

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 620 111**

51 Int. Cl.:

C07K 14/605 (2006.01)
C12N 1/15 (2006.01)
C12N 1/21 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.07.2013 PCT/EP2013/065519**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2014 WO2014016300**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.07.2013 E 13756832 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2016 EP 2875043**

54 Título: **Análogos de glucagón**

30 Prioridad:

23.07.2012 US 201261674706 P
14.03.2013 US 201361785611 P
14.06.2013 DK 201300360

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.06.2017

73 Titular/es:

ZEALAND PHARMA A/S (100.0%)
Smedeland 36
2600 Glostrup, DK

72 Inventor/es:

RIBER, DITTE y
GIEHM, LISE

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 620 111 T3

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

DESCRIPCIÓN

Análogos de glucagón

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a análogos de glucagón y su uso médico, por ejemplo, en el tratamiento de hipoglucemia. En particular, la presente invención se refiere a análogos estables de glucagón adecuados para su uso en una formulación líquida.

10

Antecedentes de la invención

El preproglucagón humano es un polipéptido precursor de 158 aminoácidos que se procesa de manera diferente en los tejidos para formar un número de péptidos derivados de proglucagón estructuralmente relacionados, incluyendo glucagón (Glu o GCG), péptido 1 similar a glucagón (GLP-1), péptido 2 similar a glucagón (GLP-2), y oxintomodulina (OXM). Estas moléculas están implicadas en una amplia variedad de funciones fisiológicas, incluyendo homeostasis de glucosa, secreción de insulina, vaciado gástrico y crecimiento intestinal, así como la regulación de la ingesta de alimentos.

15

20

El glucagón nativo es un péptido de 29 aminoácidos que corresponde a los aminoácidos 53 a 81 del preproglucagón. El glucagón ayuda a mantener el nivel de glucosa en sangre mediante la unión a receptores de glucagón sobre hepatocitos, provocando que el hígado libere glucosa - almacenada en forma de glucógeno - a través de glucogenolisis. Cuando estas reservas llegan a agotarse, el glucagón también estimula al hígado a que sintetice glucosa adicional mediante gluconeogénesis. Esta glucosa se libera dentro de la corriente sanguínea, previniendo el desarrollo de hipoglucemia.

25

30

Debido a la estabilidad física y química relativamente baja de glucagón nativo por sí mismo, los productos de glucagón que actualmente están comercialmente disponibles, y que se destinan principalmente para su uso en situaciones de "rescate" para aliviar la hipoglucemia aguda en un sujeto diabético que ha recibido una dosis excesivamente alta de insulina, se proporcionan en forma de preparaciones sólidas secadas por congelación destinadas a reconstitución en un medio líquido apropiado inmediatamente antes de usarse. Los sujetos hipoglucémicos pueden, entre otros, presentar mareos y/o confusión, y en algunos casos pueden llegar a estar inconscientes o semiconscientes, volviéndolos incapaces de llevar a cabo o completar la reconstitución de líquido inicial requerida y posteriormente la inyección de la formulación de glucagón en cuestión. Como resultado, esta reconstitución e inyección puede tener que ser realizada por otra persona que no tiene experiencia en el procesamiento del producto en el tiempo limitado disponible antes de que ocurra la excesiva agregación de glucagón.

35

40

Aunque son deseables los análogos estabilizados de glucagón nativo en solución líquida, no hay comercialmente disponible formulación líquida estable de algo así como el análogo de glucagón.

45

Sobre esta base, está claro que hay una fuerte necesidad de análogos de glucagón que, además de tener satisfactoriamente alta actividad en el receptor de glucagón, sean suficientemente solubles (especialmente a pH fisiológico, donde el glucagón nativo no está) y estables (tanto físicamente como químicamente) en medio líquido acuoso. Estos análogos (i) se pueden proporcionar ventajosamente en forma de una formulación farmacéutica líquida lista para usarse adaptada para inyección inmediata, y (ii) pueden ser capaces de ser almacenados (incluyendo ser portados por el sujeto o paciente en cuestión bajo condiciones ambientales) durante un periodo de tiempo satisfactoriamente largo antes de usarse.

50 **Compendio de la invención**

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula I:



55

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo;
en el que

60

R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₄, acetilo, formilo, benzoilo o trifluoroacetilo;
R² es OH o NH₂; y
Z es una secuencia de aminoácidos que procede de la secuencia de fórmula Ia:

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

Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Glu-Asn-Thr

(Ia)

y que comprende además al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos que están solamente en posiciones de la secuencia de aminoácidos (designadas por una X) seleccionadas entre 2, 3, 4, 9, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29, como sigue:

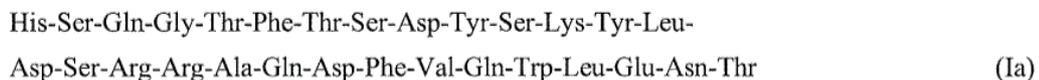
- 5 X2 se selecciona entre Aib y Ala;
 X3 se selecciona entre His, Pro, Dab(Ac), Dap(Ac) y Gln(Me);
 X4 es DAla;
 X9 es Glu;
 X10 se selecciona entre Val, Leu, N-Me-Tyr y N-Me-DTyr;
- 10 X15 es Glu;
 X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu, Val, DVal, Phe, His, Arg, Pro, DPro, N-Me-Ser y N-Me-DSer;
 X17 se selecciona entre Ala y Ser;
 X20 se selecciona entre Glu y Lys;
 X21 se selecciona entre Glu, Lys y Ser;
- 15 X24 se selecciona entre Lys, Ser, Glu y Ala;
 X28 se selecciona entre Ser, Glu, y Lys, o está ausente;
 X29 se selecciona entre Ser y Ala, o está ausente;
 con la condición de que Z no se seleccione entre:
 HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLEST; y
- 20 HSQGTFTSDYSKYLESRRAKEFVEWLEST; en donde el compuesto tiene actividad agonista de glucagón y solubilidad y/o estabilidad mejorada en comparación con el glucagón humano nativo.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula I:



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo;
 en el que

- 30 R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₄, acetilo, formilo, benzoilo o trifluoroacetilo;
 R² es OH o NH₂; y
 Z es una secuencia de aminoácidos que procede de la secuencia de fórmula Ia:



- 35 y que comprende además al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos que están solamente en posiciones de la secuencia de aminoácidos seleccionadas entre 2, 3, 9, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29, como sigue:

- 40 X2 se selecciona entre Aib y Ala;
 X3 se selecciona entre His y Pro;
 X9 es Glu;
 X10 se selecciona entre N-Me-Tyr y N-Me-DTyr;
 X15 es Glu;
- 45 X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu, Val, DVal, Phe, His, Arg, Pro, DPro, N-Me-Ser y N-Me-DSer;
 X17 se selecciona entre Ala y Ser;
 X20 se selecciona entre Glu y Lys;
 X21 se selecciona entre Glu, Lys y Ser;
 X24 se selecciona entre Lys, Ser, Glu y Ala;
- 50 X28 se selecciona entre Ser y Lys, o está ausente;
 X29 se selecciona entre Ser y Ala, o está ausente;
 con la condición de que Z no se seleccione entre:
 HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLEST; y
- 55 HSQGTFTSDYSKYLESRRAKEFVEWLEST; en donde el compuesto tiene actividad agonista de glucagón y solubilidad y/o estabilidad mejorada en comparación con el glucagón humano nativo.

- En algunas realizaciones, las al menos cuatro sustituciones y/o deleciones de aminoácidos en posiciones de la secuencia de aminoácidos (designadas por una X) seleccionadas entre 2, 3, 4, 9, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29 del compuesto de fórmula I son las siguientes:

- X2 se selecciona entre Aib y Ala;
 X3 se selecciona entre His y Pro, Dab(Ac), Dap(Ac) y Gln(Me);

- X4 es DAla;
- X9 es Glu;
- X10 se selecciona entre Val, Leu, N-Me-Tyr y N-Me-DTyr;
- X15 es Glu;
- 5 X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu, Val, Phe, His y Arg;
- X17 se selecciona entre Ala y Ser;
- X20 se selecciona entre Glu y Lys;
- X21 se selecciona entre Glu, Lys y Ser;
- X24 se selecciona entre Lys, Ser, Glu y Ala;
- 10 X28 se selecciona entre Ser, Glu, y Lys, o está ausente;
- X29 se selecciona entre Ser y Ala, o está ausente

En algunas realizaciones, las al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos están en posiciones de la secuencia de aminoácidos (designadas por una X) seleccionadas entre 2, 3, 4, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29 del compuesto de fórmula I, y son las siguientes:

- X2 es Ala;
- X3 es Dab(Ac), Dap(Ac) y Gln(Me);
- X4 es DAla;
- 20 X10 se selecciona entre Leu y Val;
- X15 es Glu;
- X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu, y Val;
- X17 es Ala;
- X20 se selecciona entre Glu y Lys;
- 25 X21 se selecciona entre Glu y Ser;
- X24 se selecciona entre Lys, Ser y Glu;
- X28 se selecciona entre Ser, Glu y Lys;
- X29 es Ala, o está ausente.

30 En algunas realizaciones, las al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos están en posiciones de la secuencia de aminoácidos (designadas por una X) seleccionadas entre 2, 3, 4, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29 del compuesto de fórmula I, y son las siguientes:

- X2 es Ala;
- 35 X3 es Dab(Ac), Dap(Ac), Gln(Me) o His;
- X4 es DAla;
- X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu;
- X17 es Ala;
- X20 se selecciona entre Glu y Lys;
- 40 X21 se selecciona entre Glu y Ser;
- X24 se selecciona entre Lys, Ser y Glu;
- X28 se selecciona entre Ser, Glu y Lys;
- X29 es Ala, o está ausente.

45 Se entenderá que cualquier molécula individual comprende al menos 4 diferencias de la secuencia de fórmula Ia, que pueden ser cualquier combinación de al menos 4 sustituciones y deleciones permitidas dentro de las definiciones proporcionadas.

50 La secuencia peptídica Z puede tener un máximo de 4 sustituciones y deleciones (tomadas en combinación), un máximo de 5 sustituciones y deleciones, un máximo de 6 sustituciones y deleciones, un máximo de 7 sustituciones y deleciones, un máximo de 8 sustituciones y deleciones, un máximo de 9 sustituciones y deleciones, un máximo de 10 sustituciones y deleciones, un máximo de 11 sustituciones y deleciones, un máximo de 12 sustituciones y deleciones, o un máximo de 13 sustituciones y deleciones en comparación con la secuencia de aminoácidos de Fórmula Ia.

55 Por ejemplo, los compuestos pueden tener entre 4 y 11 sustituciones y deleciones, entre 6 y 11 sustituciones y deleciones, entre 4 y 9 sustituciones y deleciones, o entre 6 y 9 sustituciones y deleciones.

60 Los compuestos de la invención tienen actividad agonista de glucagón.

Los compuestos de la invención han mejorado la solubilidad y/o estabilidad en comparación con el glucagón humano nativo.

65 La solubilidad mejorada puede comprender o constituir solubilidad mejorada en comparación con el glucagón nativo a pH 4 (por ejemplo, en tampón acetato 100 mM a pH 4), pH 5 (por ejemplo, en tampón acetato 100 mM a pH 5), pH 6 (por ejemplo, en tampón fosfato 100 mM a pH 6), pH 7 (por ejemplo, en tampón fosfato 100 mM a pH 7), y/o pH

7,5 (por ejemplo, en tampón fosfato 100 mM a pH 7,5). La determinación se puede realizar bajo las condiciones expuestas en el Ejemplo 4. Puede ser deseable una solubilidad de ≥ 1 mg/ml.

5 La estabilidad mejorada puede comprender o constituir estabilidad física mejorada y/o estabilidad química mejorada en comparación con el glucagón humano nativo.

10 La estabilidad física mejorada puede comprender o constituir tendencia reducida a agregarse, por ejemplo, a formar o bien agregados solubles o insolubles, por ejemplo, fibrillas. La agregación (por ejemplo, la formación de fibrilla) se puede determinar, por ejemplo, a una concentración inicial de 1 mg/ml de péptido disuelto a pH 7,5 y 40 °C. Se puede usar cualquier periodo de tiempo apropiado, por ejemplo 24 horas, 48 horas o 96 horas. La agregación se puede determinar bajo las condiciones expuestas en el Ejemplo 5, con o sin agitación.

15 La estabilidad química mejorada puede comprender o constituir una tendencia reducida a la escisión o degradación del péptido en tampón acuoso, generalmente en ausencia de actividad de proteasa o peptidasa contaminante. La estabilidad se puede determinar, por ejemplo, a una concentración inicial de 1 mg/ml de péptido disuelto a pH 4,0 o 7,5 y 40 °C. La valoración puede comprender la determinación del péptido intacto que queda después de la incubación durante un periodo de tiempo adecuado. Esto puede implicar la determinación de la pureza del péptido intacto como se define en el Ejemplo 6. La incubación se puede realizar durante cualquier periodo de tiempo adecuado, por ejemplo, 1 día, 7 días o 14 días. La estabilidad se puede determinar bajo las condiciones expuestas en el Ejemplo 6.

Realizaciones adicionales de la presente invención incluyen, pero no se limitan a:

25 un compuesto, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, de la invención para su uso en terapia (por ejemplo, en el tratamiento de hipoglucemia aguda o crónica);

una composición farmacéutica que comprende un compuesto, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable;

30 un método de tratamiento de una enfermedad o afección en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo el método la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, de la invención, o una composición farmacéutica de la invención al sujeto;

35 el uso de un compuesto, o una sal o solvato del mismo, de la invención, o una composición farmacéutica de la invención, en la fabricación de un medicamento para su uso en la terapia (por ejemplo, en el tratamiento de hipoglucemia aguda o crónica);

40 una construcción de ácido nucleico (por ejemplo, una construcción de ADN o ARN) que codifica un compuesto (péptido) o un péptido Z de la invención;

un vector de expresión que comprende tal construcción de ácido nucleico de la invención; y

45 una célula hospedadora que comprende tal construcción de ácido nucleico o vector de expresión de la invención.

50 En algunas realizaciones, una enfermedad o afección a tratar con un compuesto o método de la invención se selecciona entre el grupo que consiste en: hipoglucemia, hipoglucemia aguda, hipoglucemia crónica, diabetes tipo 2, tolerancia a la glucosa alterada, diabetes tipo 1, obesidad, enfermedad coronaria, aterosclerosis, hipertensión, dislipidemia, esteatosis hepática, intoxicación por β -bloqueante, insulinoma y enfermedad de Von Gierkes. En realizaciones particulares, la enfermedad o afección es hipoglucemia. En ciertas realizaciones, la hipoglucemia se selecciona entre el grupo que consiste en: hipoglucemia diabética, hipoglucemia inducida por insulina aguda, hipoglucemia no diabética, hipoglucemia reactiva, hipoglucemia por ayuno, hipoglucemia inducida por fármaco, hipoglucemia inducida por alcohol, hipoglucemia inducida por cirugía de derivación (*bypass*) gástrica, e hipoglucemia que ocurre durante el embarazo.

55 En algunas realizaciones, la invención incluye un compuesto o su sal o solvato farmacéuticamente aceptable para el tratamiento de hipoglucemia.

60 Breve descripción de los dibujos

65 La Figura 1 es una gráfica que muestra el efecto de una administración subcutánea única de vehiculizante (PBS, pH 7,4), glucagón humano (20 nmol/kg de peso corporal) o Compuesto 14 de la invención (20 y 60 nmol/kg de peso corporal), respectivamente, sobre los niveles de glucosa en sangre durante 120 minutos en ratas Sprague-Dawley machos euglicémicas ayunadas durante 5 horas y anestesiadas. Los datos son valores medios con SEM (n=6/grupo).

Descripción detallada de la invención

- A menos que se defina lo contrario en el presente documento, los términos científicos y técnicos usados en esta solicitud tendrán los significados que comúnmente entiende los expertos en la técnica. Generalmente, la nomenclatura usada en relación, y las técnicas de química, biología molecular, biología celular y de cáncer, inmunología, microbiología, farmacología y química de proteína y de ácido nucleico, descritas en el presente documento, son aquellas bien conocidas y comúnmente usadas en la técnica. En caso de conflicto, la presente memoria, que incluye sus definiciones específicas, lo controlará.
- Cada realización de la invención descrita en el presente documento puede tomarse sola o en combinación con una u otras más realizaciones de la invención.

Definiciones

- A menos que se especifique lo contrario, las siguientes definiciones se proporcionan para los términos específicos, los cuales se usan en el presente documento.

Por toda esta memoria, la palabra “comprender” o variaciones tales como “comprende” o “que comprende” se entenderá que supone la inclusión de un número entero indicado (o componentes) o grupo de números enteros (o componentes), pero no la exclusión de ningún otro número entero (o componentes) o grupo de números enteros (o componentes).

Las formas del singular “un/a” y “el/la” incluyen los plurales a menos que el contexto claramente dicte lo contrario.

- El término “que incluye” se usa para significar “que incluye, pero no se limita a”. “Que incluye” y “que incluye, pero no se limita a” se usan intercambiamente.

Los términos “paciente”, “sujeto” e “individuo” se pueden usar intercambiamente y se refieren a o bien un animal humano o no humano. Estos términos incluyen mamíferos tales como seres humanos, primates, animales de ganado (por ejemplo, bovinos, porcinos), animales de compañía (por ejemplo, caninos, felinos) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas).

- Además de las explicaciones de los significados de ciertos términos o expresiones empleados en la presente memoria que se proporcionan en lo anterior, también se aplican las siguientes definiciones/explicaciones:

El término “vehículo farmacéuticamente aceptable” incluye cualquiera de los vehículos o diluyentes farmacéuticos estándar, tal como los usados en las composiciones o formulaciones adecuadas para la administración oral, pulmonar, rectal, nasal, tópica, subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, intradérmica, transdérmica o vaginal. Los vehículos farmacéuticamente aceptables para el uso terapéutico son bien conocidos en la técnica farmacéutica, y están descritos, por ejemplo, en “Remington’s Pharmaceutical Sciences”, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). Las composiciones líquidas con frecuencia emplean soluciones acuosas no tamponadas o tamponadas como vehículos. Por ejemplo, se puede usar solución salina estéril o solución salina tamponada con fosfato (PBS) a pH ligeramente ácido, ligeramente alcalino o fisiológico. Los agentes de tamponamiento de pH relevantes (algunos de los cuales ya se han mencionado anteriormente en relación con las composiciones farmacéuticas) incluyen fosfatos, citrato, acetato, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS), ácido N-tris(hidroximetil)metil-3-aminopropano-sulfónico (TAPS), bicarbonato de amonio, dietanolamina, histidina (que con frecuencia es un tampón preferido), arginina y lisina, así como mezclas de los mismos. El término además abarca algunos agentes enumerados en la Farmacopea americana para su uso en animales o seres humanos.

El término “sal farmacéuticamente aceptable” en el contexto de la invención se refiere a una sal que no es perjudicial al paciente o sujeto a ser tratado con la misma. Tales sales son en general sales de adición ácida o sales básicas. Sales de adición ácida incluyen sales de ácidos inorgánicos y sales de ácidos orgánicos. Ejemplos no limitantes de sales de adición ácida adecuadas incluyen sales de clorhidrato, sales de fosfato, sales de formato, sales de acetato, sales de trifluoroacetato y sales de citrato. Ejemplos de sales básicas incluyen sales donde el catión se selecciona entre iones de metal alcalino, tales como sodio y potasio, iones de metal alcalinotérreo, tales como calcio, así como iones de amonio sustituidos, por ejemplo, del tipo $NR(R')_3^+$, en el que R y R' designan independientemente alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido, alqueno C_{2-6} opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido. Otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables están descritos en “Remington’s Pharmaceutical Sciences”, 17ª edición. Ed. Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mack Publishing Company, Easton, PA, EEUU., 1985 y ediciones más recientes, y en la “Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology”.

El término “solvato” en el contexto de la presente invención se refiere a un complejo de estequiometría definida formada por un soluto (en este caso un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de la presente invención) y un disolvente. Disolventes relevantes (particularmente en el caso de solvatos farmacéuticamente aceptables) incluyen, pero no se limitan a, agua, etanol y ácido acético. Solvatos en los que la

molécula de disolvente en cuestión es agua generalmente se refieren como “hidratos”.

Los términos “cantidad terapéuticamente eficaz” y “dosis terapéuticamente eficaz” como se emplean en el contexto de la presente invención (notablemente en el contexto de un compuesto de la invención) se refieren a una cantidad o una dosis suficiente para curar, aliviar, detener parcialmente o, de otra manera, promover la cura o curación de una afección dada (trastorno, enfermedad) o lesión y, preferiblemente, complicaciones que surgen de la misma. Una cantidad o dosis eficaz para un fin particular dependerá de la gravedad de la afección o lesión, así como del peso corporal y estado general del sujeto o paciente a tratar. La determinación de una cantidad o dosis que es apropiada está dentro de las habilidades de un médico (o veterinario) cualificado en la técnica.

El término “tratamiento” (así como “tratar” y otras variaciones del mismo) como se emplea en el contexto de la invención se refiere a un planteamiento para obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. Con el fin de la presente invención, resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, alivio de síntomas, disminución del grado de la enfermedad, estabilización del (es decir, no empeoramiento del) estado de la enfermedad, retraso o frenado de la evolución de la enfermedad, mejora o paliación del estado de la enfermedad, y remisión (sea parcial o total), sea detectable o no detectable. “Tratamiento” también se puede referir a prolongación de la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada en ausencia de tratamiento. “Tratamiento” es una intervención realizada con la intención de prevenir el desarrollo de, o alterar la patología de, un trastorno. Por consiguiente, “tratamiento” se refiere tanto al tratamiento terapéutico como a las medidas profilácticas o preventivas. Tal como se usa en el contexto de las medidas profilácticas o preventivas, el compuesto no necesita prevenir completamente el desarrollo de la enfermedad o trastorno. Aquellos en necesidad de tratamiento incluyen aquellos que ya padecen el trastorno, así como aquellos en los que hay que prevenir el desarrollo del trastorno. “Tratamiento” también significa inhibición o reducción de un incremento en patología o síntomas (por ejemplo, ganancia de peso o hipoglucemia) en comparación con la ausencia de tratamiento, y no necesariamente significa suponer completo cese de la afección relevante.

El término “agonista” como se emplea en el contexto de la invención se refiere a una sustancia (ligando) que activa el tipo de receptor en cuestión.

Por toda la presente memoria, se usan los códigos de una letra y tres letras convencionales para los aminoácidos que se dan de manera natural. A menos que se indique lo contrario, la referencia se hace a las formas L-isoméricas de los aminoácidos referidos en el presente documento.

Dab(Ac): ácido 4-N-Acetil-2,4-diaminobutírico, ácido (2S)-4-(acetilamino)-2-aminobutanoico o ácido 4-(acetilamino)-2-aminobutanoico (forma L).

Dap(Ac): ácido 3-N-Acetil-2,3-diaminopropiónico o ácido 3-(acetilamino)-2-aminopropanoico (forma L)

Gln(Me): N- δ -metil-L-glutamina

N-Me-Tyr: Tirosina que está metilada en el α -nitrógeno

N-Me-DTyr: D-Tirosina que está metilada en el α -nitrógeno

N-Me-Ser: Serina que está metilada en el α -nitrógeno

N-Me-DSer: D-Serina que está metilada en el α -nitrógeno

Aib: ácido α -aminoisobutírico

El término “glucagón nativo” se refiere a glucagón humano nativo que tiene la secuencia Hy-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-OH (SEQ ID NO: 1).

Entre las secuencias descritas en el presente documento están secuencias que incorporan un resto “Hy-” en el terminal amino (terminal N) de la secuencia, y o bien un resto “-OH” o un resto “-NH₂” en el terminal carboxi (terminal C) de la secuencia. En tales casos, y a menos que se indique lo contrario, un resto “Hy-” en el terminal N de la secuencia en cuestión indica un átomo de hidrógeno [es decir, R¹ = hidrógeno = Hy- en las fórmulas I y Ia; correspondiendo a la presencia de un grupo amino primario o secundario libre en el terminal N], mientras que un “-OH” o un resto “-NH₂” en el terminal C de la secuencia indica un grupo hidroxilo [por ejemplo, R² = OH en las fórmulas I y Ia; correspondiendo a la presencia de un grupo carboxi (COOH) en el terminal C] o un grupo amino [por ejemplo, R² = NH₂ en las fórmulas I y Ia; correspondiendo a la presencia de un grupo amido (CONH₂) en el terminal C], respectivamente. En cada secuencia de la invención, un resto “-OH” C-terminal puede estar sustituido por un resto “-NH₂” C-terminal, y viceversa.

Algunas realizaciones de la presente invención se refieren a compuestos que tienen la fórmula I:

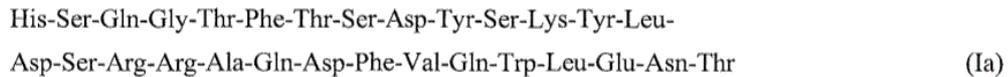


o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos; en los que

R¹ es hidrógeno-, alquilo C₁₋₄, acetilo, formilo, benzoilo o trifluoroacetilo;

R² es -OH o -NH₂; y

Z es una secuencia de aminoácidos que procede de la secuencia de fórmula Ia:



5 y que comprende además al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos que están solamente en posiciones de la secuencia (designadas por una X) seleccionadas entre 2, 3, 4, 9, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29, como sigue:

- 10 X2 se selecciona entre Aib y Ala;
 X3 se selecciona entre His, Pro, Dab(Ac), Dap(Ac) y Gln(Me);
 X4 es DAla;
 X9 es Glu;
 15 X10 se selecciona entre Val, Leu N-Me-Tyr y N-Me-DTyr;
 X15 es Glu;
 X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu, Val, DVal, Phe, His, Arg, Pro, DPro, N-Me-Ser y N-Me-DSer;
 X17 se selecciona entre Ala y Ser;
 X20 se selecciona entre Glu y Lys;
 X21 se selecciona entre Glu, Lys y Ser;
 20 X24 se selecciona entre Lys, Ser, Glu y Ala;
 X25 se selecciona entre Arg, Lys, His, Ile, Leu, Ala, Met, Cys, Asn, Val, Ser, Glu, Asp, Gln, Thr y (p)Tyr;
 X28 se selecciona entre Ser, Lys, y Glu, o está ausente;
 X29 se selecciona entre Ser y Ala, o está ausente; con la condición de que Z no se seleccione entre:

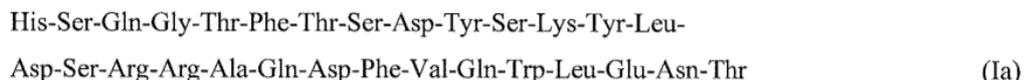
25 HSQGTFTSDYSKYLDARAEDFVKWLEST; y
 HSQGTFTSDYSKYLESRRAKEFVEWLEST; en donde el compuesto tiene actividad agonista de glucagón y solubilidad y/o estabilidad mejorada en comparación con glucagón humano nativo.

Algunas realizaciones de la presente invención se refieren a compuestos que tiene la fórmula I:



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;
 en los que

- 35 R¹ es hidrógeno-, alquilo C₁₋₄, acetilo, formilo, benzoilo o trifluoroacetilo;
 R² es -OH o -NH₂; y
 Z es una secuencia de aminoácidos que procede de la secuencia de fórmula Ia:



40 y que comprende además al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos que están solamente en posiciones de la secuencia (designadas por una X) seleccionadas entre 2, 3, 9, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29, como sigue:

- 45 X2 se selecciona entre Aib y Ala;
 X3 se selecciona entre His y Pro;
 X9 es Glu;
 X10 se selecciona entre N-Me-Tyr y N-Me-DTyr;
 50 X15 es Glu;
 X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu, Val, DVal, Phe, His, Arg, Pro, DPro, N-Me-Ser y N-Me-DSer;
 X17 se selecciona entre Ala y Ser;
 X20 se selecciona entre Glu y Lys;
 X21 se selecciona entre Glu, Lys y Ser;
 55 X24 se selecciona entre Lys, Ser, Glu y Ala;
 X25 se selecciona entre Arg, Lys, His, Ile, Leu, Ala, Met, Cys, Asn, Val, Ser, Glu, Asp, Gln, Thr y (p)Tyr;
 X28 se selecciona entre Ser y Lys, o está ausente;
 X29 se selecciona entre Ser y Ala, o está ausente;
 con la condición de que Z no se seleccione entre:

60

HSQGTFTSDYSKYLDARAEDFVKWLEST; y
 HSQGTFTSDYSKYLESRRAKEFVEWLEST; en donde el compuesto tiene actividad agonista de glucagón y solubilidad y/o estabilidad mejorada en comparación con el glucagón humano nativo.

5 En algunas realizaciones, las al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos en posiciones de la secuencia de aminoácidos (designadas por una X) seleccionadas entre 2, 3, 4, 9, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29 del compuesto de fórmula I son las siguientes:

- X2 se selecciona entre Aib y Ala;
- 10 X3 se selecciona entre His y Pro, Dab(Ac), Dap(Ac) y Gln(Me);
- X4 es DAla;
- X9 es Glu;
- X10 se selecciona entre Val, Leu, N-Me-Tyr y N-Me-DTyr;
- X15 es Glu;
- 15 X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu, Val, Phe, His y Arg;
- X17 se selecciona entre Ala y Ser;
- X20 se selecciona entre Glu y Lys;
- X21 se selecciona entre Glu, Lys y Ser;
- X24 se selecciona entre Lys, Ser, Glu y Ala;
- 20 X28 se selecciona entre Ser, Glu y Lys, o está ausente;
- X29 se selecciona entre Ser y Ala, o está ausente.

En algunas realizaciones, las al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos están en posiciones de la secuencia de aminoácidos (designadas por una X) seleccionadas entre 2, 3, 4, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29 del compuesto de fórmula I, y son las siguientes:

- X2 es Ala;
- X3 es Dab(Ac) y Gln(Me);
- X4 es DAla;
- 30 X10 se selecciona entre Leu y Val;
- X15 es Glu;
- X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu, y Val;
- X17 es Ala;
- X20 se selecciona entre Glu y Lys;
- 35 X21 se selecciona entre Glu y Ser;
- X24 se selecciona entre Lys, Ser y Glu;
- X28 se selecciona entre Ser, Glu y Lys;
- X29 es Ala, o está ausente. En algunas realizaciones, X3 se selecciona entre Dab(Ac) y Gln(Me).

40 En algunas realizaciones, las al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos están en posiciones de la secuencia de aminoácidos (designadas por una X) seleccionadas entre 2, 3, 4, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29 del compuesto de fórmula I, y son las siguientes:

- X2 es Ala;
- 45 X3 es Dab(Ac), Dap(Ac), Gln(Me) o His;
- X4 es DAla;
- X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu;
- X17 es Ala;
- X20 se selecciona entre Glu y Lys;
- 50 X21 se selecciona entre Glu y Ser;
- X24 se selecciona entre Lys, Ser y Glu;
- X28 se selecciona entre Ser, Glu y Lys;
- X29 es Ala, o está ausente.

55 En algunas realizaciones, X17 es Ala.

En algunas realizaciones, X25 se selecciona entre Arg, His o Lys. En algunas realizaciones, los compuestos de la invención pueden comprender sustituciones en la posición 25, tal como los referidos en el documento WO2011/117417. Sin embargo, tales sustituciones en la posición 25 no son necesarias en la presente invención para obtener estabilidad física aumentada de los análogos de glucagón.

En algunas realizaciones, X27 se selecciona entre Ser, Lys, Glu y Asp. En algunas realizaciones, X27 se selecciona entre: Glu y Asp. En algunas realizaciones, X27 es Glu.

65 En algunas realizaciones, X28 y/o X29 pueden ser residuos de aminoácidos aparte de los anteriormente descritos. En algunas realizaciones, la sustitución puede ser una sustitución hidrófila (por ejemplo, Arg, Lys, Asn, His, Gln, Asp,

Ser, o Glu). En algunas realizaciones, X28 y/o X29 se pueden seleccionar entre: Glu, Asp, Lys, Arg, Ser, Leu, Ala y Gly. En algunas realizaciones, X28 es Glu o Asp. En algunas realizaciones, X29 es Glu o Asp. En algunas realizaciones, X28 es Glu y X29 es Glu.

- 5 En algunas realizaciones, X17 es Ala y X27 es Glu. En algunas realizaciones, X20 es Glu y X27 es Glu. En algunas realizaciones, X17 es Ala, X20 es Glu, y X27 es Glu. En algunas realizaciones, X16 es Aib y X27 es Glu. En algunas realizaciones, X16 es Aib, X21 es Ser, y X27 es Glu. En algunas realizaciones, X16 es Aib, X21 es Ser, X27 es Glu y X28 es Ser.
- 10 Además de la posibilidad de sustitución del residuo de aminoácido en la posición 3 (X3) en la fórmula la con un residuo de aminoácido seleccionado entre His, Pro, Dab(Ac) y Gln(Me), la posición 3 también puede estar sustituida con un análogo de glutamina, el cual generalmente será un aminoácido no natural (es decir, uno que no se da de manera natural en proteínas de mamífero) tal como Dap(Ac) [es decir, X3 = Dap(Ac)]. No obstante, en todas las definiciones proporcionadas en el presente documento, la invención además abarca los compuestos definidos por
- 15 las mismas fórmulas genéricas pero en la que Dap(Ac) no está permitido en X3.

En algunas realizaciones de los compuestos de la invención, Z se selecciona entre el grupo que consiste en:

- 20 HSQGTFTSDYSKYLDSARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 2)
 HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLEET (SEQ ID NO: 3)
 HSQGTFTSDYSKYLDKARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 4)
 HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVAWLEST (SEQ ID NO: 5)
 HSQGTFTSDYSKYLDEARAKDFVEWLEKT (SEQ ID NO: 6)
 HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVEWLEST (SEQ ID NO: 7)
 25 HSQGTFTSDYSKYLESARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 9)
 HSQGTFTSDYSKYLDSARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 10)
 HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVSWLEST (SEQ ID NO: 11)
 HSQGTFTSDLISKYLDKARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 12)
 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 13)
 30 HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLES (SEQ ID NO: 14)
 HSQGTFTSDYSKYLDEARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 15)
 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 16)
 HSQGTFTSDYSKYLESARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 17)
 HSQGTFTSDYSKYLDLARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 18)
 35 HSQGTFTSDYSKYLDKRRRAEDFVSWLEST (SEQ ID NO: 19)
 HSQGTFTSDYSKYLDVARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 20)
 HAQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 21)
 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 22)
 HSQ-DAIa-TFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 23)
 40 HSQGTFTSDVSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 24)
 HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 25)
 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARRAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 26)
 HS-[Gln(Me)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 27)
 HSQGTFTSDYSKYLDEARAKSFVEWLEKT (SEQ ID NO: 28)
 45 HSQGTFTSDYSKYLDEARAKSFVEWLEST (SEQ ID NO: 29)
 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAKSFVEWLEKT (SEQ ID NO: 30)
 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLESA (SEQ ID NO: 31)
 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 32)
 HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 33)
 50 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVSWLEKT (SEQ ID NO: 34)
 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEKFVEWLEST (SEQ ID NO: 35)
 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVAWLEST (SEQ ID NO: 36)
 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEET (SEQ ID NO: 37)
 HSQGTFTSDYSKYLE-Aib-ARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 38)
 55 HSHGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 39)
 HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 40) y
 HS-[Dap(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 41).

Compuestos específicos de la invención incluyen:

- 60 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAESFVKWLEST-OH Compuesto 1;
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLEET-OH Compuesto 2;
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDKARAEDFVKWLEST-OH Compuesto 3;
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVAWLEST-OH Compuesto 4;
 65 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDEARAKDFVEWLEKT-OH Compuesto 5;
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVEWLEST-OH Compuesto 6;

- Hy-HSQTFTSDYSKYLESARAEDFVKWLEST-OH Compuesto 8;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLDSARAEEFVKWLEST-OH Compuesto 9;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLDSARAEDFVSWLEST-OH Compuesto 10;
 Hy-HSQTFTSDLSKYLDSARAEDFVKWLEST-OH Compuesto 11;
 5 Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEDFVKWLEST-OH Compuesto 12;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLES-OH Compuesto 13;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLDEARAEDFVKWLEST-OH Compuesto 14;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH Compuesto 15;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLESARAESFVKWLEST-OH Compuesto 16;
 10 Hy-HSQTFTSDYSKYLDLARAEDFVKWLEST-OH Compuesto 17;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLDKRAEDFVSWLEST-OH Compuesto 18;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLDVARAESFVKWLEST-OH Compuesto 19;
 Hy-HAQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH Compuesto 20;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST-OH Compuesto 21;
 15 Hy-HSQ-DAla-TFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH Compuesto 22;
 Hy-HSQTFTSDVSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH Compuesto 23;
 Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-NH₂ Compuesto 24;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-RAAESFVKWLEST-OH Compuesto 25;
 Hy-HS-[Gln(Me)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH Compuesto 26;
 20 Hy-HSQTFTSDYSKYLDEARAKSFVEWLEKT-OH Compuesto 27;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLDEARAKSFVEWLEST-OH Compuesto 28;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAKSFVEWLEKT-OH Compuesto 29;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLESA-OH Compuesto 30;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-NH₂ Compuesto 31;
 25 Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH Compuesto 32;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVSWLEKT-OH Compuesto 33;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEKFVEWLEST-OH Compuesto 34;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVAWLEST-OH Compuesto 35;
 Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEET-OH Compuesto 36;
 30 Hy-HSQTFTSDYSKYLE-Aib-ARAEEFVKWLEST-OH Compuesto 37;
 Hy-HSHGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST-NH₂ Compuesto 38;
 Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST-OH Compuesto 39;
 Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST-NH₂ Compuesto 40;
 Hy-HS-[Dap(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST-NH₂ Compuesto 41;

35 y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables.

Cada uno de los últimos compuestos específicos (péptidos), y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables,
 40 de la invención constituyen además una realización individual de la invención. Por tanto, en una realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQTFTSDYSKYLDSARAESFVKWLEST-OH

45 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLEET-OH

50 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQTFTSDYSKYLDKARAEDFVKWLEST-OH

55 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

60 Hy-HSQTFTSDYSKYLDSARAEDFVAWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

65 Hy-HSQTFTSDYSKYLDEARAKDFVEWLEKT-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

5 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVEWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

10 Hy-HSQGTFTSDYSKYLESARAEDFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEEFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVSWLEST-OH

25 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

30 Hy-HSQGTFTSDLKYLDSARAEDFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

35 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEDFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

40 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLES-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQGTFTSDYSKYLDEARAEDFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

50 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH

55 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

60 Hy-HSQGTFTSDYSKYLESARAESFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

65 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDLARAEDFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

5 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDKRRRAEDFVSWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

10 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDVARAESFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HAQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

25 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

30 Hy-HSQ-DAIa-TFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

35 Hy-HSQGTFTSDVSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

40 Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-NH₂

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-RAAESFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

50 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HS-[Gln(Me)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH

55 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

60 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDEARAKSFVEWLEKT-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

65 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDEARAKSFVEWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

5 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAKSFVEWLEKT-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

10 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLESA-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-NH₂

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH

25 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

30 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVSWLEKT-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

35 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEKFVEWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

40 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVAWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEET-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

50 En otra realización el compuesto de la invención es

Hy-HSQGTFTSDYSKYLE-Aib-ARAEEFVKWLEST-OH

55 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En aún otra realización el compuesto de la invención es

60 Hy-HSHGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST-NH₂

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

65 Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST-OH

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

5 Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-NH₂

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización el compuesto de la invención es

10 Hy-HS-[Dap(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-NH₂

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 Los compuestos de la invención pueden tener uno o más puentes intramoleculares dentro de la secuencia peptídica. Cada puente está formado entre las cadenas laterales de dos residuos de aminoácidos en la secuencia que están generalmente separados por otros tres residuos de aminoácidos (es decir, entre una cadena lateral de aminoácidos A y una cadena lateral de aminoácidos A+4).

20 Por ejemplo, dicho puente puede estar formado entre las cadenas laterales de los pares de residuo de aminoácidos 12 y 16, 16 y 20, 20 y 24, o 24 y 28. Las dos cadenas laterales en cuestión se pueden unir a otra a través de interacciones iónicas, o por enlaces covalentes. Por tanto, tales pares de residuos de aminoácidos pueden contener, por ejemplo, cadenas laterales opuestamente cargadas capaces de formar un puente de sal o que dan como resultado una interacción iónica. En tales casos, uno de los residuos de aminoácidos en cuestión pueden, por ejemplo, ser Glu o Asp, mientras que el otro puede, por ejemplo, ser Lys o Arg. El emparejamiento de Lys y Glu o Lys y Asp también puede conducir a la formación de un anillo de lactama.

Composiciones farmacéuticas

30 En algunas realizaciones, la presente invención se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto (o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo) de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Tales composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante técnicas convencionales, por ejemplo, como se describe en "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19ª edición, 1995.

35 Ciertas realizaciones de composiciones farmacéuticas líquidas de la invención pueden comprender un compuesto de la invención presente en una concentración desde aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 25 mg/ml, tal como desde aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml, por ejemplo, desde aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml. En algunas realizaciones, la composición tiene un pH desde 2,0 a 10,0. Una composición farmacéutica de la invención puede comprender además un sistema tampón, conservante(s), agente(s) de isotonicidad, estabilizador(es) quelantes y/o tensioactivo(s). Realizaciones particularmente útiles de las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención son composiciones acuosas, es decir, composiciones que comprenden agua. Tales composiciones pueden estar en forma de una solución acuosa o una suspensión acuosa. Realizaciones preferidas de las composiciones farmacéuticas acuosas de la invención son las soluciones acuosas.

45 En el contexto de la invención el término "composición acuosa" se referirá normalmente a una composición que comprende al menos 50 % en peso (50 % p/p) de agua. Igualmente, el término "solución acuosa" se referirá normalmente a una solución que comprende al menos 50 % p/p de agua, y el término "suspensión acuosa" a una suspensión que comprende al menos 50 % p/p de agua.

50 En algunas realizaciones, una composición farmacéutica de la invención comprende una solución acuosa de un compuesto (o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo) de la presente invención a una concentración de desde aproximadamente 0,1 mg/ml o por encima, junto con un tampón, teniendo la composición un pH desde aproximadamente 2,0 a aproximadamente 10,0, tal como un pH desde aproximadamente 6,0 a aproximadamente 8,5, por ejemplo, desde aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,5, tal como desde

55 aproximadamente 7,0 a aproximadamente 8,5, o desde aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,0.

En otras realizaciones de una composición farmacéutica de la invención, el pH de la composición es un pH seleccionado entre la lista que consiste en 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9, 7,0, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9, 9,0, 9,1, 9,2, 9,3, 9,4, 9,5, 9,6, 9,8, 9,9, y 10,0. El pH de la composición puede ser al menos 1 unidad de pH desde (es decir, mayor o menor que) el punto isoelectrico del compuesto constituyente de la invención, tal como al menos 2 unidades de pH desde (es decir, mayor o menor que) el punto isoelectrico del compuesto análogo de glucagón de la invención.

65

En realizaciones adicionales de las composiciones farmacéuticas que contienen tampón de la invención, el tampón o sustancia tampón se selecciona entre el grupo que consiste en: tampones acetato (por ejemplo, acetato de sodio), carbonato de sodio, citratos (por ejemplo, citrato de sodio), glicilglicina, histidina, glicina, lisina, arginina, fosfatos (por ejemplo, elegidos entre dihidrogenofosfato de sodio, hidrogenofosfato de disodio y fosfato de trisodio), TRIS (es decir, tris(hidroxiometil)aminometano), HEPES (es decir, ácido 4-(2-hidroxiethyl)-1-piperazina-etanosulfónico), BICINE (es decir, N,N-bis(2-hidroxiethyl)glicina), y TRICINE (es decir, N-[tris(hidroxiometil)metil]glicina), así como tampones de succinato, malato, maleato, fumarato, tartrato y aspartato, y mezclas de los mismos.

En realizaciones adicionales de las composiciones farmacéuticas de la invención, la composición comprende un conservante farmacéuticamente aceptable. Los conservantes relevantes incluyen conservantes seleccionados entre el grupo que consiste en: fenol, o-cresol, m-cresol, p-cresol, p-hidroxibenzoato de metilo, p-hidroxibenzoato de etilo, p-hidroxibenzoato de propilo, p-hidroxibenzoato de butilo, 2-fenoxietanol, 2-feniletanol, alcohol bencílico, etanol, clorobutanol, tiomerosal, bronopol, ácido benzoico, imidurea, clorhexidina, dehidroacetato de sodio, clorocresol, cloruro de bencetonio, clorfenesina [es decir, 3-(p-clorofenoxi)propano-1,2-diol] y mezclas de los mismos. El conservante puede estar presente en una concentración de desde 0,1 mg/ml a 30 mg/ml, tal como desde 0,1 mg/ml a 20 mg/ml (por ejemplo, desde 0,1 mg/ml a 5 mg/ml, o desde 5 mg/ml a 10 mg/ml, o desde 10 mg/ml a 20 mg/ml) en la composición líquida final. El uso de un conservante en composiciones farmacéuticas es bien conocido por los expertos en la técnica. A este respecto, la referencia se puede hacer a "Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª edición, 1995.

En realizaciones adicionales, una composición farmacéutica de la invención comprende un agente de isotonicidad (es decir, un agente farmacéuticamente aceptable que está incluido en la composición con el fin de volver la composición isotónica). En algunas realizaciones, la composición se administra a un sujeto por inyección. Agentes de isotonicidad relevantes incluyen agentes seleccionados entre el grupo que consiste en: sales (por ejemplo, cloruro de sodio), azúcares y alcoholes de azúcar, aminoácidos (incluyendo glicina, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptófano y treonina), alditoles (incluyendo glicerol, propilenglicol (es decir, 1,2-propanodiol), 1,3-propanodiol y 1,3-butanodiol), polietilenglicoles (incluyendo PEG400) y mezclas de los mismos. Azúcares adecuados incluyen mono-, di- y polisacáridos, y glucanos solubles en agua, tales como fructosa, glucosa, manosa, sorbosa, xilosa, maltosa, lactosa, sacarosa, trehalosa, dextrano, pululano, dextrina, ciclodextrina, almidón soluble, hidroxietil almidón y carboximetilcelulosa sal sódica. En algunas realizaciones se puede emplear la sacarosa. Alcoholes de azúcar adecuados incluyen hidrocarburos C₄-C₈ hidroxilados, incluyendo manitol, sorbitol, inositol, galactitol, dulcitol, xilitol y arabitól. En algunas realizaciones se puede emplear manitol. Los azúcares o alcoholes de azúcar anteriormente mencionados se pueden usar individualmente o en combinación. No hay límite fijado para la cantidad de agente de isotonicidad usado, siempre que sea soluble en la formulación líquida, establezca isotonicidad y no afecte adversamente a la estabilidad de la composición. La concentración del agente de isotonicidad (por ejemplo, azúcar o alcohol de azúcar) en la composición líquida final puede ser, por ejemplo, desde aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 150 mg/ml, tal como desde 1 mg/ml a 50 mg/ml. En realizaciones particulares, la concentración puede ser desde 1 mg/ml a 7 mg/ml, o desde 8 mg/ml a 24 mg/ml, o desde 25 mg/ml a 50 mg/ml. El uso de un agente de isotonicidad en composiciones farmacéuticas es bien conocido por los expertos en la técnica. A este respecto, la referencia se puede hacer a "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19ª edición, 1995.

En realizaciones adicionales de las composiciones farmacéuticas de la invención, la composición comprende un agente quelante. Agentes quelantes relevantes incluyen sales de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido cítrico o ácido aspártico, y mezclas de los mismos. El agente quelante puede estar adecuadamente presente en la composición líquida final en una concentración de desde 0,1 mg/ml a 5 mg/ml, tal como desde 0,1 mg/ml a 2 mg/ml, o desde 2 mg/ml a 5 mg/ml. El uso de un agente quelante en composiciones farmacéuticas es bien conocido por los expertos en la técnica. A este respecto, la referencia se puede hacer a "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19ª edición, 1995.

En realizaciones adicionales de las composiciones farmacéuticas de la invención, la composición comprende un estabilizador. El uso de un estabilizador en composición farmacéuticas es bien conocido por los expertos en la técnica, y a este respecto la referencia se puede hacer a "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19ª edición, 1995. Las composiciones farmacéuticas particularmente útiles de la invención son composiciones líquidas estabilizadas con componentes terapéuticamente activos que incluyen un compuesto de la invención (por ejemplo, un péptido de la invención) que puede de otra manera presentar formación de agregado durante el almacenamiento en un medio líquido. En este contexto, "formación de agregado" se refiere a interacciones físicas entre las moléculas peptídicas que dan como resultado la formación de ensamblajes más grandes que se someten a algún grado de precipitación visible a partir de la solución. Tal como se usa en el presente documento, "durante el almacenamiento en un medio líquido" se refiere al almacenamiento de una composición líquida que, una vez preparada, no necesariamente se administra inmediatamente a un sujeto. En su lugar, después de la preparación, se puede empaquetar para almacenamiento, o bien en una forma líquida, en un estado congelado, o en una forma seca para la posterior reconstitución en una forma líquida u otra forma adecuada para la administración a un sujeto. Tal como se usa en el presente documento, "forma seca" se refiere a una composición o formulación farmacéutica inicialmente líquida que se ha secado por secado por congelación (es decir, liofilización), por secado por pulverización o por secado al aire. La formación de agregado mediante un péptido durante el almacenamiento de una composición farmacéutica líquida del mismo puede afectar adversamente a la actividad biológica del péptido en cuestión, dando

como resultado una pérdida de la eficacia terapéutica de la composición farmacéutica. Además, la formación de agregado puede causar otros problemas, tales como bloqueo de conductos, membranas o bombas si tal composición farmacéutica que contiene el péptido se administra usando un sistema de infusión. Por tanto, los péptidos de la invención pueden ser beneficiosos en la superación de estos problemas.

5 Ejemplos de estabilizadores apropiados para la incorporación en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: aminoácidos en su forma de base libre o forma de sal, por ejemplo, aminoácidos que portan una cadena lateral cargada, tal como arginina, lisina, ácido aspártico o ácido glutámico, o aminoácidos tales como glicina o metionina (así la incorporación de metionina puede inhibir adicionalmente la oxidación de residuos de metionina en péptidos que comprenden al menos un residuo de metionina susceptible a tal oxidación); ciertos polímeros (por ejemplo, polietilenglicoles (tales como PEG 3350), alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), y carboxi-/hidroxicelulosa y sus derivados); ciclodextrinas; sustancias que contienen azufre (tales como monotioglicerol, ácido tioglicólico y 2-metiltoetanol); y tensioactivos (tales como tensioactivos no iónicos, incluyendo tensioactivos no iónicos de los tipos de Poloxámero o Polisorbato (Tween). El uso de un tensioactivo en composiciones farmacéuticas es bien conocido por los expertos en la técnica. A este respecto, la referencia se puede hacer a "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19ª edición, 1995.

Tipos adicionales de constituyentes también pueden estar presentes en las composiciones farmacéuticas de la presente invención. Ejemplos no limitantes de clases de tales constituyentes incluyen agentes humectantes, emulsionantes, antioxidantes, agentes espesantes, vehiculizantes oleaginosos y proteínas (por ejemplo, albúmina de suero humano o gelatina).

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento en diversos sitios, por ejemplo, administración en sitios que evita la absorción, tal como en una arteria o vena o en el corazón, y en sitios que implican la absorción, tal como en la piel, bajo la piel, en un músculo o en el abdomen. Más generalmente, la administración de las composiciones farmacéuticas según la invención puede ser diversas vías de administración, tales como, o por ejemplo, vías parenterales, epidérmicas, dérmicas o transdérmicas. En algunas realizaciones, pueden ser útiles otras vías tales como lingual, sublingual, bucal, oral, vaginal o rectal.

Las composiciones de la invención se pueden administrar en diversas formas de dosificación, por ejemplo, soluciones, suspensiones o emulsiones, y son útiles en la formación de sistemas de reparto de fármaco de liberación controlada, sostenida, prolongada, retardada o lenta. Más específicamente, pero no exclusivamente, las composiciones farmacéuticas de la invención son útiles en relación con los sistemas de liberación controlada y liberación sostenida parenteral, bien conocidos por los expertos en la técnica. La referencia general se puede hacer a este respecto a "Handbook of Pharmaceutical Controlled Release" (Wise, D.L., ed., Marcel Dekker, Nueva York, 2000) y *Drugs and the Pharmaceutical Sciences* vol. 99: "Protein Formulation and Delivery" (MacNally, E.J., ed., Marcel Dekker, Nueva York, 2000).

La administración parenteral (de una composición farmacéutica líquida de la invención) se puede realizar, por ejemplo, por inyección subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa por medio de una jeringa, adecuadamente una jeringa tipo lapicero. Alternativamente, la administración parenteral puede tener lugar por medio de una bomba de infusión, por ejemplo, en forma de un dispositivo o sistema cargado por un sujeto o paciente y que comprende un depósito que contiene una composición líquida de la invención y una bomba de infusión para el reparto/administración de la composición al sujeto o paciente, o en la forma de un dispositivo miniaturizado correspondiente adecuado para la implantación dentro del cuerpo del sujeto o paciente.

El término "composición estabilizada" como se emplea en el presente documento se refiere a una composición que tiene estabilidad física incrementada, estabilidad química incrementada o estabilidad física y química incrementada. El término "estabilidad física" como se usa en el presente documento se refiere a una medida de la tendencia de un péptido (por ejemplo, un compuesto de la invención) para formar agregados solubles o insolubles del péptido, por ejemplo, como resultado de la exposición del péptido a tensiones y/o interacción con interfaces y superficies que se están desestabilizando, tales como superficies e interfaces hidrófobas. La estabilidad física de composiciones peptídicas acuosas se puede evaluar por medio de inspección visual y/o medidas de turbidez después de exponer la composición, rellena en recipientes adecuados (por ejemplo, cartuchos o viales), a tensión mecánica/física (por ejemplo, agitación) a diferentes temperaturas durante diversos periodos de tiempo. Una composición se puede clasificar como físicamente inestable con respecto a la agregación peptídica cuando presenta turbidez visual. Alternativamente, la turbidez de una composición se puede evaluar por mediciones de turbidez simples bien conocidas por los expertos en la técnica. La estabilidad física de una composición peptídica acuosa también se puede evaluar usando un agente que funciona como una sonda espectroscópica del estado conformacional del péptido. La sonda preferiblemente es una molécula pequeña que preferiblemente se une a un conformador no nativo del péptido. Un ejemplo de tal sonda espectroscópica molecular pequeña es Tioflavina T, que es un colorante fluorescente que se ha usado ampliamente para la detección de fibrillas amiloides. En presencia de fibrillas, y quizás también otras configuraciones de péptido, Tioflavina T da lugar a un nuevo máximo de excitación a aproximadamente 450 nm y emisión aumentada a aproximadamente 482 nm cuando se une a una forma de fibrilla de un péptido. La tioflavina T no unida es básicamente no fluorescente a las longitudes de onda en cuestión.

El término “estabilidad química” como se usa en el presente documento se refiere a la estabilidad de un péptido con respecto a cambios químicos covalentes en la estructura del péptido que conduce a la formación de productos de degradación química con potencia biológica potencialmente menor y/o inmunogenicidad potencialmente incrementada en comparación con la estructura del péptido nativo. Se pueden formar diversos productos de degradación química, dependiendo del tipo y naturaleza detallada del péptido nativo y el ambiente al que el péptido se expone. En la práctica, en general no se puede evitar completamente la eliminación de la degradación química en composiciones peptídicas, y la formación de cantidades incrementadas de productos de degradación química con frecuencia se ve durante el almacenamiento y uso de tales composiciones, como es bien conocido por los expertos en la técnica. Muchos péptidos son susceptibles de un proceso de degradación en el que el grupo amida de la cadena lateral en residuos de glutaminilo o asparaginilo se hidroliza para formar un ácido carboxílico libre. Otras rutas de degradación implican la formación de productos de transformación de alto peso molecular en las que dos o más moléculas peptídicas llegan a estar covalentemente unidas unas a otras a través de transaminación y/o interacciones de disulfuro, conduciendo a la formación de oligómero covalentemente unido y productos de degradación de polímero (véase, por ejemplo, “Stability of Protein Pharmaceuticals”, Ahern, T.J. y Manning M.C., Plenum Press, Nueva York 1992). La oxidación (por ejemplo, de residuos de metionina) es otra forma de degradación química de péptidos. La estabilidad química de una composición peptídica se puede evaluar midiendo las cantidades de productos de degradación química en diversos momentos después de la exposición a diferentes condiciones ambientales (por ejemplo, con frecuencia se puede acelerar la formación de productos de degradación incrementando la temperatura). La cantidad de cada producto de degradación individual se puede determinar mediante la separación de los productos de degradación basándose en el peso molecular y/o carga usando diversas técnicas cromatográficas (por ejemplo, SEC-HPLC y/o RP-HPLC).

La inestabilidad química del glucagón por sí mismo a pH bajo es debida a isomerización y escisión de residuos de ácido aspártico, desamidación de residuos de glutamina y oxidación de metionina. Generalmente hablando, la desaminación de Asn y Gln se da a pH alto, con índices significativos a pH fisiológico alrededor de pH 7,4 por un intermediario de anillo de imida cíclica que puede abrirse para crear L-Asp y L-isoAsp o L-Glu y L-isoGlu, respectivamente. El intermediario de anillo de imida cíclica también puede conducir a la formación de pequeñas cantidades de los D-isómeros correspondientes, indicando una racemización lenta de la imida cíclica.

A valores de pH por debajo del pH fisiológico, se reduce el índice de desamidación de Asn y Gln, pero el índice de formación de una imida cíclica de Asp y Glu, y por lo tanto la isomerización, se incrementa con pH decreciente. La formación de imida cíclica es la mayor entre pH 4 y pH 6. La formación del intermediario de imida cíclica también puede dar como resultado escisión de la secuencia peptídica.

Tal como se resumió anteriormente, una “composición estabilizadora” puede referirse así a una composición con estabilidad física incrementada, o estabilidad química incrementada, o estabilidad física y química incrementada. En general, una composición debería ser estable durante el uso y el almacenamiento (conforme a las condiciones de uso y almacenamiento recomendadas) al menos hasta que se alcance la fecha de caducidad especificada.

En ciertas realizaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención (por ejemplo, composiciones líquidas) la composición es estable durante al menos 2 semanas de uso y durante al menos 6 meses de almacenamiento. En realizaciones adicionales, la composición es estable durante al menos 2 semanas de uso y durante al menos un año de almacenamiento. En aún realizaciones adicionales, la composición es estable durante al menos 2 semanas de uso y durante al menos dos años de almacenamiento. En otras realizaciones, la composición es estable durante al menos 4 semanas de uso y durante al menos dos años de almacenamiento, o incluso durante al menos 4 semanas de uso y durante más de 3 años de almacenamiento. Realizaciones particularmente útiles de tales composiciones farmacéuticas de la invención son estables durante al menos 6 semanas de uso y durante al menos 3 años de almacenamiento. En este aspecto, el término “uso” con el fin de este párrafo se refiere a sacar la composición farmacéutica del almacenamiento con el fin de emplear la composición con fines terapéuticos, y de ese modo sometiéndola a condiciones ambientales variadas (condiciones de luz, oscuridad, temperatura, agitación, etc.), mientras que el término “almacenamiento” con el fin de este párrafo se refiere al almacenamiento bajo condiciones no agitadas en una nevera o congelador a una temperatura que no excede aproximadamente 5 °C. El experto en la técnica entenderá el intervalo normal de las condiciones de uso y almacenamiento al que estas composiciones farmacéuticas se pueden someter.

Ácidos nucleicos, vectores de expresión y células hospedadoras

La invención proporciona una molécula de ácido nucleico (por ejemplo, una molécula de ácido nucleico aislado) que codifica un compuesto de la invención, o la secuencia peptídica Z de un compuesto de la invención.

Se entenderá que un compuesto de la invención, o secuencia peptídica Z, generalmente se puede codificar solamente por una secuencia de ácido nucleico cuando la secuencia peptídica Z comprende solamente aminoácidos que se dan de manera natural, es decir, los veinte aminoácidos que se dan de manera natural en proteínas de mamíferos.

Tal como se discutió anteriormente, la invención se refiere, entre otros, a un vector de expresión que comprende una secuencia construcción de ácido nucleico de la invención, opcionalmente en combinación con una o más secuencias para dirigir su expresión, y a una célula hospedadora que contiene un vector de expresión de la invención. Preferiblemente la célula hospedadora es capaz de expresar y secretar un compuesto de la invención o un compuesto que tiene la secuencia peptídica Z de un compuesto de la invención. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método de producir un compuesto de la invención, en el que el método comprende cultivar células hospedadoras de la invención bajo condiciones adecuadas para expresar el compuesto y purificar el compuesto así producido. Alternativamente, el método puede comprender la expresión de un compuesto que tiene la secuencia peptídica Z de un compuesto de la invención, y posteriormente la modificación del terminal N y/o C para obtener un compuesto de la invención. La invención además proporciona (i) un ácido nucleico de la invención, (ii) un vector de expresión de la invención, y (iii) una célula hospedadora capaz de expresar y opcionalmente secretar un compuesto de la invención, para su uso en un método de tratamiento médico. El ácido nucleico, el vector de expresión y las células hospedadoras se pueden usar para el tratamiento de cualquiera de los trastornos descritos en el presente documento que se pueden tratar con un compuesto de la propia invención. Las referencias a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, la administración de un compuesto de la invención, o cualquiera de su uso terapéutico, por lo tanto, se deberían construir para abarcar el uso equivalente de un ácido nucleico, vector de expresión o célula hospedadora de la invención, excepto donde el contexto demanda lo contrario.

20 Síntesis de péptido

Los péptidos de la presente invención se pueden fabricar mediante métodos sintéticos químicos estándar, o usando sistemas de expresión recombinante, o mediante cualquier otro método adecuado de vanguardia. Por tanto, los análogos de glucagón se pueden sintetizar en un número de modos, incluyendo, entre otros, métodos que comprenden:

- (a) sintetizar el péptido por medio de metodología en fase sólida o fase líquida, o bien gradual o mediante ensamblaje de fragmento, y aislar y purificar el producto peptídico final; o
- (b) expresar una construcción de ácido nucleico que codifica el péptido en una célula hospedadora, y recuperar el producto de expresión del cultivo de célula hospedadora; o
- (c) efectuar la expresión *in vitro* acelular de una construcción de ácido nucleico que codifica el péptido, y recuperar el producto de expresión;

o que emplean cualquier combinación de métodos como en (a), (b) y (c) para obtener fragmentos del péptido, reuniendo posteriormente (por ejemplo, ligando) los fragmentos para obtener el péptido completo, y recuperar el péptido.

Puede ser preferible sintetizar compuestos de la invención por medio de síntesis de péptido en fase sólida o fase líquida, la metodología de lo cual es bien conocida por los expertos en la técnica de síntesis de péptido. La referencia también se puede hacer a este respecto a, por ejemplo, el documento WO 98/11125 y Fields, G.B. y col., 2002, "Principles and practice of solid-phase peptide synthesis". En: "Synthetic Peptides" (2ª Edición), y ejemplos proporcionados en los mismos.

Para la expresión recombinante, las construcciones de ácido nucleico de la invención se pueden insertar en vectores adecuados para formar vectores de clonación o expresión que llevan a cabo las construcciones de ácido nucleico de la invención (constituyendo tales vectores también aspectos de la presente invención). Los vectores pueden, dependiendo del fin y tipo de aplicación, estar en forma de plásmidos, fagos, cósmidos, minicromosomas, o viral, pero el ADN desnudo que solamente se expresa transitoriamente en ciertas células puede ser también un vector importante. Los vectores de clonación y expresión preferidos (vectores plásmidos) de la invención son capaces de replicación, posibilitando de ese modo alto números de copias con el fin de expresión de alto nivel o replicación de alto nivel para la posterior clonación.

En general, un vector de expresión puede comprender las siguientes características en la dirección 5'→3' y unido de manera operable: un promotor para conducir la expresión del fragmento de ácido nucleico de la invención, opcionalmente una secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido líder que posibilita la secreción (a la fase extracelular o, donde sea aplicable, en el periplasma), el fragmento de ácido nucleico que codifica el péptido de la invención, y opcionalmente una secuencia de ácido nucleico que codifica un terminador. El vector de expresión también puede comprender características adicionales tales como marcadores seleccionables y orígenes de replicación. Cuando se opera con vectores de expresión en cepas productoras o líneas celulares, se puede preferir que el vector sea capaz de integrarse dentro del genoma de la célula hospedadora. El experto en la técnica estará familiarizado con los vectores adecuados, y será capaz de diseñar uno según los requerimientos específicos en cuestión.

Los vectores de la invención se pueden usar para transformar las células hospedadoras para producir compuestos de la invención. Tales células transformadoras, que también constituyen las realizaciones de la invención, pueden ser células o líneas celulares cultivadas usadas para la propagación de los fragmentos de ácido nucleico de la

invención, o se pueden usar para la producción recombinante de los péptidos de la invención.

En algunas realizaciones, las células transformadas de la invención son microorganismos tales como bacterias (por ejemplo, especies de *Escherichia* (por ejemplo, *E. coli*), *Bacillus* (por ejemplo, *B. subtilis*), *Salmonella* o *Mycobacterium* (preferiblemente no patógenos, por ejemplo, *M. bovis* BCG)), levaduras (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae* o *Pichia pastoris*), o protozoos. Alternativamente, las células transformadas pueden proceder de un organismo multicelular, por ejemplo, las células pueden ser células fúngicas, células de insecto, células de alga, células vegetales o células animales tales como células de mamífero. Con el fin de clonación y/o expresión optimizada, la célula transformada puede ser capaz de replicar la construcción de ácido nucleico de la invención. Las células que expresan las construcciones de ácido nucleico son realizaciones útiles de la invención, y se pueden usar para la preparación a pequeña escala o a gran escala de péptidos de la invención.

Cuando se produce un péptido de la invención por medio de células transformadas, será conveniente, aunque no esencial, que el producto de expresión se secrete dentro del medio de cultivo.

Eficacia

Los compuestos de la invención tienen actividad agonista de glucagón.

La unión de los compuestos relevantes a receptores de glucagón (Glu o GCG) se puede usar como una indicación de la actividad agonista. En realizaciones alternativas, también se puede usar un ensayo biológico que mide la señalización intracelular causada por la unión del compuesto al receptor. Por ejemplo, la activación del receptor de glucagón por un agonista del receptor de glucagón estimulará la formación de AMP cíclico celular (cAMP). Por tanto, la producción de cAMP en células adecuadas que expresan el receptor se puede usar para hacer un seguimiento de la actividad del receptor.

El experto en la técnica será consciente de los formatos de ensayo adecuados, y más adelante se proporcionan ejemplos. A modo de ejemplo, el ensayo puede emplear el receptor de glucagón humano (GCG-R) que tiene número de acceso primario GI:4503947 (NP_000151.1) o que tiene número de acceso primario P47871. El experto en la técnica entenderá a este respecto que cuando se refiere a secuencias de proteínas precursoras, los ensayos pueden hacer uso de la proteína madura que carece de la secuencia señal. Las células adecuadas generalmente son células de mamífero, por ejemplo, células de roedores o primates, por ejemplo, células de rata, ratón o hámster o células humanas tales como células HEK293. Pueden expresar su receptor de glucagón endógeno o pueden haber sido modificadas por ingeniería para expresar el receptor de glucagón (por ejemplo, teniendo la secuencia humana anteriormente referida). El ensayo se puede realizar usando los materiales y bajo las condiciones expuestas en el Ejemplo 3.

Los valores de EC_{50} se pueden usar como una medida numérica de la potencia agonista en un receptor dado, siendo el valor de EC_{50} una medida de la concentración de un compuesto requerida para alcanzar la mitad de esa actividad máxima del compuesto hacia el receptor en cuestión en un ensayo particular.

Usos terapéuticos

Los compuestos (y sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables) de la invención, así como composiciones farmacéuticas de la invención, pueden ser útiles en el tratamiento o prevención de diversas afecciones o trastornos. Opcionalmente, los compuestos (y sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables) se pueden usar en combinación con una o más sustancias terapéuticamente activas adicionales. Por tanto, los usos terapéuticos relevantes incluyen: tratamiento o prevención de hipoglucemia (tanto aguda como crónica), diabetes tipo 2 (incluyendo la evolución de la enfermedad en diabetes tipo 2), tolerancia a la glucosa alterada, diabetes tipo 1, obesidad (incluyendo las enfermedades o problemas relacionados con el sobrepeso u obesidad), enfermedad coronaria, aterosclerosis, hipertensión, dislipidemia, esteatosis hepática, intoxicación por β -bloqueante, insulinoma y enfermedad de Von Gierkes; prevención de que un sujeto llegue a ser obeso; reducción de peso corporal; disminución de la ingesta de comida; incremento del gasto energético; retraso en la evolución desde tolerancia a la glucosa alterada (IGT) a diabetes tipo 2; retraso de la evolución desde diabetes tipo 2 a diabetes que requiere insulina; regulación del apetito o inducción de la saciedad (incluyendo tratamiento de la bulimia y tratamiento de trastorno por atracón); y prevención de la recuperación de peso después de pérdida de peso con éxito. Como principio general, los compuestos (y sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables) de la invención, así como las composiciones farmacéuticas de la invención, se pueden usar para controlar los niveles de glucosa en sangre.

Entre las formas de hipoglucemia capaces de tratamiento o prevención de acuerdo con la invención están hipoglucemia diabética (incluyendo la hipoglucemia inducida por insulina aguda), hipoglucemia no diabética, hipoglucemia reactiva, hipoglucemia por ayuno, hipoglucemia inducida por fármaco, hipoglucemia inducida por alcohol, hipoglucemia inducida por cirugía de derivación gástrica e hipoglucemia que ocurre durante el embarazo.

Aplicaciones adicionales de los compuestos (y sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables) de la invención, y composiciones farmacéuticas de la invención, incluyen los usos como relajante de músculo liso (agente

espasmolítico) con respecto a los procedimientos de toma de imagen (por ejemplo, toma de imagen por rayos X, tomografía por ordenador (CT) o resonancia magnética (MR)), tal como la toma de imagen de la región abdominal.

Terapia de combinación

- 5 Tal como ya se indicó anteriormente, el tratamiento con un compuesto (o su sal o solvato farmacéuticamente aceptable) según la presente invención puede tener lugar en combinación con una u otras más sustancias o agentes farmacéuticamente activos, por ejemplo, seleccionados entre agentes antidiabéticos, agentes antiobesidad, agentes reguladores del apetito, agentes antihipertensores, agentes para el tratamiento y/o prevención de las complicaciones resultantes de o asociadas a la diabetes, y agentes para el tratamiento y/o prevención de complicaciones y trastornos resultantes de o asociados a obesidad. En el presente contexto, la expresión “agente antidiabético” incluye compuestos para el tratamiento y/o profilaxis de la resistencia a insulina y enfermedades en las que la resistencia a insulina es el mecanismo patofisiológico.
- 10
- 15 Ejemplos de tales sustancias farmacológicamente activas son insulina y análogos de insulina, agonistas de GLP-1, sulfonilureas (por ejemplo, tolbutamida, glibenclamida, glipizida y gliclazida), biguanidas (por ejemplo, metformina), meglitinidas, inhibidores de glucosidasa (por ejemplo, acarbosa), antagonistas de glucagón, inhibidores de dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV), inhibidores de enzimas hepáticas implicadas en la estimulación de la gluconeogénesis y/o glucogenolisis, moduladores de la absorción de glucosa, tiazolidinodionas tales como troglitazona y ciglitazona, compuestos modificadores del metabolismo de lípido tal como agentes antihiperlipidémicos (por ejemplo, inhibidores de HMG CoA (estatinas)), compuestos que reducen la ingesta de alimentos, agonistas de RXR y agentes que actúan sobre el canal de potasio ATP-dependiente de las células β , por ejemplo, glibenclamida, glipizida, gliclazida y repaglinida; colestiramina, colestipol, clofibrato, gemfibrozil, lovastatina, pravastatina, simvastatina, probucol, dextrotiroxina, neteglinida, repaglinida; β -bloqueantes, tales como alprenolol, atenolol, timolol, pindolol, propranolol y metoprolol, ACE (enzima de conversión de angiotensina) inhibidores tales como benazepril, captopril, enalapril, fosinopril, lisinopril, alatriopril, quinapril y ramipril, bloqueantes del canal de calcio, tal como nifedipina, felodipina, nicardipina, isradipina, nimodipina, diltiazem y verapamil, y α -bloqueantes, tales como doxazosin, urapidil, prazosin y terazosin; agonistas de CART (transcrito regulado por cocaína y anfetamina); antagonista de NPY (neuropéptido Y), 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 a factor de liberación de corticotropina), agonistas de urocortina, agonistas β_3 , agonistas de MSH (hormona estimuladora de melanocito), antagonistas de MCH (hormona de concentración de melanocito), agonistas de CCK (colecistoquinina), inhibidores de la reabsorción de serotonina, inhibidores de la reabsorción de serotonina y noradrenalina, serotonina y compuestos noradrenérgicos mezclados, agonistas de 5HT (serotonina), agonistas de bombesina, antagonistas de galanina, hormona de crecimiento, compuestos de liberación de la hormona de crecimiento, agonistas de TRH (hormona de liberación de tirotrópina), moduladores de UCP2 o 3 (proteína de desacoplamiento 2 o 3), agonistas de leptina, agonistas de DA (por ejemplo, bromocriptina, doprexina), inhibidores de lipasa/amilasa, moduladores de RXR (receptor X retinoide), agonistas de TR β y antagonistas de histamina H3.
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40 Cualquier combinación adecuada de un compuesto o compuestos según la invención con uno o más de los compuestos anteriormente mencionados, y opcionalmente una o más sustancias farmacológicamente activas adicionales, están dentro del alcance de la presente invención.

MÉTODOS EXPERIMENTALES

- 45 Las abreviaturas empleadas en lo siguiente son las siguientes:

COMU:	hexafluorofosfato de 1-[(1-(ciano-2-etoxi-2-oxoetilidenoamino)oxi)-dimetilamino-morfolinometileno]metanaminio
50 DCM:	diclorometano
DMF:	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DIPEA:	diisopropiletilamina
EtOH:	etanol
Et ₂ O:	dietil éter
55 HATU:	<i>N</i> -[(dimetilamino)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol[4,5- <i>b</i>]piridina-1-ilmetileno]- <i>N</i> -metilmetanaminio hexafluorofosfato <i>N</i> -óxido
HPLC:	cromatografía líquida de alta resolución
IBMX:	3-isobutil-1-metilxantina
MeCN:	acetonitrilo
60 MS:	espectroscopía de masas
PBS	solución salina tamponada con fosfato
RP:	fase inversa
TFA:	ácido trifluoroacético
TIS:	triisopropilsilano

65

Procedimiento de la síntesis general para análogos de glucagón

La síntesis de péptido en fase sólida (SPPS) se realizó en un sintetizador asistido por microondas usando estrategia Fmoc estándar en DMF sobre una resina de poliestireno (TentaGel S Ram o Tentagel S PHB-Thr(tBu)). Se usó HATU o COMU como reactivo de acoplamiento junto con DIPEA como base. Se usó Piperidina (20 % en DMF) para la desprotección. Se usaron, cuando era aplicable, pseudoprolinas: Fmoc-Phe-Thr(Ψ Me, Me pro)-OH, Fmoc-Asp-Ser(Ψ Me, Me pro)-OH y Fmoc-Glu-Ser(Ψ Me, Me pro)-OH (compradas de NovaBiochem). El glucagón humano se sintetizó igualmente y se purificó usando la metodología de síntesis y los procedimientos de purificación como se describen en el presente documento.

Escisión:

El péptido en bruto se escindió de la resina mediante el tratamiento con TFA/TIS/agua al 95/2,5/2,5 % (v/v) a temperatura ambiente durante 2 h. La mayoría de TFA se separó a presión reducida, y el péptido en bruto se precipitó y se lavó con dietil éter y se dejó secar a temperatura ambiente.

Purificación de péptido

Los péptidos en bruto se purificaron mediante RP HPLC estándar con un gradiente de tampón A (TFA acuoso al 0,1 %) y tampón B (solución acuosa que contenía TFA al 0,1 % y MeCN al 90 %). Las fracciones se analizaron mediante HPLC analítica y MS, y las fracciones relevantes se agruparon y se liofilizaron.

Los péptidos se purificaron más mediante RP HPLC preparativa usando un gradiente de tampón A' (ácido fórmico acuoso al 0,1 %) y tampón B' (solución acuosa que contenía ácido fórmico al 0,1 % y MeCN al 90 %). Se añadió TFA a las fracciones recogidas antes de la liofilización. El producto final se caracterizó mediante HPLC analítica y MS.

Método de HPLC analítica

Los péptidos se analizaron mediante un método de HPLC analítica usando un gradiente de tampón A' (véase anteriormente) y tampón B' (véase anteriormente).

Ejemplo 1Síntesis del compuesto 7

(Hy-HSQTFTSDYSRYLESARAEDFVKWLEST-OH; no reivindicado)

El compuesto 7 (SEQ ID NO: 8) se sintetizó en un Sintetizador de Péptidos CEM Liberty usando resina Tentagel S PHBThr(tBu) (1,13 g, 0,24 mmol/g), COMU como reactivo de acoplamiento, DMF como disolvente, y la química de Fmoc como se describió anteriormente. Se usaron en la secuencia las pseudoprolinas Fmoc-Phe-Thr(Ψ Me, Me pro)-OH (en la posición 6/7) y Fmoc-Glu-Ser(Ψ Me, Me pro)-OH (en la posición 15/16).

El péptido se escindió de la resina como se describió anteriormente, y la purificación se realizó en una columna Gemini-NX (5 cm, C18, 10 micras) con un flujo de 35 ml/min de una mezcla de tampón A (véase anteriormente) y tampón B (véase anteriormente). El producto se eluyó con un gradiente lineal de tampón B al 20 a 50 % durante 47 min, y se analizaron las fracciones relevantes mediante HPLC analítica y MS. Las fracciones agrupadas se liofilizaron y se volvieron a disolver en agua antes de purificación adicional en una columna Gemini-NX (2,12 x 25 cm, C18 (110A); 10 micras) con un flujo de 10 ml/min de una mezcla de tampón A' (véase anteriormente) y tampón B' (véase anteriormente). El producto se eluyó con un gradiente lineal de tampón B' al 5 a 40 % durante 47 min, y las fracciones relevantes se analizaron mediante HPLC analítica y MS. Se añadió TFA a las fracciones agrupadas y se liofilizaron para dar 112 mg. La pureza era de 99 % determinada mediante HPLC analítica (véase anteriormente), y la masa monoisotópica era de 3409,55 Da determinada por MS (calc. 3409,58 Da).

Ejemplo 2Generación de la línea celular que expresa el receptor de glucagón humano

Se clonó el ADNc que codifica el receptor de glucagón humano (Glucagón-R) (número de acceso primario P47871) a partir del clon de ADNc BC104854 (MGC:132514/IMAGE:8143857). Se amplificó el ADN que codifica el Glucagón-R mediante PCR usando cebadores codificadores de los sitios de restricción terminales para la subclonación. Los cebadores (*primers*) del extremo 5' además codificaron una secuencia consenso cerca de Kozak para asegurar la traducción eficaz. La fidelidad del ADN que codifica el Glucagón-R se confirmó mediante secuenciación de ADN. Los productos de PCR que codifican el Glucagón-R se subclonaron dentro de un vector de expresión de mamífero que contenía un marcador de resistencia a neomicina (G418). El vector de expresión de mamífero que codifica el Glucagón-R se sometió a transfección dentro de las células HEK293 mediante un método de transfección de fosfato

de calcio estándar. 48 h después de la transfección, las células se sembraron para clonación en dilución limitada y se seleccionaron con 1 mg/ml de G418 en el medio de cultivo. Tres semanas después se recogieron doce colonias supervivientes de células de expresión de Glucagón-R, se propagaron y se ensayaron en el ensayo de eficacia de Glucagón-R descrito más adelante. Se eligió un clon de expresión de Glucagón-R para el perfilado del compuesto.

5

Ejemplo 3

Ensayo del receptor de Glucagón

10 Se sembraron células HEK293 que expresan el Glucagón-R humano a 60.000 células por pocillo en placas de microtitulación de 96 pocillos revestidas con poli-L-lisina al 0,01 %, y se cultivaron durante 1 día en cultivo en 100 μ l de medio de crecimiento. Para los análisis de la inducción de cAMP por el Glucagón-R se usó el kit de ensayo de cAMP AlphaScreen® de Perkin Elmer, según las instrucciones del fabricante. El día del análisis, se separó el medio de crecimiento y las células se lavaron una vez con 200 ml del tampón de ensayo incluido con IBMX. Las células se
15 incubaron en 100 ml de tampón de ensayo/IBMX que contenía concentraciones crecientes de los péptidos de ensayo durante 15 min a 37 °C. A continuación, se separó el péptido/tampón de ensayo y las células se sometieron a lisis mediante la adición de 80 ml de tampón de lisis por pocillo y la incubación durante al menos 10 min a temperatura ambiente. A partir de cada pocillo, se transfirieron 10 ml de lisado celular a una OptiPlate de 384 pocillos y se mezclaron con perlas Donadoras y Receptoras y se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente. El
20 contenido de cAMP se midió en un lector de placa Envision. EC₅₀ y las eficacias relativas comparadas con el compuesto de referencia (glucagón) se estimaron mediante el cálculo del ajuste a la curva asistido por ordenador.

Ejemplo 4

25 Valoración de la solubilidad

Se preparó una solución madre del péptido de ensayo (2 mg/ml; determinado por la medición de la absorción de la solución a 280 nm, y usando el coeficiente de extensión teórica basado en el contenido de triptófano y tirosina en el péptido) en agua desmineralizada ajustada a pH 2,5 con HCl, y se disolvieron alícuotas 1:1 en tampón acetato 100
30 mM (pH 4,0) y tampón fosfato 100 mM (pH 7,5), respectivamente, y se cargaron en una Microplaca UV de 96 pocillos no estéril de base plana estándar. Se midió la absorbancia de las muestras (muestras únicas, n=1) a 280 y 325 nm en un lector de placa basado en absorbancia, el cual se precalentó a temperatura ambiente. El criterio de absorbancia de turbidez para una solubilidad de péptido de ≥ 1 mg/ml era una absorbancia a 325 nm de $\leq 0,02$ unidades de absorbancia (que es 5 a 6 veces la desviación estándar de 8 muestras de tampón en una placa).

35

Numerosos compuestos de la invención presentan una solubilidad de ≥ 1 mg/ml en el intervalo de pH desde 4 a 7,5, más específicamente a pH 4 y pH 5 (por ejemplo, en tampón acetato), y a pH 6, pH 7 y pH 7,5 (por ejemplo, en tampón fosfato).

40 Ejemplo 5

Valoración de la estabilidad física

Se detectó agregación en la forma de la formación de fibrilla usando el colorante específico amiloide Tioflavina T (ThT), que frecuentemente se emplea para demostrar la presencia de fibrillas en solución (véase, por ejemplo, Groenning, M., *J. Chem. Biol.* 3(1) (2010), pp. 1-18; Groenning y col., *J. Struct. Biol.* 158 (2007) pp. 358-369; y Levine, H., III, *Protein Sci.* 2 (1993) pp. 404-410). Se disolvieron todos los péptidos de ensayo en agua desmineralizada ajustada a pH 2,5 con HCl, a temperatura ambiente. Se cargó una solución que contenía 1 mg/ml de péptido, ThT 40 μ M y tampón fosfato 50 mM, pH 7,5, en una placa de fluorescencia negra de 96 pocillos (fondo claro) por triplicado. Los datos se recogieron a intervalos fijados de 10 min, cada uno precedido por 300 s de automezclado (agitación), durante un periodo de 96 horas a 40 °C. El experimento entero se repitió, pero sin
50 agitación. La estabilidad física, expresada como tiempo de latencia (*lag-time*) de la formación de fibrilla (en horas), se definió como la intersección entre dos regresiones lineales que representan la fase estable inicial y la fase de crecimiento.

55

Ejemplo 6

Valoración de la estabilidad química

60 Se prepararon soluciones madre de cada péptido de ensayo (1 mg/ml; determinado por la medición de la absorción de la solución a 280 nm, y usando el coeficiente de extensión teórico basado en el contenido de triptófano y tirosina en el péptido) en tampón acetato 50 mM (pH 4,0) y en tampón fosfato 50 mM (pH 7,5), respectivamente. Las muestras se colocaron en viales de vidrio y se incubaron a 40 °C. Las muestras se analizaron mediante HPLC de fase inversa sobre una columna C18 con elución en gradiente usando un sistema eluyente de acetonitrilo/ácido trifluoroacético/agua. El porcentaje del área (área-%) del pico principal después del tiempo de incubación T=t (en relación a tiempo T=0) se detectó mediante espectrometría de UV a 220 nm.

65

Se determinó primero la pureza como sigue:

$$\text{Pureza (área-\%)} = (\text{área del pico principal} / \text{área total de todos los picos}) \times 100.$$

- 5 A continuación, se normalizó la pureza entre tiempos mediante la fijación de la pureza a tiempo 0 (T=0) a 100 para cada valor de pH para un péptido dado, como sigue:

$$\text{Área-\% normalizada a tiempo t (T=t)} = [\text{área-\% (T=t)} / \text{área-\% (T=0)}] \times 100.$$

- 10 Los resultados de la actividad *in vitro* (expresados como valores de EC₅₀) y los resultados de la valoración de la solubilidad se resumen en la Tabla 1 (a continuación), y los resultados de valoración de la estabilidad física y química se resumen en la Tabla 2 (a continuación). Los valores de pureza normalizados en la Tabla 2 se determinaron después de 14 días de incubación.

15 **Ejemplo 7**

Liberación de glucosa intensa

- 20 Se investigó el efecto del Compuesto 14 de la invención (dosis de 20 y 60 nmol/kg de peso corporal, respectivamente) sobre la liberación de glucosa intensa en ratas Sprague-Dawley machos euglucémicas (Taconic, Lille Skensved, Dinamarca, 9 a 10 semanas de vida) en comparación con el del glucagón humano nativo (dosis 20 nmol/kg). Se dejaron las ratas en ayuno durante 5 horas antes de la dosificación. Los animales (n=6/grupo) se inyectaron una vez subcutáneamente (SC) con vehiculizante (PBS, pH 7,4), compuesto de ensayo o glucagón. Se recogieron muestras de sangre de la vena de la cola antes de la dosificación (t=0) y cada 15 minutos durante 25 horas a partir de entonces usando tubos capilares de 5 µl. Los animales se anestesiaron (con una mezcla estándar de hypnorm/dormicum) durante el experimento para asegurar los niveles de glucosa en sangre basales estables. Las concentraciones de glucosa en sangre se determinaron usando un Analizador de Glucosa Biosen (EKF-diagnostic GmbH, Alemania). Los datos se resumen en la Fig. 1.

30 **Ejemplo 8**

Farmacocinéticas

- 35 Se realizó una evaluación farmacocinética comparativa de glucagón humano nativo y un compuesto representativo de la presente invención en ratones, ratas y perros. Los dos compuestos presentaron características farmacocinéticas similares, por ejemplo, con respecto a la semivida (t_{1/2}) y el volumen de distribución.

Tabla 1. EC₅₀ y datos de solubilidad

Nº Compuesto	SEQ ID Nº.	GCG-R EC ₅₀ <i>in vitro</i> [nM]#	Solubilidad pH 7,5
Glucagón	1	0,013	< 1 mg/ml
1	2	0,064	≥ 1 mg/ml
2	3	0,18	≥ 1 mg/ml
3	4	0,030	≥ 1 mg/ml
4	5	0,34	≥ 1 mg/ml
5	6	0,17	≥ 1 mg/ml
6	7	1,0	≥ 1 mg/ml
7	8	0,93	≥ 1 mg/ml
8	9	0,38	≥ 1 mg/ml
9	10	0,030	≥ 1 mg/ml
10	11	0,32	≥ 1 mg/ml
11	12	0,11	≥ 1 mg/ml
12	13	0,030	≥ 1 mg/ml
13	14	0,070	≥ 1 mg/ml
14	15	0,15	≥ 1 mg/ml
15	16	0,030	≥ 1 mg/ml
16	17	0,39	≥ 1 mg/ml
17	18	0,029	≥ 1 mg/ml
18	19	0,026	≥ 1 mg/ml
19	20	0,054	≥ 1 mg/ml
20	21	0,24	≥ 1 mg/ml
21	22	0,0095	≥ 1 mg/ml
22	23	0,024	≥ 1 mg/ml
23	24	0,16	≥ 1 mg/ml
24	25	0,0078	≥ 1 mg/ml

ES 2 620 111 T3

25	26	0,0066	≥ 1 mg/ml
26	27	0,0069	≥ 1 mg/ml
27	28	0,063	≥ 1 mg/ml
28	29	0,035	≥ 1 mg/ml
29	30	0,023	≥ 1 mg/ml
30	31	0,016	≥ 1 mg/ml
31	32	0,0072	≥ 1 mg/ml
32	33	0,0093	≥ 1 mg/ml
33	34	0,044	≥ 1 mg/ml
34	35	0,028	≥ 1 mg/ml
35	36	0,014	≥ 1 mg/ml
36	37	0,010	≥ 1 mg/ml
37	38	0,094	≥ 1 mg/ml
38	39	0,0047	≥ 1 mg/ml
39	40	0,0044	≥ 1 mg/ml
40	40	0,0035	≥ 1 mg/ml
41	41	0,0038	≥ 1 mg/ml
# Todos los valores referidos a dos figuras significativas			

Tabla 2. Datos de la estabilidad física y química para los compuestos de la invención

N° Compuesto	SEQ ID N°	Pureza normalizada pH 4,0 después de 14 días [%]	Pureza normalizada pH 7,5 después de 14 días [%]	Estabilidad física a pH 7,5 [hr:min] (no agitado)	Estabilidad física a pH 7,5 [hr:min] (agitado)
1	2	N/A	N/A	05:18 ± 00:23	01:49 ± 00:10
2	3	83,5	86,2	FND	FND
3	4	85,0	86,5	FND	72:50 ± 06:16
4	5	80,5	84,6	FND	FND
5	6	91,8	89,6	FND	FND
8	9	No realizado	No realizado	85	57:02 ± 0:43
9	10	No realizado	No realizado	inicio	53:20 ± 05:46
10	11	No realizado	No realizado	FND	FND
11	12	78,6	89,9	FND	FND
12	13	86,8	90,8	FND	FND
13	14	84,6	88,8	FND	80:10 ± 14:54
14	15	89,5	92,4	FND	FND
15	16	89,1	95,1	FND	FND
16	17	89,1	No realizado	12:57 ± 00:02	No realizado
17	18	89,9	88,3	62 ± 4	41:33 ± 04:18
18	19	No realizado	No realizado	15:04 ± 00:41	03:48 ± 00:06
19	20	No realizado	No realizado	inicio	No realizado
20	21	No realizado	No realizado	FND	FND
21	22	89,8	93,5	FND	FND
22	23	91,1	95,3	FND	FND
23	24	No realizado	No realizado	FND	FND
24	25	92,8	94,4	FND	FND
25	26	93,8	89,8	FND	FND
26	27	90	93,9	FND	FND
27	28	No realizado	No realizado	46:20 ± 04:43	18:00 ± 04:00
28	29	No realizado	No realizado	08:33 ± 00:05	02:20 ± 00:17
29	30	91	91,6	FND	FND
30	31	88,6	91,4	FND	FND
31	32	93,1	91,7	FND	FND
32	33	91,2	96,3	FND	FND
33	34	No realizado	No realizado	No realizado	FND
34	35	No realizado	No realizado	No realizado	FND
35	36	No realizado	No realizado	No realizado	FND
36	37	No realizado	No realizado	No realizado	FND
37	38	No realizado	No realizado	No realizado	FND
38	39	No realizado	No realizado	No realizado	FND

*FND = formación de fibrilla no detectada

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula I:

5 R^1-Z-R^2 (I)

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;
en el que

10 R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-4} , acetilo, formilo, benzoilo o trifluoroacetilo;
 R^2 es OH o NH_2 ; y
Z es una secuencia de aminoácidos que procede de la secuencia de fórmula Ia:

His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-
Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Glu-Asn-Thr (Ia)

15 y que comprende además al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos que están solamente en posiciones de la secuencia seleccionadas entre 2, 3, 4, 9, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29, como sigue:

20 X2 se selecciona entre Aib y Ala;
X3 se selecciona entre His, Pro, Dab(Ac), Dap(Ac) y Gln(Me);
X4 es DAla;
X9 es Glu;
X10 se selecciona entre Val, Leu, N-Me-Tyr y N-Me-DTyr;
X15 es Glu;
25 X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu, Val, DVal, Phe, His, Arg, Pro, DPro, N-Me-Ser y N-Me-DSer;
X17 se selecciona entre Ala y Ser;
X20 se selecciona entre Glu y Lys;
X21 se selecciona entre Glu, Lys y Ser;
X24 se selecciona entre Lys, Ser, Glu y Ala;
30 X28 se selecciona entre Ser y Lys, y Glu, o está ausente;
X29 se selecciona entre Ser y Ala, o está ausente; con la condición de que Z no se seleccione entre:

HSQGTFTSDYSKYLDARAEDFVKWLEST; y
HSQGTFTSDYSKYLESRRAKEFVEWLEST;

35 en donde el compuesto tiene actividad agonista de glucagón y solubilidad y/o estabilidad mejoradas en comparación con el glucagón humano nativo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1 que tiene la fórmula I:

40 R^1-Z-R^2 (I)

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;
en el que

45 R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-4} , acetilo, formilo, benzoilo o trifluoroacetilo;
 R^2 es OH o NH_2 ; y
Z es una secuencia de aminoácidos que procede de la secuencia de fórmula Ia:

His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-
Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Glu-Asn-Thr (Ia)

50 y que comprende además al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos que están solamente en posiciones de la secuencia (designadas como X) seleccionadas entre 2, 3, 9, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29, como sigue:

55 X2 se selecciona entre Aib y Ala;
X3 se selecciona entre His y Pro;
X9 es Glu;
X10 se selecciona entre N-Me-Tyr y N-Me-DTyr;
60 X15 es Glu;

X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu, Val, DVal, Phe, His, Arg, Pro, DPro, N-Me-Ser y N-Me-DSer;
 X17 se selecciona entre Ala y Ser;
 X20 se selecciona entre Glu y Lys;
 X21 se selecciona entre Glu, Lys y Ser;
 X24 se selecciona entre Lys, Ser, Glu y Ala;
 X28 se selecciona entre Ser y Lys, o está ausente;
 X29 se selecciona entre Ser y Ala, o está ausente;

con la condición de que Z no se seleccione entre:

HSQGTFTSDYSKYLDARAEDFVKWLEST; y
 HSQGTFTSDYSKYLESRRAKEFVEWLEST;

en donde el compuesto tiene actividad agonista de glucagón y solubilidad y/o estabilidad mejoradas en comparación con el glucagón humano nativo.

3. El compuesto o su sal o su solvato farmacéuticamente aceptables según la reivindicación 1, en el que dichas al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos en posiciones de la secuencia de aminoácidos (designadas como X) seleccionadas entre 2, 3, 4, 9, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29 del compuesto de fórmula I son las siguientes:

X2 se selecciona entre Aib y Ala;
 X3 se selecciona entre His y Pro;
 X4 es DAla;
 X9 es Glu;
 X10 se selecciona entre N-Me-Tyr y N-Me-DTyr;
 X15 es Glu;
 X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu, Val, Phe, His y Arg;
 X17 se selecciona entre Ala y Ser;
 X20 se selecciona entre Glu y Lys;
 X21 se selecciona entre Glu, Lys y Ser;
 X24 se selecciona entre Lys, Ser, Glu y Ala;
 X28 se selecciona entre Ser, Glu y Lys, o está ausente
 X29 se selecciona entre Ser y Ala, o está ausente.

4. El compuesto o su sal o su solvato farmacéuticamente aceptables según la reivindicación 1, en el que las al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos están en posiciones de la secuencia de aminoácidos (designadas por una X) seleccionadas entre 2, 3, 4, 10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29 del compuesto de fórmula I, y son las siguientes:

X2 es Ala;
 X3 es Dab(Ac), Dap(Ac) y Gln(Me);
 X4 es DAla;
 X10 se selecciona entre Leu y Val;
 X15 es Glu;
 X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu, Leu y Val;
 X17 es Ala;
 X20 se selecciona entre Glu y Lys;
 X21 se selecciona entre Glu y Ser;
 X24 se selecciona entre Lys, Ser y Glu;
 X28 se selecciona entre Ser, Glu y Lys;
 X29 es Ala, o está ausente.

5. El compuesto o su sal o su solvato farmacéuticamente aceptables según la reivindicación 1, en el que las al menos cuatro sustituciones o deleciones de aminoácidos están en posiciones de la secuencia de aminoácidos (designadas por una X) seleccionadas entre 2, 3, 4, 16, 17, 20, 21, 24, 28 y 29 del compuesto de fórmula I, y son las siguientes:

X2 es Ala;
 X3 es Dab(Ac), Dap(Ac), Gln(Me) o His;
 X4 es DAla;
 X16 se selecciona entre Aib, Lys, Glu;
 X17 es Ala;
 X20 se selecciona entre Glu y Lys;
 X21 se selecciona entre Glu y Ser;
 X24 se selecciona entre Lys, Ser y Glu;

X28 se selecciona entre Ser, Glu y Lys;
X29 es Ala, o está ausente.

6. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que X17 es Ala.

5 7. El compuesto o su sal o su solvato farmacéuticamente aceptables según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que Z se selecciona entre el grupo que consiste en:

- 10 HSQGTFTSDYSKYLDSARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 2)
HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLEET (SEQ ID NO: 3)
HSQGTFTSDYSKYLDKARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 4)
HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVAWLEST (SEQ ID NO: 5)
HSQGTFTSDYSKYLDEARAKDFVEWLEKT (SEQ ID NO: 6)
15 HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVEWLEST (SEQ ID NO: 7)
HSQGTFTSDYSKYLESARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 9)
HSQGTFTSDYSKYLDSARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 10)
HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVSWLEST (SEQ ID NO: 11)
HSQGTFTSDLISKYLDSARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 12)
20 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 13)
HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLES (SEQ ID NO: 14)
HSQGTFTSDYSKYLDEARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 15)
HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 16)
HSQGTFTSDYSKYLESARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 17)
HSQGTFTSDYSKYLDLARAEDFVKWLEST (SEQ ID NO: 18)
25 HSQGTFTSDYSKYLDKRRRAEDFVSWLEST (SEQ ID NO: 19)
HSQGTFTSDYSKYLDVARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 20)
HAQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 21)
HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 22)
HSQ-DAla-TFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 23)
30 HSQGTFTSDVSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 24)
HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 25)
HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARRAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 26)
HS-[Gln(Me)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 27)
HSQGTFTSDYSKYLDEARAKSFVEWLEKT (SEQ ID NO: 28)
35 HSQGTFTSDYSKYLDEARAKSFVEWLEST (SEQ ID NO: 29)
HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAKSFVEWLEKT (SEQ ID NO: 30)
HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLESA (SEQ ID NO: 31)
HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 32)
HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST (SEQ ID NO: 33)
40 HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVSWLEKT (SEQ ID NO: 34)
HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVWLEST (SEQ ID NO: 35)
HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVAWLEST (SEQ ID NO: 36)
HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEET (SEQ ID NO: 37)
HSQGTFTSDYSKYLE-Aib-ARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 38)
45 HSHGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 39)
HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 40) y
HS-[Dap(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEEFVKWLEST (SEQ ID NO: 41).

8. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, seleccionado entre el grupo que consiste en:

- 50 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAESFVKWLEST-OH
Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLEET-OH
Hy-HSQGTFTSDYSKYLDKARAEDFVKWLEST-OH
Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVAWLEST-OH
55 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDEARAKDFVEWLEKT-OH
Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVEWLEST-OH
Hy-HSQGTFTSDYSKYLESARAEDFVKWLEST-OH
Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEEFVKWLEST-OH
Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVSWLEST-OH
60 Hy-HSQGTFTSDLISKYLDSARAEDFVKWLEST-OH
Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEDFVKWLEST-OH
Hy-HSQGTFTSDYSKYLDSARAEDFVKWLES-OH
Hy-HSQGTFTSDYSKYLDEARAEDFVKWLEST-OH
Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH
65 Hy-HSQGTFTSDYSKYLESARAESFVKWLEST-OH

- Hy-HSQGTFTSDYSKYLDLARAEDFVKWLEST-OH
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDKRRRAEDFVSWLEST-OH
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLDVARAESFVKWLEST-OH
 Hy-HAQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH
 5 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH
 Hy-HSQ-DAIa-TFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH
 Hy-HSQGTFTSDVSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH
 Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-NH2
 10 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-RAAESFVKWLEST-OH
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-DEARAKSFVEWLEKT-OH
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-DEARAKSFVEWLEST-OH
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAKSFVEWLEKT-OH
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLESA-OH
 15 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-NH2
 Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAESFVKWLEST-OH
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVSWLEKT-OH
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEKFVEWLEST-OH
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVWLEST-OH
 20 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEET-OH
 Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH
 Hy-HSHGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-NH2
 Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH
 Hy-HS-[Dab(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-NH2
 25 Hy-HS-[Dap(Ac)]-GTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-NH2

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

9. Una construcción de ácido nucleico que codifica un péptido Z según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en donde dicho péptido está compuesto enteramente de aminoácidos que se dan de manera natural.
 30
- 10 Un vector de expresión que comprende una construcción de ácido nucleicos según la reivindicación 9.
11. Una célula hospedadora que comprende una construcción de ácido nucleicos según la reivindicación 9 o un vector de expresión según la reivindicación 10.
 35
12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
 40
13. Un compuesto o su sal o su solvato farmacéuticamente aceptables según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en un método de tratamiento médico.
14. Un compuesto o su sal o su solvato farmacéuticamente aceptables según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en un método de tratamiento de hipoglucemia, hipoglucemia aguda, hipoglucemia crónica, diabetes tipo 2, tolerancia a la glucosa alterada, diabetes tipo 1, obesidad, enfermedad coronaria, aterosclerosis, hipertensión, dislipidemia, esteatosis hepática, intoxicación por β -bloqueante, insulinoma y enfermedad de Von Gierkes.
 45
15. Un compuesto o su sal o su solvato farmacéuticamente aceptables para su uso según la reivindicación 14 en donde la hipoglucemia se selecciona entre el grupo que consiste en: hipoglucemia diabética, hipoglucemia inducida por insulina aguda, hipoglucemia no diabética, hipoglucemia reactiva, hipoglucemia por ayuno, hipoglucemia inducida por fármaco, hipoglucemia inducida por alcohol, hipoglucemia inducida por cirugía de derivación gástrica e hipoglucemia que ocurre durante el embarazo.
 50
 55

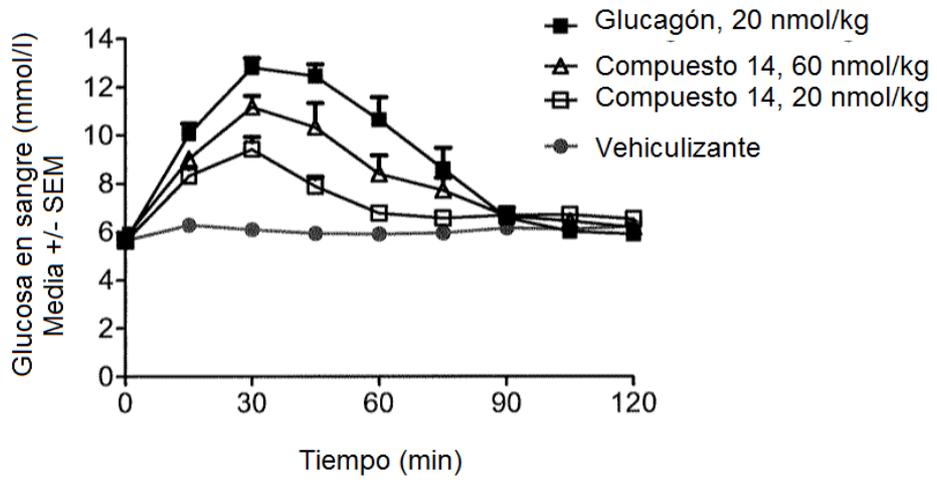


Fig. 1