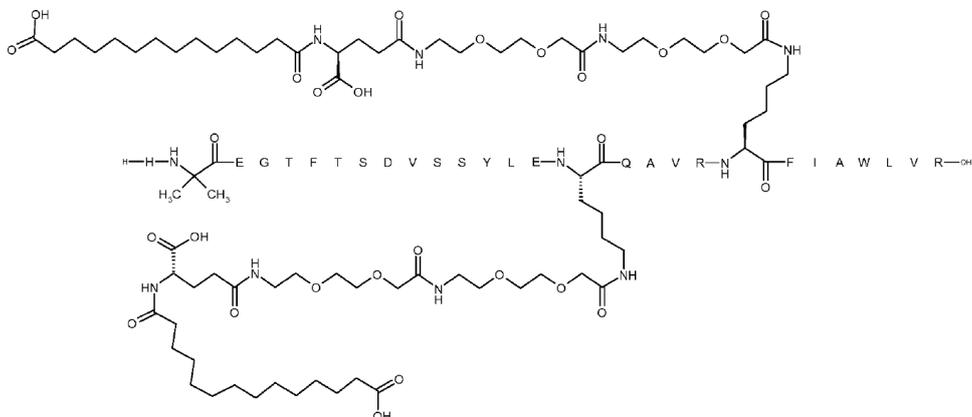
Método de preparación: SPPS Método B
 LCMS2: Rt = 4.00 min, m/z = 1599 (m/3), 1199 (m/4)
 UPLC (método 08_B4_1): Rt = 7.83 min
 UPLC (método 05_B9_1): Rt = 7.45 min

15

Ejemplo 8

20 N^{ε22}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε27}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib⁸,Lys²²,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,Arg³⁴]-GLP-1-(7-34)-péptido

Quím. 57:



Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 10_B12_1): Rt = 8.92 min

LCMS4: Rt = 2.58 min, m/z = 1525 (m/3), 1144 (m/4), 915 (m/5)

5

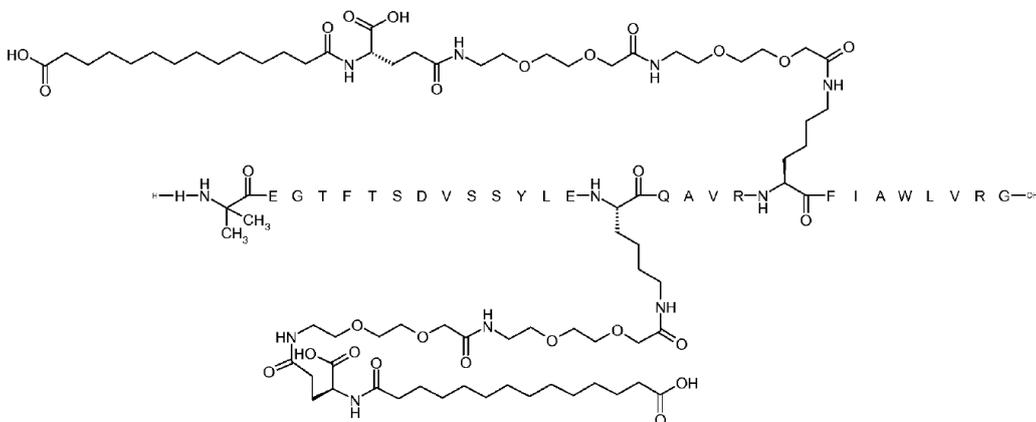
Ejemplo 9

$N^{\epsilon 22}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], $N^{\epsilon 27}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Lys22,Val25,Arg26,Lys27,Arg34]-GLP-1-(7-35)-péptido

10

15

Quím. 58:



Método de preparación: SPPS método E

La masa molecular teórica de 4628 Da se confirmó por MALDI-MS UPLC (método 09_B4_1): Rt = 9.29 min

UPLC (método 04_A6_1): Rt = 6.49 min

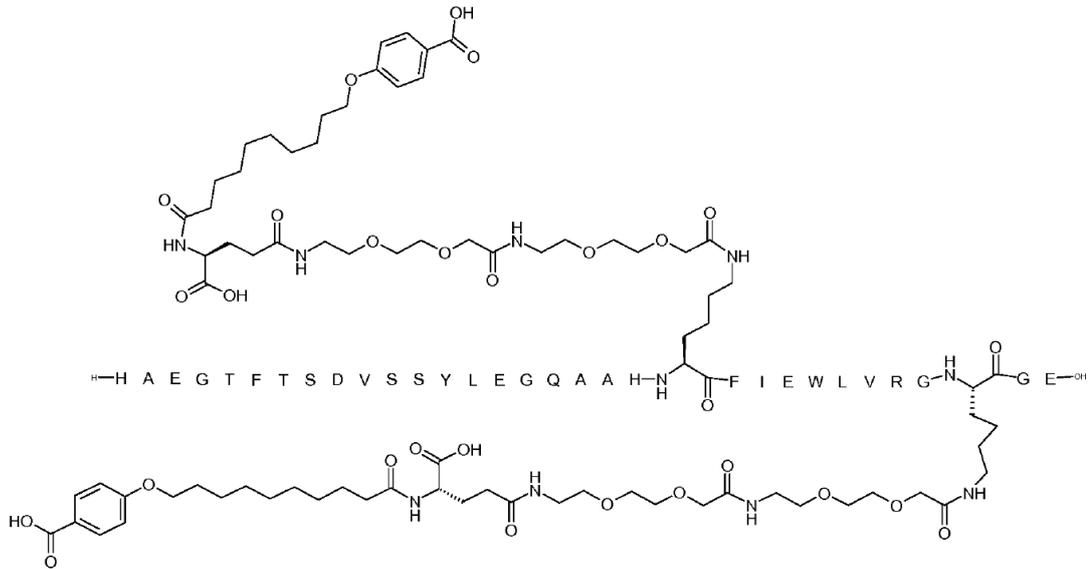
20

Ejemplo 10

$N^{\epsilon 27}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], $N^{\epsilon 36}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[His²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Arg³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil-Glu

25

Quím. 59:



Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 08_B2_1): Rt = 12.9 min

UPLC (método 05_B5_1): Rt = 5.5 min

LCMS4: Rt = 2.2 min, m/z = 1657 (m/3), 1243 (m/4), 995 (m/5)

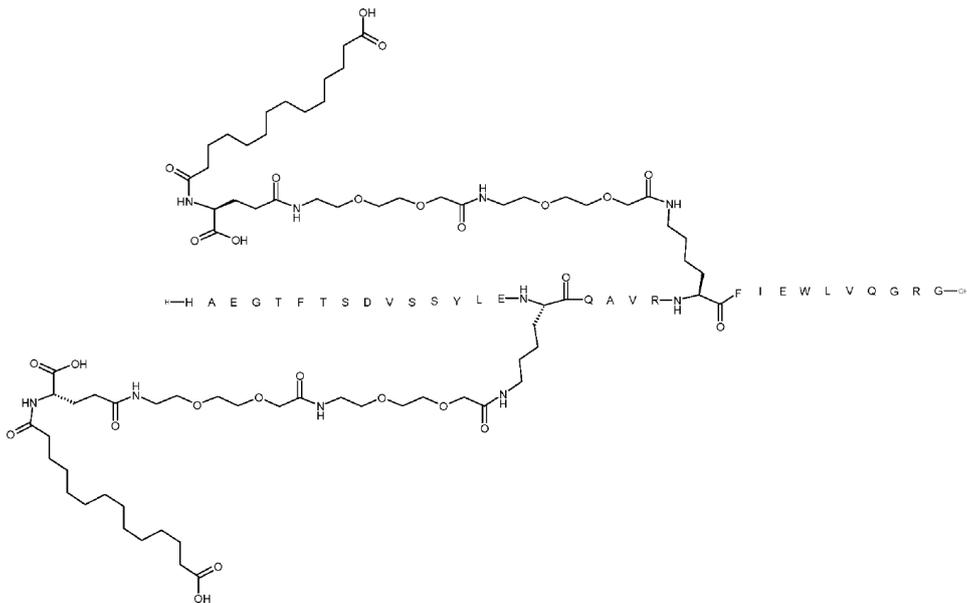
5

Ejemplo 11

10 $N^{\epsilon 22}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], $N^{\epsilon 27}$ -[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Lys²²,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

15

Quím. 60:



Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 08_B2_1): Rt = 13.5 min

LCMS4: Rt = 2.2 min, m/z = 1621 (m/3), 1216 (m/4), 973 (m/5)

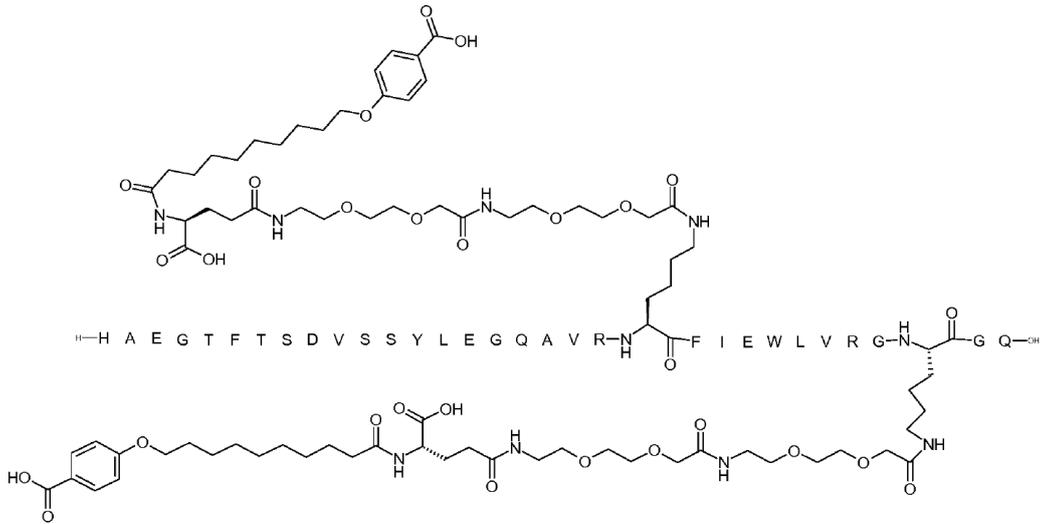
20

Ejemplo 12

5 $N^{\alpha}(N^{\epsilon 27}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4\text{-carboxi-4-[10-(4\text{-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil}], N^{\epsilon 36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4\text{-carboxi-4-[10-(4\text{-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Val^{25},Arg^{26},Lys^{27},Glu^{30},Arg^{34},Lys^{36}]-GLP-1-(7-37)-peptidil]-Gln$

10

Quím. 61:



Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 09_B4_1): Rt = 8.9 min
 UPLC (método 05_B7_1): Rt = 8.8 min
 LCMS4: Rt = 2.2 min, m/z = 1673 (m/3), 1255 (m/4), 1004 (m/5)

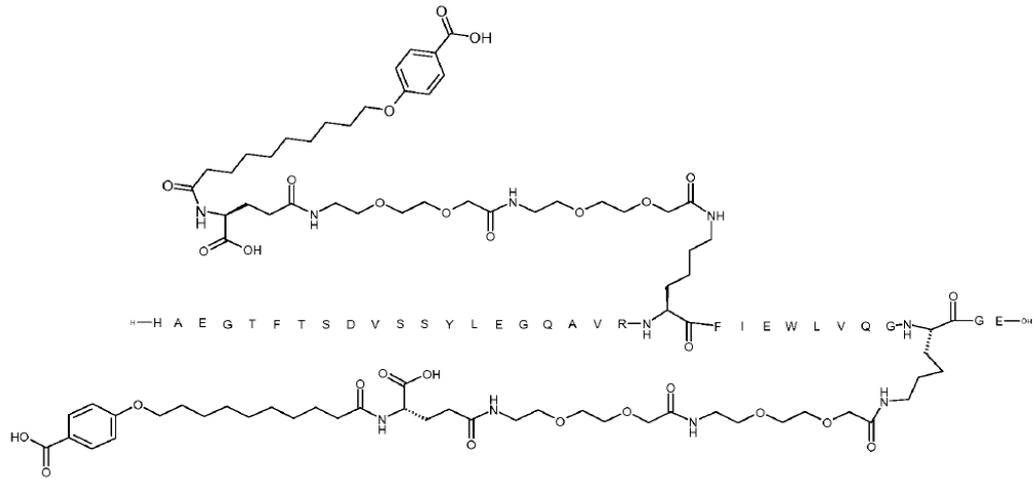
15

Ejemplo 13

20 $N^{\epsilon 27}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4\text{-carboxi-4-[10-(4\text{-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil}], N^{\epsilon 36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4\text{-carboxi-4-[10-(4\text{-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Val^{25},Arg^{26},Lys^{27},Glu^{30},Gln^{34},Lys^{36}]-GLP-1-(7-37)-peptidil]-Glu$

25

Quím. 62:



Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 05_B9_1): Rt = 7.9 min

UPLC (método 05_B7_1): Rt = 8.8 min

LCMS4: Rt = 2.3 min, m/z = 1663 (m/3), 1248 (m/4), 999 (m/5)

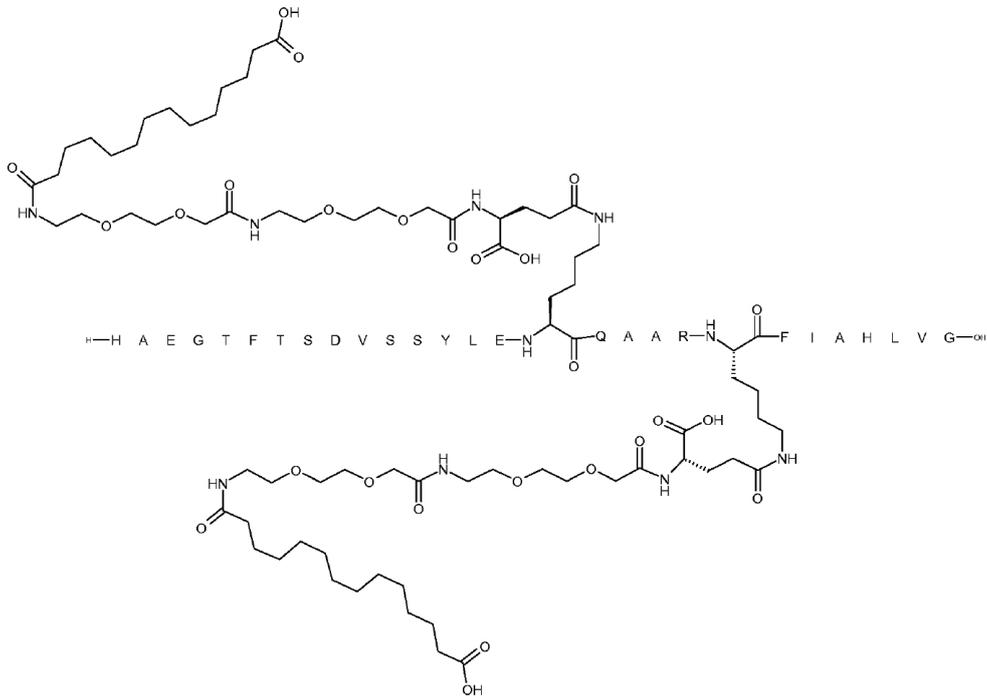
5

Ejemplo 14

10 $N^{\epsilon 22}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-(13-carboxitridecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil], $N^{\epsilon 27}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-(13-carboxitridecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Lys²²,Arg²⁶,Lys²⁷,His³¹,Gly³⁴]-GLP-1-(7-34)-péptido

15

Quím. 63:



Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 08_B4_1): Rt = 8.5 min

UPLC (método 05_B7_1): Rt = 8.8 min

LCMS4: Rt = 2.1 min, m/z = 1462 (m/3), 1097 (m/4), 878 (m/5)

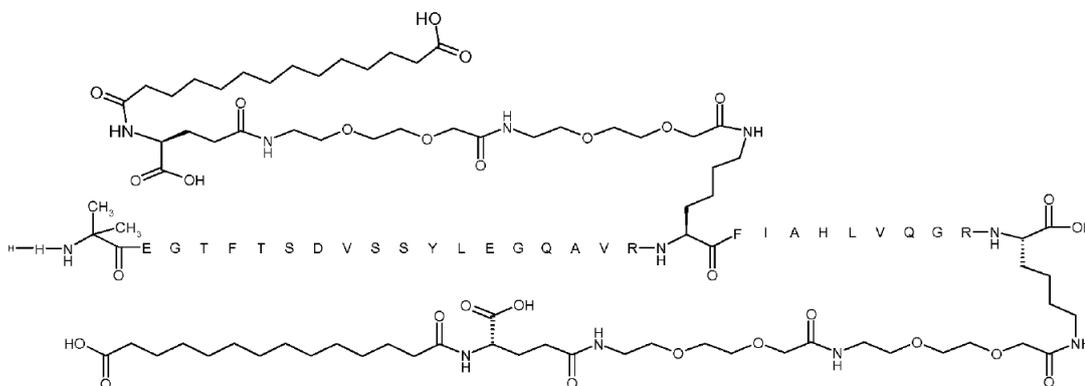
5

Ejemplo 15

10 N^{ε27}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib⁸,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,His³¹,Gln³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-péptido

15

Quím. 64:

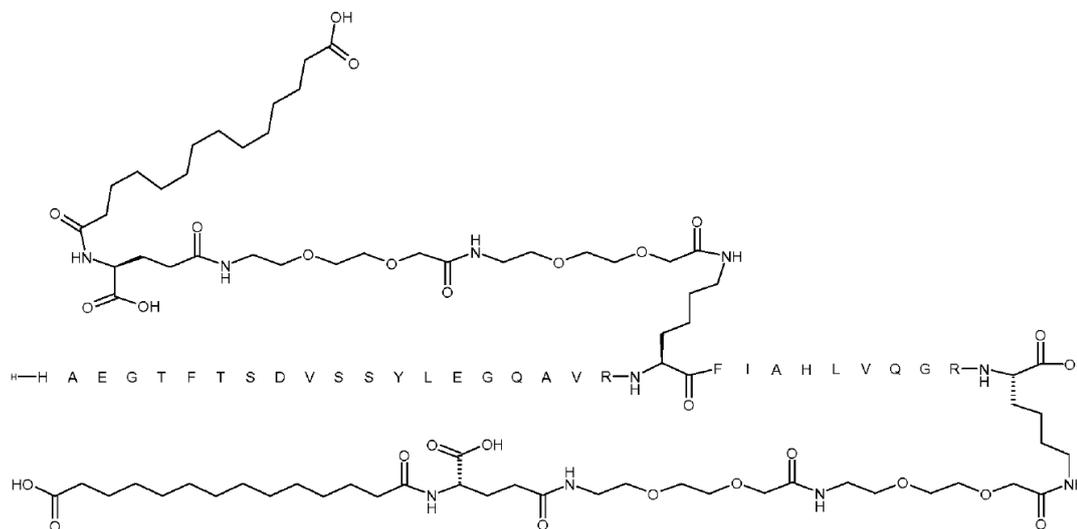


5 Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 08_B4_1): Rt = 8.3 min
 UPLC (método 05_B9_1): Rt = 7.1 min
 LCMS4: Rt = 2.1 min, m/z = 1589 (m/3), 1192 (m/4), 954 (m/5)

Ejemplo 16

10 N^{ε27}-[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-
 carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-
 carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-
 15 [Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,His³¹,Gln³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 65

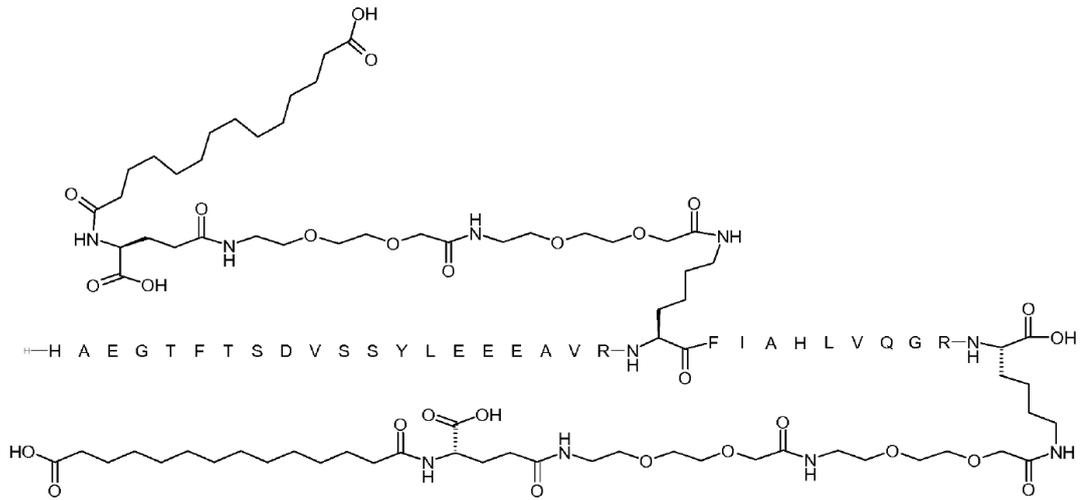


20 Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 08_B4_1): Rt = 8.1 min
 LCMS4: Rt = 2.1 min, m/z = 1585 (m/3), 1189 (m/4), 951 (m/5)

Ejemplo 17

25 N^{ε27}-[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-
 carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-
 carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-
 [Glu²²,Glu²³,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,His³¹,Gln³⁴,Lys³⁷]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 66:

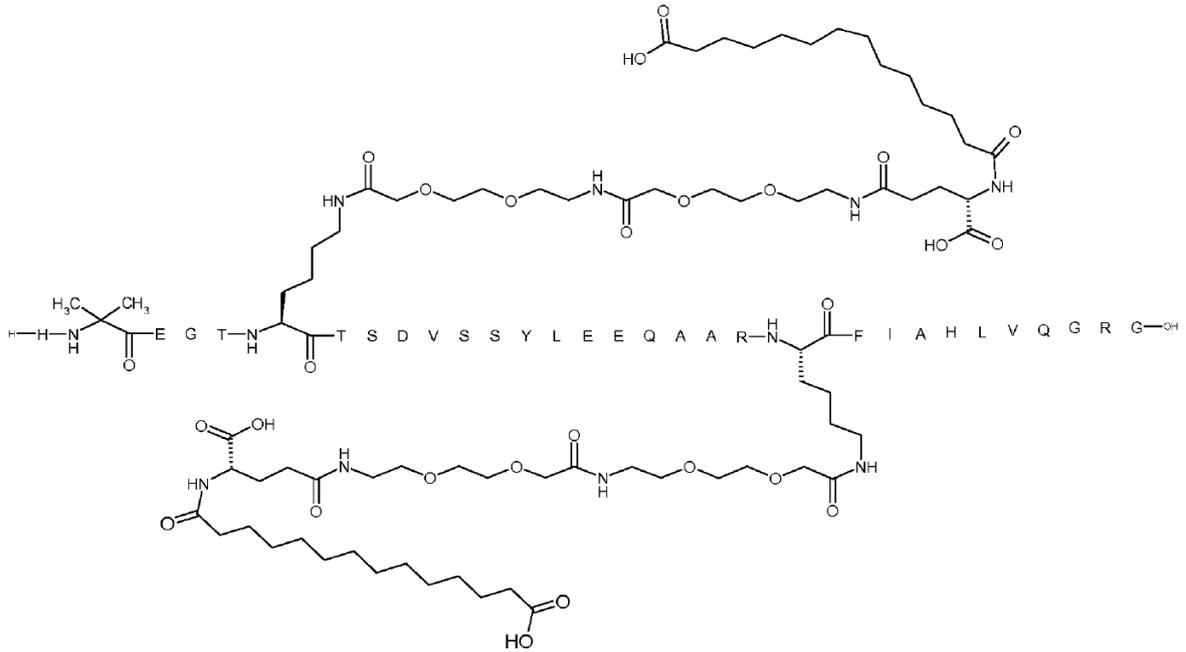


5 Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 08_B4_1): Rt = 8.0 min
 UPLC (método 05_B9_1): Rt = 6.6 min
 LCMS4: Rt = 2.1 min, m/z = 1609 (m/3), 1206 (m/4), 966 (m/5)

10 Ejemplo 18

15 $N^{\epsilon 12}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], $N^{\epsilon 27}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib⁸,Lys¹²,Glu²²,Arg²⁶,Lys²⁷,His³¹,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 67:



Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 09_B4_1): Rt = 7.66 min
 UPLC (método 04_A6_1): Rt = 4.09 min
 LCMS4: Rt=1.83 min, m/z = 1181(m/4), 945 (m/5)

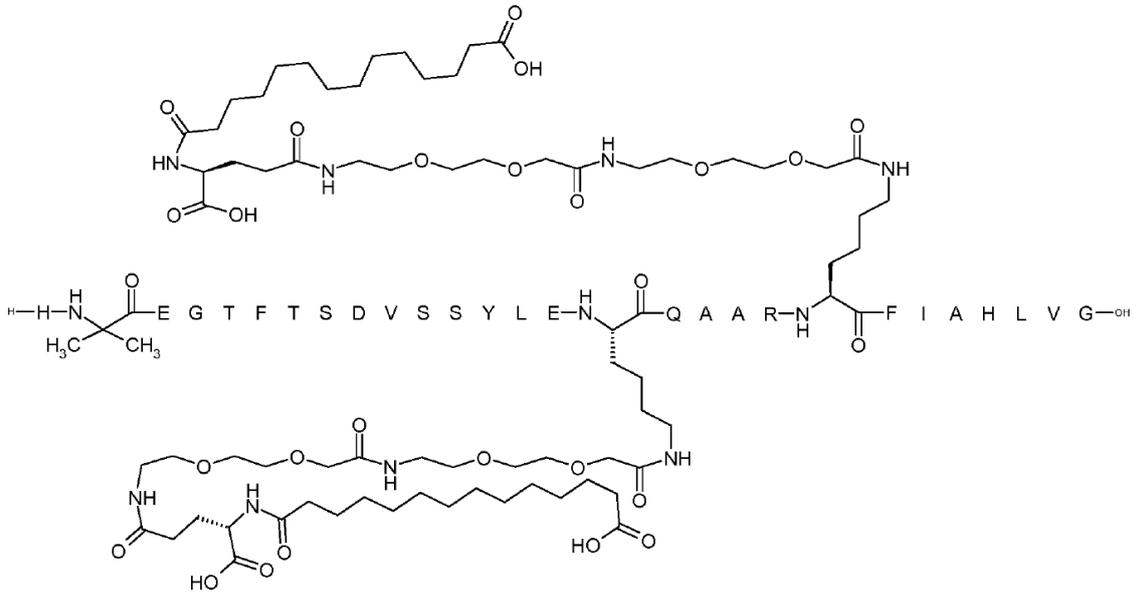
5

Ejemplo 19

10 N^{ε22}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil],
 N^{ε27}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib⁸,Lys²²,Arg²⁶,Lys²⁷,His³¹,Gly³⁴]-
 GLP-1-(7-34)-péptido

15

Quím. 68:



Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 09_B4_1): Rt = 8.37 min

UPLC (método 04_A6_1): Rt = 4.41 min

LCMS4: Rt = 2.00 min, m/z = 1466 (m/3), 1100 (m/4)

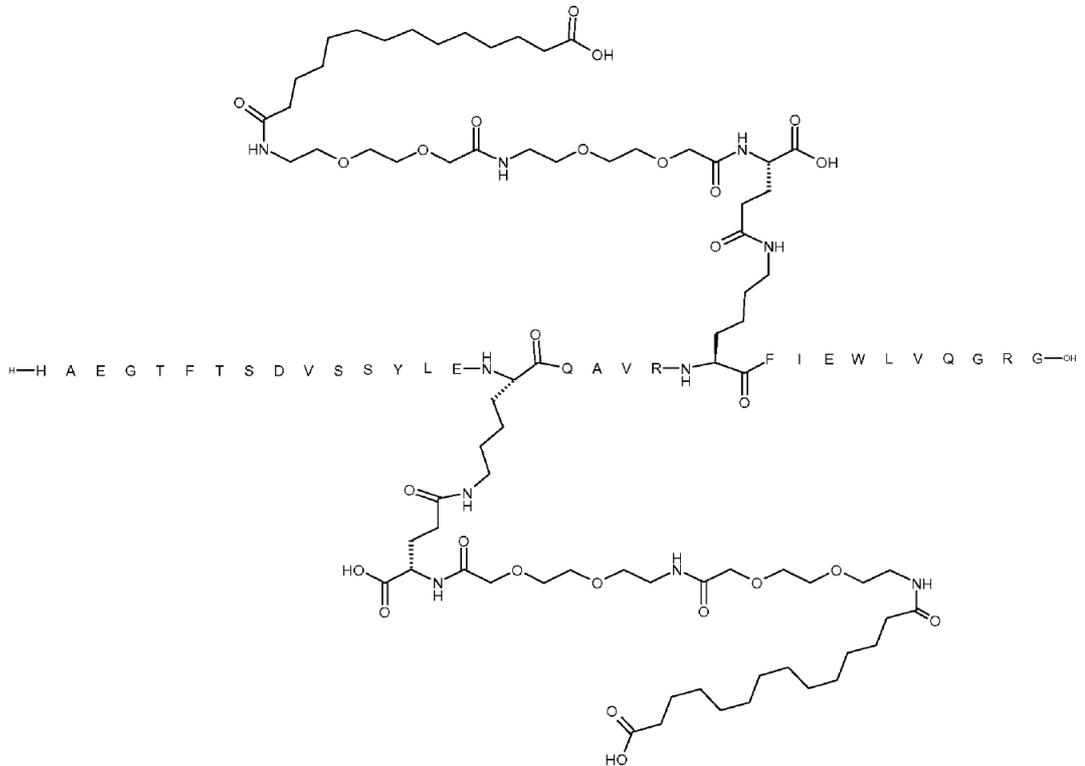
5

Ejemplo 20

10 N^{ε22}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-(13-carboxitridecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil], N^{ε27}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-(13-carboxitridecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Lys²²,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

15

Quím. 69:



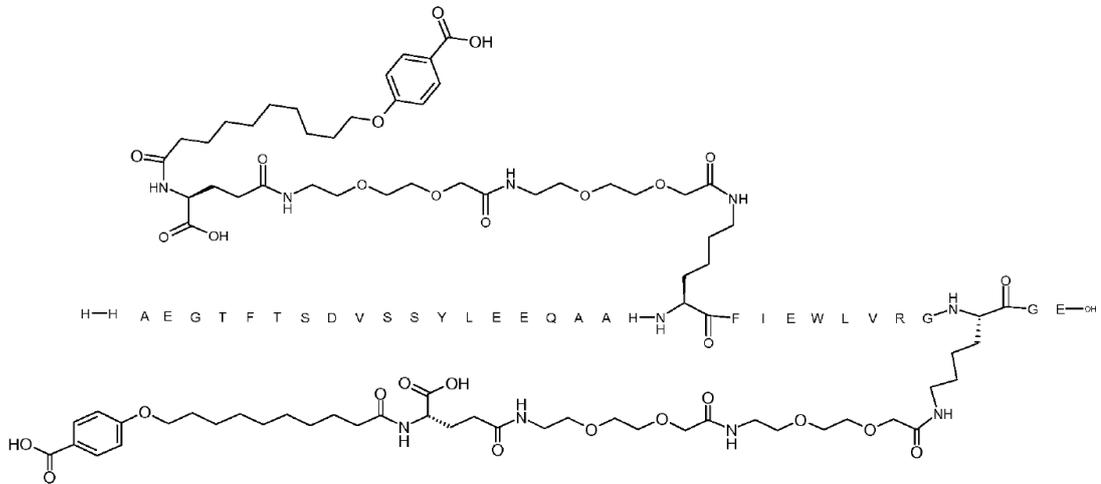
Método de preparación: SPPS método E
 UPLC (método 09_B4_1): Rt = 9.00 min
 UPLC (método 04_A6_1): Rt = 6.50 min
 LCMS4: Rt = 2.23 min, m/z = 1215(m/4), 972(m/5)

Ejemplo 21

10 N²⁷-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N³⁶-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Glu²²,His²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Arg³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil-Glu

15

Quím. 70:



Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 09_B4_1): Rt = 8.4 min

UPLC (método 04_A6_1): Rt = 9.3 min

LCMS4: Rt = 2.2 min, m/z = 1681 (m/3), 1261 (m/4), 1009 (m/5)

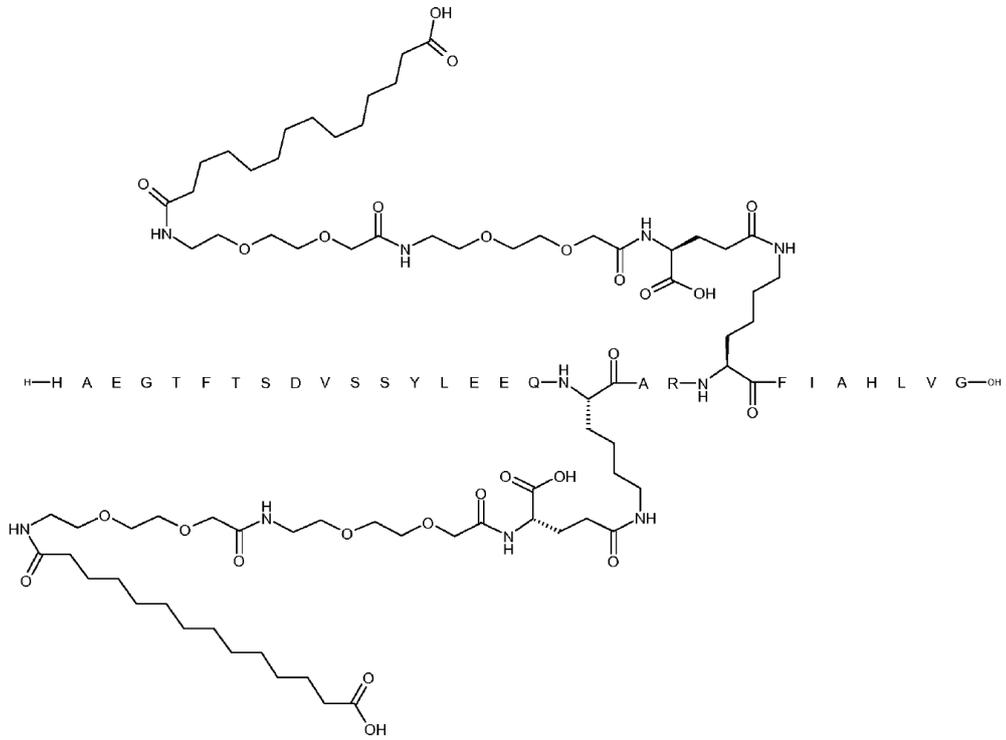
5

Ejemplo 22

10 N^{ε24}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-(13-carboxitridecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil], N^{ε27}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-(13-carboxitridecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Glu²²,Lys²⁴,Arg²⁶,Lys²⁷,His³¹,Gly³⁴]-GLP-1-(7-34)-péptido

15

Quím. 71:



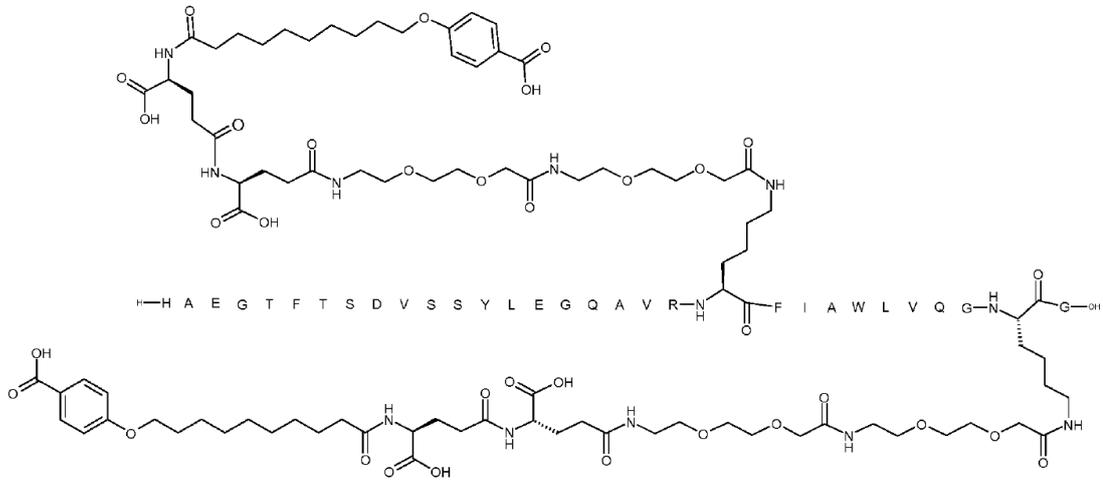
Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 09_B4_1): Rt = 8.17 min
 UPLC (método 04_A6_1): Rt = 4.65 min
 LCMS4: Rt = 1.98 min, m/z = 1481 (m/3), 1111 (m/4)

5

Ejemplo 23

10 N^{ε27}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-
 carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε36}-[2-[2-[2-[[2-
 [2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-
 carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-
 15 [Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,Gln³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 72:



Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 08_B4_1): Rt = 8.82 min

UPLC (método 05_B5_1): Rt = 6.10 min

LCMS4: Rt = 2.37 min, m/z = 1687 (m/3), 1266 (m/4), 1013 (m/5)

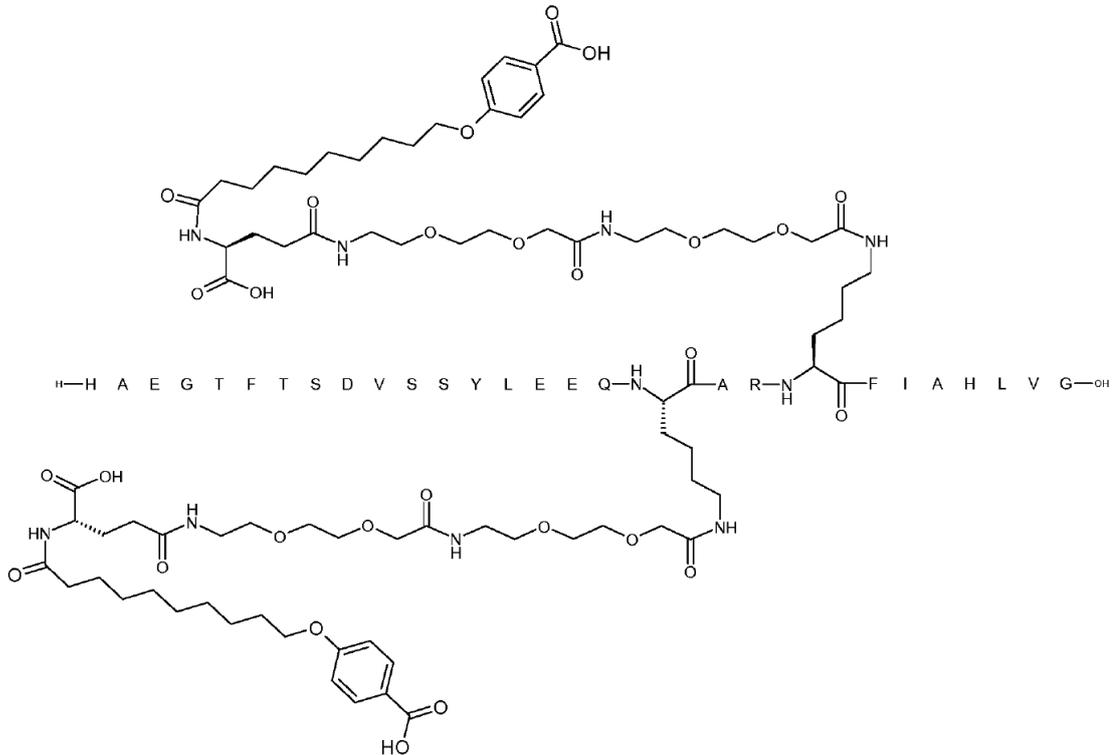
5

Ejemplo 24

10 $N^{\epsilon 24}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], $N^{\epsilon 27}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Glu²²,Lys²⁴,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,His³¹,Arg³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

15

Quím. 74:

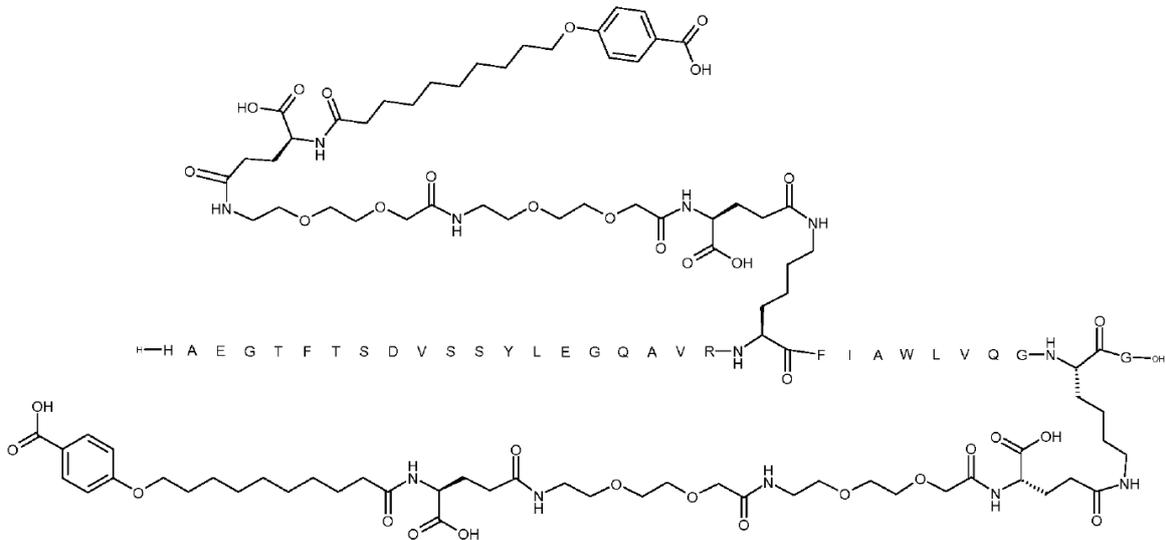


Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 08_B4_1): Rt = 8.01 min
 UPLC (método 04_A9_1): Rt = 8.00 min
 LCMS4: Rt = 2.08 min, m/z = 1513 (m/3), 1135 (m/4), 908 (m/5)

Ejemplo 26

10 N^{ε27}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4R)-4-carboxi-4-[10-(4-
 carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil], N^{ε36}-[(4S)-4-
 carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4R)-4-carboxi-4-[10-(4-
 carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-
 15 [Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,Gln³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 75:

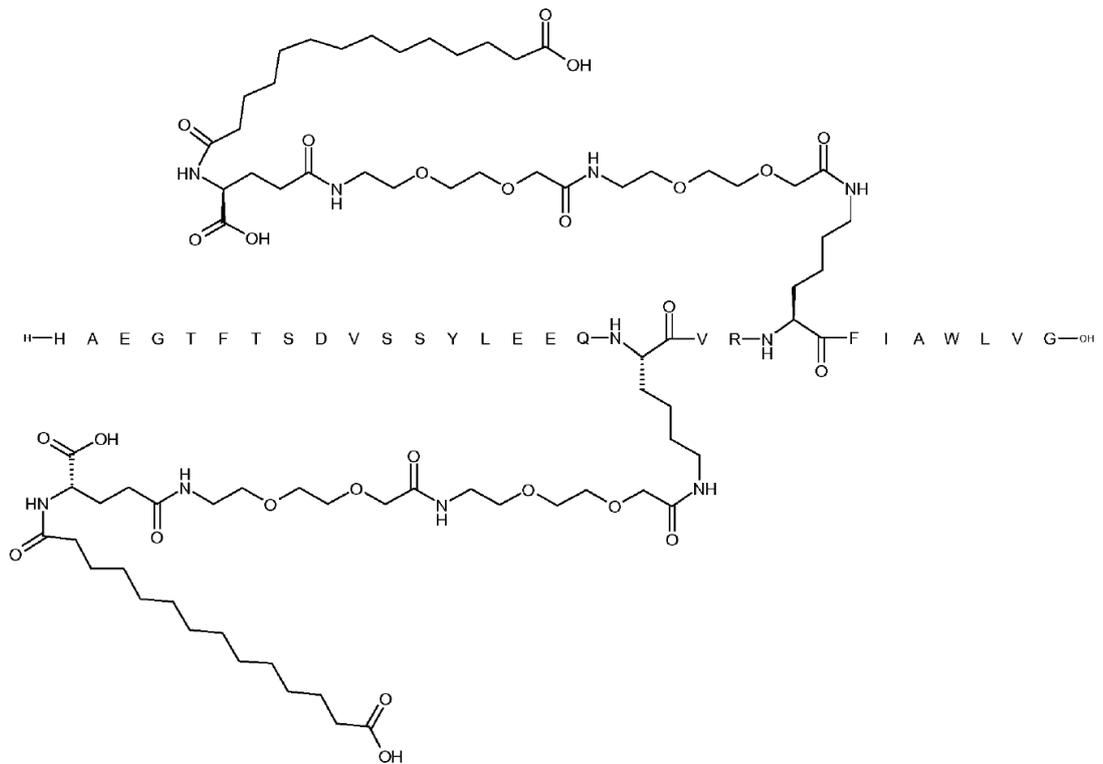


- 5 Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 09_B4_1): Rt = 8.96 min
 UPLC (método 05_B5_1): Rt = 6.54 min
 UPLC (método 04_A6_1): Rt = 5.69 min
 LCMS4: m/z: Rt = 3.07 min, m/z = 1687 (m/3), 1266 (m/4), 1013 (m/5)

10 Ejemplo 27

- 15 N^{ε24}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε27}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Glu²²,Lys²⁴,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,Gly³⁴]-GLP-1-(7-34)-péptido

Quím. 76:



Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 09_B4_1): Rt = 9.25 min
 UPLC (método 04_A6_1): Rt = 6.01 min
 LCMS4: Rt = 3.31 min, m/z = 1506 (m/3), 1130 (m/4), 4520 (m/5)

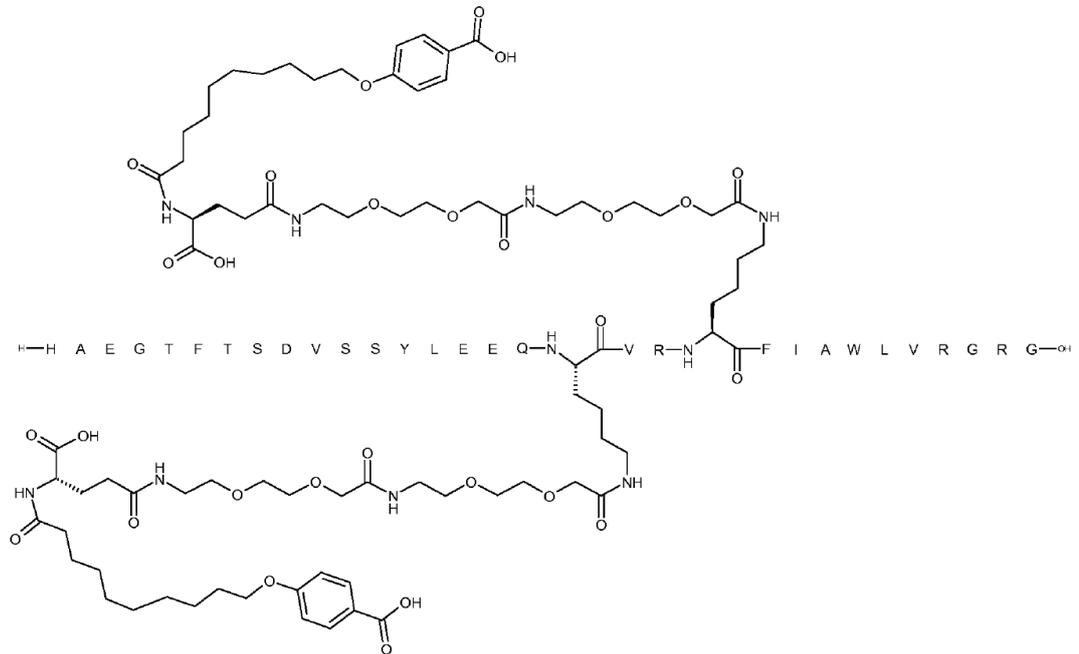
5

Ejemplo 28

10 $N^{\epsilon 24}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], $N^{\epsilon 27}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Glu²²,Lys²⁴,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,Arg³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

15

Quím. 77:



Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 08_B4_1): Rt = 8.19 min

UPLC (método 04_A6_1): Rt = 5.24 min

LCMS4: Rt = 3.22 min, m/z = 1663 (m/3), 1247 (m/4), 998 (m/5), 832 (m/6)

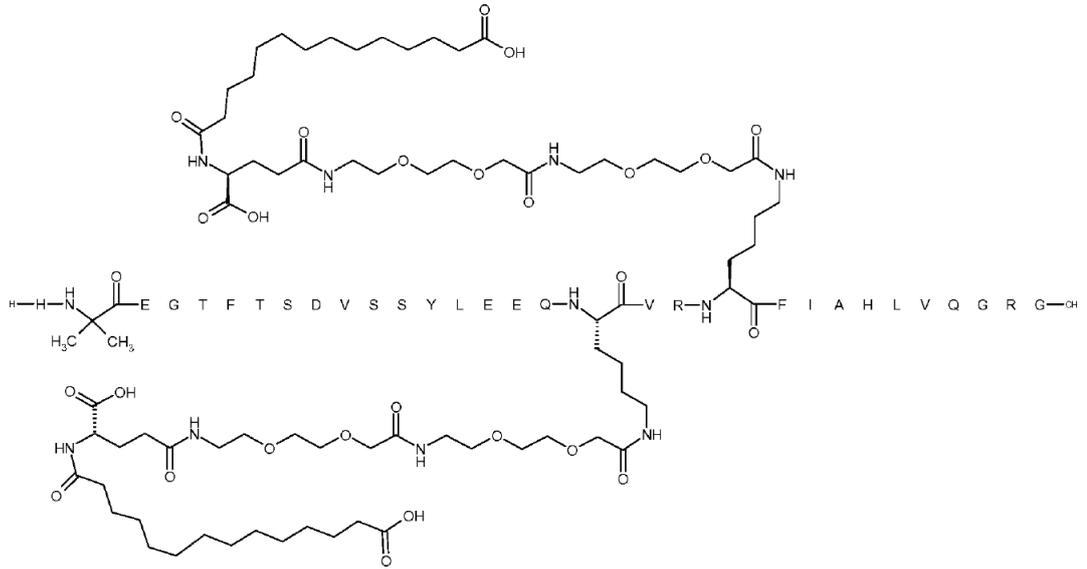
5

Ejemplo 29

10 $N^{\epsilon 24}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], $N^{\epsilon 27}$ -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib⁸,Glu²²,Lys²⁴,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,His³¹,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

15

Quím. 78:



Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 08_B4_1): Rt = 7.79 min
 UPLC (método 04_A6_1): Rt = 4.87 min

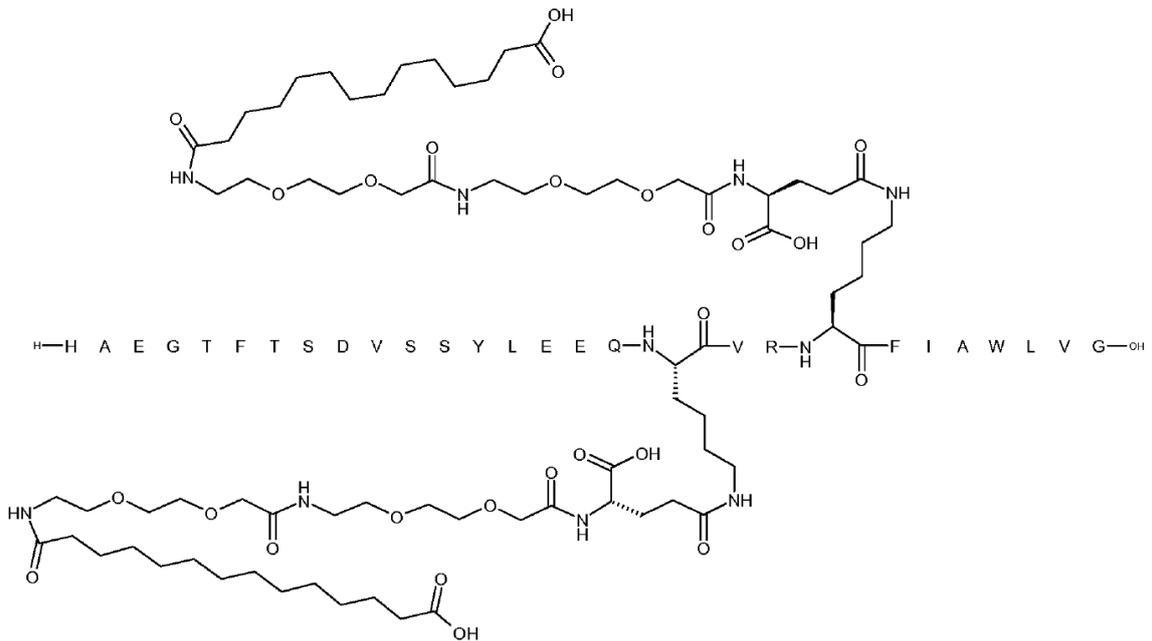
5

Ejemplo 30

10 N^{ε24}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-(13-carboxitridecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil], N^{ε27}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-(13-carboxitridecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Glu²²,Lys²⁴,Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,Gly³⁴]-GLP-1-(7-34)-péptido

15

Quím. 79:



Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 08_B4_1): Rt = 9.33 min
 UPLC (método 04_A6_1): Rt = 6.13 min
 LCMS4: Rt = 2.98 min, m/z = 1506 (m/3), 1130 (m/4), 904 (m/5)

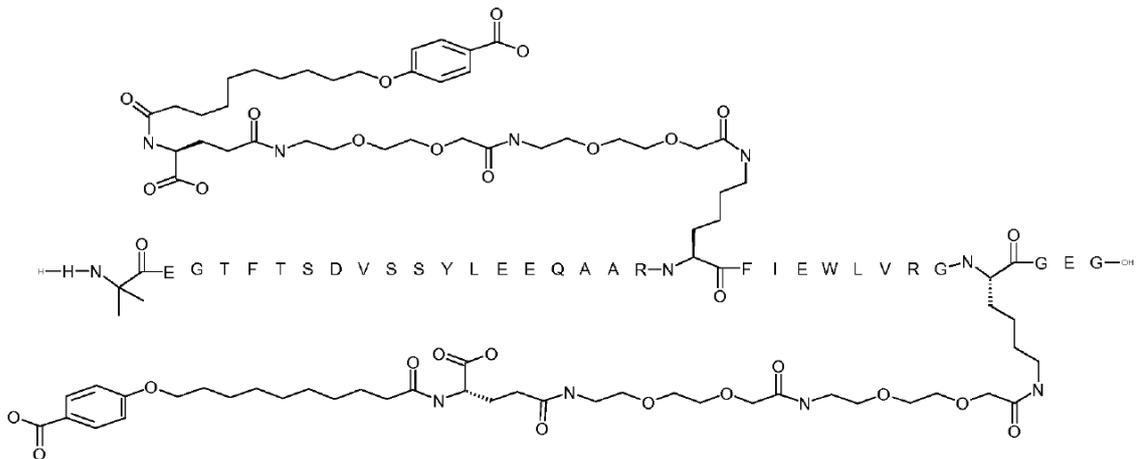
5

Ejemplo 31

10 N^{E27}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{E36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib⁸,Glu²²,Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Arg³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil-Glu-Gly

15

Quím. 80:



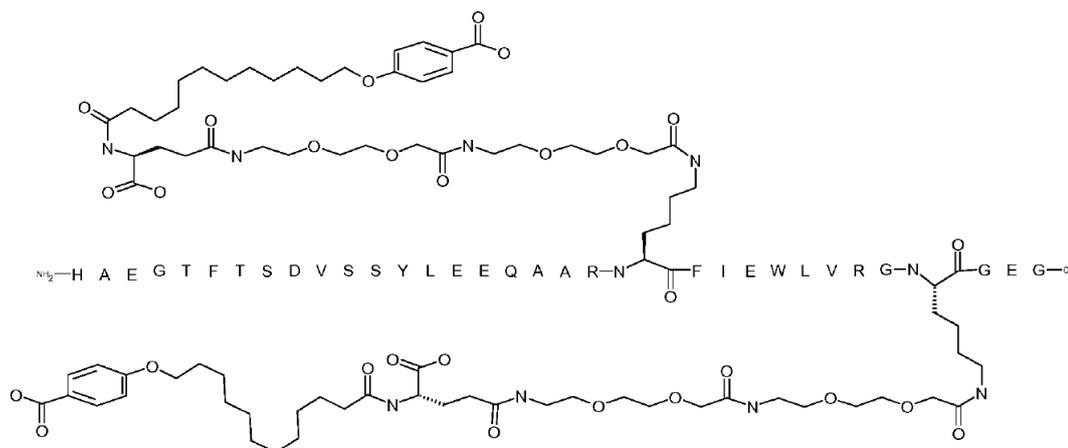
Método de preparación: SPPS Método B

UPLC (método 09_B4_1): Rt = 8.58 min
 UPLC (método 10_B29_1): Rt = 10.6 min
 UPLC (método 04_A6_1): Rt = 4.43 min
 LCMS4: Rt = 3.72 min; m/3: 1712; m/4: 1284; m/5: 1028

5 Ejemplo 32

10 N^{ε27}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Glu²²,Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Arg³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil-Glu-Gly

Quím. 81:



15 Método de preparación: SPPS Método B
 UPLC (método 09_B4_1): Rt = 9.19 min
 UPLC (método 10_B29_1): Rt = 13.73 min
 UPLC (método 04_A6_1): Rt = 5.40 min
 20 LCMS4: Rt = 2.44 min; m/3: 1726; m/4: 1294; m/5:1036

Métodos farmacológicos

25 Ejemplo 33: Potencia in vitro

El propósito de este ejemplo es probar la actividad, o la potencia, de los derivados de GLP-1 in vitro.

Las potencias de los derivados de GLP-1 de los ejemplos 1-32 se determinaron como se describe a continuación, es decir, como la estimulación de la formación de AMPc en un medio que contiene membranas que expresan el receptor de GLP-1 humano.

Principio

35 Se estimularon membranas plasmáticas purificadas de una línea celular transfectada estable, BHK467-12A (tk-ts13), que expresa el receptor de GLP-1 humano, con el análogo o derivado de GLP-1 en cuestión, y la potencia de la producción de AMPc se midió usando el kit del ensayo de AMPc AlphaScreen™ de Perkin Elmer Life Sciences. El principio básico del ensayo AlphaScreen es una competencia entre el AMPc endógeno y AMPc-biotina agregado exógenamente. La captura de AMPc se logra empleando un anticuerpo específico conjugado a perlas aceptoras.

40 Cultivo celular y preparación de membranas

Se eligieron para el cribado una línea celular transfectada estable y un clon que se expresa mucho. Las células se cultivaron en 5% de CO₂ en DMEM, 5% de FCS, 1% de Pen/Strep (penicilina/estreptomicina) y 0.5 mg/ml del marcador de selección G418.

45 Se lavaron células con aproximadamente 80% de confluencia 2 X con PBS y se recogieron con Versene (solución acuosa de la sal tetrasódica del ácido etilendiaminotetraacético), se centrifugaron 5 min a 1000 rpm y se eliminó el sobrenadante. Los pasos adicionales se hicieron todos en hielo. El sedimento celular se homogeneizó mediante el

5 Ultrathurax durante 20-30 s en 10 ml de tampón 1 (Na-HEPES 20 mM, EDTA 10 mM, pH = 7.4), se centrifugó 15 min a 20 000 rpm y el sedimento se resuspendió en 10 ml de tampón 2 (Na-HEPES 20 mM, EDTA 0.1 mM, pH = 7.4). La suspensión se homogeneizó durante 20-30 s y se centrifugó 15 minutos a 20 000 rpm. La suspensión en tampón 2, la homogeneización y la centrifugación se repitieron una vez y las membranas se resuspendieron en tampón 2. Se determinó la concentración de proteínas y las membranas se almacenaron a -80 °C hasta que se usaron.

El ensayo se realizó en placas de 96 pocillos de fondo plano (Costar N° de cat.: 3693). El volumen final por pocillo fue de 50 µl.

10 Soluciones y reactivos

Kit del ensayo de AMPc AlphaScreen de Perkin Elmer Life Sciences (N° de cat.: 6760625M); que contiene perlasceptoras Anti-AMPc (10 U/µl), perlas dadoras de estreptavidina (10 U/µl) y AMPc biotinilado (133 U/µl).

15 Tampón AlphaScreen, pH = 7.4: TRIS-HCl 50 mM (Sigma, N° de cat.: T3253); HEPES 5 mM (Sigma, N° de cat.: H3375); MgCl₂ 10 mM, 6H₂O (Merck, N° de cat.: 5833); NaCl 150 mM (Sigma, N° de cat.: S9625); 0.01% de Tween (Merck, N° de cat.: 822184). Se agregó lo siguiente al tampón AlphaScreen antes de usarlo (se indican las concentraciones finales): BSA (Sigma, N° de cat.: A7906): 0.1%; IBMX (Sigma, N° de cat.: I5879): 0.5 mM; ATP (Sigma, N° de cat.: A7699): 1 mM; GTP (Sigma, N° de cat.: G8877): 1 µM.

20 Estándar de AMPc (factor de dilución en el ensayo = 5): Solución de AMPc: 5 µl una solución madre de AMPc 5 mM + 495 µl de tampón AlphaScreen.

25 Se prepararon series de diluciones adecuadas en tampón AlphaScreen del estándar de AMPc así como del análogo o derivado de GLP-1 que se iba a probar, por ej. las ocho concentraciones siguientes del compuesto GLP-1: 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁹, 10⁻¹⁰, 10⁻¹¹, 10⁻¹², 10⁻¹³ y 10⁻¹⁴ M, y una serie desde, por ej., 10⁻⁶ hasta 3 x 10⁻¹¹ de AMPc.

Membrana/perlasceptoras

30 Se prepararon membranas de células hGLP-1/ BHK 467-12A con una concentración de 6 µg/pocillo correspondiente a 0.6 mg/ml (la cantidad de membranas utilizadas por pocillo puede variar) "Sin membranas": perlasceptoras (15 µg/ml final) en tampón AlphaScreen

35 "6 µg/pocillo de membranas": membranas + perlasceptoras (15 µg/ml final) en tampón AlphaScreen

Se agregó una alícuota (10 µl) de "Sin membranas" al estándar de AMPc (por pocillo en pocillos duplicados) y a los controles positivo y negativo.

40 Se agregó una alícuota (10 µl) de "6 µg/pocillo de membrana" a GLP-1 y a los análogos (por pocillo en pocillos por duplicado o triplicado)

Control pos.: 10 µl de "sin membranas" + 10 µl de tampón AlphaScreen

45 Control neg.: 10 µl de "sin membranas" + 10 µl de solución madre de AMPc (50 µM).

Como las perlas son sensibles a la luz directa, toda la manipulación se hizo en la oscuridad (tan oscuro como fue posible), o en la luz verde. Todas las diluciones se hicieron en hielo.

Procedimiento

- 50
1. Preparar el tampón AlphaScreen.
 2. Disolver y diluir el GLP-1/los análogos/el estándar de AMPc en tampón AlphaScreen.
 - 55 3. Preparar la solución de perlas dadoras mezclando perlas dadoras de estreptavidina (2 unidades/pocillo) y AMPc biotinilado (1.2 unidades/pocillo) e incubar 20-30 min en la oscuridad a temperatura ambiente.
 4. Agregar el AMPc/el GLP-1/los análogos a la placa: 10 µl por pocillo.
 5. Preparar la solución de membrana/perlasceptoras y agregar esto a las placas: 10 µl por pocillo.
 6. Agregar las perlas dadoras: 30 µl por pocillo.
 - 60 7. Envolver las placas en lámina de aluminio e incubar en el agitador durante 3 horas (muy lentamente) a temperatura ambiente.
 8. Contar en AlphaScreen - cada placa se preincuba en el AlphaScreen durante 3 minutos antes de contar.

Resultados

Los valores de CE_{50} [pM] se calcularon usando el software Graph-Pad Prism (versión 5) y se muestran en la tabla 1 a continuación. Se confirmó la potencia de todos los derivados in vitro.

5

Tabla 1: Potencia in vitro

Compuesto del ejemplo N°	CE_{50} /pM
1	26
2	43
3	62
4	143
5	468
6	96
7	9
8	159
9	242
10	214
11	81
12	41
13	79
14	42
15	5
16	21
17	17
18	3025
19	52
20	67
21	52
22	1178
23	140
24	70
25	380
26	200
27	835
28	68
29	40
30	3000
31	37
32	76

La potencia in vitro promedio para los compuestos probados (CE_{50} promedio) fue de 340 pM. La mayoría de los derivados tuvo una buena potencia in vitro correspondiente a una CE_{50} inferior a 1200 pM.

10 A efectos comparativos, el compuesto N° 13 en la tabla 1 del Journal of Medicinal Chemistry (2000), vol. 43, N° 9, pp. 1664-669 (GLP-1(7-37) acilado en K^{26,34} con bis-C12-diácido) tuvo una potencia in vitro correspondiente a una CE_{50} de 1200 pM.

Ejemplo 34: Unión al receptor de GLP-1

5 El propósito de este experimento es investigar la unión al receptor de GLP-1 de los derivados de GLP-1, y cómo la unión es potencialmente influenciada por la presencia de albúmina. Esto se hace en un experimento *in vitro* como se describe a continuación.

10 La afinidad de unión de los derivados de GLP-1 de los ejemplos 1-32 al receptor de GLP-1 humano se midió mediante su capacidad para desplazar ^{125}I -GLP-1 del receptor. Para determinar la unión de los derivados a la albúmina, el ensayo se llevó a cabo con una concentración baja de albúmina (0.001 % -correspondiente a la cantidad residual de ésta en el trazador), así como con una concentración de albúmina alta (2.0% añadida). Un cambio en la afinidad de unión, CI_{50} , es una indicación de que el péptido en cuestión se une a la albúmina, y por lo tanto una predicción de un potencial perfil farmacocinético prolongado del péptido en cuestión, en modelos animales.

15 Condiciones

Especie (*in vitro*): hámster
 Criterio de evaluación biológico: unión al receptor
 20 Método de ensayo: SPA
 Receptor: receptor de GLP-1
 Línea celular: BHK tk- ts13

25 Cultivo celular y purificación de la membrana

Se eligieron para el cribado una línea celular transfectada estable y un clon que se expresa mucho. Las células se cultivaron en 5% de CO_2 en DMEM, 10% de FCS, 1% de Pen/Strep (penicilina/estreptomocina) y 1.0 mg/ml del marcador de selección G418.

30 Se lavaron las células (aprox. 80% de confluencia) dos veces en PBS y se recogieron con Versene (solución acuosa de la sal tetrasódica del ácido etilendiaminotetraacético), luego de lo cual se separaron por centrifugación a 1000 rpm durante 5 min. Las células/el sedimento de células se debe mantener en hielo en la medida de lo posible en los pasos siguientes. El sedimento de células se homogeneizó con Ultrathurrax durante 20-30 segundos en una cantidad adecuada de tampón 1 (dependiendo de la cantidad de células, pero por ej. 10 ml). El homogeneizado se centrifugó a 20 000 rpm durante 15 minutos. El sedimento se resuspendió (homogeneizó) en 10 ml de tampón 2 y se volvió a centrifugar. Este paso se repitió una vez más. El sedimento resultante se resuspendió en tampón 2 y se determinó la concentración de proteína. Las membranas se almacenaron a menos 80 °C.

Tampón 1: Na-HEPES 20 mM + EDTA 10 mM, pH 7.4

Tampón 2: Na-HEPES 20 mM + EDTA 0.1 mM, pH 7.4

40

Ensayo de unión:

SPA:

45 Los compuestos de prueba, las membranas, las partículas de SPA y [^{125}I]-GLP-1(7-36) NH_2 se diluyeron en tampón de ensayo. Se agregaron 50 μl (microlitros) de HSA (experimento de "albúmina alta" que contenía 2% de HSA), o tampón (experimento de "albúmina baja" que contenía 0.001% de HSA), a Optiplate, y se agregaron 25 μl de los compuestos de prueba. Se agregaron 5-10 μg de proteína de membrana/muestra (50 μl) correspondientes a 0.1-0.2 mg de proteína/ml (a ser optimizado preferentemente para cada preparación de membrana). Se agregaron partículas de SPA (perlas SPA con aglutinina de germen de trigo, Perkin Elmer, #RPNQ0001) en una cantidad de 0.5 mg/pocillo (50 μl). La incubación se comenzó con [^{125}I]-GLP-1(7-36) NH_2 (concentración final 0.06 nM correspondiente a 49.880 de DPM, 25 μl). Las placas se sellaron con PlateSealer y se incubaron durante 120 minutos a 30 °C mientras se agitaba. Las placas se centrifugaron (1500 rpm, 10 min) y se contaron en Topcounter.

55 Tampón de ensayo:

60 HEPES 50 mM
 EGTA 5 mM
 MgCl_2 5 mM
 0.005% de Tween 20
 pH 7.4
 El HSA fue SIGMA A1653.

Cálculos

5 El valor de CI_{50} se leyó de la curva como la concentración que desplazó 50% de ^{125}I -GLP-1 del receptor, y se determinó la relación entre $[(CI_{50}/nM) \text{ HSA alta}]/[(CI_{50}/nM) \text{ HSA baja}]$.

Generalmente, la unión al receptor de GLP-1 a baja concentración de albúmina debe ser tan buena como sea posible, correspondiente a un valor de CI_{50} bajo.

10 El valor de CI_{50} a una alta concentración de albúmina es una medida de la influencia de la albúmina sobre la unión del derivado al receptor de GLP-1. Como se sabe, los derivados de GLP-1 también se unen a la albúmina. Este es generalmente un efecto deseable, que extiende su vida útil en el plasma. Por consiguiente, el valor de CI_{50} a una concentración de albúmina alta será generalmente mayor que el valor de CI_{50} a una concentración de albúmina baja, correspondiente a una menor unión al receptor de GLP-1, causada por la competencia entre la unión a la albúmina y la unión al receptor de GLP-1.

15 Una relación alta (valor de CI_{50} (albúmina alta) / valor de CI_{50} (albúmina baja)) se puede tomar por lo tanto como una indicación de que el derivado en cuestión se une bien a la albúmina (puede tener una semivida larga), y también se une *per se* bien al receptor de GLP-1 (el valor de CI_{50} (albúmina alta) es alto, y el valor de CI_{50} (albúmina baja) es bajo).

Resultados

25 Se obtuvieron los resultados siguientes, donde "relación" se refiere a $[(IC_{50}/nM) \text{ HSA alta}] / [(IC_{50}/nM) \text{ HSA baja}]$:

Tabla 2: Afinidad de unión al receptor

Compuesto del ejemplo N°	CI_{50}/nM (HSA baja)	CI_{50}/nM (HSA alta)	Relación
1	0.19	42	219
2	0.39	320	821
3	0.29	29	101
4	0.15	33	217
5	5.68	446	79
6	0.50	123	246
7	0.12	21	174
8	1.41	80	57
9	0.38	60	157
10	6.49	452	70
11	0.23	213	926
12	0.16	72	453
13	0.25	201	804
14	1.45	443	306
15	0.19	29	155
16	0.20	25	127
17	0.45	174	387
18	373	789	2.1
19	2.38	143	60
20	0.19	333	1752
21	1.57	256	163
22	9.31	812	87
23	0.85	40	47

Compuesto del ejemplo N°	Cl ₅₀ /nM (HSA baja)	Cl ₅₀ /nM (HSA alta)	Relación
24	2.74	50	18
25	10.9	39	3.5
26	0.38	54	143
27	10.3	>1000	97
28	0.20	29	144
29	3.95	363	92
30	7.44	>1000	134
31	0.35	220	629
32	0.18	369	2050

La relación promedio fue muy buena (aproximadamente 300). La mayoría de los derivados tuvo una relación por encima de 50.

- 5 Además con respecto a Cl₅₀ (albúmina baja) la Cl₅₀ promedio de los compuestos probados fue de 14 nM, y la mayoría de los derivados estuvieron inferior a 15.0 nM.

Finalmente con respecto a Cl₅₀ (albúmina alta) la mayoría de los derivados tuvo una Cl₅₀ (albúmina alta) inferior a 900 nM.

- 10 A efectos comparativos, el compuesto N° 13 en la tabla 1 del Journal of Medicinal Chemistry (2000), vol. 43, N° 9, pp. 1664-669 (GLP-1(7-37) acilado en K^{26,34} con bis-C12-diácido) tuvo una relación de 51.3, una Cl₅₀ (albúmina baja) de 17.7 nM y una Cl₅₀ (albúmina alta) de 908 nM.

15 **Ejemplo 35: Estimación de la biodisponibilidad oral - Inyección intestinal en rata (caprato)**

El propósito de este experimento es estimar la biodisponibilidad oral de los derivados de GLP-1.

- 20 Con este fin, la exposición en el plasma después de la inyección directa en la luz intestinal de los derivados de GLP-1 de los ejemplos 2-17 y 19-22 se estudió en ratas in vivo, como se describe a continuación.

Los derivados de GLP-1 se probaron a una concentración de 1000 uM en una solución de 55 mg/ml de caprato de sodio.

- 25 Se obtuvieron de Taconic (Dinamarca), ratas Sprague Dawley machos con un peso corporal al llegar de aproximadamente 240 g y se asignaron a diferentes tratamientos por aleatorización simple, 4 ratas por grupo. Las ratas se dejaron en ayunas durante aproximadamente 18 horas antes del experimento y se les administró anestesia general (Hypnorm/Dormicum).

- 30 Se administraron los derivados de GLP-1 en el yeyuno en la parte proximal (a 10 cm distal del duodeno) o en el intestino medio (a 50 cm proximal del ciego). Se introdujo un catéter PE50, de 10 cm de longitud en el yeyuno, introduciéndolo al menos 1.5 cm dentro del mismo, y se aseguró antes de la dosificación mediante ligadura alrededor del intestino. El catéter se aseguró con sutura 3/0 distal a la punta para evitar fugas o el desplazamiento del catéter. El catéter se colocó sin jeringa ni aguja y se administraron 2 ml de solución salina en el abdomen antes de cerrar la incisión con grapas.

- 40 Se inyectaron 100 µl del derivado de GLP-1 respectivo en la luz del yeyuno a través del catéter con una jeringa de 1 ml. Posteriormente, se introdujeron a presión 200 µl de aire en la luz del yeyuno con otra jeringa para "enjuagar" el catéter. Esta jeringa se dejó conectada el catéter para evitar el retroflujo hacia el catéter.

- 45 Se extrajeron muestras de sangre (200 ul) de la vena de la cola, a intervalos deseados (habitualmente a los tiempos 0, 10, 30, 60, 120 y 240 min) en tubos de EDTA y se centrifugaron 5 minutos, 10 000 G, a 4 °C en el transcurso de 20 minutos. Se separó el plasma (75 ul) en tubos Micronic, se congeló inmediatamente, y se mantuvo a -20 °C hasta que se analizó para determinar la concentración plasmática del derivado de GLP-1 respectivo con LOCI (inmunoensayo luminiscente de canalización de oxígeno), generalmente como describen para la determinación de insulina Poulsen y Jensen en Journal of Biomolecular Screening 2007, vol. 12, p. 240-247. Las perlas dadoras se recubrieron con estreptavidina, mientras que las perlasceptoras se conjugaron con un anticuerpo monoclonal que reconoce un epítipo medio/C-terminal del péptido. Otro anticuerpo monoclonal, específico para el extremo N-

terminal, se biotiniló. Se combinaron los tres reactivos con el analito y formaron un inmunocomplejo de dos emplazamientos. La iluminación del complejo liberó átomos de oxígeno singulete de las perlas dadoras, que fueron canalizados en las perlasceptoras y dispararon quimioluminiscencia que se midió en un lector de placas Envision. La cantidad de luz fue proporcional a la concentración del compuesto.

5 Después de la extracción de muestras de sangre las ratas se sacrificaron bajo anestesia y se les abrió el abdomen para verificar la correcta colocación del catéter.

10 Se determinaron las concentraciones plasmáticas medias ($n = 4$) (pmol/l) como una función del tiempo. Se calculó el cociente de la concentración plasmática (pmol/l) dividida entre la concentración de la solución de dosificación ($\mu\text{mol/l}$) para cada tratamiento, y se evaluaron los resultados para $t = 30$ min (30 minutos después de la inyección del compuesto en el yeyuno) (exposición corregida por la dosis a los 30 min) como una medida sustituta de la biodisponibilidad intestinal. La exposición corregida por la dosis ha demostrado correlacionarse significativamente con la biodisponibilidad real.

15 Se obtuvieron los resultados siguientes, donde exposición corregida por la dosis a los 30 min se refiere a (la concentración plasmática 30 minutos después de la inyección del compuesto en el yeyuno (pM)), dividida entre (la concentración del compuesto en la solución de dosificación (μM)):

20 Tabla 3: Exposición corregida por la dosis a los 30 min

Compuesto del ejemplo N°	Exposición corregida por la dosis a los 30 min
2	98
3	67
4	39
5	124
6	93
7	99
8	86
9	65
10	187
11	66
12	68
13	126
14	121
15	98
16	115
17	168
19	61
20	123
21	140
22	275

Todos los derivados tuvieron una exposición corregida por la dosis a los 30 min superior a 38.

25 A efectos comparativos, el compuesto N° 13 en la tabla 1 del Journal of Medicinal Chemistry (2000), vol. 43, N° 9, pp. 1664-669 (GLP-1(7-37) acilado en K^{26,34} con bis-C12-diácido) tuvo una exposición corregida por la dosis a los 30 min de 38.

Ejemplo 36: Efecto sobre la glucemia y el peso corporal

30 El propósito del estudio es verificar el efecto de los derivados de GLP-1 sobre la glucemia (BG) y el peso corporal (BW) en un escenario diabético.

Los derivados de GLP-1 se probaron en un estudio de dosis-respuesta en un modelo de ratón diabético, obeso, (ratones db/db) como se describe a continuación.

5 Se incorporaron en el estudio ratones db/db (Taconic, Dinamarca) a las 7-9 semanas de vida, alimentados desde el nacimiento con la dieta NIH31 (NIH 31M Rodent Diet, que se puede adquirir a Taconic Farms, Inc., EE.UU., véase www.taconic.com). Los ratones tuvieron acceso libre a ración estándar (por ej. Altromin 1324, Brogaarden, Gentofte, Dinamarca) y a agua del grifo y se mantuvieron a 24 °C. Después de 1-2 semanas de aclimatación, se evaluó la glucemia basal dos veces en dos días consecutivos (es decir a las 9 am). Los ratones con los valores de glucemia más bajos se excluyeron de los experimentos. Basándose en la media de los valores de glucemia, se eligieron los ratones restantes para la experimentación posterior y se distribuyeron en 7 grupos (n = 6) con niveles de glucemia concordantes. Los ratones se usaron en experimentos con una duración de 48 horas y hasta 4 veces. Después del último experimento los ratones se sacrificaron.

15 Los siete grupos recibieron tratamiento de la manera siguiente:

- 1: Vehículo, s.c.
- 2: Derivado de GLP-1, 0.3 nmol/kg, s.c.
- 3: Derivado de GLP-1, 1.0 nmol/kg, s.c.
- 20 4: Derivado de GLP-1, 3.0 nmol/kg, s.c.
- 5: Derivado de GLP-1, 10 nmol/kg, s.c.
- 6: Derivado de GLP-1, 30 nmol/kg, s.c.
- 7: Derivado de GLP-1, 100 nmol/kg, s.c.

Vehículo: fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, 0.05% de tween 80, pH 7.4.

25 El derivado de GLP-1 se disolvió en el vehículo, hasta concentraciones de 0.05, 0.17, 0.5, 1.7, 5.0 y 17.0 nmol/ml. Los animales se dosificaron s.c. con un volumen de dosificación de 6 ml/kg (es decir 300 µl por ratón de 50 g).

30 El día de la dosificación, se evaluó la glucemia al tiempo -½ h (8.30 am), luego de lo cual se pesaron los ratones. El derivado de GLP-1 se administró aproximadamente a las 9 am (tiempo 0). El día de la dosificación, se evaluó la glucemia a los tiempos 1, 2, 4 y 8 h (10 am, 11 am, 1 pm y 5 pm). Luego de la extracción de muestras de sangre a las 8 h, los ratones se pesaron.

35 En los días siguientes, se evaluó la glucemia a los tiempos 24 y 48 h después de la dosificación (es decir a las 9 am los días 2 y 3). Cada día, los ratones se pesaron luego de la extracción de muestras para glucemia.

Los ratones se pesaron individualmente en una balanza digital.

40 Las muestras para la medición de la glucemia se obtuvieron de los capilares de la punta de la cola de los ratones conscientes. La sangre, 10 µl, se recogió en capilares heparinizados y se transfirió a 500 µl de tampón de glucosa (solución del sistema EKF, Eppendorf, Alemania). La concentración de glucosa se midió empleando el método de la glucosa oxidasa (analizador de glucosa Biosen 5040, EKF Diagnostic, GmbH, Barleben, Alemania). Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente durante no más de 1 h hasta el análisis. Cuando fue necesario posponer el análisis, las muestras se mantuvieron a 4 °C durante un máximo de 24 h.

45 DE₅₀ es la dosis que da lugar a la mitad del efecto máximo en nmol/kg. Este valor se calcula basándose en la capacidad de los derivados para disminuir el peso corporal así como en la capacidad para reducir la glucemia, como se explica a continuación.

50 DE₅₀ para el peso corporal se calcula como la dosis que da lugar a la mitad del efecto máximo sobre delta BW 8 horas después de la administración subcutánea del derivado. Por ejemplo si la máxima disminución en el peso corporal después de 8 horas es de 2.0 g, entonces DE₅₀ para el peso corporal sería la dosis en nmol/kg de da lugar a una disminución en el peso corporal después de 8 horas de 1.0 g. Esta dosis (DE₅₀ para el peso corporal) se puede leer de una curva dosis-respuesta.

55 DE₅₀ para la glucemia se calcula como la dosis que da lugar a la mitad del efecto máximo sobre AUC delta BG 8 horas y/o 24 horas después de la administración subcutánea del análogo.

60 El valor de DE₅₀ sólo se puede calcular si existe una relación dosis-respuesta sigmoideal adecuada con una definición clara de la respuesta máxima. Por lo tanto, si este no fuera el caso el derivado en cuestión se podría volver a probar en un rango de dosis diferente para ver si se obtiene una relación dosis-respuesta sigmoideal.

Ejemplo 37: Semivida en minicerdos

El propósito de este estudio es determinar la prolongación in vivo de los derivados de GLP-1 después de la administración i.v. a minicerdos, es decir, la prolongación de su tiempo de acción. Esto se hace en un estudio farmacocinético (PK), en el que se determina la semivida terminal del derivado un cuestión. Por semivida terminal se entiende generalmente el período de tiempo que lleva dividir a la mitad una cierta concentración plasmática, medida después de la fase de distribución inicial.

Se usaron en el estudio minicerdos Göttingen machos obtenidos de Ellegaard Göttingen Minipigs (Dalmose, Dinamarca) de aproximadamente 7-14 meses de vida y que pesaban aproximadamente 16-35 kg. Los minicerdos se alojaron individualmente y se alimentaron restrictivamente una vez o dos veces al día con dieta para minicerdos SDS (Special Diets Services, Essex, Reino Unido). Después de al menos 2 semanas de aclimatación se implantaron dos catéteres venosos centrales permanentes en la vena cava caudal o craneal en cada animal. A los animales se les permitió 1 semana de recuperación después de la cirugía, y después se utilizaron para estudios farmacocinéticos repetidos con un período de reposo farmacológico adecuado entre las dosificaciones sucesivas de derivado de GLP-1.

Los animales se dejaron en ayunas durante aproximadamente 18 h antes de la dosificación y de 0 a 4 h después de la dosificación, pero tuvieron acceso a voluntad al agua durante todo el período.

Los derivados de GLP-1 se disolvieron en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, de 0.05% tween 80, pH 7.4 hasta una concentración de habitualmente 20-60 nmol/ml. Las inyecciones intravenosas (el volumen correspondiente a generalmente 1-2 nmol/kg, por ejemplo 0.033 ml/kg) de los compuestos se administraron a través de un catéter, y se extrajeron muestras de sangre a tiempos predefinidos por hasta 13 días post dosificación (preferentemente a través de otro catéter). Se recogieron las muestras de sangre (por ejemplo 0.8 ml) en tampón EDTA (8 mM) y después se centrifugaron a 4 °C y 1942 G durante 10 minutos. El plasma se pasó con pipeta a tubos Micronic en hielo seco y se mantuvo a -20 °C hasta que se analizó para determinar la concentración plasmática del compuesto GLP-1 respectivo usando ELISA o un ensayo basado en anticuerpos similar o LC-MS. Los perfiles individuales de concentración plasmática-tiempo se analizaron por un modelo no compartimental en Phoenix WinNonLin ver. 6.2. (Pharsight Inc., Mountain View, CA, EE.UU.), y se determinaron las semividas terminales (media armónica).

Resultados

Se analizó el derivado del ejemplo 2 y tuvo una semivida de 87 horas.

A efectos comparativos, el compuesto N° 13 en la tabla 1 del Journal of Medicinal Chemistry (2000), vol. 43, N° 9, pp. 1664-669 (GLP-1(7-37) acilado en K^{26,34} con bis-C12-diácido) tuvo una semivida de 5 horas.

Ejemplo 38: Efecto sobre la ingesta de alimentos

El propósito de este experimento fue investigar el efecto de los derivados de GLP-1 sobre la ingesta de alimentos en cerdos. Esto se hizo en un estudio fármaco dinámico (PD) según se describe a continuación, en el que se midió la ingesta de alimentos entre 1 y 4 días después de la administración de una única dosis del derivado de GLP-1, en comparación con un grupo de control tratado con vehículo.

Se usaron cerdos Landrace Yorkshire Duroc (LYD) hembras, de aproximadamente 3 meses de vida, que pesaban aproximadamente 30-35 kg (n = 3-4 por grupo). Los animales se alojaron en un grupo por aproximadamente 1 semana durante la aclimatación a las instalaciones para animales. Durante el período experimental los animales se colocaron en encierros individuales al menos 2 días antes de la dosificación y durante todo el experimento, para la medición de la ingesta individual de alimentos. Los animales se alimentaron a voluntad con ración para cerdos (Svinefoder Danish Top) en todo momento, tanto durante el período de aclimatación como durante el experimental. La ingesta de alimentos se monitoreó en línea, ingresando el peso de la ración cada 15 minutos. El sistema utilizado fue Mpigwin (Ellegaard Systems, Faaborg, Dinamarca).

Los derivados de GLP-1 se disolvieron en un tampón de fosfato (fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, 0.05% de tween 80, pH 7.4) a las concentraciones de 12, 40, 120, 400 o 1200 nmol/ml correspondientes a las dosis de 0.3, 1, 3, 10 o 30 nmol/kg. El tampón de fosfato sirvió como vehículo. Los animales se dosificaron con una única dosis subcutánea del derivado de GLP-1 o vehículo (volumen de dosificación 0.025 ml/kg) en la mañana del día 1, y la ingesta de alimentos se midió durante 1-4 días después de la dosificación. El último día de cada estudio, 1-4 días después de la dosificación, se extrajo una muestra de sangre del corazón, en animales anestesiados, para la medición de la exposición en el plasma del derivado de GLP-1. Posteriormente los animales se sacrificaron con una sobredosis intracardíaca de pentobarbitona. El contenido plasmático de los derivados de GLP-1 se analizó usando ELISA o un ensayo basado en anticuerpos similar, o LC-MS.

La ingesta de alimentos se calculó como la media \pm SEM 24 h de ingesta de alimentos en cada uno de los días del experimento. Las comparaciones estadísticas de 24 horas de ingesta de alimentos en el grupo vehículo vs. el grupo del derivado de GLP-1 se hicieron usando ANOVA de dos vías para medidas repetidas, seguido del post-test de Bonferroni.

El compuesto del ejemplo 10 se probó en una dosis de 3 nmol/kg, y en esta dosis no se observó efecto sobre la ingesta de alimentos. El compuesto del ejemplo 2 se probó en una dosis de 3 nmol/kg y mostró una reducción significativa de la ingesta de alimentos en ambos días del experimento (23% el día 1 y 35% el día 2).

Ejemplo 39: Farmacocinética en rata

El propósito de este ejemplo es investigar la semivida in vivo en ratas.

los estudios farmacocinéticos in vivo en ratas se realizaron con los derivados de GLP-1 de los ejemplos 2, 10, 17-18 y 31, según se describe a continuación. Se incluyó la semaglutida para comparar.

Se obtuvieron ratas Sprague Dawley machos de la misma edad con un peso corporal de aproximadamente 400 g de Taconic (Dinamarca) y se asignaron a los tratamientos por aleatorización simple en el peso corporal, aproximadamente 4 ratas por grupo, de modo que todos los animales de cada grupo tuvieran un peso corporal similar.

Se disolvieron los derivados de GLP-1 (aproximadamente 6 nmol/ml) en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, 0.05% de tween 80, pH 7.4. Las inyecciones intravenosas de los compuestos (1.0 ml/kg) se administraron a través de un catéter implantado en la vena yugular derecha. Se extrajeron muestras de sangre de la vena sublingual durante 5 días post dosificación. Se recogieron las muestras de sangre (200 μ l) en tampón EDTA (8 mM) y después se centrifugaron a 4 °C y 10.000 G durante 5 minutos. Las muestras plasmáticas se mantuvieron a -20 °C hasta que se analizaron para determinar la concentración plasmática del compuesto GLP-1 respectivo.

Las concentraciones plasmáticas de los compuestos GLP-1, se determinaron usando un inmunoensayo luminiscente de canalización de oxígeno (LOCI), en general como describen para la determinación de insulina Poulsen y Jensen en Journal of Biomolecular Screening 2007, vol. 12, pp. 240-247. Las perlas dadoras se recubrieron con estreptavidina, mientras que las perlas aceptoras se conjugaron con un anticuerpo monoclonal que reconoce un epítipo medio/C-terminal del péptido. Otro anticuerpo monoclonal, específico para el extremo N- terminal, se biotiniló. Se combinaron los tres reactivos con el analito y formaron un inmunocomplejo de dos emplazamientos. La iluminación del complejo liberó átomos de oxígeno singulete de las perlas dadoras, que fueron canalizados en las perlas aceptoras y dispararon quimioluminiscencia que se midió en un lector de placas Envision. La cantidad de luz fue proporcional a la concentración del compuesto.

Los perfiles de concentración plasmática-tiempo se analizaron usando Phoenix WinNonLin ver. 6.2, Pharsight Inc., Mountain View, CA, EE.UU.), y la semivida ($T_{1/2}$) se calculó usando los perfiles individuales de concentración plasmática-tiempo para cada animal.

Resultados

La semivida de la semaglutida analizada en el mismo experimento (pero con n = 8) fue de 11 horas.

Tabla 4: Semivida en ratas

Compuesto del ejemplo N°	$t_{1/2}$ / h
2	26
10	23
17	10
18	10
31	19

Los derivados analizados de la invención tuvieron una semivida que fue similar o mejor que la de la semaglutida.

Ejemplo 40: Estimación de la biodisponibilidad oral - Inyección intestinal y por sonda nasogástrica en rata (SNAC)

El propósito de este experimento es estimar la biodisponibilidad oral de los derivados de GLP-1 en un modelo de ratas. En resumen, se administró una solución líquida del derivado de GLP-1 en N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]caprilato de sodio (SNAC) por inyección intestinal (en los intestinos), o por sonda nasogástrica (en el estómago), y se midió la exposición en el plasma subsiguiente del derivado de GLP-1.

Se preparó una solución madre de 250 mg/ml de SNAC disolviendo SNAC (12.5 g) en agua para laboratorio altamente pura (MilliQ) (50.0 ml). El pH se ajustó a alrededor de 8.5 con NaOH (ac) 1 N.

Se prepararon soluciones con alrededor de 1000 uM (800-1200 uM) de los derivados de GLP-1 en 250 mg/ml de SNAC, disolviendo la cantidad deseada del derivado de GLP-1 respectivo en la solución madre de SNAC. La concentración del derivado de GLP-1 se determinó antes de la administración por un método del estado de la técnica, como CLND-HPLC (detección de nitrógeno quimioluminiscente por HPLC).

Se obtuvieron de Taconic (Dinamarca), 32 ratas Sprague Dawley machos con un peso corporal al llegar de aproximadamente 240 g y se asignaron a diferentes tratamientos por aleatorización simple, 8 ratas por grupo. Todas las ratas se dejaron en ayunas sobre rejillas durante aproximadamente 18 horas antes del experimento.

Para la inyección intestinal, el día del experimento, las ratas se sometieron a anestesia general (Hypnorm/Dormicum) y permanecieron anestesiadas durante todo el experimento. Los derivados de GLP-1 de los ejemplos 5-7 se administraron en la parte proximal del yeyuno (a 10 cm distal del duodeno). Se introdujo un catéter PE50, de 10 cm de longitud en el yeyuno, introduciéndolo al menos 1.5 cm dentro del yeyuno, y se aseguró antes de la dosificación mediante ligadura alrededor del intestino. Además, el catéter se provió con una sutura 3/0 distal a la punta para prevenir fugas o el desplazamiento del catéter. El catéter se colocó sin jeringa ni aguja y se administraron 2 ml de solución salina en el abdomen antes de cerrar la incisión con grapas.

Se inyectaron 100 µl de solución de SNAC del derivado de GLP-1 respectivo en la luz del yeyuno a través del catéter con una jeringa de 1 ml. Posteriormente, se introdujeron a presión 200 µl de aire en la luz del yeyuno con otra jeringa para "enjuagar" el catéter. Esta jeringa se dejó conectada al catéter para evitar el retroflujo hacia el catéter.

Se extrajeron muestras de sangre (200 µl) de la vena de la cola, a intervalos deseados (habitualmente a los tiempos 0, 30, 60, 120 y 180 min), en tubos de EDTA.

Para la sonda nasogástrica, los animales estuvieron conscientes durante todo el experimento.

Se administraron 100 µl de la solución de SNAC de los derivados de GLP-1 mediante sonda nasogástrica directamente en el estómago.

Se extrajeron muestras de sangre (200 µl) del plexo sublingual, a intervalos deseados (habitualmente a los tiempos 0, 30, 60, 120 y 180 min), en tubos de EDTA.

Todas las muestras de sangre obtenidas se mantuvieron en hielo y se centrifugaron durante 5 minutos, 10 000G, a 4 °C, en el transcurso de 20 minutos. Se separó el plasma (75 µl) en tubos Micronic, se congeló inmediatamente, y se mantuvo a -20 °C hasta que se analizó para determinar la concentración plasmática del derivado de GLP-1 respectivo con LOCI (inmunoensayo luminiscente de canalización de oxígeno), generalmente como describen para la determinación de insulina Poulsen y Jensen en Journal of Biomolecular Screening 2007, vol. 12, p. 240-247. Las perlas dadoras se recubrieron con estreptavidina, mientras que las perlasceptoras se conjugaron con un anticuerpo monoclonal que reconoce un epítipo medio/C-terminal del péptido. Otro anticuerpo monoclonal, específico para el extremo N-terminal, se biotiniló. Se combinaron los tres reactivos con el analito y formaron un inmunocomplejo de dos emplazamientos. La iluminación del complejo liberó átomos de oxígeno singlete de las perlas dadoras, que fueron canalizados en las perlasceptoras y dispararon quimioluminiscencia que se midió en un lector de placas Envision. La cantidad de luz fue proporcional a la concentración del compuesto.

Después de la extracción de muestras de sangre las ratas se sacrificaron bajo anestesia y se abrió el abdomen de las ratas de inyección intestinal para verificar la correcta colocación del catéter.

Se determinaron las concentraciones plasmáticas medias (n = 8) (pmol/l) como una función del tiempo. El AUC de la curva de exposición en el plasma (pmol/l) vs tiempo, desde el tiempo 30 a 180 (min), se corrigió por la dosis es decir, se dividió entre la cantidad (dosis) del derivado en la solución dosificada (pmol). Por lo tanto el AUC corregida por la dosis de la exposición en el plasma desde el tiempo 30-180 min (que tiene la unidad de min x pM / pmol = min/L) se usa como una medida sustituta de la biodisponibilidad, una medida para clasificar los derivados con respecto a su absorción en el modelo de ratas.

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de un análogo GLP-1,

5 donde el análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 27 de GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1); un segundo residuo K en una posición correspondiente a la posición 36 de GLP-1 (7-37); y un máximo de diez cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1 (7-37); donde el primer residuo K se denomina K²⁷, y el segundo residuo K se denomina K³⁶;

donde el análogo comprende un análogo GLP-1 de fórmula I:

10

Fórmula I

Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Xaa₁₈-

Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Xaa₂₄-Xaa₂₅-Arg-Lys-Phe-Ile-

Glu-Xaa₃₁-Leu-Val-Xaa₃₄-Gly-Lys-Xaa₃₇-Xaa₃₈-Xaa₃₉,

15

en el que

Xaa₇ es L-histidina, imidazopropionilo, α-hidroxi-histidina, D-histidina, desamino-histidina, 2-amino-histidina, β-hidroxi-histidina, homohistidina, N^α-acetil-histidina, N^α-formil-histidina, α-fluorometil-histidina, α-metil-histidina, 3-piridilalanina, 2-piridilalanina o 4-piridilalanina;

20

Xaa₈ es Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Thr, Ser, Lys, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico, ácido (1-aminociclopentil) carboxílico, ácido (1-aminociclohexil) carboxílico, ácido (1-aminocicloheptil) carboxílico o ácido (1-aminociclooctil) carboxílico;

Xaa₁₂ es Lys o Phe;

Xaa₁₆ es Val o Leu;

25

Xaa₁₈ es Ser, Arg, Asn, Gln o Glu;

Xaa₁₉ es Tyr o Gln;

Xaa₂₀ es Leu, Lys o Met;

Xaa₂₂ es Gly, Glu, Lys o Aib;

Xaa₂₃ es Gln, Glu o Arg;

30

Xaa₂₄ es Ala o Lys;

Xaa₂₅ es Ala o Val;

Xaa₃₁ es Trp o His;

Xaa₃₄ es Glu, Asn, Gly, Gln o Arg;

Xaa₃₇ es Gly, Ala, Glu, Pro, Lys, Arg o está ausente;

35

Xaa₃₈ es Ser, Gly, Ala, Glu, Gln, Pro, Arg o está ausente; y

Xaa₃₉ es Gly o está ausente;

donde el derivado comprende dos fracciones de prolongación unidas a K²⁷ y K³⁶, respectivamente, a través de un

40

enlazador, donde la fracción de prolongación se elige entre la Quím. 2 y la Quím. 1:

Quím. 2: HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-*

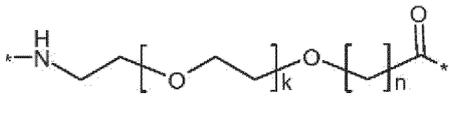
Quím. 1: HOOC-(CH₂)_x-CO-*,

45

en las cuales x es un número entero en el intervalo 6-16, e y es un número entero en el intervalo 3-17; y el enlazador tiene la Quím. 5:

Quím. 5:

50



en la cual k es un número entero en el intervalo 1-5, y n es un número entero en el intervalo 1-5; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

55

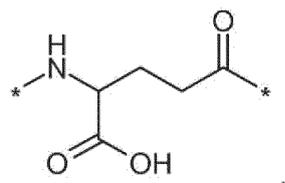
2. El derivado de la reivindicación 1, donde la Quím. 5 está incluida m veces, donde m es un número entero en el intervalo 1-10.

3. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde k es 1.

4. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde n es 1.

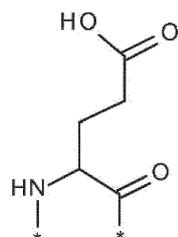
5. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el enlazador comprende además un di-radical Glu elegido entre la Quím. 6 y/o la Quím. 7:

Quím. 6:



y/o

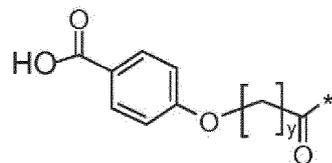
Quím. 7:



6. El derivado de la reivindicación 5, donde el di-radical Glu está incluido p veces, donde p es un número entero en el intervalo 1-2.

7. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el enlazador está unido al grupo épsilon-amino del primer o del segundo residuo K.

8. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde x es 12 o donde la Quím. 2 es representada por la Quím. 2b:

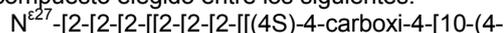


9. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde x es 12, o y es un número entero en el intervalo 9-11.

10. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el análogo GLP-1 comprende los cambios de aminoácidos siguientes, en comparación con GLP-1 (7-37) (SEC. ID N°: 1): (ii) 22E, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E, 39G; (vi) 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E; (xii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38Q; (xiii) 25V, 26R, 27K, 30E, 34Q, 36K, 38E; o (xxvii) 8Aib, 22E, 26R, 27K, 30E, 34R, 36K, 38E, 39G; o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

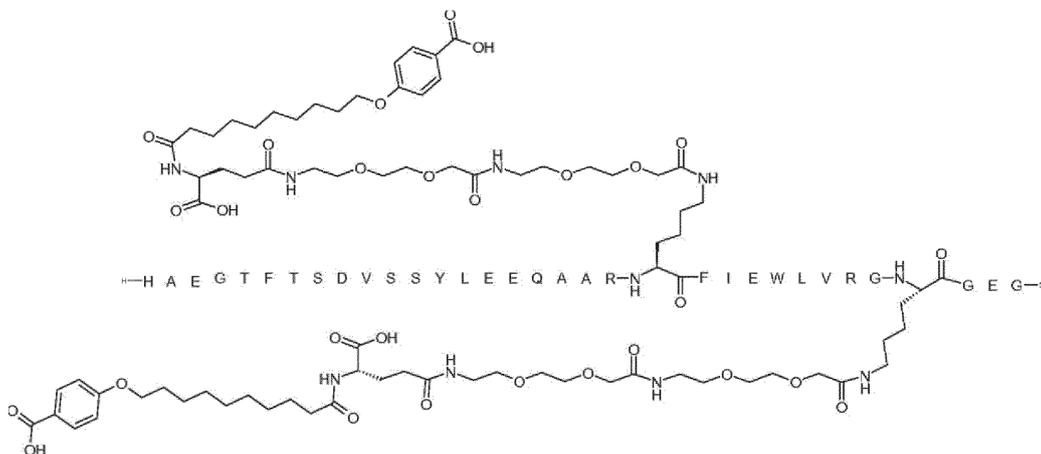
11. El derivado de la reivindicación 10 que tiene un conjunto de cambios de aminoácidos como los definidos en cualquiera de (ii), (vi), (xii), (xiii) y (xxvii).

12. Un compuesto elegido entre los siguientes:



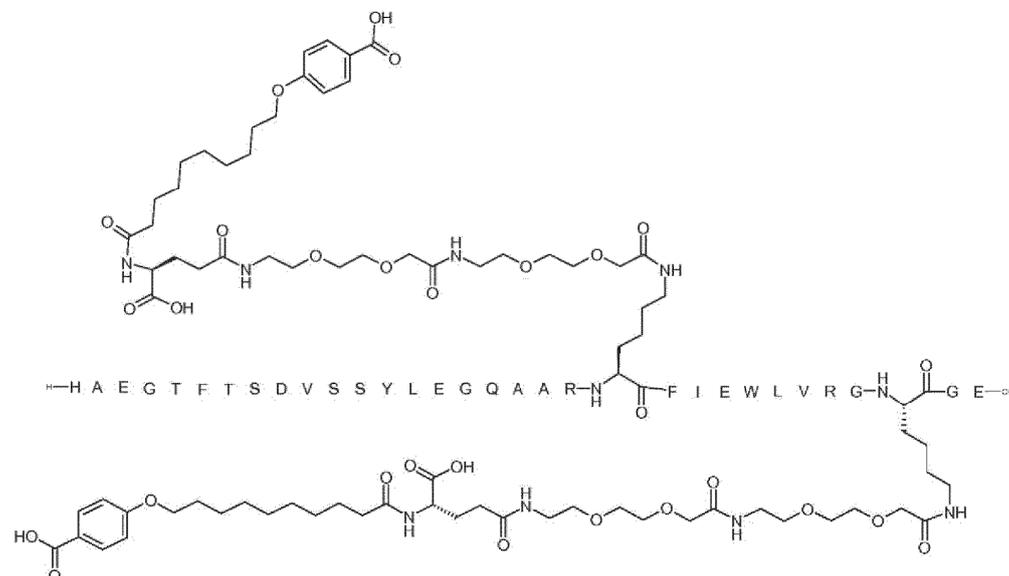
carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε36}-[2-[2-[2-[[2-[2-2-
 5 [[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-
 carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-
 [Glu²²,Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Arg³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil-Glu-Gly,

Quím. 51:



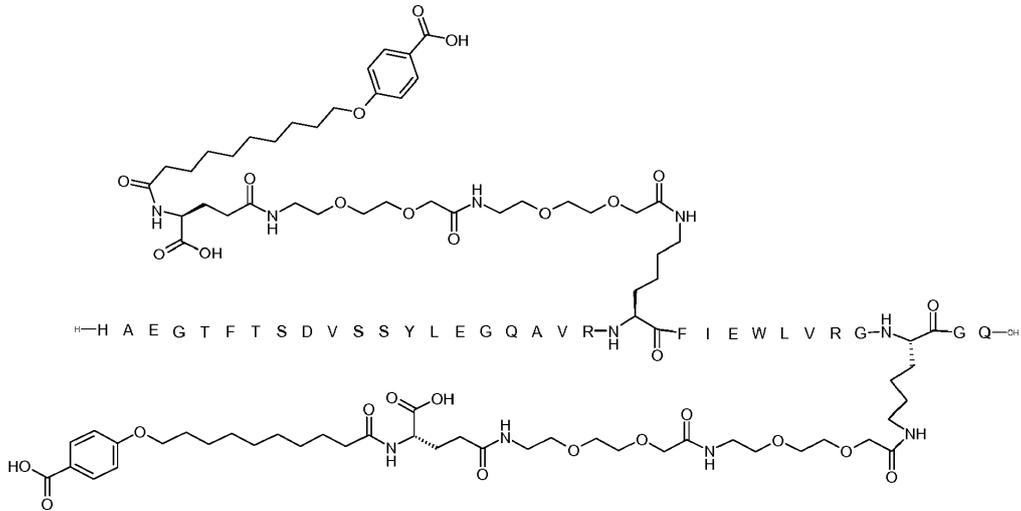
N^{ε27}-[2-[2-[2-[[2-[2-2-[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-
 10 carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε36}-[2-[2-[2-[[2-[2-2-
 [[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-
 carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-
 [Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Arg³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil-Glu

Quím. 55:



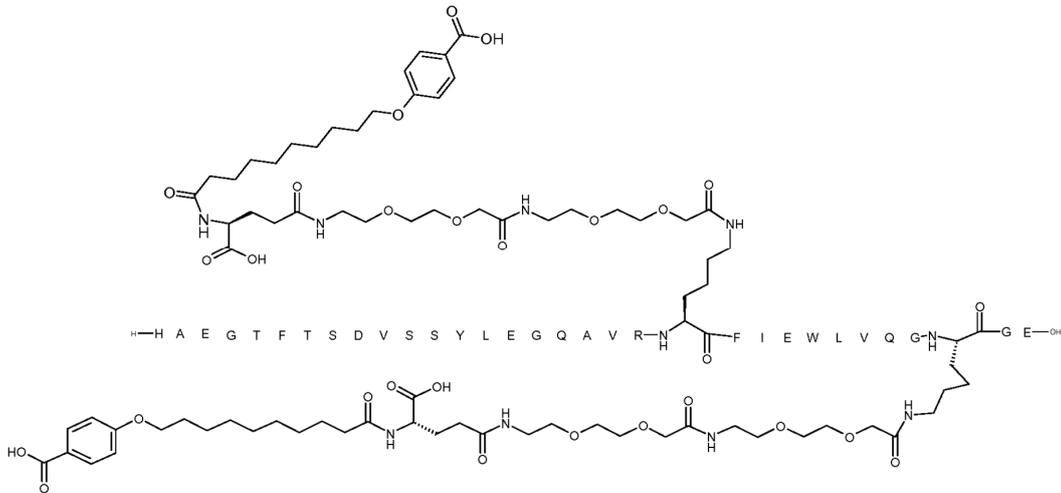
N^α(N^{ε27}-[2-[2-[2-[[2-[2-2-[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-
 20 carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε36}-[2-[2-[2-[[2-[2-2-
 [[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-
 carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-
 [Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Arg³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil)-Gln,

Quím. 61:



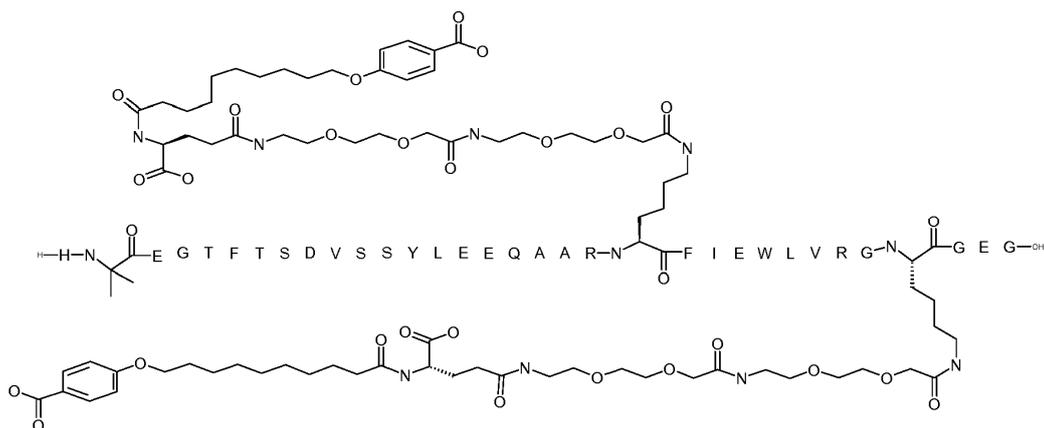
5 N^{ε27}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxy-4-[10-(4-carboxyphenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε36}-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxy-4-[10-(4-carboxyphenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Val²⁵,Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Gln³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil-Glu,

10 Quím. 62:



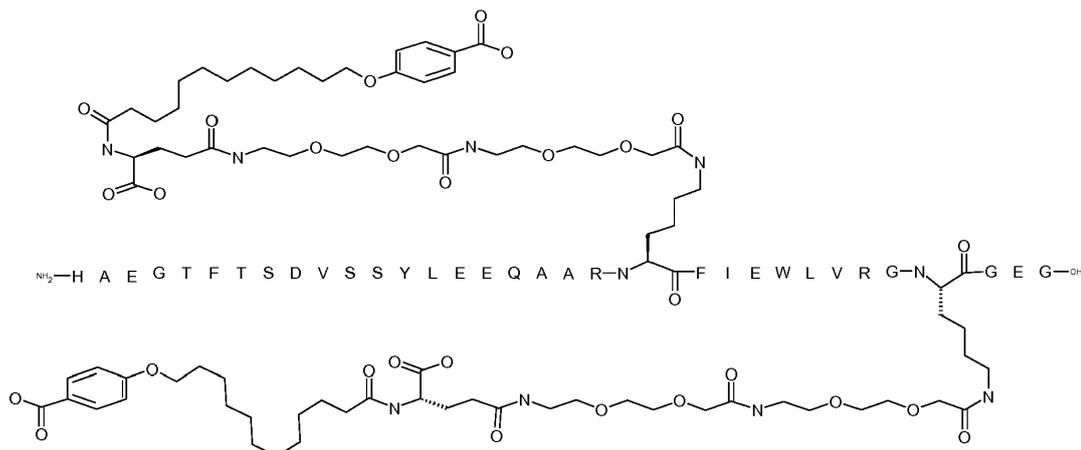
15 N^{ε27}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxy-4-[10-(4-carboxyphenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε36}-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxy-4-[10-(4-carboxyphenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib⁸,Glu²²,Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Arg³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil-Glu-Gly,

Quím. 80:



5 N^{27} -[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{36} -[2-[2-[2-[2-[2-[[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Glu²²,Arg²⁶,Lys²⁷,Glu³⁰,Arg³⁴,Lys³⁶]-GLP-1-(7-37)-peptidil-Glu-Gly, y

10 Quím. 81:



o una de sus sales, amidas o ésteres farmacéuticamente aceptables.

15 13. Un derivado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, para usar como un medicamento.

14. Un derivado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, para usar en el tratamiento y/o la prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, como trastornos de la alimentación, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedad crítica, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar los parámetros lipídicos, mejorar la función de las células β , y/o para retrasar o evitar el avance de la enfermedad diabética.