

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 683 372**

51 Int. Cl.:

A61K 47/54 (2007.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.11.2011 PCT/EP2011/069743**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.05.2012 WO12062804**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.11.2011 E 11779674 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.05.2018 EP 2637699**

54 Título: **Derivados de GLP-1 acilados con un conector nuevo**

30 Prioridad:

15.06.2011 US 201161497123 P

09.06.2011 EP 11169276

16.11.2010 US 414221 P

09.11.2010 EP 10190515

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

26.09.2018

73 Titular/es:

NOVO NORDISK A/S (100.0%)

Novo Allé

2880 Bagsværd, DK

72 Inventor/es:

KOFOED, JACOB;

LAU, JESPER;

LINDEROTH, LARS;

GARIBAY, PATRICK WILLIAM y

KRUSE, THOMAS

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 683 372 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de GLP-1 acilados con un conector nuevo.

Campo técnico

5

La presente invención se refiere a derivados de análogos de Péptido tipo Glucagón 1 (GLP-1), más en particular a derivados de GLP-1 que están acilados en K¹⁸ y en otro residuo K del péptido, a través de un conector nuevo y sus usos farmacéuticos.

Antecedentes de la invención

10

El documento WO 99/43706 describe una serie de derivados de GLP-1 mono y acilados que incluyen algunos derivados de K^{18,26} y K^{18,34}. Los compuestos ejemplificados de esta referencia no incorporan ninguno de los sustituyentes designados como Quím. 1 y Quím. 2 en la presente descripción.

15 El documento WO 2011/080103 que se publicó después de los datos de prioridad de la presente solicitud describe una serie de derivados de GLP-1 que están acilados en K^{26,37}.

20 El documento WO 06/097537 describe una serie de derivados de GLP-1 que incluyen semaglutida (Ejemplo 4), un derivado de GLP-1 mono acilado para administración una vez a la semana que se encuentra en desarrollo por Novo Nordisk A/S.

25 Angewandte Chemie International Edition 2008, vol. 47, páginas 3196-3201 informa el descubrimiento y caracterización de una clase de derivados de ácido 4-(p-yodofenil)butírico que supuestamente muestran una interacción de unión no covalente estable tanto con albúmina sérica de ratón (MSA) como con albúmina sérica humana (HSA).

Breve descripción de la invención

La invención se refiere a derivados de péptidos GLP-1.

30 Los derivados se acilan en una lisina sustituida por la serina nativa en la posición 18, así como también en otro residuo de lisina. El otro residuo de lisina puede ser una lisina nativa, o una lisina sustituida por otro residuo de aminoácido. Las cadenas laterales son porciones de unión a albúmina. Estas comprenden una porción de prolongación, preferentemente seleccionada de diácidos grasos y ácidos grasos con un grupo fenilo o fenoxi terminal o distal, ambos opcionalmente sustituidos. Un grupo carboxi del ácido graso o diácido graso, opcionalmente
35 mediante un conector, se acila a un residuo de lisina del péptido GLP-1, preferentemente en el grupo épsilon amino del mismo. El péptido GLP-1 puede ser un análogo de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) que tiene un total de hasta doce diferencias de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37), por ejemplo una o más adiciones, una o más deleciones y/o una o más sustituciones. La porción de prolongación se une al péptido mediante un conector. El conector comprende un grupo amino libre (sustituyente -NH₂) y es un radical con un extremo *-NH y un extremo CO-
40 *.

Más en particular, la invención se refiere a un derivado de un análogo de GLP-1, cuyo análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a una posición 18 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1), un
45 segundo residuo K en otra posición y un máximo de doce cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37), cuyo derivado comprende dos porciones de prolongación unidas a dicho residuo K primero y segundo, respectivamente, cada uno mediante un conector, en donde la porción de prolongación se selecciona de Quím. 1 y Quím. 2:

50 Quím. 1: HOOC-(CH₂)_x-CO-*; y Quím. 2: HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-*, en el que x es un número entero en el intervalo de 6-18 y y es un número entero en el intervalo de 3-17; y el conector comprende Quím. 3: *-NH-(CH₂)_q-CH[(CH₂)_w-NH₂]-CO-*, en donde q es un número entero en el intervalo de 0-5 y w es un número entero en el intervalo de 0-5; o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster de este.

55 La invención se refiere, además, a tal derivado para el uso como un medicamento, en particular para el uso en el tratamiento y/o prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos alimentarios, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedades críticas, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar parámetros lipídicos, mejorar la función de las células-β, y/o para retardar o evitar la progresión de la enfermedad diabética.

La invención describe además productos intermedios en la forma de los péptidos GLP-1 de los derivados de GLP-1 de la invención.

5 Los derivados de la invención son biológicamente activos. Además, o alternativamente, tienen un perfil farmacocinético prolongado. Además, o alternativamente, tienen una alta biodisponibilidad oral. Estas propiedades son de importancia en el desarrollo de compuestos de GLP-1 de nueva generación para administración subcutánea, intravenosa y/o en particular oral.

Descripción

10 En la presente, las letras del alfabeto griego pueden representarse por su símbolo o el nombre escrito correspondiente, por ejemplo: α = alfa; β = beta; γ = gamma; δ = delta; ϵ = épsilon; ζ = zeta; ω = omega; etc. Además, la letra griega de μ puede representarse por "u", por ejemplo en μ l=uL, o en μ M=uM.

15 Un asterisco (*) en una fórmula química designa i) un punto de unión, ii) un radical, y/o iii) un electrón no compartido.

La invención se refiere a un derivado de un análogo de GLP-1, cuyo análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 18 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1), un segundo residuo K en otra posición y un máximo de doce cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37), cuyo derivado comprende dos porciones de prolongación unidas a dicho residuo K primero y segundo, respectivamente, mediante un conector, en donde la porción de prolongación se selecciona de Quím. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_x\text{-CO}^*$ y Quím. 2: $\text{HOOC-C}_6\text{H}_4\text{-O}-(\text{CH}_2)_y\text{-CO}^*$, en el que x es un número entero en el intervalo de 6-18 y y es un número entero en el intervalo de 3-17; y el conector comprende Quím. 3: $^*\text{-NH}-(\text{CH}_2)_q\text{-CH}[(\text{CH}_2)_w\text{-NH}_2]\text{-CO}^*$, en donde q es un número entero en el intervalo de 0-5 y w es un número entero en el intervalo de 0-5; o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster de este.

25 Análogos de GLP-1

El término "análogo de GLP-1" o "análogo de GLP-1" como se usa en la presente descripción se refiere a un péptido, o a un compuesto, que es una variante del Péptido tipo Glucagón-1 humano (GLP-1(7-37)), la secuencia del cual se incluye en el listado de secuencias como la sec. con núm. de ident.: 1. El péptido que tiene la secuencia de sec. con núm. de ident.: 1 también puede designarse como GLP-1 nativo.

35 En el listado de secuencias, el primer residuo aminoácido de la sec. con núm. de ident.: 1 (histidina) se asigna como núm. 1. Sin embargo, en lo que sigue - de acuerdo con la práctica establecida en la técnica - este residuo de histidina se denomina como núm. 7 y los residuos aminoácidos posteriores se enumeran en consecuencia, terminando con glicina núm. 37. Por lo tanto, generalmente, cualquier referencia en la presente descripción al número del residuo aminoácido o un número de posición de la secuencia de GLP-1(7-37) es a la secuencia que comienza con His en la posición 7 y termina con Gly en la posición 37.

40 Los análogos de GLP-1 de los derivados de la invención pueden describirse como referencia i) al número del residuo aminoácido en el GLP-1(7-37) nativo correspondiente al residuo aminoácido que se cambia (es decir, la posición correspondiente en el GLP-1 nativo) y ii) al cambio real.

45 El análogo de GLP-1 del derivado de la invención comprende un primer residuo de lisina en una posición correspondiente a la posición 18 de GLP-1(7-37). Si la secuencia aminoácida de este análogo es de cualquier otra manera idéntica a la de GLP-1 nativo, tal análogo puede designarse como $\text{K}^{18}\text{-GLP-1(7-37)}$. Esta designación en consecuencia representa la secuencia aminoácida de GLP-1 nativo donde la serina en la posición 18 se ha sustituido con lisina. Como una observación adicional, este análogo comprende un segundo residuo de Lys en la posición 26 y un tercer residuo de Lys en la posición 34 (a saber, las lisinas nativas de GLP-1 (7-37)).

50 El análogo de GLP-1 del derivado de la invención comprende además un segundo residuo de lisina en otra posición, cuya posición puede designarse como "T". T en consecuencia representa cualquier otra posición diferente a la posición 18.

55 Por ejemplo, T puede representar 26, en cuyo caso el análogo, además de la lisina en la posición 18, comprende una lisina en una posición correspondiente a una posición 26 en el GLP-1 nativo. Tal análogo aún podría designarse como $\text{K}^{18}\text{-GLP-1(7-37)}$, siempre que, excepto para la sustitución de K^{18} , su secuencia aminoácida sea idéntica a la del GLP-1 nativo.

60 Como otro ejemplo, T puede representar 34, en cuyo caso el análogo, además de la lisina en la posición 18, comprende una lisina en una posición correspondiente a la posición 34 en el GLP-1 nativo. Tal análogo aún podría designarse también como $\text{K}^{18}\text{-GLP-1(7-37)}$, siempre que, excepto para la sustitución de K^{18} , su secuencia aminoácida sea idéntica a la del GLP-1 nativo.

Pero T también puede representar un número en el intervalo de 7-37 diferente de 18, 26, o 34. Tal análogo podría designarse como K¹⁸,K^T-GLP-1(7-37), siempre que, excepto para las sustituciones de K¹⁸ y de K^T, su secuencia aminoacídica sea idéntica a la del GLP-1 nativo.

5 El análogo de GLP-1 que forma parte del derivado de la invención comprende, preferentemente, un máximo de doce cambios de aminoácidos cuando se compara con GLP-1 nativo (sec. con núm. de ident.: 1) - en otras palabras, este es un péptido GLP-1 en el que un número de residuos aminoacídicos se han cambiado cuando se compara con GLP-1 nativo (7-37) (sec. con núm. de ident.: 1). Estos cambios pueden representar, independientemente, una o más sustituciones, adiciones y/o deleciones de aminoácidos.

10 Los siguientes son ejemplos no limitantes de la nomenclatura apropiada de los análogos.

15 Por ejemplo, el análogo [Aib8,Lys18,Glu22,Val25,Arg26,Lys31,Arg34]-GLP-1-(7-37) designa un péptido GLP-1(7-37) que, cuando se compara con GLP-1 nativo, se cambia mediante las siguientes sustituciones: La sustitución de alanina en la posición 8 con Aib (ácido α aminoisobutírico), de serina en la posición 18 con lisina, de glicina en la posición 22 con ácido glutámico, de alanina en la posición 25 con valina, de lisina en la posición 26 con arginina, de triptófano en la posición 31 con lisina y de lisina en la posición 34 con arginina. Este análogo también puede designarse brevemente como (8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34R).

20 Como otro ejemplo, el análogo [Lys18,Glu22,Arg26,Lys27,His31,Gly34]-GLP-1-(7-34) designa un péptido GLP-1(7-37), que, cuando se compara con GLP-1 nativo, se cambia mediante la sustitución de serina en la posición 18 con lisina, sustitución de glicina en la posición 22 con ácido glutámico, sustitución de lisina en la posición 26 con arginina, sustitución de ácido glutámico en la posición 27 con lisina, sustitución de triptófano en la posición 31 con histidina, sustitución de lisina en la posición 34 con glicina y mediante la deleción del C-terminal de glicina-arginina-glicina en la posición 35-36-37. Este análogo también puede designarse brevemente como (18K, 22E, 26R, 27K, 31H, 34G,

25 Como un ejemplo aún adicional, un análogo que comprende Imp⁷ y/o (Aib⁸ o S⁸) se refiere a un péptido GLP-1(7-37), que cuando se compara con GLP-1 nativo, comprende una sustitución de histidina en la posición 7 con ácido imidazopropiónico (Imp); y/o una sustitución de alanina en la posición 8 con ácido α aminoisobutírico (Aib), o con serina. Este análogo puede comprender cambios adicionales en comparación con la sec. con núm. de ident.: 1.

30 Como es evidente a partir de los ejemplos anteriores, los residuos de aminoácidos pueden identificarse mediante su nombre completo, su código de una letra, y/o su código de tres letras. Estas tres maneras son totalmente equivalentes.

35 Las expresiones "una posición equivalente a" o "posición correspondiente" puede usarse para caracterizar el sitio de cambio en una secuencia de GLP-1 como referencia a GLP-1(7-37) nativo (sec. con núm. de ident.: 1). Las posiciones equivalentes o correspondientes se deducen fácilmente, por ejemplo por simple escritura e inspección visual; y/o puede usarse un programa estándar de alineamiento de proteínas o péptidos, tal como "align" que se basa en un algoritmo de Needleman-Wunsch. El algoritmo se describe en Needleman, S.B. y Wunsch, C.D., (1970), Journal of Molecular Biology, 48: 443-453 y el programa de alineaciones descrito por Myers y W. Miller en "Optimal Alignments in Linear Space" CABIOS (aplicaciones informáticas en las biociencias) (1988) 4:11-17. Para el alineamiento, puede usarse la matriz de puntuación predeterminada BLOSUM62 y la matriz de identidad predeterminada y la penalización para el primer residuo en una interrupción puede fijarse en -10 (menos 10) y las penalizaciones para residuos adicionales en una interrupción en -0,5 (menos 0,5).

40 Un ejemplo de tal alineamiento se inserta a continuación, en cuya secuencia núm. 1 es la sec. con núm. de ident.: 1 y la secuencia núm. 2 es el análogo (18K, 22E, 26R, 27K, 31H, 34G, des35-37) del mismo:

50 # 1: GLP-1(7-37)
 # 2: GLP-1(7-37)_ANÁLOGO
 # Matriz: EBLOSUM62
 # Penalización_interrupción: 10,0
 # Penalización_extendida: 0,5
 55 # Longitud: 31
 # Identidad: 22/31 (71,0 %)
 # Similitud: 24/31 (77,4 %)
 # Interrupciones: 3/31 (9,7 %)
 # Puntuación: 105,0

60

```

1      1 HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG 31
      | | | | | | | | | | . | | | . | | | : | | | . | | .
2      1 HAEGTFTSDVSKYLEEQARKFIAHLVG--- 28
    
```

5 En el caso de los aminoácidos no naturales tales como Imp y/o Aib que se incluyen en la secuencia, pueden reemplazarse, para propósitos de alineamiento, con X. Si es conveniente, X puede corregirse después manualmente.

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

15 Los péptidos de la invención comprenden al menos cinco aminoácidos constituyentes conectados mediante enlaces peptídicos. En modalidades particulares el péptido comprende al menos 10, preferentemente al menos 15, con mayor preferencia al menos 20, incluso con mayor preferencia al menos 25, o con la máxima preferencia al menos 27 aminoácidos.

20 En modalidades particulares, el péptido está compuesto de al menos cinco aminoácidos constituyentes, preferentemente compuesto por al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, o con la máxima preferencia compuesto de al menos 27 aminoácidos. Aún en modalidades particulares adicionales el péptido está compuesto por al menos 28, al menos 29, al menos 30, al menos 31, o al menos 32 aminoácidos.

En aún una modalidad particular, el péptido consiste en aminoácidos interconectados mediante enlaces peptídicos.

25 Los aminoácidos son moléculas que contienen un grupo amino y un grupo ácido carboxílico y, opcionalmente, uno o más grupos adicionales, frecuentemente referidos como una cadena lateral de aminoácidos.

30 El término "aminoácido" incluye aminoácidos proteogénicos (codificado por el código genético, que incluye aminoácidos naturales y aminoácidos estándar), así como también aminoácidos no proteogénicos (no encontrado en proteínas, y/o no codificado por el código genético estándar) y sintéticos. Por lo tanto, los aminoácidos pueden seleccionarse del grupo de aminoácidos proteogénicos, aminoácidos no proteogénicos, y/o aminoácidos sintéticos.

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

40 En la presente, todos los aminoácidos para los cuales no se indica el isómero óptico debe entenderse que significa el isómero L (a menos que se especifique de cualquier otra manera).

45 Los derivados de GLP-1 y los análogos de la invención tienen actividad de GLP-1. Este término se refiere a la capacidad de unirse al receptor de GLP-1 e iniciar una vía de transducción de señales que da como resultado la acción insulínica u otros efectos fisiológicos como se conoce en la técnica. Por ejemplo, los análogos y derivados de la invención pueden analizarse adecuadamente para la actividad de GLP-1 mediante el uso del ensayo de potencia in vitro descrito en el Ejemplo 59 en la presente descripción.

Derivados de GLP-1

50 El término "derivado" como se usa en la presente descripción en el contexto de un péptido GLP-1 o análogo significa un péptido GLP-1 o análogo modificado químicamente, en el que uno o más sustituyentes se han unido covalentemente al péptido. El sustituyente puede referirse, además, a una cadena lateral.

55 En una modalidad particular, la cadena lateral es capaz de formar agregados no covalentes con albúmina, lo que promueve de esta manera la circulación del derivado con la corriente sanguínea y tienen además el efecto de proteger el tiempo de acción del derivado, debido al hecho de que el agregado del derivado de GLP-1 y la albúmina se desintegra sólo lentamente para liberar el ingrediente farmacéutico activo. Por lo tanto, el sustituyente, o cadena lateral, como un todo puede referirse a una porción de unión a albúmina.

60 En otra modalidad particular la porción de unión a albúmina comprende una porción que es particularmente relevante para la unión a albúmina y de esta manera la protección, cuya porción en consecuencia puede referirse a una porción de prolongación. La porción de prolongación puede estar en, o cerca, del extremo opuesto de la porción de unión a albúmina, en relación con su punto de unión al péptido.

Aún en una modalidad particular adicional la porción de unión a albúmina comprende una porción entre la porción de prolongación y el punto de unión al péptido, cuya porción puede referirse a un conector, una porción de conector, un espaciador o similares.

5 En modalidades particulares, la porción de prolongación es lipófila y/o se carga negativamente a pH fisiológico (7,4). La porción de unión a albúmina, la porción de prolongación, o el conector puede unirse covalentemente a un residuo de lisina del péptido GLP-1 mediante acilación.

10 En una modalidad preferida, un éster activo de la porción de unión a albúmina, preferentemente que comprende una porción de prolongación y un conector, se une covalentemente a un grupo amino de un residuo de lisina, preferentemente el grupo épsilon amino de este, bajo la formación de un enlace amida (este proceso que se refiere como acilación).

15 A menos que se establezca de cualquier otra manera, cuando se hace referencia a una acilación de un residuo de lisina, se entiende que se trata del grupo épsilon amino del mismo.

20 Un derivado que comprende dos porciones de prolongación unidas a un residuo K primero y segundo (por ejemplo, a K¹⁸ y K^T) mediante un conector puede referirse a un derivado que se ha acilado dos veces, acilado doble, o doble acilado a los grupos épsilon amino de los residuos de lisina primero y segundo, por ejemplo en la posición 18 y T, respectivamente, del péptido GLP-1.

25 Para los propósitos de la presente, los términos "porción de unión a albúmina", "porción de prolongación" y "conector" incluyen la molécula en sí así como también los radicales de estas. Si se quiere decir o no una forma u otra es claro a partir del contexto en el que se usa el término. En una modalidad preferida, estos términos se refieren a radicales. Los radicales son preferentemente adecuados para formar uno o más enlaces amida, es decir con uno o dos electrones no compartidos (*) en conexión con un grupo carbonilo y/o un grupo amino. Los ejemplos de tales radicales son Quím. 1, Quím. 2 y Quím. 3, las estructuras de los cuales se muestran a continuación.

30 En un aspecto, cada porción de prolongación comprende, o consiste en, una porción de prolongación, seleccionada independientemente de Quím. 1: HOOC-(CH₂)_x-CO-* y Quím. 2: HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-*, en el que x es un número entero en el intervalo de 6-18 y y es un número entero en el intervalo de 3-17.

35 En una modalidad, *(CH₂)_x* se refiere a alquileo lineal o ramificado, preferentemente lineal, en el cual x es un número entero en el intervalo de 6-18.

En otra modalidad, *(CH₂)_y* se refiere a alquileo lineal o ramificado, preferentemente lineal, en el cual y es un número entero en el intervalo de 3-17.

40 La nomenclatura es como es común en la técnica, por ejemplo en las fórmulas anteriores *-COOH se refiere a carboxi, *-C₆H₄-* a fenileno y *-CO-* a carbonilo (O=C<*). En modalidades particulares, el radical fenilo es orto, meta, o para, respectivamente.

45 En una modalidad particular, el derivado de la invención tiene una primera porción de prolongación unida a un primer residuo K en una posición correspondiente a una posición 18 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) y una segunda porción de prolongación unida a un segundo residuo K en otra posición.

En otras modalidades particulares, las dos porciones de unión a albúmina (es decir las cadenas laterales completas) son similares, preferentemente sustancialmente idénticas, o, con la máxima preferencia, idénticas.

50 Aún en modalidades particulares adicionales, las dos porciones de prolongación (o la primera y la segunda porción de prolongación), son similares, preferentemente sustancialmente idénticas, o, con la máxima preferencia, idénticas.

Aún en modalidades particulares adicionales, los dos conectores son similares, preferentemente sustancialmente idénticos o con la máxima preferencia idénticos.

55 El término "sustancialmente idénticos" incluye diferencias de identidad que son debidas a la formación de una o más sales, ésteres, y/o amidas; preferentemente la formación de una o más sales, ésteres de metilo y amidas simples; con mayor preferencia la formación de no más de dos sales, ésteres de metilo, y/o amidas simples; incluso con mayor preferencia la formación de no más de una sal, éster de metilo, y/o amida simple; o con la máxima preferencia la formación de no más de una sal.

60 En el contexto de los compuestos químicos tales como porciones de unión a albúmina, porciones de prolongación y conectores, la similitud y/o identidad pueden determinarse mediante el uso de cualquier programa informático adecuado y/o algoritmo conocido en la técnica.

65 Por ejemplo, la similitud de dos porciones de prolongación, dos conectores, y/o dos cadenas laterales completas puede determinarse adecuadamente mediante el uso de huellas moleculares. Las huellas es un método matemático

para representar una estructura química (ver por ejemplo Chemoinformatics: A textbook, Johann Gasteiger y Thomas Engel (Eds), Wiley-VCH Verlag, 2003).

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

En modalidades particulares, las dos porciones de prolongación, los dos conectores, y/o las dos cadenas laterales completas se representan como a) huellas ECFP_6; b) huellas UNITY; y/o c) huellas MDL.

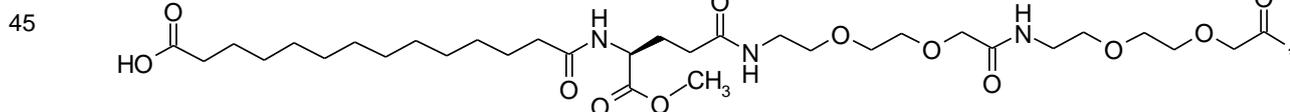
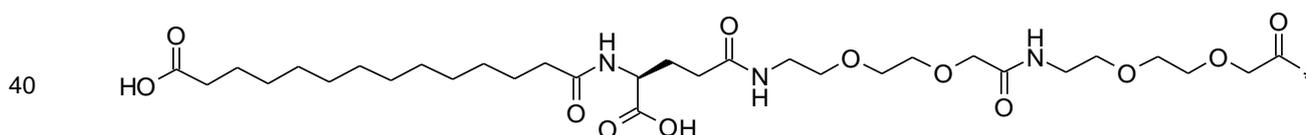
10 El coeficiente de Tanimoto se usa preferentemente para calcular la similitud de las dos huellas, se usa ya sea a), b), o c).

15 En modalidades particulares, se usa ya sea a), b) o c), las dos porciones de prolongación, los dos conectores, y/o las dos cadenas laterales completas, respectivamente, tienen una similitud de al menos 0,5 (50 %); preferentemente al menos 0,6 (60 %); con mayor preferencia al menos 0,7 (70 %), o al menos 0,8 (80 %); incluso con mayor preferencia al menos 0,9 (90 %); o con la máxima preferencia al menos 0,99 (99 %), tal como una similitud de 1,0 (100 %).

20 Las huellas UNITY pueden calcularse mediante el uso del programa SYBYL (disponible de Tripos, 1699 South Hanley Road, St. Louis, MO 63144-2319 Estados Unidos). Las huellas ECFP_6 y MDL pueden calcularse mediante el uso del programa Pipeline Pilot (disponible de Accelrys Inc., 10188 Telesis Court, Suite 100, San Diego, CA 92121, Estados Unidos). Para más detalles, ver por ejemplo J. Chem. Inf. Model. 2008, 48, 542-549; J. Chem. Inf. Comput. Sci. 2004, 44, 170-178; J. Med. Quím. 2004, 47, 2743-2749; J. Chem. Inf. Model. 2010, 50, 742-754; así como también SciTegic Pipeline Pilot Chemistry Collection: Basic Chemistry User Guide, marzo de 2008, SciTegic Pipeline Pilot Data Modeling Collection, 2008 - ambos de Accelrys Software Inc., San Diego, Estados Unidos y las guías http://www.tripos.com/tripos_resources/fileroot/pdfs/Unity_111408.pdf y http://www.tripos.com/data/SYBYL/SYBYL_072505.pdf.

30 Un ejemplo de un cálculo de similitud se inserta a continuación, en el cual una cadena lateral completa conocida de un derivado de GLP-1 conocido se comparó con un éster de metilo de este, las dos cadenas laterales se muestran a continuación:

35



50 Mediante el uso de a) las huellas ECFP_6 la similitud es 0,798, mediante el uso de b) las huellas UNITY la similitud es 0,957; y mediante el uso de las huellas MDL la similitud es 0,905.

55 En el caso de dos cadenas laterales idénticas (porciones de unión a albúmina) el derivado puede designarse como simétrico.

Cada uno de los dos conectores del derivado de la invención comprende el siguiente primer elemento conector (A): Quím. 3: $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_q-\text{CH}[(\text{CH}_2)_w-\text{NH}_2]-\text{CO}-^*$, en donde q es un número entero en el intervalo de 0-5 y w es un número entero en el intervalo de 0-5.

60 En una modalidad particular, la primera porción de prolongación se une al primer residuo K en una posición correspondiente a una posición 18 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) a través de un primer conector que comprende el primer elemento conector anterior y la segunda porción de prolongación se une al segundo residuo K en otra posición, a través de un segundo conector que comprende el primer elemento conector anterior.

65

Los ejemplos no limitantes de conectores que comprende este primer elemento conector de Quím. 3 incluyen radicales dobles de ornitina, lisina y homolisina; cada uno en una versión alfa o en una versión omega. Ornitina se refiere a ácido 2,5-diaminopentanoico, lisina se refiere a ácido 2,6-diaminohexanoico y homolisina se refiere a ácido 2,7-diaminoheptanoico.

Para las versiones alfa, $q = 0$. En otras palabras, el alfa se refiere al hecho de que este es el grupo amino en la posición alfa (al radical $-\text{CO}^*$) que se convierte en radical ($\alpha^*-\text{NH}$). Cuando $w = 3, 4$ y 5 , la fórmula Quím. 3 se refiere a alfa-ornitina (alfa-Orn; Quím. 9), alfa-lisina (alfa-Lys; Quím. 7) y alfa-homolisina (alfa-Homolys; Quím. 11), respectivamente.

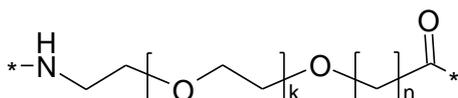
Para las versiones omega, $w = 0$. En otras palabras, el omega se refiere al hecho de que este es el grupo amino en el átomo-C distal de cadena sustituyente alquilo que se convierte en radical ($\omega^*-\text{NH}$). Cuando $q = 3, 4$ y 5 , la fórmula Quím. 3 se refiere a delta-ornitina (delta-Orn; Quím. 8), épsilon-lisina (eps-Lys; Quím. 6) y zeta-homolisina (zeta-Homolys; Quím. 10), respectivamente.

En una modalidad preferida, estos conectores están en su forma L. El conector puede comprender 1 o 2 veces Quím. 3. Cuando z es 2 los elementos de la Quím. 3 se interconectan a través de un enlace amida. Por ejemplo, el conector puede comprender dos veces épsilon-Lys (2xeps-Lys; 2xQuím. 6).

El conector (cada uno del conector primero y segundo) puede comprender además (es decir, además de uno o dos veces el primer elemento conector (A)) uno o más elementos conectores adicionales, selecciona independientemente de los elementos conectores segundo (B), tercero (C), y/o cuarto (D), como se define a continuación:

Un segundo elemento conector (B):

Quím. 12:



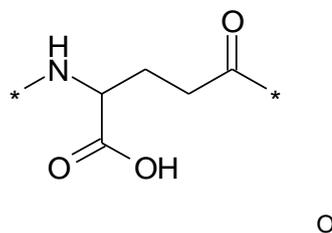
en donde k es un número entero en el intervalo de 1-5 y n es un número entero en el intervalo de 1-5.

En una modalidad particular, cuando $k = 1$ y $n = 1$, este elemento conector puede designarse como OEG, o ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico, y/o puede representarse por la siguiente fórmula:

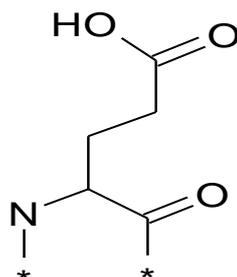
Quím. 12a: $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-CH}_2\text{-CO}^*$.

Un tercer elemento conector (C), ácido glutámico (Glu), en cualquiera de las siguientes dos versiones:

Quím. 14:



Quím. 15:



En la versión de Quím. 14, el tercer elemento conector puede referirse, además, a gamma-Glu, o brevemente gGlu, debido al hecho de que este es el grupo carboxi gamma del aminoácido ácido glutámico que se usa aquí para la conexión a otro elemento conector, o al grupo épsilon-amino de lisina. En la versión de Quím. 15, puede referirse, además, como alfa-Glu, o brevemente aGlu, debido al hecho de que este es el alfa grupo carboxi que se usa para la conexión.

En modalidades particulares, Quím. 14 está a) en la forma L, o b) en la forma D.

Un cuarto elemento conector (D):



en el que s es un número entero en el intervalo de 3-13.

En Quím. 16, el grupo $*(\text{CH}_2)_s*$ puede representar un alqueno lineal o ramificado, preferentemente lineal.

Aún en modalidades particulares adicionales el conector tiene a) de 6 a 41 átomos de C; y/o b) de 4 a 28 hetero átomos. Los ejemplos particulares y no limitantes de hetero átomos son átomos de N y de O. Los átomos de H no son hetero átomos.

En una modalidad particular, cada conector consiste en Quím. 14 y dos veces Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo *-NH al extremo *-CO de la porción de prolongación y en su extremo *-CO al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.

Por ejemplo, el primer conector consiste en Quím. 14 y dos veces Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo *-NH al extremo *-CO de la primera porción de prolongación y en su extremo *-CO al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1; y el segundo conector consiste en Quím. 14 y dos veces Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo *-NH al extremo *-CO de la segunda porción de prolongación y en su extremo *-CO al grupo épsilon amino del segundo residuo K del análogo de GLP-1.

De más está decir, solo para el buen orden: Aquí y en lo que sigue la frase "en la secuencia indicada" significa que el extremo *-NH del primer elemento conector mencionado (aquí Chem. 14) está conectado al extremo *-CO del transportador y el extremo *-CO del último elemento conector mencionado (aquí el último de las dos veces Chem. 6) está conectado al grupo épsilon amino del residuo K en cuestión del análogo GLP-1.

En otra modalidad particular, cada conector (el conector primero y segundo) consiste en Quím. 14, dos veces Quím. 13 y Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo *-NH al extremo *-CO de la porción de prolongación y en su extremo *-CO al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.

Por ejemplo, el primer conector consiste en Quím. 14, dos veces Quím. 13 y Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo *-NH al extremo *-CO de la primera porción de prolongación y en su extremo *-CO al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1; y el segundo conector consiste en Quím. 14, dos veces Quím. 13 y Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo *-NH al extremo *-CO de la segunda porción de prolongación y en su extremo *-CO al grupo épsilon amino del segundo residuo K del análogo de GLP-1.

MODALIDADES PARTICULARES adicionales (enumeradas 58-66) se enumeran más aún a continuación y las modalidades adicionales en las que estas MODALIDADES PARTICULARES se han reformulado de una manera correspondiente como se explicó anteriormente para los conectores (Quím. 14, 2xQuím. 6) y (Quím. 14, 2xQuím. 13 y Quím.6), en las oraciones que comienzan con "Por ejemplo,--", se incorporan específicamente en la presente descripción.

Aún en modalidades particulares adicionales, la invención se refiere a:

- (a) Un derivado de un análogo de GLP-1, cuyo análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a una posición 18 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1), un segundo residuo K en la posición 26 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) y un máximo de cuatro cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37), cuyo derivado comprende dos porciones de prolongación unidas a dicho residuo K primero y segundo, respectivamente, mediante un conector, en donde la porción de prolongación es Quím. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_x-\text{CO}-*$, o Quím. 2: $\text{HOOC}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-(\text{CH}_2)_y-\text{CO}-*$, en el que x es 12 y y es 9 u 11; y el conector comprende Quím. 3: $*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_q-\text{CH}[(\text{CH}_2)_w-\text{NH}_2]-\text{CO}-*$, en donde q es 4 y w es 0; o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster del mismo.

- (b) El derivado de (a), en donde el conector consiste en Quím. 14 y dos veces Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo *-NH al extremo *-CO de la porción de prolongación y en su extremo *-CO al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.
- 5 (c) El derivado de (a), en donde el conector consiste en Quím. 14, dos veces Quím. 13 y Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo *-NH al extremo *-CO de la porción de prolongación y en su extremo *-CO al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.
- 10 (d) El derivado de cualquiera de (a), (b), o (c), en donde el análogo, además del cambio K¹⁸, comprende además Q³⁴.
- (e) El derivado de cualquiera de (a), (b), (c), o (d), en donde el análogo comprende Aib⁸.
- (f) El derivado de cualquiera de (a), (b), (c), (d), o (e), en donde el análogo comprende E²².
- (g) El derivado de cualquiera de (a), (b), (c), (d), (e), o (f), en donde el análogo comprende, preferentemente tiene, la Fórmula I:
- 15
- Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Lys-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈, en donde Xaa₇ es His o desamino-histidina (imidazopropionilo); Xaa₈ es Aib; Xaa₁₂ es Phe; Xaa₁₆ es Val; Xaa₁₉ es Tyr; Xaa₂₀ es Leu; Xaa₂₂ es Gly o Glu; Xaa₂₃ es Gln; Xaa₂₅ es Ala o Val; Xaa₂₆ es Lys; Xaa₂₇ es Glu; Xaa₃₀ es Ala; Xaa₃₁ es Trp; Xaa₃₃ es Val; Xaa₃₄ es Gln; Xaa₃₅ es Gly; Xaa₃₆ es Arg; Xaa₃₇ es Gly; y Xaa₃₈ está ausente.
- 20
- (h) Un compuesto seleccionado de Quím. 24, Quím. 25, Quím. 30, Quím. 38, Quím. 37 y Quím. 39; o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster del mismo.
- 25 (i) El derivado de cualquiera de las modalidades (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), o (h), que tiene una potencia correspondiente a un EC₅₀ por debajo de 500 pM, preferentemente por debajo de 400 pM, con mayor preferencia por debajo de 300 pM, incluso con mayor preferencia por debajo de 200 pM, o con la máxima preferencia por debajo de 100 pM; en donde la potencia se determina como EC₅₀ para la estimulación de la formación de cAMP en un medio que contiene el receptor de GLP-1 humano, mediante el uso de una línea celular transfectada estable tal como BHK467-12A (tk-ts13); y en donde el cAMP se determina mediante el uso de un ensayo de receptor funcional, por ejemplo basado en la competencia entre cAMP formado endógenamente y el cAMP marcado con biotina añadido exógenamente y por ejemplo la captura del cAMP mediante el uso de un anticuerpo específico, tal como el Ensayo de cAMP AlphaScreen, por ejemplo como se describe en el Ejemplo 59.
- 30 (j) El derivado de cualquiera de las modalidades (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), o (i), para el que la afinidad de unión de receptor de GLP-1 (IC₅₀) en presencia de HSA al 0,005 % (albúmina baja) está por debajo de 10 nM, preferentemente por debajo de 8,0 nM, aún con mayor preferencia por debajo de 6,0 nM, incluso con mayor preferencia por debajo de 4,0 nM, o con la máxima preferencia por debajo de 2,00 nM; en donde la afinidad de unión al receptor de GLP-1 se mide mediante el desplazamiento de ¹²⁵I-GLP-1 del receptor, por ejemplo mediante el uso de un ensayo de unión a SPA; y en donde el receptor de GLP-1 se prepara mediante el uso de una línea célula de riñón de hámster bebé transfectado, estable, tal como BHK tk-ts13; y en donde el valor de IC₅₀ se determina como la concentración que desplaza el 50 % de ¹²⁵I-GLP-1 del receptor.
- 40 (k) El derivado de cualquiera de las modalidades (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), (i), o (j), en donde la vida media terminal (T_{1/2}) después de la administración i.v. en rata es al menos tres veces la vida media terminal de semaglutida; en donde la vida media se determina en estudios farmacocinéticos in vivo en rata, por ejemplo como se describe en el Ejemplo 65.
- 45 (l) El derivado de cualquiera de las modalidades (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), (i), (j), o (k), en donde en un experimento de alimentación por sonda gástrica en ratas in vivo el AUC de la exposición a plasma corregida en dosis de tiempo de 30 a 180 min (en la unidad de (min x pM / pmol), es al menos 20, preferentemente al menos 40, con mayor preferencia al menos 60, o con la máxima preferencia al menos 75; en donde el AUC puede determinarse como se describe en el Ejemplo 62.
- 50

Los derivados de la invención pueden existir en diferentes formas estereoisoméricas que tienen la misma fórmula molecular y la secuencia de átomos unidos, pero que difieren solo en la orientación tridimensional de sus átomos en el espacio. El estereoisomerismo de los derivados ejemplificados de la invención se indica en la sección experimental, en los nombres así como también las estructuras, mediante el uso de la nomenclatura estándar. A menos que se establezca de cualquier otra manera la invención se refiere a todas las formas estereoisoméricas del derivado reivindicado.

55

La concentración plasmática de los derivados de GLP-1 de la invención puede determinarse mediante el uso de cualquier método adecuado. Por ejemplo, puede usarse LC-MS (Espectroscopía de Masas acoplada a Cromatografía Líquida), o inmunoensayos tales como RIA (Radio Inmuno Ensayo), ELISA (Ensayo Inmunoabsorbente ligado a Enzimas) y LOCI (Inmunoensayo de Canalización de Oxígeno de Luminiscencia). Los protocolos generales para ensayos RIA y ELISA adecuados se encuentran en, por ejemplo, el documento WO09/030738 en las páginas 116-118. Un ensayo preferido es el ensayo LOCI descrito en 150 en la presente descripción.

60

65

Productos Intermedios

5 La invención describe, además, un producto intermedio en la forma de un análogo de GLP-1 que comprende los siguientes cambios en comparación con GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1): (a) 7Imp, 8Aib, 18K, 22E, 34Q; (b) 7Imp, 18K, 22E 25V, 26R, 31K, 34R; o (c) 8Aib, 18K, 19Q, 22E, 34Q; o una sal, amida o éster farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Sal, amida o éster farmacéuticamente aceptable

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

Las sales se forman, por ejemplo, mediante una reacción química entre una base y un ácido, por ejemplo: $2 \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

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

Las sales de los derivados de la invención pueden formarse con cationes o aniones añadidos que reaccionan con grupos aniónicos o catiónicos, respectivamente. Estos grupos pueden ubicarse en la porción peptídica, y/o en la cadena lateral de los derivados de la invención.

20 Los ejemplos no limitantes de los grupos aniónicos de los derivados de la invención incluyen grupos carboxílicos libres en la cadena lateral, si los hay, así como también en la porción peptídica. La porción peptídica frecuentemente incluye un grupo de ácido carboxílico libre en el C-terminal y puede incluir, además, grupos carboxílicos libres en los residuos aminoácidos ácidos internos tales como Asp y Glu.

25 Los ejemplos no limitantes de grupos catiónicos en la porción peptídica incluyen el grupo amino libre en el N-terminal, si está presente, así como también cualquier grupo amino libre de residuos aminoácidos básicos internos tales como His, Arg y Lys.

30 El éster de los derivados de la invención pueden formarse, por ejemplo, mediante la reacción de un grupo de ácido carboxílico libre con un alcohol o un fenol, que conduce reemplazo de al menos un grupo hiroxilo por un grupo alcoxi o ariloxi.

35 La formación de ésteres puede implicar el grupo carboxílico libre en el C-terminal del péptido, y/o cualquier grupo carboxílico libre en la cadena lateral.

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

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

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

50 Propiedades funcionales

55 En un primer aspecto, los derivados de la invención tienen una buena potencia. Además, o alternativamente, en un segundo aspecto, tienen un perfil farmacocinético prolongado. Además, o alternativamente, en un tercer aspecto, tienen una alta biodisponibilidad oral. Además, o alternativamente, en un cuarto aspecto, tienen buenas propiedades biofísicas.

Actividad biológica (potencia)

60 De acuerdo con el primer aspecto, los derivados de la invención, así como también los péptidos GLP-1 constituyentes como tal (tales como K^{18} -GLP-1(7-37) o análogos de estos), son biológicamente activos o potentes. De hecho, los derivados de la invención tienen una sorprendentemente buena potencia. Esto puede parecer así en particular cuando la segunda posición de acilación está en una posición correspondiente a la posición 26 alrededor de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1). Sin desear unirse a esta teoría se contempla que esto puede tener que ver con el grupo amino libre del conector específico.

65

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

5 La estimulación de la formación de cAMP en un medio que contiene el receptor de GLP-1 humano puede determinarse preferentemente mediante el uso de una línea celular transfectada estable tal como BHK467-12A (tk-ts13) y/o mediante el uso de para la determinación de cAMP de un ensayo de receptor funcional, por ejemplo, basado en la competencia entre cAMP formado endógenamente y cAMP marcado con biotina añadido exógenamente, en el que el cAMP del ensayo se captura con mayor preferencia mediante el uso de un anticuerpo específico y/o en donde un ensayo incluso más preferido es el Ensayo de cAMP AlphaScreen, con la máxima preferencia el descrito en el Ejemplo 59.

10 El término concentración media eficaz máxima (EC₅₀) generalmente se refiere a la concentración que induce una respuesta media entre la línea de base y el máximo, como referencia a la curva de respuesta a dosis. EC₅₀ se usa como una medida de la potencia de un compuesto y representa la concentración donde se observa el 50 % de su efecto máximo.

La potencia in vitro de los derivados de la invención puede determinarse como se describió anteriormente y determinarse la EC₅₀ del derivado en cuestión. A menor EC₅₀, mejor la potencia.

20 En una modalidad particular, el medio tiene la siguiente composición (concentraciones finales en ensayo): TRIS-HCl 50 mM; HEPES 5 mM; MgCl₂, 6H₂O 10 mM; NaCl 150 mM; Tween al 0,01 %; BSA al 0,1 %; IBMX 0,5 mM; ATP 1 mM; GTP 1 uM. Un primer medio alternativo es: TRIS-HCl 50 mM; HEPES 5 mM; MgCl₂ 10 mM, 6H₂O; NaCl 150 mM; Tween al 0,01 %. Un segundo medio alternativo es: Tris-HCl 50 mM, EGTA 1 mM, MgSO₄ 1,5 mM, ATP 1,7 mM, GTP 20 mM, 3-isobutil-1-metiloxantina (IBMX) 2 mM, Tween-20 al 0,01 %, pH 7.4.

25 En una modalidad particular, el derivado de la invención tiene una potencia in vitro correspondiente a una EC₅₀ de o por debajo de 10 000 pM, con mayor preferencia por debajo de 5000 pM, incluso con mayor preferencia por debajo de 1000 pM, o con la máxima preferencia por debajo de 500 pM.

30 La capacidad de los derivados de la invención de unirse al receptor de GLP-1 también puede usarse como una medida de la actividad de GLP-1 (afinidad del receptor). Esta capacidad puede determinarse como se describe en el Ejemplo 60. Generalmente, la unión al receptor de GLP-1 a baja concentración de albúmina debería ser tan buena como sea posible, correspondiente a un bajo valor de IC₅₀. En modalidades particulares, el valor de IC₅₀ de un derivado de la invención, en presencia de HSA al 0,005 % (albúmina baja), está por debajo del valor de IC₅₀ correspondiente a semaglutida, preferentemente por debajo de 90 % de esta, con mayor preferencia por debajo de 80 % de esta, incluso con mayor preferencia por debajo de 70 % de esta, o con la máxima preferencia por debajo de 50 % de esta.

40 En otra modalidad particular los derivados de la invención son potentes in vivo, los que pueden determinarse como se conoce en la técnica en cualquier modelo animal adecuado, así como también en ensayos clínicos.

45 El ratón db/db diabético es un ejemplo de un modelo animal adecuado y el efecto de disminución de glucosa en sangre y/o el efecto de disminución del peso corporal pueden determinarse en tales ratones in vivo, por ejemplo como se describe en el Ejemplo 63.

El cerdo LYD es otro ejemplo de un modelo animal adecuado y la reducción de la ingesta de alimentos puede determinarse en tales cerdos in vivo, por ejemplo como se describe en el Ejemplo 64.

50 Prolongación - unión al receptor / albúmina baja y alta

De acuerdo con el segundo aspecto, los derivados de la invención se prolongan.

55 La capacidad de los derivados de la invención de unirse al receptor de GLP-1 en presencia de una baja y una alta concentración de albúmina, respectivamente, puede determinarse como se describe en el Ejemplo 60.

Generalmente, la unión al receptor de GLP-1 a baja concentración de albúmina debería ser tan buena como sea posible, correspondiente a un bajo valor de IC₅₀.

60 El valor de IC₅₀ a alta concentración de albúmina es una medida de la influencia de la albúmina en la unión del derivado al receptor de GLP-1. Como se conoce, los derivados de GLP-1 también se unen a albúmina. Este es un efecto generalmente deseable, el que extiende su tiempo de vida media en plasma. Por lo tanto, el valor de IC₅₀ a albúmina alta generalmente será mayor que el valor de IC₅₀ a albúmina baja, correspondiente a una unión reducida al receptor de GLP-1, provocada por la unión a albúmina que compite con la unión al receptor de GLP-1.

65 Una relación alta (valor de IC₅₀ (albúmina alta) / valor de IC₅₀ (albúmina baja)) puede tomarse por lo tanto como una indicación de que el derivado en cuestión se une bien a albúmina (puede tener una vida media larga) y además *per*

se une bien al receptor de GLP-1 (el valor de IC₅₀ (albúmina alta) es alto y el valor de IC₅₀ (albúmina baja) es bajo). Por lo tanto, la unión a albúmina puede no siempre ser deseable, o la unión a albúmina puede hacerse muy fuerte. Por lo tanto, los intervalos deseables para IC₅₀ (albúmina baja), IC₅₀ (albúmina alta) / y la relación alta/baja puede variar de compuesto a compuesto, en dependencia del uso destinado y las circunstancias que rodean tal uso

5 y de otras propiedades del compuesto de interés potencial.
Como un ejemplo, en una modalidad particular, la relación(hi/lo), a saber, [afinidad de unión de receptor de GLP-1 (IC₅₀) en presencia de albúmina sérica humana (HSA) al 2,0 %, dividido por la afinidad de unión de receptor de GLP-1 (IC₅₀) en presencia de HSA al 0,005 %], es al menos 1, preferentemente al menos 10, con mayor preferencia al menos 20, incluso con mayor preferencia al menos 30, o con la máxima preferencia al menos 50.

10 Prolongación - vida media in vivo

De acuerdo con el segundo aspecto, los derivados de la invención se prolongan.

15 La prolongación puede determinarse como la vida media terminal (T_½) in vivo en ratas después de la administración i.v., como se describe en el Ejemplo 65. En modalidades particulares, la vida media en rata es al menos 7 horas, preferentemente al menos 10 horas, incluso con mayor preferencia al menos 20 horas, o con la máxima preferencia al menos 30 horas.

20 O, la prolongación puede determinarse en otras especies de animales, por ejemplo como la vida media terminal (T_½) in vivo en minicerdos después de la administración i.v., como se describe en el Ejemplo 66. En modalidades particulares, la vida media terminal en minicerdos es al menos 8 horas, preferentemente al menos 24 horas, incluso con mayor preferencia al menos 40 horas, o con la máxima preferencia al menos 60 horas.

25 Sorprendentemente, los presentes inventores identificaron una nueva clase de derivados de GLP-1, objetos de la presente invención, que tienen una alta potencia y a la misma vez preferentemente una buena vida media.

Biodisponibilidad oral

30 De acuerdo con el tercer aspecto, los derivados de la invención tienen una alta biodisponibilidad oral.

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

35 En consecuencia, existe una necesidad en la técnica de derivados de GLP-1 de una biodisponibilidad oral mejorada. Tales derivados podrían ser candidatos adecuados para administración oral, siempre que su potencia sea generalmente satisfactoria y/o siempre que su vida media también sea generalmente satisfactoria.

40 Generalmente, el término biodisponibilidad se refiere a la fracción de una dosis administrada de un ingrediente farmacéutico activo (API), tal como un derivado de la invención que alcanza la circulación sistémica sin cambiar. Por definición, cuando un API se administra por vía intravenosa, su biodisponibilidad es 100 %. Sin embargo, cuando se administra a través de otras vías (tales como por vía oral), su biodisponibilidad disminuye (debido a la ingesta incompleta y al metabolismo de primer paso). El conocimiento sobre la biodisponibilidad es importante cuando se calculan las dosificaciones para las vías de administración no intravenosas.

45 La biodisponibilidad oral absoluta compara la biodisponibilidad (estimada como el área bajo la curva o AUC) del API en la circulación sistémica después de la administración oral, con la biodisponibilidad de la misma API después de la administración intravenosa. Esta es la fracción de la API absorbida a través de la administración no intravenosa en comparación con la administración intravenosa correspondiente del mismo API. La comparación debe normalizarse para dosis si se usan diferentes dosis; en consecuencia, cada AUC se corrige dividiendo por la dosis correspondiente administrada.

50 Se realiza un gráfico de concentración plasmática de API en función del tiempo después de la administración tanto oral como intravenosa. La biodisponibilidad absoluta (F) es el AUC-oral corregida para dosis dividida por el AUC-intravenosa.

55 En una modalidad particular, el derivado de la invención tiene una biodisponibilidad oral absoluta que es superior a la de semaglutida, preferentemente al menos 10 % superior, con mayor preferencia al menos 20 % superior, incluso con mayor preferencia al menos 30 % superior, o con la máxima preferencia al menos 40 % superior. En las modalidades particulares adicionales, este tiene una biodisponibilidad absoluta oral que es al menos 1,5 veces la de semaglutida, preferentemente al menos 2,0 veces, con mayor preferencia al menos 3,0 veces, incluso con mayor preferencia al menos 4,0 veces, o con la máxima preferencia al menos 5,0 veces la de semaglutida.

65 Antes de analizar la biodisponibilidad oral los derivados de la invención pueden formularse adecuadamente como se conoce en la técnica de las formulaciones orales de compuestos insulíntrópicos, por ejemplo mediante el uso de cualquiera de una o más de las formulaciones descritas en el documento WO 2008/145728.

Se han desarrollado un par de pruebas, descritas en los Ejemplos 61 y 62, que se encontró que proporcionaban una predicción aceptable de la biodisponibilidad oral. De acuerdo con estas pruebas, después de la inyección directa del derivado de GLP-1 en el lumen intestinal de ratas, o después de la alimentación por sonda gástrica de ratas, se determina su concentración (exposición) en plasma y la relación de concentración plasmática (pmol/l) dividida por la concentración de la solución de dosificación (umol/l) se calcula para $t=30$ min; o se calcula el AUC de la exposición plasmática corregida con dosis desde el momento de 30 a 180 minutos (min x pM / pmol). Estas figuras son medidas de la biodisponibilidad oral/intestinal y se espera que se correlacionen con los datos reales de biodisponibilidad oral.

Propiedades biofísicas

De acuerdo con el cuarto aspecto, los péptidos/derivados de la invención tienen buenas propiedades biofísicas. Estas propiedades incluyen pero no se limitan a estabilidad física y/o solubilidad. Estas y otras propiedades biofísicas pueden medirse mediante el uso de métodos estándar conocidos en la técnica de la química de proteínas. En una modalidad particular, estas propiedades se mejoran en comparación con el GLP-1 nativo (sec. con núm. de ident.: 1). Las propiedades oligoméricas modificadas de los péptidos/derivados pueden ser al menos parcialmente responsables de las propiedades biofísicas mejoradas.

Se describen modalidades particulares adicionales de los derivados de la invención en las secciones tituladas "MODALIDADES PARTICULARES", "Modalidades particulares adicionales" y "Todavía otras modalidades particulares adicionales", antes de la sección experimental.

Proceso de producción

La producción de péptidos tipo GLP-1 (7-37) y análogos de GLP-1 es bien conocida en la técnica.

La porción GLP-1 de los derivados de la invención, a saber, K^{18} -GLP-1(7-37) o un análogo de este, puede producirse, por ejemplo, mediante síntesis de péptidos clásica, por ejemplo, síntesis de péptidos en fase sólida mediante el uso de los químicos t-Boc o Fmoc u otras técnicas bien establecidas, ver, por ejemplo, Greene y Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, 1999, Florencio Zaragoza Dörwald, "Organic Synthesis on solid Phase", Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000 y "Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis", Editado por W.C. Chan y P.D. White, Oxford University Press, 2000.

Además, o alternativamente, pueden producirse mediante métodos recombinantes, a saber, mediante el cultivo de una célula huésped que contiene una secuencia de ADN que codifica el análogo y es capaz de expresar el péptido en un medio de nutrientes adecuado bajo condiciones que permiten la expresión del péptido. Los ejemplos no limitantes de células huésped adecuadas para la expresión de estos péptidos son: *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, así como también líneas celulares BHK o CHO de mamíferos.

Aquellos derivados de la invención que incluyen aminoácidos no naturales y/o un mimético monopéptido o dipéptido N-terminal unido covalentemente pueden, por ejemplo, producirse como se describe en la parte experimental. O ver por ejemplo, Hodgson y otros: "The Síntesis de peptides and proteínas containing non-natural amino acids", Chemical Society Reviews, vol. 33, núm. 7 (2004), páginas 422-430; y el documento WO 2009/083549 A1 titulado "Semi-recombinant preparation of análogo de GLP-1s".

Los ejemplos específicos de métodos para preparar varios derivados de la invención se incluyen en la parte experimental.

Composiciones farmacéuticas

La composición farmacéutica que comprende un derivado de la invención o una sal, amida o éster farmacéuticamente aceptable de la misma y un excipiente farmacéuticamente aceptable puede prepararse como se conoce en la técnica.

El término "excipiente" se refiere, en un sentido amplio, a cualquier componente aparte del/de los ingrediente/s terapéutico/s activo/s. El excipiente puede ser una sustancia inerte, una sustancia inactiva, y/o una sustancia no activa medicinalmente.

El excipiente puede servir para diversos fines, por ejemplo como portador, vehículo, diluyente, auxiliar para tabletas, y/o para mejorar la administración, y/o la ingesta de la sustancia activa.

En la técnica se conoce la formulación de ingredientes farmacéuticamente activos con diversos excipientes, véase por ejemplo Remington: The Science and Practice of Pharmacy (por ejemplo 19^{na} edición (1995) y cualquiera de las ediciones posteriores).

Los ejemplos no limitantes de excipientes son: Los disolventes, diluyentes, tampones, conservantes, agentes reguladores de la tonicidad, agentes quelantes y estabilizadores.

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

10 Alternativamente una composición farmacéutica puede ser una formulación sólida, por ejemplo una composición liofilizada o secada por pulverización, que puede usarse tal cual, a la que el médico o el paciente añade solventes y/o diluyentes antes de su uso.

15 El pH en una formulación acuosa puede ser cualquiera entre pH 3 y pH 10, por ejemplo de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 9,5; o de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 7,0.

20 Una composición farmacéutica puede comprender un tampón. El tampón se selecciona del grupo que consiste en acetato de sodio, carbonato de sodio, citrato, glicilglicina, histidina, glicina, lisina, arginina, dihidrógeno fosfato de sodio, hidrógeno fosfato de disodio, fosfato de sodio y tris(hidroximetil)-aminometano, bicina, tricina, ácido málico, succinato, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido aspártico o mezclas de estos.

25 Una composición farmacéutica puede comprender un conservante. El conservante puede seleccionarse, por ejemplo, del grupo que consiste en fenol, o-cresol, m-cresol, p-cresol, p-hidroxibenzoato de metilo, p-hidroxibenzoato de propilo, 2-fenoxietanol, p-hidroxibenzoato de butilo, 2-feniletanol, alcohol bencílico, clorobutanol y tiomersal, bronopol, ácido benzoico, imidaurea, clorohexidina, deshidroacetato de sodio, clorocresol, p-hidroxibenzoato de etilo, cloruro de bencetonio, clorfenesina (3p-clorfenoxipropano-1,2-diol) y sus mezclas. El conservante puede estar presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 20 mg/ml.

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

35 Una composición farmacéutica puede comprender un agente quelante. El agente quelante puede seleccionarse, por ejemplo, de sales de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido cítrico y ácido aspártico y sus mezclas.

40 Una composición farmacéutica puede comprender un estabilizante. El estabilizante puede ser por ejemplo uno o más inhibidores de la oxidación, inhibidores de la agregación, tensioactivos y/o uno o más inhibidores de proteasas.

45 El término "formación de agregados" se refiere a una interacción física entre las moléculas polipeptídicas que resulta en la formación de oligómeros, que pueden permanecer solubles, o grandes agregados visibles que precipitan de la solución. La formación de agregados por un polipéptido durante el almacenamiento de una composición farmacéutica líquida puede afectar adversamente la actividad biológica de ese polipéptido, lo que resulta en la pérdida de la eficacia terapéutica de la composición farmacéutica. Además, la formación de agregados puede provocar otros problemas tales como el bloqueo de tubos, membranas, o bombas cuando la composición farmacéutica que contiene polipéptidos se administra mediante el uso de un sistema de infusión.

50 Una composición farmacéutica puede comprender una cantidad de una base de aminoácido suficiente para disminuir la formación de agregados por el péptido durante el almacenamiento de la composición. El término "aminoácido base" se refiere a uno o más aminoácidos (tales como metionina, histidina, imidazol, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptófano, treonina), o análogos de estos. Cualquier aminoácido puede estar presente ya sea en su forma de base libre o en su forma de sal. Cualquier estereoisómero (es decir, L, D, o una mezcla de los mismos) del aminoácido base puede estar presente.

55 Puede añadirse metionina (u otros aminoácidos o análogos de aminoácidos sulfúricos) para inhibir la oxidación de los residuos de metionina a metionina sulfóxido cuando el péptido es un polipéptido que comprende al menos un residuo de metionina susceptible a tal oxidación. Puede usarse cualquier estereoisómero de metionina (L o D) o sus combinaciones.

60 Una composición farmacéutica puede comprender un estabilizante seleccionado del grupo de polímeros de alto peso molecular o compuestos de bajo peso molecular. El estabilizante puede seleccionarse, por ejemplo, de polietilenglicol (por ejemplo, PEG 3350), alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona, carboxi-/hidroxilcelulosa o

65

derivados de estos (por ejemplo, HPC, HPC-SL, HPC-L y HPMC), ciclodextrinas, sustancias que contienen azufre como monotioglicerol, ácido tioglicólico y 2-metiltioetanol y sales diferentes (por ejemplo, cloruro de sodio).

5 Una composición farmacéutica puede comprender agentes estabilizantes adicionales tales como, pero no se limitan a, metionina y EDTA, que protegen al polipéptido de la oxidación de la metionina y un tensioactivo no iónico, que protege al polipéptido de la agregación asociada a la congelación-descongelación o al cizallamiento mecánico.

10 Una composición farmacéutica puede comprender uno o más tensioactivos, por ejemplo un tensioactivo, al menos un tensioactivo o dos tensioactivos diferentes. El término "tensioactivo" se refiere a cualesquiera moléculas o iones que se comprenden de una parte soluble en agua (hidrófila) y una parte soluble en grasa (lipófilo). El tensioactivo puede seleccionarse, por ejemplo, del grupo que consiste en tensioactivos aniónicos, tensioactivos catiónicos, tensioactivos no iónicos y/o tensioactivos zwitteriónicos.

15 Una composición farmacéutica puede comprender uno o más inhibidores de proteasas, tales como, por ejemplo, EDTA (ácido etilendiamina tetraacético) y/o benzamidinaHCl.

20 Los ingredientes adicionales, opcionales de una composición farmacéutica incluyen, por ejemplo, agentes humectantes, emulsionantes, antioxidantes, agentes de carga, iones metálico, vehículos oleosos, proteínas (por ejemplo, albúmina sérica humana, gelatina) y/o un zwitterión (por ejemplo, un aminoácido tal como betaína, taurina, arginina, glicina, lisina e histidina).

25 Además, una composición farmacéutica puede formularse como se conoce en la técnica de las formulaciones orales de compuestos insulínótropicos, por ejemplo mediante el uso de una o más de las formulaciones descritas en el documento WO 2008/145728.

Una dosis administrada puede contener de 0,01 mg - 100 mg del derivado, o de 0,01-50 mg, o de 0,01-20 mg, o de 0,01 mg - 10 mg del derivado.

30 El derivado puede administrarse en la forma de una composición farmacéutica. Puede administrarse a un paciente que lo necesita en diversos sitios, por ejemplo, en sitios tópicos tales como sitios de la piel o mucosa; en sitios que evitan la ingesta tales como en una arteria, e una vena, o en el corazón; y en sitios que implican la ingesta, tales como en la piel, bajo la piel, en un músculo o en el abdomen.

35 La ruta de administración puede ser, por ejemplo, lingual; sublingual; bucal; en la boca; oral; en el estómago; en el intestino; nasal; pulmonar, tal como a través de los bronquiolos, los alvéolos o una combinación de estos; parenteral, epidérmico; dérmico; transdérmico; conjuntival; uretal; vaginal; rectal; y/u ocular. En una modalidad particular la ruta de administración es por vía oral.

40 Una composición puede administrarse en varias formas de dosificación, por ejemplo como una solución; una suspensión; una emulsión; una microemulsión; emulsiones múltiples; una espuma; un ungüento; una pasta; un yeso; una pomada; una tableta; una tableta recubierta; un chicle; un enjuague; una cápsula tal como cápsulas de gelatina duras o blandas; un supositorio; una cápsula rectal; gotas; un gel; un aerosol; un polvo; un aerosol; un inhalante; gotas oculares; una ungüento oftálmico; un enjuague oftálmico; un pesario vaginal; un anillo vaginal; un ungüento vaginal; una solución de inyección; una solución de transformación in situ, como la gelificación in situ, el fraguado, la precipitación y la cristalización in situ; una solución de infusión; o como un implante. Una composición puede combinarse adicionalmente en un portador o sistema de administración de fármacos, por ejemplo para mejorar la estabilidad, la biodisponibilidad y/o la solubilidad. Una composición puede unirse a tal sistema a través de interacciones covalentes, hidrófobas y/o electrostáticas. El propósito de tal composición puede ser, por ejemplo, disminuir los efectos adversos, lograr la cronoterapia y/o aumentar la satisfacción del paciente.

50 Una composición también puede usarse en la formulación de sistemas de suministro de fármacos de liberación controlada, sostenida, prolongada, retardada y/o lenta.

55 La administración parenteral puede realizarse mediante inyección subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa por medio de una jeringa, opcionalmente una jeringa tipo pluma o por medio de una bomba de infusión.

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

60 La administración transdérmica es una opción adicional, por ejemplo, mediante inyección sin aguja, desde un parche tal como un parche iontoforético, o mediante una ruta transmucosal, por ejemplo, por vía bucal.

65 Una composición puede ser una formulación estabilizada. El término "formulación estabilizada" se refiere a una formulación con estabilidad física y/o química aumentada, preferentemente ambas. En general, una formulación debe ser estable durante el uso y el almacenamiento (de conformidad con el uso recomendado y las condiciones de almacenamiento) hasta que se alcance la fecha de vencimiento.

El término “estabilidad física” se refiere a la tendencia del polipéptido a formar agregados biológicamente inactivos y/o insolubles como un resultado de exponer a estrés termo-mecánico y/o a la interacción con interfaces y superficies estabilizantes (tales como superficies hidrófobas). La estabilidad física de una formulación acuosa de polipéptido se evaluó por medio de inspección visual y/o mediciones de la turbidez después de exponer a estrés mecánico/físico (por ejemplo, agitación) a diferentes temperaturas durante diversos períodos de tiempo. Alternativamente, la estabilidad física puede evaluarse mediante el uso de un agente espectroscópico o sonda del estado conformacional del polipéptido tal como por ejemplo Tioflavina T o sondas de “parche hidrófobo”.

El término “estabilidad química” se refiere a cambios químicos (en particular covalentes) en la estructura polipeptídica que conduce a la formación de productos de degradación química que tienen potencialmente una potencia biológica reducida, y/o efecto inmunogénico aumentado en comparación con el polipéptido intacto. La estabilidad química puede evaluarse mediante la medición de la cantidad de productos de degradación química en diversos puntos de tiempo después de la exposición a diferentes condiciones ambientales, por ejemplo mediante SEC-HPLC, y/o RP-HPLC.

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

El tratamiento con un derivado de acuerdo con esta invención puede combinarse, además, con una cirugía que influya en los niveles de glucosa y/o homeostasis lipídica, tal como la banda gástrica o la derivación gástrica.

Indicaciones farmacéuticas

La presente invención se refiere, además, a un derivado de la invención para el uso como un medicamento.

En modalidades particulares, el derivado de la invención puede usarse para los siguientes tratamientos médicos, todos preferentemente relacionados de una forma u otra con la diabetes:

- (i) prevención y/o tratamiento de todas las formas de diabetes, tales como hiperglicemia, diabetes tipo 2, tolerancia alterada a la glucosa, diabetes tipo 1, diabetes no dependiente de insulina, MODY (diabetes de inicio en la madurez de los jóvenes), diabetes gestacional, y/o reducción de HbA1C;
- (ii) retardar o evitar la progresión de la enfermedad diabética, tal como la progresión de diabetes tipo 2, retardar la progresión de la tolerancia alterada a la glucosa (IGT) a la diabetes tipo 2 que requiere insulina, y/o retardar la progresión de la diabetes tipo 2 que no requiere insulina a la diabetes tipo 2 que requiere insulina;
- (iii) mejorar la función de las células- β , tal como disminuir la apoptosis de células β , aumentar la función de células β y/o la masa de células β , y/o restablecer sensibilidad de la glucosa a células β ;
- (iv) prevención y/o tratamiento de trastornos cognitivos;

- (v) prevención y/o tratamiento de trastornos alimentarios, tales como obesidad, por ejemplo, disminuyendo la ingesta de alimentos, reduciendo el peso corporal, suprimiendo el apetito, induciendo saciedad; tratar o prevenir el trastorno por atracón, la bulimia nerviosa y/o la obesidad inducida por la administración de un antipsicótico o un esteroide; reducción de la motilidad gástrica; y/o retrasando el vaciamiento gástrico;
- 5 (vi) prevención y/o tratamiento de complicaciones diabéticas, tales como neuropatía, incluida la neuropatía periférica; nefropatía; o retinopatía;
- (vii) mejorar los parámetros de los lípidos, tales como la prevención y/o el tratamiento de dislipidemia, disminuir los lípidos totales en suero; disminuir el HDL-C, disminuir el LDL-C denso, pequeño; disminuir el VLDL-C: disminuir los triglicéridos; disminuir el colesterol, aumentar HDL; disminuir los niveles plasmáticos de lipoproteína a (Lp(a)) en un humano; inhibir la generación de apolipoproteína a (apo(a)) in vitro y/o in vivo;
- 10 (viii) prevención y/o tratamiento de enfermedades cardiovasculares, tales como el síndrome X; aterosclerosis; infarto del miocardio; enfermedad coronaria; accidente cerebrovascular, isquemia cerebral; una enfermedad cardíaca temprana o cardiovascular temprana, tal como la hipertrofia ventricular izquierda; enfermedad de la arteria coronaria; hipertensión esencial; emergencia hipertensiva aguda; cardiomiopatía; insuficiencia cardíaca; tolerancia al ejercicio; insuficiencia cardíaca crónica; arritmia; arritmia cardíaca; síncope; aterosclerosis; insuficiencia cardíaca crónica leve; angina de pecho; reoclusión de derivación cardíaca; claudicación intermitente (aterosclerosis ocluyente); disfunción diastólica; y/o disfunción sistólica;
- 15 (ix) prevención y/o tratamiento de enfermedades gastrointestinales, tales como síndrome inflamatorio del intestino; síndrome del intestino delgado o enfermedad de Crohn; dispepsia; y/o úlceras gástricas;
- 20 (x) prevención y/o tratamiento de enfermedades críticas, tales como el tratamiento de un paciente crítico, un paciente de poli-nefropatía por enfermedad crítica (CIPNP) y/o un posible paciente con CIPNP; prevención de enfermedades críticas o desarrollo de CIPNP; prevención, tratamiento y/o curación del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) en un paciente; y/o para la prevención o reducción de la probabilidad de que un paciente sufra de bacteriemia, septicemia y/o choque séptico durante la hospitalización; y/o
- 25 (xi) prevención y/o tratamiento del síndrome del ovario poliquístico (PCOS).

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

- 30 En otra modalidad particular, la indicación es (i). En una modalidad particular la indicación es (v). Aún en una modalidad particular adicional la indicación es (iix).

Las siguientes indicaciones se prefieren particularmente: Diabetes tipo 2 y/u obesidad.

35 Modalidades particulares

Las siguientes son modalidades particulares de la invención

- 40 1. Un derivado de un análogo de GLP-1, cuyo análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 18 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1), un segundo residuo K en otra posición y un máximo de doce cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37),
- 45 cuyo derivado comprende dos porciones de prolongación unidas a dicho residuo K primero y segundo, respectivamente, mediante un conector, en donde la porción de prolongación se selecciona de Quím. 1 y Quím. 2:



- 50 Quím. 2: HOOC-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-*,

en donde x es un número entero en el intervalo de 6-18 y y es un número entero en el intervalo de 3-17; y

el conector comprende

- 55 Quím. 3: *-NH-(CH₂)_q-CH[(CH₂)_w-NH₂]-CO-*,

en donde q es un número entero en el intervalo de 0-5 y w es un número entero en el intervalo de 0-5;

- 60 o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster del mismo.

2. El derivado de la modalidad 1, en donde el conector comprende z veces Quím. 3, en donde z es un número entero en el intervalo de 1-2.
3. El derivado de la modalidad 2, en donde z es 1.
- 65 4. El derivado de la modalidad 2, en donde z es 2.

ES 2 683 372 T3

5. El derivado de cualquiera de las modalidades 2 y 4, en donde cuando z es 2 la Quím. 3 se interconectan mediante un enlace amida.
6. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-5, en donde w es 0.
7. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-6, en donde q es un número entero en el intervalo de 3-5.
8. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-7, en donde el conector comprende

Quím. 4: $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_q-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}^*$, en donde q es un número entero en el intervalo de 3-5.

9. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-8, en donde q es 3.
10. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-8, en donde q es 4.
11. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-8, en donde q es 5.
12. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-5, en donde q es 0.
13. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-5 y 12, en donde w es un número entero en el intervalo de 3-5.
14. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-5 y 12-13, en donde el conector comprende

Quím. 5: $^*-\text{NH}-\text{CH}[(\text{CH}_2)_w-\text{NH}_2]-\text{CO}^*$, en donde w es un número entero en el intervalo de 3-5.

15. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-5 y 12-14, en donde w es 3.
16. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-5 y 12-14, en donde w es 4.
17. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-5 y 12-14, en donde w es 5.
18. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-8, 10, 12-14 y 16, en donde Quím. 3, Quím. 4, o Quím. 5, respectivamente, es un radical doble de lisina.
19. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-8, 10 y 18, en donde el conector comprende

Quím. 6: $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}^*$.

20. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-2, 4-8, 10 y 18, en donde el conector comprende

2xQuím. 6: $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}^*$.

21. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-5, 12-14, 16 y 18, en donde el conector comprende

Quím. 7: $^*-\text{NH}-\text{CH}[(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2]-\text{CO}^*$.

22. El derivado de cualquiera de las modalidades 18-21, en donde lisina es L-lisina.
23. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-9 y 12-15, en donde Quím. 3, Quím. 4, o Quím. 5, respectivamente, es un radical doble de ornitina.
24. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-9 y 23, en donde el conector comprende

Quím. 8: $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}^*$.

25. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-5, 12-15 y 23, en donde el conector comprende

Quím. 9: $^*-\text{NH}-\text{CH}[(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2]-\text{CO}^*$.

26. El derivado de cualquiera de las modalidades 23-25, en donde el conector es L-ornitina.
27. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-8, 11-14 y 17, en donde Quím. 3, Quím. 4, o Quím. 5, respectivamente, es un radical doble de homolisina.
28. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-8, 11 y 27, en donde el conector comprende

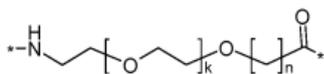
Quím. 10: $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}^*$.

29. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-5, 12-14, 17 y 27, en donde el conector comprende

Quím. 11: $^*-\text{NH}-\text{CH}[(\text{CH}_2)_5-\text{NH}_2]-\text{CO}^*$.

30. El derivado de cualquiera de las modalidades 27-29, en donde el conector comprende L-homolisina.
31. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-30, en donde Quím. 3, Quím. 4, Quím. 5, Quím. 6, 2xQuím. 6, Quím. 7, Quím. 8, Quím. 9, Quím. 10, o Quím. 11, respectivamente, es un primer elemento conector.
32. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-31, en donde el conector comprende un segundo elemento conector, Quím. 12:

Quím. 12:

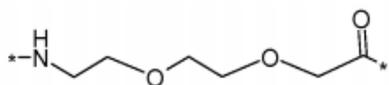


en donde k es un número entero en el intervalo de 1-5 y n es un número entero en el intervalo de 1-5.

- 5 33. El derivado de la modalidad 32, en donde k es 1.
 34. El derivado de cualquiera de las modalidades 32-33, en donde n es 1.
 35. El derivado de cualquiera de las modalidades 32-34, en donde el segundo elemento conector es

Quím. 13:

10

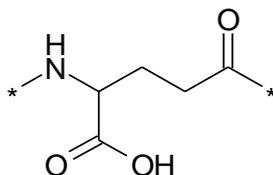


- 15 36. El derivado de cualquiera de las modalidades 32-35, en donde Quím. 13 se incluye m veces, en donde m es 0, o un entero en el intervalo de 1-10.
 37. El derivado de la modalidad 36, en donde m es 0, 1, o 2.
 38. El derivado de cualquiera de las modalidades 36-37, en donde m es 0.
 39. El derivado de cualquiera de las modalidades 36-37, en donde m es 1.
 20 40. El derivado de cualquiera de las modalidades 36-37, en donde m es 2.
 41. El derivado de cualquiera de las modalidades 36-37 y 40, en donde, cuando m es diferente de 1, los elementos de Quím. 13 se interconectan mediante enlace(s) amida.
 42. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-41, en donde el conector comprende un tercer elemento conector seleccionado de Quím. 14 y Quím. 15:

25

Quím. 14:

30

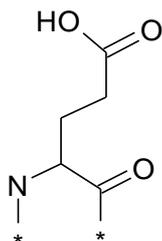


35

y

Quím. 15:

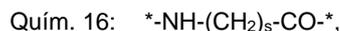
40



45

50

43. El derivado de la modalidad 42, en donde el tercer elemento conector es Quím. 14.
 44. El derivado de la modalidad 43, en donde Quím. 14 se incluye p veces, en donde p es 0, o un entero en el intervalo de 1-3.
 45. El derivado de la modalidad 44, en donde p es 0.
 55 46. El derivado de la modalidad 44, en donde p es 1.
 47. El derivado de la modalidad 44, en donde p es 2.
 48. El derivado de la modalidad 44, en donde p es 3.
 49. El derivado de cualquiera de las modalidades 42-48, en donde Quím. 14 es un radical doble de L-Glu.
 50. El derivado de cualquiera de las modalidades 42-44 y 47-49, en donde, cuando p es diferente de 0 y diferente de 1, los elementos de Quím. 14 se interconectan mediante enlace(s) amida.
 60 51. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el conector comprende un cuarto elemento conector:



- 65 29. en el que s es un número entero en el intervalo de 3-13.
 52. El derivado de la modalidad 51, en donde s es 5, 7, o 11; preferentemente 7.

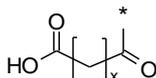
53. El derivado de la modalidad 52, en donde el cuarto elemento conector es



- 5 54. El derivado de cualquiera de las modalidades 51-53, en donde Quím. 16 es un radical doble de ácido amino octanoico.
55. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-54, en donde el conector y la porción de prolongación se interconectan mediante un enlace amida.
- 10 56. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-55, en donde el conector y el análogo de GLP-1 se interconectan mediante un enlace amida.
57. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-55, en donde el conector se une al grupo épsilon amino del primer o segundo residuo de K.
58. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-3, 6-8, 10, 18-19, 22, 32-38, 42-44, 46 y 49, en donde el conector consiste en Quím. 14 y Quím. 6, interconectados a través de un enlace amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo $^*-\text{NH}$ al extremo $^*-\text{CO}$ de la porción de prolongación y en su extremo $^*-\text{CO}$ al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.
- 15 59. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-2, 4-5, 6-8, 10, 18-20, 22, 32-38, 42-44, 46 y 49, en donde el conector consiste en Quím. 14 y dos veces Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo $^*-\text{NH}$ al extremo $^*-\text{CO}$ de la porción de prolongación y en su extremo $^*-\text{CO}$ al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.
- 20 60. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-3, 6-8, 10, 18-19, 22, 32-38, 42-44, 47 y 49, en donde el conector consiste en dos veces Quím. 14 y Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo $^*-\text{NH}$ al extremo $^*-\text{CO}$ de la porción de prolongación y en su extremo $^*-\text{CO}$ al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.
- 25 61. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-3, 6-8, 10, 18-19, 22, 32-38, 42-44, 48 y 49, en donde el conector consiste en tres veces Quím. 14 y Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo $^*-\text{NH}$ al extremo $^*-\text{CO}$ de la porción de prolongación y en su extremo $^*-\text{CO}$ al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.
- 30 62. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-3, 6-8, 10, 18-19, 22, 32-37, 39 y 42-45, en donde el conector consiste en Quím. 13 y Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo $^*-\text{NH}$ al extremo $^*-\text{CO}$ de la porción de prolongación y en su extremo $^*-\text{CO}$ al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.
- 35 63. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-3, 6-8, 10, 18-19, 22, 32-37, 39, 42-44, 46 y 49, en donde el conector consiste en Quím. 14, Quím. 13 y Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo $^*-\text{NH}$ al extremo $^*-\text{CO}$ de la porción de prolongación y en su extremo $^*-\text{CO}$ al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.
- 40 64. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-3, 6-8, 10, 18-19, 22, 32-37, 40-44, 46 y 49, en donde el conector consiste en Quím. 14, dos veces Quím. 13 y Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo $^*-\text{NH}$ al extremo $^*-\text{CO}$ de la porción de prolongación y en su extremo $^*-\text{CO}$ al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.
- 45 65. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-3, 6-8, 10, 18-19, 22, 32-37, 40, 42-44, 46 y 49, en donde el conector consiste en Quím. 13, Quím. 14, Quím. 13 y Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo $^*-\text{NH}$ al extremo $^*-\text{CO}$ de la porción de prolongación y en su extremo $^*-\text{CO}$ al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.
- 50 66. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-2, 4, 6-8, 10, 18-20, 22, 32-38, 42-44, 46 y 49, en donde el conector consiste en Quím. 17, Quím. 14 y dos veces Quím. 6, interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo $^*-\text{NH}$ al extremo $^*-\text{CO}$ de la porción de prolongación y en su extremo $^*-\text{CO}$ al grupo épsilon amino del primero o el segundo residuo K del análogo de GLP-1.
67. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-66, en donde la porción de prolongación es Quím. 1.
68. El derivado de la modalidad 67, en donde x es un número par.
69. El derivado de cualquiera de las modalidades 67-68, en donde x es un número entero en el intervalo de 10-18.
70. El derivado de cualquiera de las modalidades 67-69, en donde x es 12.
71. El derivado de cualquiera de las modalidades 67-69, en donde x es 14.
72. El derivado de cualquiera de las modalidades 67-69, en donde x es 16.
- 55 73. El derivado de cualquiera de las modalidades 67-69, en donde x es 18.
74. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-66, en donde la porción de prolongación es Quím. 2.
75. El derivado de la modalidad 74, en donde y es un número impar.
76. El derivado de cualquiera de las modalidades 74-75, en donde y es un número entero en el intervalo de 7-11.
77. El derivado de cualquiera de las modalidades 74-76, en donde y es 9.
- 60 78. El derivado de cualquiera de las modalidades 74-76, en donde y es 11.
79. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-73, en donde Quím. 1 se representa por

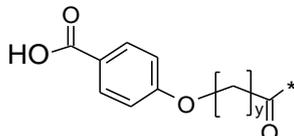
Quím. 1a:

65



80. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-66 y 74-78, en donde Quím. 2 se representa por

5 Quím. 2a:



10

81. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-80, en donde las dos porciones de prolongación son sustancialmente idénticas.
- 15 82. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-81, en donde las dos porciones de prolongación tienen una similitud de al menos 0,5; preferentemente al menos 0,6; con mayor preferencia al menos 0,7, o al menos 0,8; incluso con mayor preferencia al menos 0,9; o con la máxima preferencia al menos 0,99, tal como una similitud de 1,0.
- 20 83. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-82, en donde los dos conectores son sustancialmente idénticos.
84. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-83, en donde los dos conectores tienen una similitud de al menos 0,5; preferentemente al menos 0,6; con mayor preferencia al menos 0,7, o al menos 0,8; incluso con mayor preferencia al menos 0,9; o con la máxima preferencia al menos 0,99, tal como una similitud de 1,0.
- 25 85. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-84, en donde las dos cadenas laterales que consisten en la porción de prolongación y el conector son sustancialmente idénticas.
86. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-85, en donde las dos cadenas laterales consisten en una porción de prolongación y un conector que tienen una similitud de al menos 0,5; preferentemente al menos 0,6; con mayor preferencia al menos 0,7, o al menos 0,8; incluso con mayor preferencia al menos 0,9; o con la máxima preferencia al menos 0,99, tal como una similitud de 1,0.
- 30 87. El derivado de cualquiera de las modalidades 81-86, en donde las dos estructura química a comparar se representan como huellas, tales como a) huellas de ECFP₆; b) huellas de UNITY; y/o c) huellas de MDL; y en donde para cada uno de a), b) y c) el coeficiente de Tanimoto se usa preferentemente para calcular la similitud de las dos huellas.
- 35 88. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-87, en donde el primer residuo de K se designa K¹⁸.
89. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-88, en donde el segundo residuo de K está en una posición correspondiente a la posición T de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1).
90. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-89, en donde el segundo residuo de K se designa K^T.
91. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-90, en donde T es un entero seleccionado del intervalo de 7-17 o del intervalo de 19-37.
- 40 92. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-91, en donde T es un entero seleccionado del intervalo de 12-17.
93. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-92, en donde T se selecciona del intervalo de 19-37.
94. El derivado de cualquiera de 89-93, en donde T se selecciona del grupo que consiste en 22, 26, 27, 30, 31, 34 y 37
- 45 95. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-93, en donde T=22.
96. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-93, en donde T=26.
97. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-93, en donde T=27.
98. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-93, en donde T=30.
99. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-93, en donde T=31.
- 50 100. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-93, en donde T=34.
101. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-93, en donde T=37.
102. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-93, en donde T es 26 o 31.
103. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-102, en donde la posición correspondiente a la posición 18 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se identifica por escritura e inspección visual.
- 55 104. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-103, en donde la posición correspondiente a la posición T de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se identifica por escritura e inspección visual.
105. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-104, en donde el número de aminoácidos cambia en comparación con GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se identifican por escritura e inspección visual.
- 60 106. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-105, en donde la posición correspondiente a la posición 18 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineamiento de proteínas o péptidos.
107. El derivado de cualquiera de las modalidades 89-106, en donde la posición correspondiente a la posición T de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineamiento de proteínas o péptidos.

108. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-107, en donde el número de aminoácidos cambia en comparación con GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se identifican mediante el uso de un programa estándar de alineamiento de proteínas o péptidos.
109. El derivado de cualquiera de las modalidades 107-108, en donde el programa estándar de alineamiento es un alineamiento Needleman-Wunsch.
110. El derivado de cualquiera de las modalidades 107-109, en donde se usa la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.
111. El derivado de cualquiera de las modalidades 107-110, en donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.
112. El derivado de cualquiera de las modalidades 107-111, en donde la penalización del primer residuo en una interrupción es -10 (menos diez).
113. El derivado de cualquiera de las modalidades 107-112, en donde las penalizaciones de residuos adicionales en una interrupción es -0,5 (menos coma cinco).
114. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-113, en donde el análogo no comprende residuos de K distintos del primer y el segundo residuo de K.
115. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-114, en donde el(los) cambio(s) máximo(s) de doce aminoácidos es(son) en una o más posiciones correspondientes a las siguientes posiciones en GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1): 7, 8, 12, 18, 19, 22, 23, 25, 26, 27, 30, 31, 34, 35, 36 y 37.
116. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-115, en donde el(los) cambio(s) máximo(s) de doce aminoácidos es(son) en una o más posiciones correspondientes a las siguientes posiciones en GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1): 7, 8, 18, 19, 22, 23, 25, 26, 27, 30, 31, 34, 35, 36 y 37.
117. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-116, en donde el análogo comprende K^{18} .
118. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-117, en donde el análogo comprende al menos uno de los siguientes cambios: Imp^7 , Aib^8 o S^8 , L^{12} , Q^{19} , K^{22} o E^{22} , R^{23} o E^{23} , V^{25} , R^{26} o H^{26} o V^{26} , K^{27} o L^{27} o H^{27} , K^{30} o E^{30} , K^{31} o H^{31} , G^{34} o R^{34} o Q^{34} o Des^{34} o H^{34} , Des^{35} , Des^{36} , K^{37} o Des^{37} .
119. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118, en donde el segundo residuo de K es K^{22} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además i) un cambio seleccionado de Des^{34} , G^{34} , R^{34} y Q^{34} y ii) un cambio seleccionado de R^{26} , H^{26} y V^{26} .
120. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-119, en donde el segundo residuo de K es K^{22} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además Q^{34} y R^{26} .
121. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118, en donde el segundo residuo de K es K^{26} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además un cambio seleccionado de G^{34} , R^{34} , H^{34} y Q^{34} ; y preferentemente seleccionado de R^{34} y Q^{34} .
122. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 121, en donde el segundo residuo de K es K^{26} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además R^{34} .
123. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 121, en donde el segundo residuo de K es K^{26} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además Q^{34} .
124. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 121, en donde el segundo residuo de K es K^{26} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además H^{34} .
125. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118, en donde el segundo residuo de K es K^{27} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además i) un cambio seleccionado de Des^{34} , G^{34} , R^{34} y Q^{34} y ii) un cambio seleccionado de R^{26} , H^{26} y V^{26} .
126. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 125, en donde el segundo residuo de K es K^{27} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además Q^{34} y R^{26} .
127. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 125, en donde el segundo residuo de K es K^{27} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además R^{34} y R^{26} .
128. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 125, en donde el segundo residuo de K es K^{27} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además G^{34} y R^{26} .
129. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 125, en donde el segundo residuo de K es K^{27} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además Q^{34} y H^{26} .
130. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 125, en donde el segundo residuo de K es K^{27} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además R^{34} y H^{26} .
131. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 125, en donde el segundo residuo de K es K^{27} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además R^{34} y V^{26} .
132. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118, en donde el segundo residuo de K es K^{30} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además i) un cambio seleccionado de Des^{34} , G^{34} , R^{34} y Q^{34} y ii) un cambio seleccionado de R^{26} , H^{26} y V^{26} .
133. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 132, en donde el segundo residuo de K es K^{30} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además R^{34} y R^{26} .
134. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 132, en donde el segundo residuo de K es K^{30} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además G^{34} y R^{26} .
135. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 132, en donde el segundo residuo de K es K^{30} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además R^{34} y H^{26} .
136. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 132, en donde el segundo residuo de K es K^{31} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además i) un cambio seleccionado de Des^{34} , G^{34} , R^{34} y Q^{34} y ii) un cambio seleccionado de R^{26} , H^{26} y V^{26} .

137. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118, en donde el segundo residuo de K es K^{31} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además Des^{34} y R^{26} .
138. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 137, en donde el segundo residuo de K es K^{31} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además Q^{34} y R^{26} .
- 5 139. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 137, en donde el segundo residuo de K es K^{31} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además R^{34} y R^{26} .
140. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 137, en donde el segundo residuo de K es K^{31} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además G^{34} y R^{26} .
141. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 137, en donde el segundo residuo de K es K^{31} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además R^{34} y H^{26} .
- 10 142. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 137, en donde el segundo residuo de K es K^{31} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además G^{34} y H^{26} .
143. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118, en donde el segundo residuo de K es K^{34} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además un cambio seleccionado de R^{26} , H^{26} y V^{26} .
- 15 144. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 143, en donde el segundo residuo de K es K^{34} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además R^{26} .
145. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118, en donde el segundo residuo de K es K^{37} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además i) un cambio seleccionado de Des^{34} , G^{34} , R^{34} y Q^{34} y ii) un cambio seleccionado de R^{26} , H^{26} y V^{26} .
- 20 146. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118 y 145, en donde el segundo residuo de K es K^{37} y en donde el análogo, además del cambio K^{18} , comprende además R^{34} y R^{26} .
147. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-146, en donde el análogo comprende al menos uno de los siguientes cambios: Imp^7 , Aib^8 o S^8 , L^{12} , Q^{19} , E^{22} , R^{23} o E^{23} , V^{25} , L^{27} o H^{27} , E^{30} , H^{31} , Des^{34} , Des^{35} , Des^{36} , o Des^{37} .
- 25 148. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-147, en donde el análogo comprende al menos uno de los siguientes cambios: Imp^7 , Aib^8 , Q^{19} , E^{22} , R^{23} o E^{23} , V^{25} , L^{27} o H^{27} , E^{30} , H^{31} , Des^{34} , Des^{35} , Des^{36} , o Des^{37} ; preferentemente al menos uno de los siguientes cambios: Imp^7 , Aib^8 , Q^{19} , E^{22} , o V^{25} .
149. El derivado de cualquiera de las modalidades 115-148, en donde si el residuo de aminoácido en la posición correspondiente a la posición 34 se elimina (Des^{34}), entonces los residuos de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 35-37 también se eliminan (Des^{35} , Des^{36} y Des^{37}).
- 30 150. El derivado de cualquiera de las modalidades 115-148, en donde si el residuo de aminoácido en la posición correspondiente a la posición 35 se elimina (Des^{35}), entonces los residuos de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 36-37 también se eliminan (Des^{36} y Des^{37}).
151. El derivado de cualquiera de las modalidades 115-148, en donde si el residuo de aminoácido en la posición correspondiente a la posición 36 se elimina (Des^{36}), entonces el residuo de aminoácido en la posición correspondiente a la posición 37 también se elimina (Des^{37}).
- 35 152. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-151, en donde el análogo comprende Imp^7 .
153. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-152, en donde el análogo comprende Aib^8 .
154. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-152, en donde el análogo comprende S^8 .
- 40 155. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-154, en donde el análogo comprende L^{12} .
156. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-155, en donde el análogo comprende Q^{19} .
157. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-156, en donde el análogo comprende E^{22} .
158. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-157, en donde el análogo comprende R^{23} .
159. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-156, en donde el análogo comprende E^{23} .
- 45 160. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-159, en donde el análogo comprende V^{25} .
161. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-160, en donde el análogo comprende L^{27} .
162. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-161, en donde el análogo comprende H^{27} .
163. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-162, en donde el análogo comprende E^{30} .
164. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-163, en donde el análogo comprende H^{31} .
- 50 165. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-164, en donde, para la determinación de los cambios en el análogo, la secuencia aminoacídica del análogo se compara con la secuencia aminoacídica de GLP-1 nativo (7-37) (sec. con núm. de ident.: 1).
166. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-165, en donde, para la determinación de una posición en un análogo que corresponde a una posición específica en GLP-1 nativo (7-37) (sec. con núm. de ident.: 1), la secuencia aminoacídica del análogo se compara con la secuencia aminoacídica de GLP-1 nativo(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1).
- 55 167. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-166, en donde la comparación de la secuencia aminoacídica del análogo con la de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se hace por simple escritura e inspección visual.
168. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-167, en donde la comparación de la secuencia aminoacídica del análogo con la de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se hace mediante el uso de un programa de alineamiento estándar de proteínas o péptidos.
- 60 169. El derivado de la modalidad 168, en donde el programa estándar de alineamiento es un alineamiento Needleman-Wunsch.
170. El derivado de cualquiera de las modalidades 168-169, en donde se usa la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.
- 65 171. El derivado de cualquiera de las modalidades 168-170, en donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.

172. El derivado de cualquiera de las modalidades 168-171, en donde la penalización del primer residuo en una interrupción es -10 (menos diez).
173. El derivado de cualquiera de las modalidades 168-172, en donde las penalizaciones de los residuos adicionales en una interrupción es -0,5 (menos coma cinco).
- 5 174. El derivado de cualquiera de las modalidades 168-173, en donde la posición correspondiente a cualquiera de las posiciones indicadas de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se identifica mediante escritura e inspección visual.
175. El derivado de cualquiera de las modalidades 168-173, en donde la posición correspondiente a cualquiera de las posiciones indicadas de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se identifica como se describe para la
10 posición 18 y la posición T en cualquiera de las modalidades 103-113.
176. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-175, que es un derivado de GLP-1(7-33) (aminoácidos 1-27 de sec. con núm. de ident.: 1).
177. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-175, que es un derivado de GLP-1(7-34) (aminoácidos 1-28 de sec. con núm. de ident.: 1).
- 15 178. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-175, que es un derivado de GLP-1(7-35) (aminoácidos 1-29 de sec. con núm. de ident.: 1).
179. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un máximo de once cambios de aminoácidos.
180. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un máximo de diez cambios de
20 aminoácidos.
181. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un máximo de nueve cambios de aminoácidos.
182. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un máximo de ocho cambios de aminoácidos.
- 25 183. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un máximo de siete cambios de aminoácidos.
184. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un máximo de seis cambios de aminoácidos.
185. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un máximo de cinco cambios
30 de aminoácidos.
186. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un máximo de cuatro cambios de aminoácidos.
187. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un máximo de tres cambios de aminoácidos.
- 35 188. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un máximo de dos cambios de aminoácidos.
189. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un mínimo de una modificación de aminoácidos.
190. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un mínimo de dos cambios de
40 aminoácidos.
191. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un mínimo de tres cambios de aminoácidos.
192. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un mínimo de cuatro cambios de aminoácidos.
- 45 193. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un mínimo de cinco cambios de aminoácidos.
194. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un mínimo de seis cambios de aminoácidos.
195. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un mínimo de siete cambios de
50 aminoácidos.
196. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un mínimo de ocho cambios de aminoácidos.
197. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un mínimo de nueve cambios de aminoácidos.
- 55 198. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un mínimo de diez cambios de aminoácidos.
199. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un mínimo de once cambios de aminoácidos.
200. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene un cambio de aminoácidos.
- 60 201. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene dos cambios de aminoácidos.
202. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene tres cambios de aminoácidos.
203. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene cuatro cambios de aminoácidos.
204. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene cinco cambios de aminoácidos.
- 65 205. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene seis cambios de aminoácidos.

206. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene siete cambios de aminoácidos.
 207. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene ocho cambios de aminoácidos.
 208. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene nueve cambios de aminoácidos.
 5 209. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene diez cambios de aminoácidos.
 210. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, en donde el análogo tiene once cambios de aminoácidos.
 211. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-210, en donde los cambios son, independientemente, sustituciones, adiciones y/o deleciones.
 212. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-210, en donde los cambios son, independientemente, sustituciones y/o deleciones.
 10 213. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-212, en donde los cambios son sustituciones.
 214. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-212, en donde los cambios son deleciones.
 215. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-214, en donde el análogo a) comprende un análogo de GLP-1 de la Fórmula I; y/o b) es un análogo de GLP-1 de la Fórmula I:

15 Fórmula I: Xaa₇-Xaa₈-Glu-Gly-Thr-Xaa₁₂-Thr-Ser-Asp-Xaa₁₆-Ser-Lys-Xaa₁₉-Xaa₂₀-Glu-Xaa₂₂-Xaa₂₃-Ala-Xaa₂₅-Xaa₂₆-Xaa₂₇-Phe-Ile-Xaa₃₀-Xaa₃₁-Leu-Xaa₃₃-Xaa₃₄-Xaa₃₅-Xaa₃₆-Xaa₃₇-Xaa₃₈,

en donde

- 20 Xaa₇ es L-histidina, imidazopropionilo, α-hidroxi-histidina, D-histidina, desamino-histidina, 2-amino-histidina, β-hidroxi-histidina, homohistidina, N^α-acetil-histidina, N^α-formil-histidina, α-fluorometil-histidina, α-metil-histidina, 3-piridilalanina, 2-piridilalanina, o 4-piridilalanina;
 25 Xaa₈ es Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Thr, Ser, Lys, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico, ácido (1-aminociclopentil) carboxílico, ácido (1-aminociclohexil) carboxílico, ácido (1-aminocicloheptil) carboxílico, o ácido (1-aminociclooctil) carboxílico;
 Xaa₁₂ es Phe o Leu;
 Xaa₁₆ es Val o Leu;
 Xaa₁₉ es Tyr o Gln;
 30 Xaa₂₀ es Leu o Met;
 Xaa₂₂ es Gly, Glu, Lys, o Aib;
 Xaa₂₃ es Gln, Glu, o Arg;
 Xaa₂₅ es Ala o Val;
 Xaa₂₆ es Val, His, Lys, o Arg;
 35 Xaa₂₇ es Glu, Leu, o Lys;
 Xaa₃₀ es Ala, Glu, Lys, o Arg;
 Xaa₃₁ es Trp, Lys, o His
 Xaa₃₃ es Val o Lys;
 Xaa₃₄ es Lys, Glu, Asn, Gly, Gln, Arg, His, o ausente;
 40 Xaa₃₅ es Gly, Aib, o ausente;
 Xaa₃₆ es Arg, Gly, Lys, o ausente;
 Xaa₃₇ es Gly, Ala, Glu, Pro, Lys, Arg, o ausente; y
 Xaa₃₈ es Ser, Gly, Ala, Glu, Pro, Lys, Arg, o ausente.
- 45 216. El derivado de la modalidad 215, en donde el péptido de la Fórmula I es un análogo de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1).
 217. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-216, en donde si Xaa₃₇ está ausente, entonces Xaa₃₈ también está ausente.
 218. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-217, en donde si Xaa₃₆ está ausente, entonces Xaa₃₇ y Xaa₃₈ también están ausentes.
 50 219. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-218, en donde si Xaa₃₅ está ausente, entonces Xaa₃₆, Xaa₃₇ y Xaa₃₈ también están ausentes.
 220. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-219, en donde si Xaa₃₄ está ausente, entonces Xaa₃₅, Xaa₃₆, Xaa₃₇ y Xaa₃₈ también están ausentes.
 55 221. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-220, en donde Xaa₇ es His o desamino-histidina (imidazopropionilo); Xaa₈ es Ala, Ser, o Aib; Xaa₁₂ es Phe o Leu; Xaa₁₆ es Val; Xaa₁₉ es Tyr; Xaa₂₀ es Leu; Xaa₂₂ es Gly, Glu, o Lys; Xaa₂₃ es Gln, Glu, o Arg; Xaa₂₅ es Ala o Val; Xaa₂₆ es Val, His, Lys, o Arg; Xaa₂₇ es Glu, Leu, o Lys; Xaa₃₀ es Ala, Glu, o Lys; Xaa₃₁ es Trp, Lys, o His; Xaa₃₃ es Val; Xaa₃₄ es Lys, Gly, Gln, Arg, His, o ausente; Xaa₃₅ es Gly o ausente; Xaa₃₆ es Arg o ausente; Xaa₃₇ es Gly, Lys, o ausente; y Xaa₃₈ está ausente.
 60 222. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-221, en donde Xaa₇ es His o desamino-histidina; Xaa₈ es Ala o Aib; Xaa₁₂ es Phe; Xaa₁₆ es Val; Xaa₁₉ es Tyr; Xaa₂₀ es Leu; Xaa₂₂ es Gly, Glu, o Lys; Xaa₂₃ es Gln, Glu, o Arg; Xaa₂₅ es Ala o Val; Xaa₂₆ es Val, His, Lys, o Arg; Xaa₂₇ es Glu, Leu, o Lys; Xaa₃₀ es Ala, Glu, o Lys; Xaa₃₁ es Trp, Lys, o His; Xaa₃₃ es Val; Xaa₃₄ es Lys, Gly, Gln, Arg, His, o ausente; Xaa₃₅ es Gly o ausente; Xaa₃₆ es Arg o ausente; Xaa₃₇ es Gly, Lys, o ausente; y Xaa₃₈ está ausente.
 65

223. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-222, en donde Xaa₇ es His o desamino-histidina; Xaa₈ es Ala o Aib; Xaa₁₂ es Phe; Xaa₁₆ es Val; Xaa₁₉ es Tyr o Gln; Xaa₂₀ es Leu; Xaa₂₂ es Gly o Glu; Xaa₂₃ es Gln; Xaa₂₅ es Ala o Val; Xaa₂₆ es Lys o Arg; Xaa₂₇ es Glu; Xaa₃₀ es Ala; Xaa₃₁ es Trp o Lys; Xaa₃₃ es Val; Xaa₃₄ es Lys, Gln, o Arg; Xaa₃₅ es Gly; Xaa₃₆ es Arg; Xaa₃₇ es Gly; y Xaa₃₈ está ausente.
- 5 224. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-223, en donde Xaa₇ es His.
225. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-223, en donde Xaa₇ es desamino-histidina (imidazopropionilo).
226. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-225, en donde Xaa₈ es Ala.
227. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-225, en donde Xaa₈ es Ser.
- 10 228. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-225, en donde Xaa₈ es Aib.
229. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-228, en donde Xaa₁₂ es Phe.
230. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-228, en donde Xaa₁₂ es Leu.
231. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-230, en donde Xaa₁₆ es Val.
232. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-231, en donde Xaa₁₉ es Tyr.
- 15 233. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-232, en donde Xaa₂₀ es Leu.
234. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-233, en donde Xaa₂₂ es Gly.
235. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-233, en donde Xaa₂₂ es Glu.
236. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-233, en donde Xaa₂₂ es Lys.
237. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-236, en donde Xaa₂₃ es Gln.
- 20 238. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-236, en donde Xaa₂₃ es Glu.
239. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-236, en donde Xaa₂₃ es Arg.
240. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-239, en donde Xaa₂₅ es Ala.
241. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-239, en donde Xaa₂₅ es Val.
242. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-241, en donde Xaa₂₆ es His.
- 25 243. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-241, en donde Xaa₂₆ es Lys.
244. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-241, en donde Xaa₂₆ es Arg.
245. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-244, en donde Xaa₂₇ es Glu.
246. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-244, en donde Xaa₂₇ es Leu.
247. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-244, en donde Xaa₂₇ es Lys.
- 30 248. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-247, en donde Xaa₃₀ es Ala.
249. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-247, en donde Xaa₃₀ es Glu.
250. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-247, en donde Xaa₃₀ es Lys.
251. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-250, en donde Xaa₃₁ es Trp.
252. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-250, en donde Xaa₃₁ es Lys.
- 35 253. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-250, en donde Xaa₃₁ es His.
254. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-253, en donde Xaa₃₃ es Val.
255. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-254, en donde Xaa₃₄ es Lys.
256. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-254, en donde Xaa₃₄ es Gly.
257. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-254, en donde Xaa₃₄ es Gln.
- 40 258. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-254, en donde Xaa₃₄ es Arg.
259. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-254, en donde Xaa₃₄ es His.
260. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-254, en donde Xaa₃₄ está ausente.
261. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-260, en donde Xaa₃₅ es Gly.
262. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-260, en donde Xaa₃₅ está ausente.
- 45 263. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-262, en donde Xaa₃₆ es Arg.
264. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-262, en donde Xaa₃₆ está ausente.
265. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-264, en donde Xaa₃₇ es Gly.
266. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-265, en donde Xaa₃₇ es Lys.
267. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-266, en donde Xaa₃₇ está ausente.
- 50 268. El derivado de cualquiera de las modalidades 215-267, en donde Xaa₃₈ está ausente.
269. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-268, en donde el análogo comprende los siguientes cambios de aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1):
- 8Aib, 18K, 34R; (ii) 8Aib, 18K, 34Q; (iii) 8Aib, 18K, 22E, 34R; (iv) 8Aib, 18K, 22E, 34Q; (v) 8Aib, 12L, 18K, 34Q;
- 55 (vi) 7Imp, 18K, 22E, 34Q; (vii) 18K, 34R; (viii) 18K, 34Q; (ix) 18K, 22E, 34R; (x) 18K, 22E, 34Q; (xi) 18K, 26R, 31K, 34R; (xii) 18K, 26H, 31K, 34R; (xiii) 18K, 26H, 27K, 34Q; (xiv) 18K, 22K, 26R, 34Q; (xv) 18K, 25V, 26R, 31K, 34R; (xvi) 18K, 22E, 26R, 31K, 34R; (xvii) 18K, 22E, 26H, 27K, 34R; (iix) 18K, 22E, 26H, 27K, 34Q; (ixx) 18K, 22E, 26H, 27K, 31H, 34R; (xx) 18K, 22E, 26H, 27K, 31H, 34Q; (xxi) 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34R; (xxii) 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34Q; (xxiii) 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G; (xxiv) 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 34R; (xxv) 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 34Q; (xxvi) 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 31H, 34R; (xxvii) 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 31H, 34Q; (iixxx) 18K, 22E, 23E, 25V, 26R, 27K, 34R; (ixxx) 18K, 22E, 23E, 25V, 26R, 27K, 34Q; (xxx) 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxii) 18K, 22E, 25V, 26R, 30K, 34G, des35-37; (xxxiii) 18K, 22E, 25V, 26R, 30K, 31H, 34G, des35-37; (xxxiv) 18K, 22E, 25V, 26R, 27L, 30K, 34G, des35-37; (xxxv) 18K, 22E, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxvi) 18K, 22E, 26R, 27K, 31H, 34G, des35-37; (xxxvii) 7Imp, 18K, 22E, 26R, 34R, 37K; (iixxxx) 7Imp, 18K, 22E, 26R, 27K, 31H, 34G, des35-37; (ixxxx) 7Imp, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxx) 7Imp, 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G,
- 65

des35-37; (xxxxi) 8S, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxxii) 8Aib, 18K, 26V, 27K, 34R; (xxxxiii) 8Aib, 18K, 26H, 30K, 34R, des36-37; (xxxxiv) 8Aib, 18K, 25V, 26R, 31K, 34R; (xxxxv) 8Aib, 18K, 22E, 34R, des36-37; (xxxxvi) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 34R, 37K; (xxxxvii) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 31K, 34R; (iixxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 31K, 34G, des35-37; (ixxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 30K, 34R, des36-37; (xxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 30K, 34R; (xxxxxi) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 27K, 31H, 34R, des36-37; (xxxxxii) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, des34-37; (xxxxxiii) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34R; (xxxxxiv) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxxv) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 30E, 31K, 34G, des35-37; (xxxxvi) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 27L, des35-37; (xxxxvii) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 34Q; (iixxxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 31H, 34G, des35-37; (ixxxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26H, 31K, 34G, des35-37; (xxxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 23R, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxxxi) 18K, 22E, 25V, 26R, 27L, 30K, 34G, des35-37; (xxxxxii) 7Imp, 18K, 22E, 26R, 27K, 34Q; (xxxxxiii) 8Aib, 18K, 34H; (xxxxxiv) 7Imp, 8Aib, 18K, 22E, 34Q; (xxxxxv) 7Imp, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34R; o (xxxxxvi) 8Aib, 18K, 19Q, 22E, 34Q.

270. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-269, en donde el análogo tiene los siguientes cambios de aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1):

8Aib, 18K, 34R; (ii) 8Aib, 18K, 34Q; (iii) 8Aib, 18K, 22E, 34R; (iv) 8Aib, 18K, 22E, 34Q; (v) 8Aib, 12L, 18K, 34Q; (vi) 7Imp, 18K, 22E, 34Q; (vii) 18K, 34R; (viii) 18K, 34Q; (ix) 18K, 22E, 34R; (x) 18K, 22E, 34Q; (xi) 18K, 26R, 31K, 34R; (xii) 18K, 26H, 31K, 34R; (xiii) 18K, 26H, 27K, 34Q; (xiv) 18K, 22K, 26R, 34Q; (xv) 18K, 25V, 26R, 31K, 34R; (xvi) 18K, 22E, 26R, 31K, 34R; (xvii) 18K, 22E, 26H, 27K, 34R; (iixx) 18K, 22E, 26H, 27K, 34Q; (ixx) 18K, 22E, 26H, 27K, 31H, 34R; (xx) 18K, 22E, 26H, 27K, 31H, 34Q; (xxi) 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34R; (xxii) 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34Q; (xxiii) 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxiv) 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 34R; (xxv) 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 34Q; (xxvi) 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 31H, 34R; (xxvii) 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 31H, 34Q; (iixxx) 18K, 22E, 23E, 25V, 26R, 27K, 34R; (ixxx) 18K, 22E, 23E, 25V, 26R, 27K, 34Q; (xxx) 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxi) 18K, 22E, 25V, 26R, 31H, des35-37; (xxxii) 18K, 22E, 25V, 26R, 30K, 34G, des35-37; (xxxiii) 18K, 22E, 25V, 26R, 30K, 31H, 34G, des35-37; (xxxiv) 18K, 22E, 25V, 26R, 27L, 30K, 34G, des35-37; (xxxv) 18K, 22E, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxvi) 18K, 22E, 26R, 27K, 31H, 34G, des35-37; (xxxvii) 7Imp, 18K, 22E, 26R, 34R, 37K; (iixxxx) 7Imp, 18K, 22E, 26R, 27K, 31H, 34G, des35-37; (ixxxx) 7Imp, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxx) 7Imp, 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxxi) 8S, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxxii) 8Aib, 18K, 26V, 27K, 34R; (xxxxiii) 8Aib, 18K, 26H, 30K, 34R, des36-37; (xxxxiv) 8Aib, 18K, 25V, 26R, 31K, 34R; (xxxxv) 8Aib, 18K, 22E, 34R, des36-37; (xxxxvi) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 34R, 37K; (xxxxvii) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 31K, 34R; (iixxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 31K, 34G, des35-37; (ixxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 30K, 34R, des36-37; (xxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 30K, 34R; (xxxxxi) 8Aib, 18K, 22E, 26R, 27K, 31H, 34R, des36-37; (xxxxxii) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, des34-37; (xxxxxiii) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34R; (xxxxxiv) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxxv) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 30E, 31K, 34G, des35-37; (xxxxvi) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 27L, des35-37; (xxxxvii) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 34Q; (iixxxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26R, 27K, 31H, 34G, des35-37; (ixxxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 25V, 26H, 31K, 34G, des35-37; (xxxxxx) 8Aib, 18K, 22E, 23R, 25V, 26R, 31K, 34G, des35-37; (xxxxxi) 18K, 22E, 25V, 26R, 27L, 30K, 34G, des35-37; (xxxxxii) 7Imp, 18K, 22E, 26R, 27K, 34Q; (xxxxxiii) 8Aib, 18K, 34H; (xxxxxiv) 7Imp, 8Aib, 18K, 22E, 34Q; (xxxxxv) 7Imp, 18K, 22E, 25V, 26R, 31K, 34R; o (xxxxxvi) 8Aib, 18K, 19Q, 22E, 34Q.

271. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-270, en donde el análogo se modifica para comprender una amida C-terminal.

272. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-271, en donde un grupo de ácido carboxílico del aminoácido C-terminal del análogo se convierte a amida de ácido carboxílico.

273. El derivado de la modalidad 272, en donde el grupo de ácido carboxílico que se convierte a amida de ácido carboxílico no está en la cadena lateral del aminoácido C-terminal.

274. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-270, en donde el análogo tiene un ácido carboxílico C-terminal.

275. Un compuesto, preferentemente de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-275, seleccionado de los siguientes: Quím. 20, Quím. 21, Quím. 22, Quím. 23, Quím. 24, Quím. 25, Quím. 26, Quím. 27, Quím. 28, Quím. 29, Quím. 30, Quím. 31, Quím. 32, Quím. 33, Quím. 34, Quím. 35, Quím. 36, Quím. 37, Quím. 38, Quím. 39, Quím. 40, Quím. 41, Quím. 42, Quím. 43, Quím. 44, Quím. 45, Quím. 46, Quím. 47, Quím. 48, Quím. 49, Quím. 50, Quím. 51, Quím. 52, Quím. 53, Quím. 54, Quím. 55, Quím. 56, Quím. 57, Quím. 58, Quím. 59, Quím. 60, Quím. 61, Quím. 62, Quím. 63, Quím. 64, Quím. 65, Quím. 66, Quím. 67, Quím. 68, Quím. 69, Quím. 70, Quím. 71, Quím. 72, Quím. 73, Quím. 74, Quím. 75, Quím. 76, o Quím. 77; o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster del mismo.

276. Un compuesto, preferentemente de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-275, seleccionado de los siguientes: Quím. 20, Quím. 21, Quím. 22, Quím. 23, Quím. 24, Quím. 25, Quím. 26, Quím. 27, Quím. 29, Quím. 30, Quím. 31, Quím. 32, Quím. 33, Quím. 34, Quím. 38, o Quím. 39; o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster del mismo.

277. Un compuesto caracterizado por su nombre y seleccionado de una lista de cada uno de los nombres de los compuestos de los Ejemplos 1-58 de la presente descripción; o una sal, amida o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

278. Un compuesto caracterizado por su nombre y seleccionado de una lista de cada uno de los nombres de los compuestos de los Ejemplos 1-8, 10-15 y 19-20 de la presente descripción; o una sal, amida o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.
279. El compuesto de la modalidad 277, que es un compuesto de la modalidad 275.
- 5 280. El compuesto de la modalidad 278, que es un compuesto de la modalidad 276.
281. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-280, que tiene actividad de GLP-1.
282. El derivado de la modalidad 281, en donde la actividad de GLP-1 se refiere a la capacidad de activar el receptor de GLP-1 humano.
283. El derivado de la modalidad 282, en donde la activación del receptor de GLP-1 humano se mide en un ensayo in vitro, como la potencia de la producción de cAMP.
- 10 284. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-283, que tiene una potencia correspondiente a un EC_{50}
- a) por debajo de 18000 pM, preferentemente por debajo de 10000 pM, con mayor preferencia por debajo de 5000 pM, incluso con mayor preferencia por debajo de 4000 pM, o con la máxima preferencia por debajo de 3000 pM;
- 15 b) por debajo de 2000 pM, preferentemente por debajo de 1200 pM, con mayor preferencia por debajo de 1000 pM, incluso con mayor preferencia por debajo de 800 pM, o con la máxima preferencia por debajo de 600 pM;
- c) por debajo de 400 pM, preferentemente por debajo de 300 pM, con mayor preferencia por debajo de 200 pM, incluso con mayor preferencia por debajo de 150 pM, o con la máxima preferencia por debajo de 100 pM; o
- 20 d) por debajo de 80 pM, preferentemente por debajo de 60 pM, con mayor preferencia por debajo de 50 pM, incluso con mayor preferencia por debajo de 40 pM, o con la máxima preferencia por debajo de 30 pM.
285. El derivado de la modalidad 284, en donde la potencia se determina como EC_{50} para la estimulación de la formación de cAMP en un medio que contiene el receptor de GLP-1 humano, preferentemente mediante el uso de una línea celular transfectada estable tal como BHK467-12A (tk-ts13), y/o mediante el uso de la determinación de cAMP de ensayo de receptor funcional, por ejemplo basado en la competencia entre cAMP formado endógenamente y el cAMP marcado con biotina añadido exógenamente, en cuyo cAMP del ensayo se captura con mayor preferencia mediante el uso de un anticuerpo específico, y/o en donde un ensayo incluso más preferido es el Ensayo de cAMP AlphaScreen, con la máxima preferencia uno de los descritos en el Ejemplo 59.
- 25 286. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-285, para el cual la relación [afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC_{50} en nM) en presencia de HSA al 2,0 % (albúmina alta), dividido por la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC_{50} en nM) en presencia de HSA al 0,005 % (albúmina baja)] es:
- 30 a) al menos 1, preferentemente al menos 10, con mayor preferencia al menos 20, incluso con mayor preferencia al menos 30, o con la máxima preferencia al menos 40;
- b) al menos 50, preferentemente al menos 60, con mayor preferencia al menos 70, incluso con mayor preferencia al menos 80, o con la máxima preferencia al menos 90;
- 35 c) al menos 100, preferentemente al menos 200, con mayor preferencia al menos 300, aún con mayor preferencia al menos 400, incluso con mayor preferencia al menos 500, o con la máxima preferencia al menos 600;
- 40 d) al menos 700, preferentemente al menos 800, con mayor preferencia al menos 900, aún con mayor preferencia al menos 1000, incluso con mayor preferencia al menos 1200, o con la máxima preferencia al menos 1400; o
- 45 e) al menos 1500, preferentemente al menos 1800, con mayor preferencia al menos 2000, aún con mayor preferencia al menos 2300, incluso con mayor preferencia al menos 2500, o con la máxima preferencia al menos 2800.
287. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-286, para el cual la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC_{50}) en presencia de HSA al 0,005 % (albúmina baja) está
- 50 a) por debajo de 1000 nM, preferentemente por debajo de 500 nM, con mayor preferencia por debajo de 100 nM, o con la máxima preferencia por debajo de 50 nM;
- b) por debajo de 10 nM, preferentemente por debajo de 8,0 nM, aún con mayor preferencia por debajo de 6,0 nM, incluso con mayor preferencia por debajo de 5,0 nM, o con la máxima preferencia por debajo de 2,00 nM;
- 55 c) por debajo de 1,00 nM, preferentemente por debajo de 0,50 nM, incluso con mayor preferencia por debajo de 0,25 nM, o con la máxima preferencia por debajo de 0,15 nM.
288. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-287, para el cual la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC_{50}) en presencia de HSA al 2,0 % (albúmina alta) está
- 60 a) por debajo de 1000 nM, preferentemente por debajo de 800 nM;
- b) por debajo de 700 nM, preferentemente por debajo de 500 nM, con mayor preferencia por debajo de 300 nM; o
- 65 c) por debajo de 200 nM, preferentemente por debajo de 100 nM, o con mayor preferencia por debajo de 50 nM.

289. El derivado de cualquiera de las modalidades 286-288, en donde la afinidad de unión al receptor de GLP-1 se mide mediante el desplazamiento de ^{125}I -GLP-1 del receptor, preferentemente mediante el uso de un ensayo de unión a SPA.
- 5 290. El derivado de la modalidad 289, en donde el receptor de GLP-1 se prepara mediante el uso de una línea celular estable, transfectada, preferentemente una línea celular de hámster, con mayor preferencia una línea celular de riñón de hámster bebé, tal como BHK tk-ts13.
291. El derivado de cualquiera de las modalidades 286-290, en donde el valor de IC_{50} se determina como la concentración que desplaza el 50 % de ^{125}I -GLP-1 del receptor.
- 10 292. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-291, que tiene una biodisponibilidad oral, preferentemente una biodisponibilidad oral absoluta, que es mayor que la de semaglutida.
293. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-292, que tiene una biodisponibilidad oral, preferentemente una biodisponibilidad oral absoluta, que es mayor que la de liraglutida.
294. El derivado de cualquiera de las modalidades 292-293, en donde la biodisponibilidad oral se mide in vivo en ratas, como exposición en plasma después de la inyección directa en el lumen intestinal.
- 15 295. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-294, para el cual la concentración plasmática (pM) del derivado, determinada 30 minutos después de la inyección de una solución del derivado en el yeyuno de rata, dividido por la concentración (μM) de la solución inyectada (exposición corregida para dosis a los 30 min) es
- 20 a) al menos 20, preferentemente al menos 40, con mayor preferencia al menos 45, incluso con mayor preferencia al menos 50, o con la máxima preferencia al menos 60; o
- b) al menos 70, preferentemente al menos 80, o con la máxima preferencia al menos 100.
296. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-295, para el cual la concentración plasmática (pM) del derivado, determinada 30 minutos después de la inyección de una solución del derivado en el yeyuno de rata, dividida por la concentración (μM) de la solución inyectada (exposición corregida para dosis a los 30 min) es al
- 25 menos 110, preferentemente al menos 120, con mayor preferencia al menos 130, aún con mayor preferencia al menos 140, incluso con mayor preferencia al menos 150, o con la máxima preferencia al menos 160.
297. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-296, para el cual la concentración plasmática (pM) del derivado, determinada 30 minutos después de la inyección de una solución del derivado en el yeyuno de rata, dividida por la concentración (μM) de la solución inyectada (exposición corregida para dosis a los 30 min) es al
- 30 menos 180, preferentemente al menos 190, con mayor preferencia al menos 200, aún con mayor preferencia al menos 210, incluso con mayor preferencia al menos 220, o con la máxima preferencia al menos 230.
298. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-297, para el cual la concentración plasmática (pM) del derivado, determinada 30 minutos después de la inyección de una solución del derivado en el yeyuno de rata, dividida por la concentración (μM) de la solución inyectada (exposición corregida por dosis a los 30 min) es al
- 35 menos 240, preferentemente al menos 250, con mayor preferencia al menos 260, o con la máxima preferencia al menos 270.
299. El derivado de cualquiera de las modalidades 292-298, en donde el derivado de GLP-1 se analiza a una concentración de 1000 μM en una solución de 55 mg/ml de caprato de sodio.
- 40 300. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-294, para el cual el AUC de la curva de exposición a plasma (es decir, concentración plasmática en pM frente a tiempo) corregida para dosis (es decir, dividido por la dosis en pmol del derivado inyectado) desde el tiempo de 30 a 180 min se determina (es decir, el resultado se indica en (min x pM / pmol) o simplemente en min/L).
- 45 301. El derivado de la modalidad 300, en donde el AUC de la curva de exposición en plasma corregida para dosis es
- a) al menos 50, preferentemente al menos 100, o con mayor preferencia al menos 150 min/L;
- b) al menos 200, preferentemente al menos 250, con mayor preferencia al menos 300, o con la máxima preferencia al menos 320 min/L; o
- 50 c) al menos 1,5 veces, preferentemente al menos 2 veces, con mayor preferencia al menos 3 veces, o con la máxima preferencia al menos 4 veces el valor correspondiente de AUC para semaglutida.
302. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-293, en donde la biodisponibilidad oral se mide in vivo en ratas, como exposición en plasma después de la alimentación por sonda gástrica.
303. El derivado de la modalidad 302, para el cual el AUC de la curva de exposición en plasma (es decir, concentración plasmática en pM frente a tiempo) corregida para dosis (es decir, dividida por la dosis en pmol del derivado inyectado) desde el tiempo de 30 a 180 min se determina (es decir, el resultado puede indicarse en (min x pM / pmol) o simplemente en min/L).
- 55 304. El derivado de la modalidad 303, en donde el AUC de la curva de exposición en plasma corregida para dosis es
- a) al menos 10, preferentemente al menos 20, o con mayor preferencia al menos 30 min/L;
- 60 b) al menos 40, preferentemente al menos 50, con mayor preferencia al menos 60, o con la máxima preferencia al menos 70 min/L; o
- c) al menos 1,5 veces, preferentemente al menos 2 veces, con mayor preferencia al menos 3 veces, o con la máxima preferencia al menos 4 veces el valor correspondiente de AUC para semaglutida.

305. El derivado de cualquiera de las modalidades 300-304, en donde el derivado de GLP-1 se analiza en una concentración de aproximadamente 1000 uM en una solución de 250 mg/ml de *N*-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]caprilato de sodio (SNAC).
- 5 306. El derivado de cualquiera de las modalidades 292-305, en donde se usan ratas machos Sprague Dawley, preferentemente con un peso corporal a la llegada de aproximadamente 240 g.
307. El derivado de cualquiera de las modalidades 292-306, en donde las ratas ayunan durante aproximadamente 18 horas antes del experimento.
308. El derivado de cualquiera de las modalidades 292-307, en donde las ratas están y se toman en anestesia general después de haber ayunado y antes de la inyección del derivado en el yeyuno, o la alimentación por sonda gástrica, respectivamente.
- 10 309. El derivado de cualquiera de las modalidades 292-308, en donde para la inyección en el lumen intestinal el derivado se administra en la parte proximal del yeyuno (10 cm distal para el duodeno) o en el intestino medio (50 cm proximal para el ciego), preferentemente en la parte proximal del yeyuno.
- 15 310. El derivado de cualquiera de las modalidades 292-309, en donde 100 µl del derivado se inyecta en el lumen del yeyuno a través de un catéter con una jeringa de 1 ml y posteriormente 200 µl de aire se empuja en el lumen del yeyuno con otra jeringa, que después se deja conectado al catéter para evitar el flujo de regreso en el catéter.
311. El derivado de cualquiera de las modalidades 292-310, en donde las muestras de sangre (200 µl) se recolectan en tubos con EDTA a partir de la vena caudal a intervalos deseados, tales como en los tiempos 0, 10, 30, 60, 120 y 240 min y se centrifugan durante 5 minutos, 10 000 G, a 4°C en 20 minutos.
- 20 312. El derivado de cualquiera de las modalidades 292-311, en donde el plasma (por ejemplo, 75 µl) se separa, se congela inmediatamente y se mantiene a -20 °C hasta que se analiza la concentración plasmática del derivado.
313. El derivado de cualquiera de las modalidades 292-312, en donde se usa el LOCI (Ensayo Luminescente de Canalización de Oxígeno) para analizar la concentración plasmática del derivado.
- 25 314. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-313, en donde el derivado es eficaz a menor glucosa en sangre in vivo en ratones db/db.
315. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-314, en donde el derivado es eficaz a menor peso corporal in vivo en ratones db/db.
- 30 316. El derivado de cualquiera de las modalidades 314-316, en donde los ratones db/db se tratan, s.c., con un intervalo adecuado de dosis del derivado de GLP-1 y la glucosa en sangre y/o el peso corporal se determina(n) a intervalos apropiados.
317. El derivado de cualquiera de las modalidades 313-316, en donde la dosis del derivado de GLP-1 es 0,3 nmol/kg, 1,0 nmol/kg, 3,0 nmol/kg, 10 nmol/kg, 30 nmol/kg y 100 nmol/kg, en donde kg se refiere al peso corporal del ratón.
- 35 318. El derivado de cualquiera de las modalidades 313-317, en donde un grupo de control se trata con vehículo, s.c., preferentemente el medio en el cual el derivado de GLP-1 se disuelve, por ejemplo con la siguiente composición: fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, tween 80 al 0,05 %, pH 7,4.
319. El derivado de cualquiera de las modalidades 313-318, en donde la glucosa en sangre se determina, y/o los ratones se pesan, en un tiempo de -½h (media hora antes de la dosificación (t=0)) y en los tiempos 1, 2, 4 y 8h.
- 40 320. El derivado de cualquiera de las modalidades 313-319, en donde la concentración de glucosa se mide mediante el uso del método de la glucosa oxidasa.
321. El derivado de cualquiera de las modalidades 313-320, en donde
- 45 (i) ED₅₀ (peso corporal (BW)) se calcula como la dosis que da lugar al efecto semimáximo sobre delta BW (por ejemplo, disminuye) 8 horas después de la administración subcutánea del derivado; y/o
- (ii) ED₅₀ (la glucosa en sangre (BG)) se calcula como la dosis que da lugar al efecto semimáximo sobre AUC (Área Bajo la Curva) de delta BG (por ejemplo, disminuye) 8 horas y/o 24 horas después de la administración subcutánea del análogo.
- 50 322. El derivado de cualquiera de las modalidades 313-321, en donde existe relación sigmoideal de respuesta a dosis, preferentemente con una clara definición de la respuesta máxima.
323. El derivado de cualquiera de las modalidades 313-322, en donde ED₅₀ (BG) a 8 horas está por debajo de 5,0 nmol/kg, preferentemente por debajo de 4,0 nmol/kg, con mayor preferencia por debajo de 3,0 nmol/kg, incluso con mayor preferencia por debajo de 2,0 nmol/kg, o con la máxima preferencia por debajo de 1,0 nmol/kg.
- 55 324. El derivado de cualquiera de las modalidades 313-323, en donde ED₅₀ (BW) a las 8 horas es
- a) por debajo de 10, nmol/kg, preferentemente por debajo de 8 nmol/kg, incluso con mayor preferencia por debajo de 6,0 nmol/kg, o con la máxima preferencia por debajo de 5,0 nmol/kg; o
- 60 b) por debajo de 4,0 nmol/kg, preferentemente por debajo de 3,0 nmol/kg, incluso con mayor preferencia por debajo de 2,0 nmol/kg, o con la máxima preferencia por debajo de 1,0 nmol/kg.
325. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-324 que, en un estudio PD en cerdos, reduce la ingesta de alimentos en el día 1, 2, 3 y/o 4 después de la administración s.c. de una dosis única del derivado, en comparación con un grupo de control tratado con vehículo.
- 65 326. El derivado de la modalidad 325, en donde el estudio se realiza y los datos se compilan y analizan como se describe en el Ejemplo 64.

327. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-326, que tiene un perfil de acción más prolongado que liraglutida.
328. El derivado de la modalidad 327, en donde la prolongación significa vida media in vivo en especies relevantes de animales, tales como ratones db/db, rata, cerdo y/o, preferentemente, minicerdo; en donde el derivado se administra i) s.c. y/o ii) i.v.; preferentemente ii) i.v.
- 5 329. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-328, en donde la vida media terminal ($T_{1/2}$) después de la administración i.v. en rata es mayor que la de semaglutida.
330. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-329, en donde la vida media terminal ($T_{1/2}$) después de la administración i.v. en rata es al menos dos veces la vida media terminal de semaglutida.
- 10 331. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-330, en donde la vida media terminal ($T_{1/2}$) después de la administración i.v. en rata es al menos tres veces la vida media terminal de semaglutida.
332. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-331, en donde la vida media terminal ($T_{1/2}$) después de la administración i.v. en rata es al menos cuatro veces la vida media terminal de semaglutida.
- 15 333. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-332, en donde la vida media terminal ($T_{1/2}$) después de la administración i.v. en rata es al menos cinco veces la vida media terminal de semaglutida.
334. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-333, en donde la vida media se determina en estudios farmacocinéticos in vivo en rata, por ejemplo como se describe en el Ejemplo 65.
335. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-334, en donde la vida media terminal ($T_{1/2}$) después de la administración i.v. en minicerdos es
- 20 a) al menos 8 horas, preferentemente al menos 16 horas, con mayor preferencia al menos 24 horas, incluso con mayor preferencia al menos 32 horas, o con la máxima preferencia al menos 40 horas; o
- b) al menos 50 horas, preferentemente al menos 58 horas, con mayor preferencia al menos 70 horas, incluso con mayor preferencia al menos 80 horas, o con la máxima preferencia al menos 84 horas.
- 25 336. El derivado de la modalidad 335, en donde los minicerdos son minicerdos machos Göttingen.
337. El derivado de cualquiera de las modalidades 335-336, en donde los minicerdos tienen 7-14 meses de edad y pesan, preferentemente, de 16-35 kg.
- 30 338. El derivado de cualquiera de las modalidades 335-337, en donde los minicerdos se alojan individualmente y se alimentan una o dos veces al día, preferentemente con dieta para minicerdo SDS.
339. El derivado de cualquiera de las modalidades 335-338, en donde el derivado se dosifica, i.v., después de al menos 2 semanas de aclimatación.
- 35 340. El derivado de cualquiera de las modalidades 335-339, en donde los animales se someten a ayuno durante aproximadamente 18 h antes de la dosificación y durante al menos 4 h después de la dosificación y tienen acceso ad libitum al agua durante todo el período.
341. El derivado de cualquiera de las modalidades 335-340, en donde el derivado de GLP-1 se disuelve en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, tween 80 al 0,05 %, pH 7,4 a una concentración adecuada, preferentemente de 20-60 nmol/ml.
- 40 342. El derivado de cualquiera de las modalidades 335-341, en donde inyecciones intravenosas del derivado se dan en un volumen correspondiente a 1-2 nmol/kg.
343. Un producto intermedio en la forma de un análogo de GLP-1 que comprende los siguientes cambios en comparación con GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1): (a) 7Imp, 8Aib, 18K, 22E, 34Q; (b) 7Imp, 18K, 22E 25V, 26R, 31K, 34R; o (c) 8Aib, 18K, 19Q, 22E, 34Q; o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster de cualquiera de los análogos de (a)-(c).
- 45 344. Un producto intermedio en la forma de un análogo de GLP-1 seleccionado de los siguientes análogos de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1): (a) 7Imp, 8Aib, 18K, 22E, 34Q; (b) 7Imp, 18K, 22E 25V, 26R, 31K, 34R; o (c) 8Aib, 18K, 19Q, 22E, 34Q; o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster de cualquiera de los análogos de (a)-(c).
345. El análogo de cualquiera de las modalidades 343-344, que comprende una amida C-terminal.
- 50 346. El análogo de cualquiera de las modalidades 343-345, en donde un grupo de ácido carboxílico del aminoácido C-terminal del análogo se convierte en amida de ácido carboxílico.
347. El análogo de la modalidad 346, en donde el grupo de ácido carboxílico que se convierte en amida de ácido carboxílico no está en la cadena lateral del aminoácido C-terminal.
348. El análogo de cualquiera de las modalidades 343-344, que comprende un ácido carboxílico C-terminal.
- 55 349. El análogo de cualquiera de las modalidades 343-348, en donde la comparación con GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se hace por simple escritura e inspección visual.
350. El análogo de cualquiera de las modalidades 343-349, en donde la comparación con GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1) se hace mediante el uso de un programa de alineamiento de proteínas o péptidos estándar.
351. El análogo de la modalidad 350, en donde el programa estándar de alineamiento es un alineamiento de Needleman-Wunsch.
- 60 352. El análogo de cualquiera de las modalidades 350-351, en donde se usa la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.
353. El análogo de cualquiera de las modalidades 350-352, en donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.
- 65 354. El análogo de cualquiera de las modalidades 350-353, en donde la penalización para el primer residuo en una interrupción es -10 (menos diez).

355. El análogo de cualquiera de las modalidades 350-354, en donde las penalizaciones de los residuos adicionales en una interrupción es -0,5 (menos coma cinco).

356. Un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-342, para el uso como un medicamento.

357. Un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-342, para el uso en el tratamiento y/o prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos alimenticios, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedades críticas, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar parámetros lipídicos, mejorar la función de las células-β y/o para retardar o evitar la progresión de la enfermedad diabética.

358. Uso de un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-342 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos alimenticios, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedades críticas, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar parámetros lipídicos, mejorar la función de las células-β, y/o para retardar o evitar la progresión de la enfermedad diabética.

359. Un método para tratar o evitar todas las formas de diabetes and enfermedades relacionadas, tales como trastornos alimenticios, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedades críticas, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar parámetros lipídicos, mejorar la función de las células-β, y/o para retardar o evitar la progresión de la enfermedad diabética - mediante la administración de una cantidad farmacéuticamente activa de un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-342.

Modalidades particulares adicionales

Las siguientes (A) son modalidades particulares adicionales de la invención:

A

1. Un derivado de un análogo de GLP-1,

cuyo análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 18 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1), un segundo residuo K en otra posición y un máximo de doce modificaciones de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37),

cuyo derivado comprende dos porciones de prolongación unidas a dicho residuo K primero y segundo, respectivamente, mediante un conector, en donde la porción de prolongación se selecciona de Quím. A, Quím. B y Quím. C:

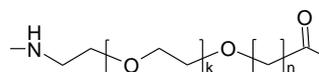
Quím. A: HOOC-(CH₂)_x-CO-
Quím. B: R¹-CO-C₆H₄-O-(CH₂)_y-CO-

Quím. C: R²-C₆H₄-(CH₂)_z-CO-,

en el que x es un número entero en el intervalo de 6-18 y es un número entero en el intervalo de 3-11, z es un número entero en el intervalo de 1-5, R¹- es -OH y R² es un grupo que tiene una masa molar no mayor que 150 Da;

y el conector comprende

Quím. D:



en donde k es un número entero en el intervalo de 1-5 y n es un número entero en el intervalo de 1-5;

o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster del mismo.

2. El derivado de la modalidad 1, en donde Quím. D es un primer elemento conector.

3. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-2, en donde k es 1.

4. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-3, en donde n es 1.

5. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-4, en donde Quím. D se incluye m veces, en donde m es un número entero en el intervalo de 1-10.

6. El derivado de la modalidad 5, en donde m es un número entero en el intervalo de 1-6; preferentemente m es 1, 2, 4, o 6; con mayor preferencia m es 1, 2, o 4; incluso con mayor preferencia m es 1 o 4; o con la máxima preferencia m es 2.

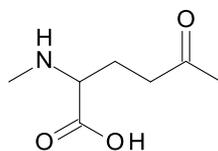
7. El derivado de cualquiera de las modalidades 5-6, en donde, cuando m es diferente de 1, los elementos de Quím. 4 se interconectan mediante enlace(s) amida.

8. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-7, en donde el conector comprende además un segundo elemento conector.

9. El derivado de la modalidad 8, en donde el segundo elemento conector es

Quím. E:

5



10

10. El derivado de la modalidad 9, en donde Quím. E se incluye p veces, en donde p es un número entero en el intervalo de 1-3.

11. El derivado de la modalidad 10, en donde p es 1, 2, o 3; preferentemente 2 o 3, o con la máxima preferencia 1.

15

12. El derivado de cualquiera de las modalidades 9-11, en donde Quím. E es un radical de L-Glu o D-Glu, preferentemente de L-Glu.

13. El derivado de cualquiera de las modalidades 10-12, en donde, cuando p es diferente de 1, los elementos del Quím. E se interconectan mediante enlace(s) amida.

14. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-13, en donde el conector comprende además un tercer elemento conector.

20

15. El derivado de la modalidad 14, en donde el tercer elemento conector es

Quím. F: $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_q-\text{CHR}^3-\text{CO}-$,

en el que q es un número entero en el intervalo de 2-12 y R^3 es amino (NH_2).

25

16. El derivado de la modalidad 15, en donde q es 4, 6, o 10.

17. El derivado de cualquiera de las modalidades 15-16, en donde Quím. F es un radical de lisina.

18. El derivado de la modalidad 17, en donde el grupo amino convertido en radical está en la posición épsilon.

Otras modalidades particulares adicionales

30

Los siguientes (B) son otras modalidades particulares adicionales de la invención:

B

35

8. Un derivado de un análogo de GLP-1, cuyo análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 18 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1), un segundo residuo K en otra posición y un máximo de doce cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37),

40

cuyo derivado comprende dos porciones de prolongación unidas a dicho residuo K primero y segundo, respectivamente, mediante un conector, en donde la porción de prolongación se selecciona de Quím. A, Quím. B y Quím. C:

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

45

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

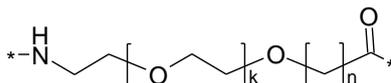
Quím. C: $\text{R}^2-\text{C}_6\text{H}_4-(\text{CH}_2)_z-\text{CO}-^*$,

50

en el que x es un número entero en el intervalo de 6-18 y es un número entero en el intervalo de 3-17, z es un número entero en el intervalo de 1-5 y R^2 es un grupo que tiene una masa molar no mayor que 150 Da; y el conector comprende

Quím. D:

55



en donde k es un número entero en el intervalo de 1-5 y n es un número entero en el intervalo de 1-5; o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster del mismo.

60

9. El derivado de cualquiera de las modalidades 1 y 4-8, en donde Quím. D es un primer elemento conector.

10. El derivado de la modalidad 9, en donde k es 1.

11. El derivado de cualquiera de las modalidades 9-10, en donde n es 1.

12. El derivado de cualquiera de las modalidades 9-11, en donde Quím. D se incluye m veces, en donde m es un número entero en el intervalo de 1-10.

65

13. El derivado de la modalidad 12, en donde m es un número entero en el intervalo de 1-6.

14. El derivado de cualquiera de las modalidades 12-13, en donde m es 1, 2, 4, o 6.
 15. El derivado de cualquiera de las modalidades 12-14, en donde m es 1.
 16. El derivado de cualquiera de las modalidades 12-14, en donde m es 2.
 17. El derivado de cualquiera de las modalidades 12-14, en donde m es 4.
 5 18. El derivado de cualquiera de las modalidades 12-14, en donde m es 6.
 19. El derivado de cualquiera de las modalidades 12-14 y 16-18, en donde, cuando m es diferente de 1, los elementos del Quím. D se interconectan mediante enlace(s) amida.
 20. El derivado de cualquiera de las modalidades 8-19, en donde el conector comprende un segundo elemento conector opcional.
 10 21. El derivado de la modalidad 20, en donde el segundo elemento conector se selecciona de Quím. E1 y Quím. E2:

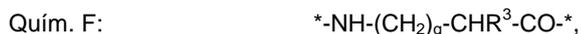
Quím. E1:



25 Quím. E2:



22. El derivado de cualquiera de las modalidades 20-21, en donde el segundo elemento conector es Quím. E1.
 23. El derivado de la modalidad 22, en donde Quím. E1 se incluye p veces, en donde p es 0, o un entero en el intervalo de 1-3.
 40 24. El derivado de la modalidad 23, en donde p es 0.
 25. El derivado de la modalidad 23, en donde p es 1.
 26. El derivado de la modalidad 23, en donde p es 2.
 27. El derivado de la modalidad 23, en donde p es 3.
 45 28. El derivado de cualquiera de las modalidades 21-27, en donde Quím. E1 es un radical doble de L-Glu o D-Glu.
 29. El derivado de la modalidad 28, en donde Quím. E1 es un radical doble de L-Glu.
 30. El derivado de cualquiera de las modalidades 23-29, en donde, cuando p es diferente de 0 y diferente de 1, los elementos del Quím. E1 se interconectan mediante enlace(s) amida.
 31. El derivado de cualquiera de las modalidades 23-30, en donde el conector comprende un tercer elemento conector opcional.
 50 32. El derivado de la modalidad 31, en donde el tercer elemento conector es



en el que q es un número entero en el intervalo de 2-12 y R^3 es amino (NH_2).

- 55 33. El derivado de la modalidad 32, en donde q es 4.
 34. El derivado de la modalidad 32, en donde q es 6.
 35. El derivado de la modalidad 32, en donde q es 10.
 36. El derivado de cualquiera de las modalidades 32-35, en donde R^3 es amino (NH_2).
 37. El derivado de cualquiera de las modalidades 32-37, en donde Quím. F es un radical doble de lisina.

60 La combinación de cualquiera de las modalidades A o B anteriores con cualquiera de las MODALIDADES PARTICULARES 1-359 enumeradas anteriormente se incorpora específicamente en el presente.

Ejemplos

65

Esta parte experimental comienza con una lista de abreviaturas y le continúa una sección que incluye los métodos generales para sintetizar y caracterizar los análogos y derivados de la invención. Después le continúa una serie de ejemplos que se relacionan con la preparación de derivados de GLP-1 específicos y al final se ha incluido una serie de ejemplos relacionados con la actividad y las propiedades de estos análogos y derivados (sección titulada métodos farmacológicos).

Los ejemplos sirven para ilustrar la invención.

Lista de abreviaturas

10	Aib:	α ácido aminoisobutírico
	API:	Ingrediente farmacéutico activo
	AUC:	Área bajo la curva
	BG:	Glucosa en sangre
15	BHK	Riñón de Hámster Bebé
	BW:	Peso Corporal
	Boc:	<i>t</i> -butiloxicarbonilo
	Bom:	benciloximetilo
	BSA:	Albúmina sérica bovina
20	Bzl:	bencilo
	CAS:	Servicio de Resúmenes Químicos
	Cl:	2-clorotritilo
	colidina:	2,4,6-trimetilpiridina
	DCM:	diclorometano
25	Dde:	1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilideno)etilo
	DesH:	des-amino histidina (puede referirse, además, a ácido imidazopropiónico, Imp)
	DIC:	diisopropilcarbodiimida
	DIPEA:	diisopropiletilamina
	DMEM:	Medio de Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM)
30	EDTA:	ácido etilendiaminatetraacético
	EGTA:	ácido etilen glicol tetraacético
	FCS:	Suero de Ternera Fetal
	Fmoc:	9-fluorenilmetiloxicarbonilo
	HATU:	(O-(7-azabenzotriazol-1-ilo)-1,1,3,3-tetrametiluronio hexafluorofosfato)
35	HBTU:	(2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3 tetrametiluronio hexafluorofosfato)
	HEPES:	Ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico
	HFIP:	1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol o hexafluoroisopropanol
	HOAt:	1-hidroxi-7-azabenzotriazol
	HOBt:	1-hidroxibenzotriazol
40	HPLC:	Cromatografía líquida de alto rendimiento
	HSA:	Albúmina sérica humana
	IBMX:	3-isobutil-1-metilxantina
	Imp:	Ácido imidazopropiónico (también denominado como des-amino histidina, DesH)
	i.v.	por vía intravenosa
45	ivDde:	1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilideno)-3-metilbutilo
	IVGTT:	Prueba de Tolerancia a Glucosa Intravenosa
	LCMS:	Cromatografía líquida Espectroscopía de masas
	LYD:	Landrace Yorkshire Duroc
	MALDI-MS:	Ver MALDI-TOF MS
50		MALDI-TOF MS: Espectroscopía de masas de tiempo de vuelo de Desorción/Ionización láser asistida por matriz
	MeOH:	metanol
	Mmt:	4-metoxitritilo
	Mtt:	4-metiltritilo
55	NMP:	N-metil pirrolidona
	OBz:	éster de benzoilo
	OEG:	ácido 8-amino-3,6-dioxaoctánico
	OPfp:	pentafluorofenoxi
	OPnp:	para-nitrofenoxi
60	OSu:	Ésteres de O-succinimidilo (ésteres de hidroxisuccinimida)
	OtBu:	éster terc butílico
	Pbf:	2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo
	PBS:	Solución salina tamponada con fosfato
	PD:	Farmacodinámica
65	Pen/Strep:	Penicilina/Estreptomina
	PK:	Farmacocinética

	RP:	Fase inversa
	RP-HPLC:	Cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa
	RT:	Temperatura ambiente
	RT:	Tiempo de retención
5	s.c.:	Vía subcutánea
	SD:	Desviación estándar
	SEC-HPLC:	Cromatografía Líquida de Alta Resolución de Exclusión de Tamaño
	SEM:	Error estándar de la media
	SPA:	Ensayo de Proximidad por Centelleo
10	SPPS:	Síntesis de péptidos en fase sólida
	tBu:	terc butilo
	TFA:	ácido trifluoroacético
	TIS:	triisopropilsilano
	TLC:	Cromatografía de Capa Delgada
15	Tos:	tosilato (o pare-toluenosulfonilo)
	Tris:	tris(hidroximetil)aminometano o 2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol
	Trt:	trifenilmetilo (trilito)
	Trx:	ácido tranexámico
20	UPLC:	Cromatografía líquida de ultra rendimiento

Materiales y Métodos

Materiales

- 25 Ácido N- α ,N- β -Di-Fmoc-L-2,3-Diaminopropiónico(CAS 201473-90-7)
 Ácido 3,5-Di-tert-butil-4-hidroxibenzóico (CAS 1421-49-4)
 Ácido 3,5-Di-tert-butilbenzóico (CAS 16225-26-6)
 Ácido Fmoc-8-amino-3,6-dioxaoctanóico (CAS 166108-71-0)
- 30 Ácido 17-(9-Fluorenilmetiloxycarbonil-amino)-9-aza-3,6,12,15-tetraoxa-10-on-heptadecanóico (IRIS Biotech GmbH)
 Ácido Fmoc-L-Glutámico 1-tert-butil éster (CAS 84793-07-7)
 Ácido 2-(2-Methoxyethoxy)acético (CAS 16024-56-9)
 N- α ,N- ϵ -Bis(9-fluorenilmetiloxycarbonilo)-L-lisina (CAS 78081-87-5)
 Ácido 1-[(9H-fluoren-9-ilmethoxy)carbonil]piperidina-4-carboxílico (CAS 148928-15-8)
- 35 Ácido FMOC-8-Aminocaprilo (CAS 126631-93-4)
 Ácido 4-fenilbutírico (CAS 1716-12-7)
 Ácido 4-(4-Nitrofenil)butírico (CAS 5600-62-4)
 Ácido 4-(4-clorofenilo)butírico (CAS 4619-18-5)
 Ácido FMOC-6-Aminohexanóico (CAS 88574-06-5)
- 40 Ácido FMOC-12-Aminododecanóico (CAS 128917-74-8)
 Ácido 4-(9-carboxi-noniloxi)-benzóico *tert*-butil éster (preparado como se describió en el Ejemplo 25, etapa 1 y 2 de WO 2006/082204)
 Ácido 4-(8-Carboxi-octiloxi)-benzóico *tert*-butil éster (M.p.: 71-72 °C).
- 45 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , \square_{H}): 7,93 (d, J=8,9 Hz, 2 H); 6,88 (d, J=8,9 Hz, 2 H); 4,00 (t, J=6,4 Hz, 2 H); 2,36 (t, J=7,4 Hz, 2 H); 1,80 (m, 2 H); 1,65 (m, 2 H); 1,59 (s, 9 H); 1,53-1,30 (m, 8 H) (preparado como se describió en el Ejemplo 25, etapa 1 y 2 de WO 2006/082204, reemplazando metil 10-bromodecanoato con etil 9-Bromononanoato (CAS 28598-81-4))
- 50 Ácido 4-(7-Carboxi-heptiloxi)-benzóico *tert*-butil éster (^1H NMR espectro (300 MHz, CDCl_3 , \square_{H}): 7,93 (d, J=9,0 Hz, 2 H); 6,88 (d, J=9,0 Hz, 2 H); 4,00 (t, J=6,5 Hz, 2 H); 2,37 (t, J=7,4 Hz, 2 H); 1,80 (m, 2 H); 1,64 (m, 2 H); 1,59 (s, 9 H); 1,53-1,33 (m, 6 H)) (preparado como se describió en el Ejemplo 25, etapa 1 y 2 de WO 2006/082204, reemplazando metil 10-bromodecanoato con etil 7-bromoheptanoato (CAS 29823-18-5))

55 Métodos químicos

Esta sección se divide en dos: La sección A que se relaciona con los métodos generales (de preparación (A1) y de detección y caracterización (A2)) y la sección B, en la que se describe la preparación y caracterización de varios compuestos de ejemplos específicos.

- 60 A. Métodos generales
- A1. Métodos de preparación
- 65 Esta sección se refiere a métodos para la síntesis de péptidos en fase sólida (métodos SPPS, que incluyen métodos para la desprotección de aminoácidos, métodos para escindir el péptido de la resina y para su purificación), así

como también métodos para detectar y caracterizar el péptido resultante (métodos de LCMS, MALDI y UPLC). La síntesis de los péptidos en fase sólida puede mejorarse en algunos casos mediante el uso de dipéptidos protegidos en el enlace amida del dipéptido con un grupo que puede escindirse en condiciones ácidas tales como, pero sin limitarse a, 2-Fmoc-oxi-4-metoxibencilo o 2,4,6-trimetoxibencilo. En los casos en que está presente una serina o una treonina en el péptido, pueden usarse dipéptidos de pseudoprolina (disponibles de, por ejemplo, Novobiochem, ver además W.R. Sampson (1999), J. Pep. Sci. 5, 403). Los derivados de aminoácidos protegidos con Fmoc usados fueron el estándar recomendado: Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, o Fmoc-Val-OH etc. disponibles de, por ejemplo Anaspec, Bachem, Iris Biotech, o NovabioQuím. Si no se especifica nada más, se usa la forma L natural de los aminoácidos. El aminoácido N-terminal se protegió con Boc en el grupo alfa amino (por ejemplo, se usó Boc-His(Boc)-OH, o Boc-His(Trt)-OH para los péptidos con His en el N-terminal). En el caso de la unión de la porción de unión a albúmina modular mediante el uso de SPPS, se usaron los siguientes bloques de construcción adecuadamente protegidos tales como, pero sin limitarse a ácido Fmoc-8-amino-3,6-dioxaoctanoico, ácido Fmoc-tranexámico, Fmoc-Glu-OtBu, ácido octadecanodioico mono- se usaron éster terc-butílico, éster mono-terc-butílico del ácido nonadecanodioico, éster mono-terc-butílico del ácido tetradecanodioico o éster terc-butílico del ácido 4-(9-carboxinoniloxi) benzoico. Todas las operaciones indicadas a continuación se realizaron a una escala de síntesis de 250 µmol.

20 1. Síntesis de la cadena principal del péptido protegido unida a la resina

Método: SPPS_P

SPPS_P se realizó en un sintetizador de péptidos en fase sólida Prelude de Protein Technologies (Tucson, AZ 85714 Estados Unidos) a una escala de 250 µmol mediante el uso de un exceso de seis veces de Fmoc-aminoácidos (300 mM en NMP con HOAt 300 mM) con respecto a la carga de resina, por ejemplo, baja carga de Fmoc-Gly-Wang (0,35 mmol/g). La desprotección de Fmoc se realizó mediante el uso de piperidina al 20 % en NMP. El acoplamiento se realizó mediante el uso de 3 : 3 : 3 : 4 aminoácido/HOAt/DIC/colidina en NMP. Se realizaron lavados superiores con NMP y DCM (7 ml, 0,5 min, 2 x 2 cada uno) entre las etapas de desprotección y acoplamiento. Los tiempos de acoplamiento fueron generalmente de 60 minutos. Algunos aminoácidos que incluyen, pero no se limitan a, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Aib-OH o Boc-His(Trt)-OH establecen "dobles acoplados", lo que significa que después del primer acoplamiento (por ejemplo, 60 min), la resina se drena y se añaden más reactivos (aminoácido, HOAt, DIC y colidina) y la mezcla se deja reaccionar de nuevo (por ejemplo, 60 minutos).

35 Método: SPPS_L

SPPS_L se realizó en un sintetizador de péptidos Liberty basado en microondas de CEM Corp. (Matthews, NC 28106, Estados Unidos) a una escala de 250 µmol o 100 µmol mediante el uso de un exceso de seis veces de Fmoc-aminoácidos (300 mM en NMP con HOAt 300 mM) en relación con la carga de resina, por ejemplo baja carga Fmoc-Gly-Wang (0,35 mmol/g). La desprotección de Fmoc se realizó mediante el uso de piperidina al 5 % en NMP a hasta 75 °C durante 30 segundos donde después se drenó la resina y se lavó con NMP y se repitió la desprotección de Fmoc se repitió esta vez durante 2 minutos a 75 °C. El acoplamiento se realizó mediante el uso de 1 : 1 : 1 aminoácido/HOAt/DIC en NMP. Los tiempos y las temperaturas de acoplamiento fueron generalmente de 5 minutos a hasta 75 °C. Tiempos de acoplamiento más largos se usaron para reacciones a mayor escala, por ejemplo, 10 min. Los aminoácidos histidina estaban doble acoplados a 50 °C, o acoplados cuatro veces si el aminoácido anterior estaba estéricamente impedido (por ejemplo, Aib). Los aminoácidos arginina se acoplaron a RT durante 25 minutos y después se calentaron a 75 °C durante 5 min. Algunos aminoácidos, tales como, pero sin limitarse a Aib, estaban "doble acoplados", lo que significa que después del primer acoplamiento (por ejemplo, 5 minutos a 75 °C), la resina se drena y se añaden más reactivos (aminoácidos, HOAt y DIC) y la mezcla se calienta de nuevo (por ejemplo, 5 minutos a 75 °C). Se realizaron lavados con NMP (5 x 10 ml) entre las etapas de desprotección y acoplamiento.

Método: SPPS_A

La resina peptidil protegida se sintetizó de acuerdo con la estrategia Fmoc en un sintetizador de péptidos Applied Biosystems 433 en una escala de 250 µmol o 1000 µmol con un exceso de tres a cuatro veces de Fmoc-aminoácidos, mediante el uso de los protocolos FastMoc UV suministrados por el fabricante que emplean HBTU (hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio) o HATU (hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio) media los acoplamientos en NMP y monitorización UV de la desprotección del grupo de protección Fmoc, en algunos casos se usaron acoplamientos dobles, lo que significa que después del primer acoplamiento, la resina se drena y se añaden más Fmoc-aminoácidos y reactivos. La resina de partida usada para la síntesis de los péptidos amidas fue resina Rink-Amida y resina Wang precargada (por ejemplo, Fmoc-Gly-Wang o Fmoc-Lys(Mtt)-wang de baja carga) o clorotritilo para los péptidos con un carboxi C-terminal. Los derivados de aminoácidos protegidos usados fueron aminoácidos- Fmoc estándar (suministrados, por ejemplo, por Anaspec o Novabiochem) suministrados en cartuchos pesados previamente adecuados para el sintetizador ABI433A con la excepción de aminoácidos no naturales tales como Fmoc-Aib-OH (ácido Fmoc-aminoisobutírico). El aminoácido N terminal se protegió con Boc en el grupo alfa amino (por ejemplo, se usó Boc-His(Boc)-OH, o Boc-

His(Trt)-OH para los péptidos con His en el N-terminal). El grupo épsilon amino de la lisina en la secuencia se protegió con Mtt, Mmt, Dde, ivDde o Boc, en dependencia de la ruta para la unión de la porción de unión a la albúmina y el espaciador. La síntesis de los péptidos puede mejorarse en algunos casos mediante el uso de dipéptidos protegidos en el enlace amida del dipéptido amídico con un grupo que puede escindirse en condiciones ácidas, tales como, pero sin limitarse a, 2-Fmoc-oxi-4-metoxibencilo o 2,4,6-trimetoxibencilo. En los casos en que está presente una serina o una treonina en el péptido, pueden usarse dipéptidos de pseudoprolina (ver, por ejemplo, el catálogo de Novobiochem 2009/2010 o una versión más reciente, o WR Sampson (1999), J. Pep. Sci. 5, 403).

Método: SPPS_M

SPPS_M se refiere a la síntesis de la resina peptidilo protegida mediante el uso de química manual de Fmoc. La química de acoplamiento fue DIC/HOAt/colidina en NMP a un exceso molar de 4-10 veces. Las condiciones de acoplamiento fueron 1-6 h a temperatura ambiente. La desprotección de Fmoc se realizó con piperidina al 20-25 % en NMP (3 x 20 ml, 10 min cada uno) seguido por lavados con NMP (4 x 20 mL).

2. Síntesis de cadenas laterales

Monoésteres de diácidos grasos

El reflujo durante toda la noche de los diácidos C8, C10, C12, C14, C16 y C18 con Boc-anhídrido DMAP *t*-butanol en tolueno da predominantemente el monoéster de *t*-butilo. Se obtiene después del tratamiento una mezcla de monoácido, diácido y diéster. La purificación se lleva a cabo mediante lavado, filtración de sílice de tapón corto y cristalización.

3. Unión de cadenas laterales a la cadena principal de péptido protegido unida a la resina

Cuando está presente una acilación en una cadena lateral de lisina, el grupo épsilon amino de la lisina a acilar se protegió con Mtt, Mmt, Dde, ivDde o Boc, dependiendo de la ruta para la unión de la porción de prolongación y el conector. La desprotección de Dde o ivDde se realizó con hidrazina al 2 % en NMP (2 x 20 ml, 10 min cada uno) seguido por lavados con NMP (4 x 20 ml). La desprotección de Mtt o Mmt se realizó con TFA al 2 % y TIS al 2-3 % en DCM (5 x 20 ml, 10 min cada uno) seguido por lavados con DCM (2 x 20 ml), MeOH al 10 % y DIPEA al 5 % en DCM (2 x 20 ml) y NMP (4 x 20 ml), o mediante el tratamiento con hexafluoroisopropanol/DCM (75:25, 5 x 20 ml, 10 min cada uno) seguido por lavados con anteriormente. En algunos casos el grupo Mtt se eliminó mediante etapas automatizadas en el sintetizador de péptidos Liberty. La desprotección de Mtt se realizó con hexafluoroisopropanol o hexafluoroisopropanol/DCM (75:25) a temperatura ambiente durante 30 min seguido por el lavado con DCM (7 ml x 5), seguido por lavados con NMP (7ml x 5). La porción de prolongación y/o conector pueden unirse al péptido ya sea mediante la acilación del péptido unido a resina o mediante la acilación en solución del péptido no protegido. En el caso de la unión de la porción de prolongación y/o conector a la resina peptidil protegida la unión puede ser modular mediante el uso de SPPS y bloques de construcción adecuadamente protegidos.

Método: SC_P

El grupo de prolongación N- ϵ -lisina se eliminó como se describió anteriormente y la modificación química de la lisina se realizó mediante una o más etapas automatizadas en el sintetizador de péptidos Prelude mediante el uso de bloques de construcción protegidos adecuadamente como se describió anteriormente. Los acoplamientos dobles se realizaron como se describió en SPPS_P con 3 horas por acoplamiento.

Método: SC_L

El grupo de prolongación N- ϵ -lisina se eliminó como se describió anteriormente y la modificación química de la lisina se realizó mediante una o más etapas automatizadas en el sintetizador de péptidos Liberty mediante el uso de bloques de construcción protegidos adecuadamente como se describió anteriormente. Los acoplamientos dobles se realizaron como se describe en SPPS_L.

Método: SC_A

El grupo de prolongación N- ϵ -lisina se eliminó como se describió anteriormente y la modificación química de la lisina se realizó mediante una o más etapas automatizadas en el sintetizador de péptidos ABI mediante el uso de bloques de construcción protegidos adecuadamente como se describió en SPPS_A.

Método: SC_M1

El grupo de prolongación N- ϵ -lisina se eliminó como se describió anteriormente. Se disolvió una porción de prolongación o conector activado (anhídrido activo o anhídrido simétrico) tal como éster mono-(2,5-dioxo-pirrolidin-1-il) de ácido octadecanodioico (Ebashi y otros, EP511600, 4 equivalentes molares relativos al péptido unido a resina)

en NMP (25 mL), se añadió a la resina y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró y la resina se lavó exhaustivamente con NMP, DCM, 2-propanol, metanol y éter dietílico.

Método: SC_M2

5 El grupo de prolongación N-ε-lisina se eliminó como se describió anteriormente. La porción de prolongación se disolvió en NMP/DCM (1:1, 10 ml). Se añadió el reactivo de activación tal como HOBt (4 equivalentes molares con relación a la resina) y DIC (4 equivalentes molares con relación a la resina) y la solución se agitó durante 15 minutos. La solución se añadió a la resina y se añadió DIPEA (4 equivalentes molares con relación a la resina). La resina se agitó de 2 a 24 horas a temperatura ambiente. La resina se lavó con NMP (2 x 20 ml), NMP/DCM (1:1, 2 x 20ml) y DCM (2 x 20 ml).

Método: SC_M3

15 Se disolvió la porción de prolongación o conector (anhídrido activo o anhídrido simétrico) activado tal como éster mono-(2,5-dioxo-pirrolidin-1-il) de ácido octadecanodioico (Ebashi y otros, EP511600) 1-1,5 equivalentes molares en relación con el péptido en un disolvente orgánico tal como acetonitrilo, THF, DMF, DMSO o en una mezcla de agua/disolvente orgánico (1-2 ml) y se añadió a una solución del péptido en agua (10-20 ml) junto con 10 equivalentes molares de DIPEA. En el caso de grupos protectores en la porción de prolongación, tal como terc-butilo, la mezcla de reacción se liofilizó durante toda la noche y el péptido bruto aislado se desprotegió después. En el caso de los grupos de protección terc-butilo la desprotección se realizó disolviendo el péptido en una mezcla de ácido trifluoroacético, agua y triisopropilsilano (90:5:5). Después de 30 minutos, la mezcla se evaporó al vacío y el péptido en bruto se purificó mediante HPLC preparativa como se describe después.

25 4. Escisión del péptido unido a la resina con o sin cadenas laterales unidas y purificación

Método: CP_M1

30 Después de la síntesis la resina se lavó con DCM y el péptido se escindió de la resina mediante un tratamiento de 2-3 horas con TFA/TIS/agua (95/2,5/2,5 o 92,5/5/2,5) seguido por precipitación con éter dietílico. El péptido se disolvió en un solvente adecuado (tal como, por ejemplo, ácido acético al 30 %) y se purificó mediante RP-HPLC estándar en una columna C18, de 5 μM, mediante el uso de acetonitrilo/agua/TFA. Las fracciones se analizaron mediante una combinación de métodos de UPLC, MALDI y LCMS y las fracciones apropiadas se agruparon y se liofilizaron.

35 Método: CP_L1

40 Después de la síntesis la resina se lavó con DCM y el péptido se escindió de la resina mediante el uso de un Sistema de Escisión en Microondas CEM Accent. (CEM Corp., Carolina del Norte). La escisión de la resina se realizó a 38°C durante 30 minutos mediante el tratamiento con TFA/TIS/agua (95/2,5/2,5) seguido por precipitación con dietiléter. El péptido se disolvió en un solvente adecuado (tal como, por ejemplo, ácido acético al 30 %) y se purificó mediante RP-HPLC estándar en una columna C18, de 5 μM, mediante el uso de acetonitrilo/agua/TFA. Las fracciones se analizaron mediante una combinación de métodos de UPLC, MALDI y LCMS y las fracciones apropiadas se agruparon y se liofilizaron.

45 A2. Métodos Generales para la Detección y Caracterización

1. Métodos de LCMS

Método: LCMS_1

50 Se usó un espectrómetro de masas LC/MSD TOF de Agilent Technologies (G1969A) para identificar la masa de la muestra después de la elución de un sistema de HPLC Agilent serie 1200. La desconvolución de los espectros de proteínas se calculó con el programa informático de confirmación de proteínas de Agilent. Eluyentes: A: Ácido trifluoro acético al 0,1 % en agua; B: Ácido trifluoroacético al 0,1 % en acetonitrilo. Columna: Zorbax 5u, 300SB-C3, 4,8x50mm. Gradiente: 25 % - 95 % de B durante 15 min.

Método: LCMS_2

60 Se usó un espectrómetro de masas API 3000 de Perkin Elmer Sciex para identificar la masa de la muestra después de la elución de un sistema de HPLC de Perkin Elmer Series 200. Eluyentes: A: Ácido trifluoro acético al 0,05 % en agua; B: Ácido trifluoroacético al 0,05 % en acetonitrilo. Columna: Waters Xterra MS C-18 X 3 mm id 5 μm. Gradiente: 5 % - 90 % de B durante 7,5 min a 1,5ml/min.

Método: LCMS_3

65

ES 2 683 372 T3

Se usó un espectrómetro de masas Waters Micromass ZQ para identificar la masa de la muestra después de la elución de un sistema de HPLC Waters Alliance HT. Eluyentes: A: Ácido trifluoro acético al 0,1 % en agua; B: Ácido trifluoroacético al 0,1 % en acetonitrilo. Columna: Phenomenex, Jupiter C4 50 X 4,60 mm id 5 µm. Gradiente: 10 % - 90 % B durante 7,5 min a 1,0 ml/min.

5 Método: LCMS_4

LCMS_4 se realizó en una configuración que consistía en el sistema Waters Acquity UPLC y el espectrómetro de masas LCT Premier XE de Micromass. Eluyentes: A: Ácido fórmico al 0,1 % en agua

10 B: Ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo El análisis se realizó a RT inyectando un volumen apropiado de la muestra (preferentemente 2-10 µl) en la columna que se eluyó con un gradiente de A y B. Las condiciones de UPLC, los ajustes del detector y los ajustes del espectrómetro de masas fueron: Columna: Waters Acquity UPLC BEH, C-18, 1,7 µm, 2,1 mm x 50 mm. Gradiente: Lineal 5 % - 95 % de acetonitrilo durante 4,0 min (alternativamente 8,0 min) a 0,4 ml/min. Detección: 214 nm (salida analógica del TUV (detector de UV sintonizable)) Modo de ionización MS: API-ES

Escáner: 100-2000 amu (alternativamente 500-2000 amu), etapa 0,1 amu.

20 Método: LCMS_AP

Se usó un espectrómetro de masas Micromass Quatro micro API para identificar la masa de la muestra después de la elución de un sistema de HPLC compuesto por un módulo de gradiente binario Waters2525, un gestor de muestras Waters2767, un detector de matriz de fotodiodos Waters 2996 y un detector ELS Waters 2420. Eluyentes: A: Ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua; B: Ácido trifluoroacético al 0,1 % en acetonitrilo. Columna: Phenomenex Synergi MAXRP, 4 µm, 75x4,6 mm. Gradient: 5 % - 95 % B durante 7 min a 1,0 ml/min.

25

2. Métodos de UPLC

30 Método: B5_1

El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 0,2 M Na₂SO₄, 0,04 M H₃PO₄, 10 % CH₃CN (pH 3,5); B: 70 % CH₃CN, 30 % H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 60 % A, 40 % B a 30 % A, 70 % B durante 8 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

35

Método: B7_1

El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 0,2 M Na₂SO₄, 0,04 M H₃PO₄, 10 % CH₃CN (pH 3,5); B: 70 % CH₃CN, 30 % H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 80 % A, 20 % B a 40 % A, 60 % B durante 8 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

40

45 Método: B9_1

El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 0,2 M Na₂SO₄, 0,04 M H₃PO₄, 10 % CH₃CN (pH 3,5); B: 70 % CH₃CN, 30 % H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 70 % A, 30 % B a 20 % A, 80 % B durante 8 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

50

Método: A2_1

El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 90 % H₂O, 10 % CH₃CN, 0,25 M bicarbonato de amonio; B: 70 % CH₃CN, 30 % H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 90 % A, 10 % B a 60 % A, 40 % B durante 16 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

55

Método: A3_1

El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 90 % H₂O, 10

60

65

ES 2 683 372 T3

% CH₃CN, 0,25 M bicarbonato de amonio; B: 70 % CH₃CN, 30 % H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 75 % A, 25 % B a 45 % A, 55 % B durante 16 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

Método: A4_1

5 El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 90 % H₂O, 10 % CH₃CN, 0,25 M bicarbonato de amonio; B: 70 % CH₃CN, 30 % H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 65 % A, 35 % B a 25 % A, 65 % B durante 16 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

Método: A6_1

15 El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 10 mM TRIS, 15 mM sulfato de amonio, 80 % H₂O, 20 % CH₃CN, pH 7,3; B: 80 % CH₃CN, 20 % H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 95 % A, 5 % B a 10 % A, 90 % B durante 16 minutos a una velocidad de flujo de 0,35 ml/min.

20 Método: A7_1

25 El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 10 mM TRIS, 15 mM sulfato de amonio, 80 % H₂O, 20 % CH₃CN, pH 7,3; B: 80 % CH₃CN, 20 % H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 95 % A, 5 % B a 40 % A, 60 % B durante 16 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

Método: B2_1

30 El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 99,95 % H₂O, 0,05 % TFA; B: 99,95 % CH₃CN, 0,05 % TFA. Se usó el siguiente gradiente lineal: 95 % A, 5 % B a 40 % A, 60 % B durante 16 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

35 Método: B4_1

40 El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 99,95 % H₂O, 0,05 % TFA; B: 99,95 % CH₃CN, 0,05 % TFA. Se usó el siguiente gradiente lineal: 95 % A, 5 % B a 95 % A, 5 % B durante 16 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

Método: B10_1

45 El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 0,2 M Na₂SO₄, 0,04 M H₃PO₄, 10 % CH₃CN (pH 3,5); B: 70 % CH₃CN, 30 % H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 40 % A, 60 % B a 20 % A, 80 % B durante 8 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

50 Método: B14_1

55 El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH ShieldRP18, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 50°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 99,95 % H₂O, 0,05 % TFA; B: 99,95 % CH₃CN, 0,05 % TFA. Se usó el siguiente gradiente lineal: 70 % A, 30 % B a 40 % A, 60 % B durante 12 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

60 Método: B8_1

65 El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 0,2 M Na₂SO₄, 0,04 M H₃PO₄, 10 % CH₃CN (pH 3,5); B: 70 % CH₃CN, 30 % H₂O. Se usó el siguiente gradiente lineal: 50 % A, 50 % B a 20 % A, 80 % B durante 8 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

Método: B29_1

El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 215 nm y 254 nm se recogieron usando una columna kinetex 1,7u C18, 100A 2,1 x 150 mm, 60 °C. El sistema UPLC se conectó a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 90 % de agua y 10 % CH₃CN con 0,045 M (NH₄)₂HPO₄, pH 3,6, B: 20 % isopropanol, 20 % de agua y 60 % CH₃CN. Se usó el siguiente gradiente por etapas: 35 % B y 65 % A durante 2 minutos, luego 35 % B, 65 % A a 65 % B, 35 % A durante 15 minutos, luego 65 % B, 35 % A a 80 % B, 20 % A durante 3 minutos a una velocidad de flujo de 0,5 ml/min.

10 Método: B31_1

El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 215 nm y 254 nm se recogieron usando una columna kinetex 1,7u C18, 100A 2,1 x 150 mm, 60 °C. El sistema UPLC se conectó a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 90 % de agua y 10 % MeCN con 0,045M (NH₄)₂HPO₄, pH 3,6, B: 20 % isopropanol, 20 % de agua y 60 % CH₃CN. Se usó el siguiente gradiente por etapas: 25 % B y 75 % A durante 2 minutos, luego 25 % B, 75 % A a 55 % B, 45 % A durante 15 minutos, luego 55 % B, 45 % A a 80 % B, 20 % A durante 3 minutos a una velocidad de flujo de 0,5 ml/min.

20 Método: AP_B4_1

El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130Å, 1,7um, 2,1 mm x 150 mm, 30 °C. El sistema UPLC se conectó a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 99,95 % H₂O, 0,05 % TFA; B: 99,95 % CH₃CN, 0,05 % TFA. Se usó el siguiente gradiente lineal: 95 % A, 5 % B a 5 % A, 95 % B durante 16 minutos a una velocidad de flujo de 0,30 ml/min.

Método: A9_1

El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH Shield RP18, C18, 1,7um, 2,1 mm x 150 mm, 60°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 200 mM Na₂SO₄ + 20 mM Na₂HPO₄ + 20mM NaH₂PO₄ en 90 % H₂O/10 % CH₃CN, pH 7,2; B: 70 % CH₃CN, 30 % H₂O. Se usó el siguiente gradiente por etapas: 90 % A, 10 % B a 80 % A, 20 % B durante 3 minutos, 80 % A, 20 % B a 50 % A, 50 % B durante 17 minutos a una velocidad de flujo de 0,40 ml/min.

Método: B30_1

El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 215 nm y 254 nm se recogieron usando una columna kinetex 1,7u C18, 100A 2,1 x 150 mm, 60 °C. El sistema UPLC se conectó a dos recipientes de eluyente que contienen: A: 0,09 M (NH₄)₂HPO₄ y 10 % MeCN, pH 3,6, B: 20 % isopropanol, 20 % de agua y 60 % CH₃CN. Se usó el siguiente gradiente por etapas: 45 % B y 55 % A durante 2 minutos, luego 45 % B, 55 % A a 75 % B, 25 % A durante 15 minutos, luego 75 % B, 25 % A a 90 % B, 10 % A durante 3 minutos a una velocidad de flujo de 0,5 ml/min.

45 Método: B39_2

El análisis RP se llevó a cabo usando un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214nm y 254nm se recogieron usando una columna ACQUITY UPLC BEH C18, 1,7um, 2,1 mm x 50 mm, 40°C. El sistema HPLC se conecta a dos recipientes de eluyente que contienen: : A: 99,95 %H₂O, 0,05 % TFA; B: 99,95 % CH₃CN, 0,05 % TFA. Se usó el siguiente gradiente lineal: 70 % A, 30 % B a 50 % A, 50 % B durante 3,5 minutos a una velocidad de flujo de 0,450 ml/min.

3. Método MALDI-MS

55 *Método:* MALDI_MS

Los pesos moleculares se determinaron mediante el uso de espectroscopía de masas de tiempo de vuelo de ionización y desorción con láser asistida por matriz (MALDI-MS) y se registraron en un Microflex o Autoflex (Bruker). Se usó una matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxi cinámico.

60

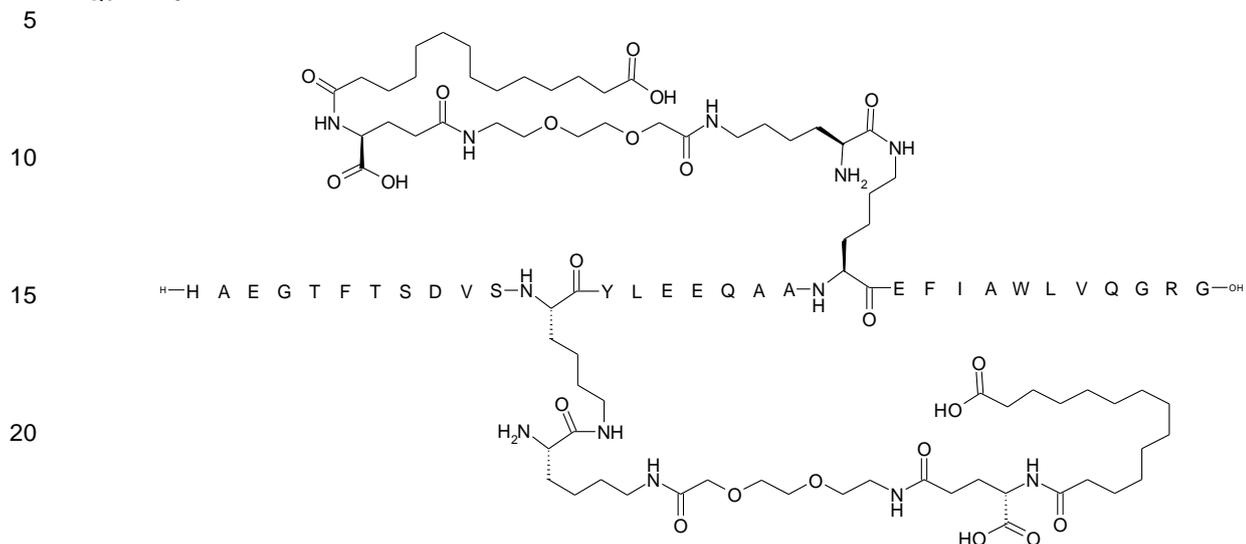
B. Compuestos Ejemplo Específicos

Ejemplo 1

65 N^{ε18}-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{ε26}-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-

carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 20:



Método de preparación: SPPS_L; SC_L; CP_M1

LCMS: Método: LCMS_4: Rt = 2,11 min m/z: 4754.6; M/3: 1585; M/4: 1189; M/5: 951

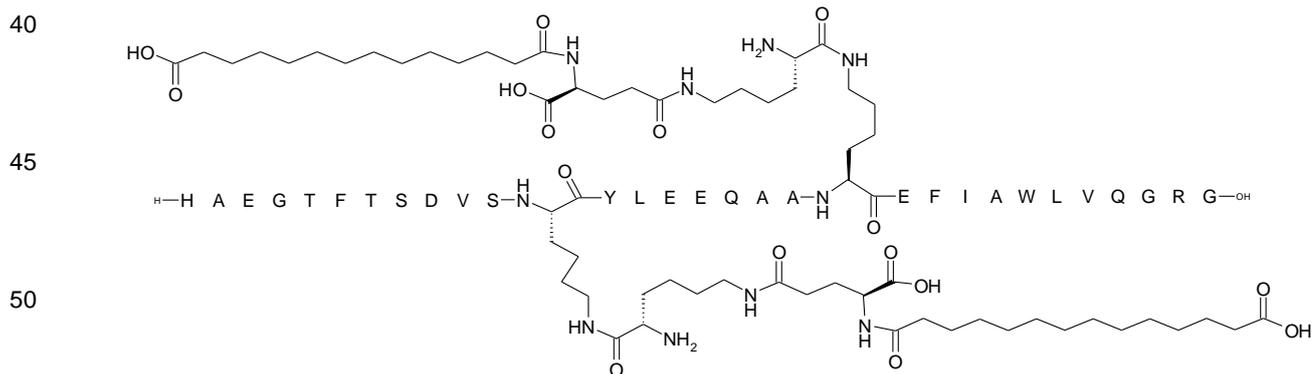
Método de UPLC: B4_1: Rt = 8,25

Método de UPLC: A9_1: Rt = 9,95

Ejemplo 2

N^{ε18}-[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], N^{ε26}-[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 21:



Método de preparación: SPPS_L; SC_L; CP_M1

Método de UPLC: B4_1: Rt= 8,49 min

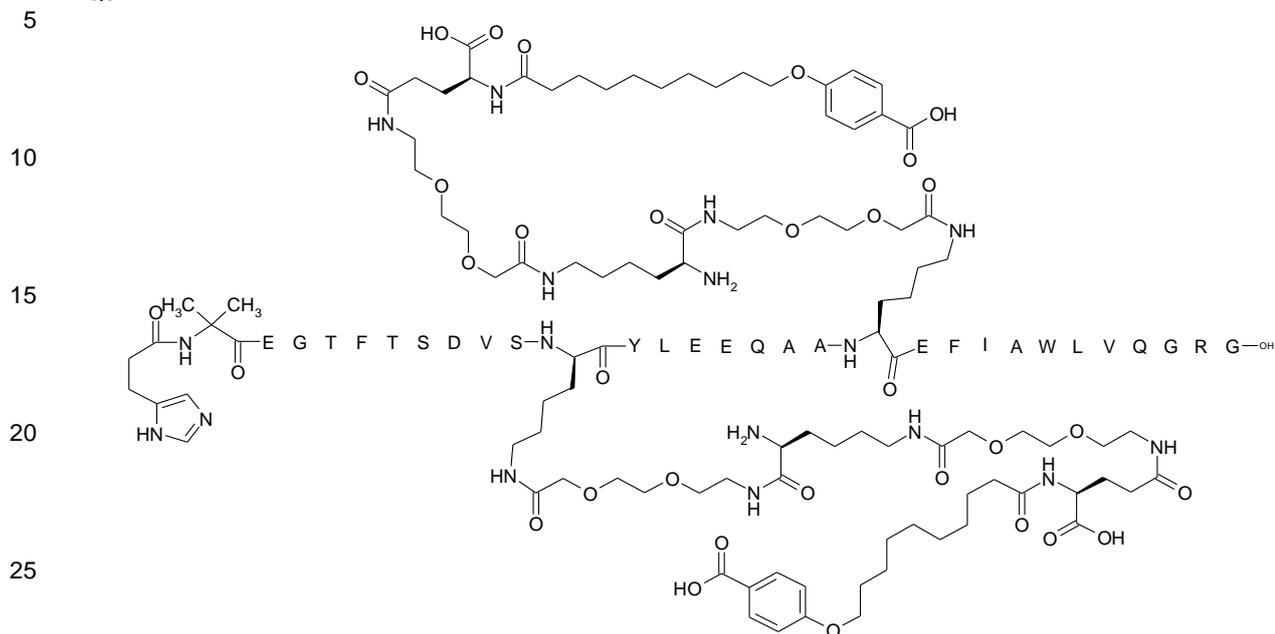
Método de UPLC: B9_1: Rt = 4,99 min

Ejemplo 3

N^{ε18}-[2-[2-[2-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{ε26}-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-

carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-
[Imp⁷,Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 22:

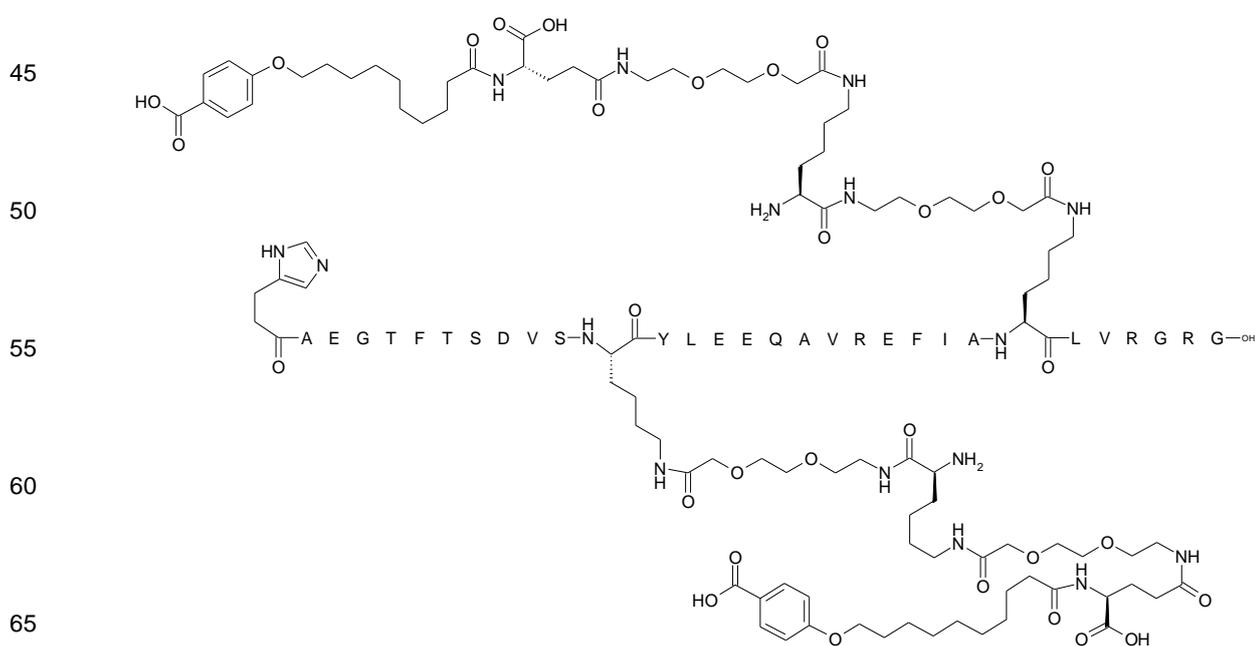


30 Método de preparación: SPPS_L; SC_L; CP_M1
Método de UPLC: B4_1: Rt = 8,53 min
Método de UPLC: A6_1: Rt = 5,02 min
Método de LCMS: LCMS_4: Rt = 2,22 min; m/3 = 1715; m/4 = 1286; m/5 = 1030

35 Ejemplo 4

N¹⁸-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N³¹-[2-[2-[2-[[[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Imp⁷,Lys¹⁸,Glu²²,Val²⁵,Arg²⁶,Lys³¹,Arg³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 23:



Método de preparación: SPPS_L; SC_L; CP_M1
 Método de UPLC: B4_1: RT= 7,72 min
 Método de UPLC: A9_1: Rt = 11,71 min
 Método LCMS; LCMS_4: Rt = 2,22 min; m/4 = 1289; m/5 = 1031; m/6 = 860

5

Ejemplo 5

10 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

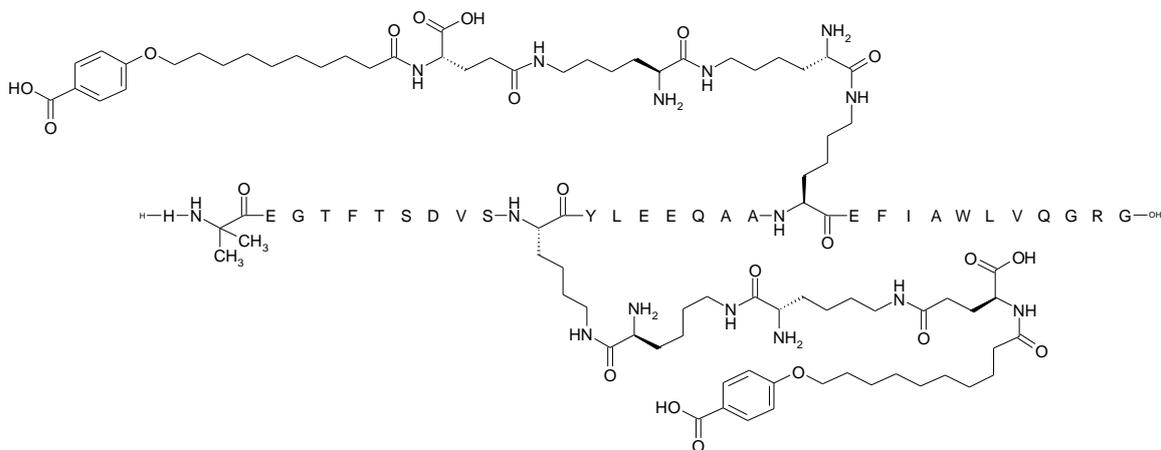
15 Quím. 24:

15

20

25

30



Método de preparación: SPPS_P; SC_P; CP_M1
 Método de UPLC: A9_1: Rt = 10,7 min
 Método de UPLC: A6_1: Rt = 5,6 min
 La masa molecular teórica de 4834.5 Da se confirmó mediante el Método: Maldi_MS: m/z 4833.5

35

Ejemplo 6

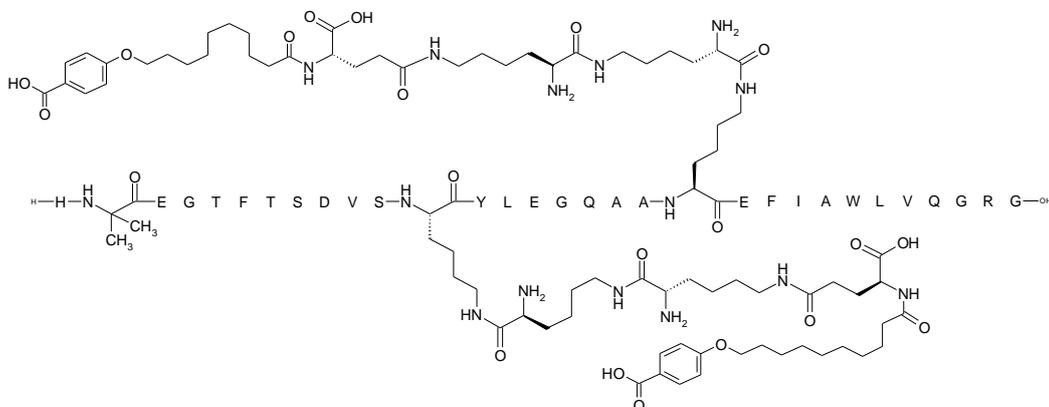
40 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

45 Quím. 25:

50

55

60



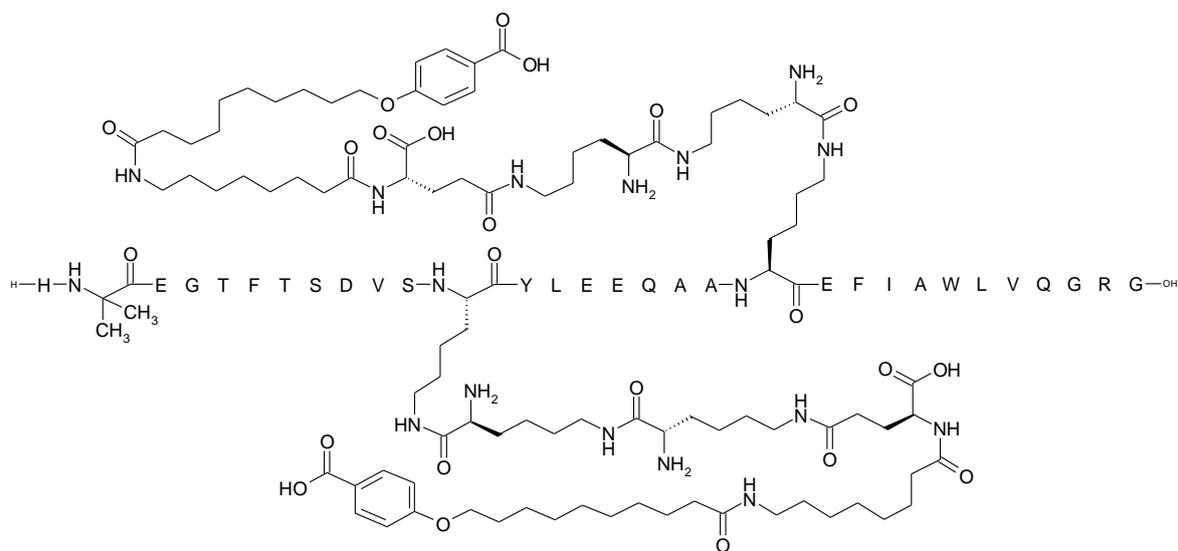
Método de preparación: SPPS_P; SC_P; CP_M1
 Método de UPLC: B31_1: Rt = 14,0 min
 Método de UPLC: A6_1: Rt = 6,2 min
 La masa molecular teórica de 4762 Da se confirmó mediante el Método: Maldi_MS: m/z 4759

65

Ejemplo 7

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[8-[10-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[8-[10-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 26:



Método de preparación: SPPS_P; SC_P; CP_M1

Método de UPLC: B31_1: Rt = 17,1 min

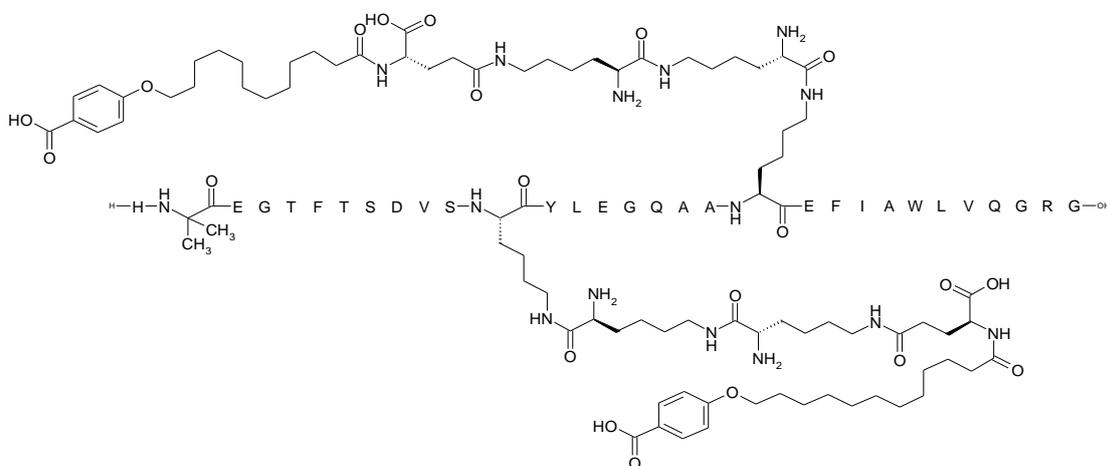
Método de UPLC: A6_1: Rt = 5,9 min

La masa molecular teórica de 5116.9 Da se confirmó mediante el Método: Maldi_MS: m/z 5114

Ejemplo 8

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 27:



Método de preparación: SPPS_P; SC_P; CP_M1

Método de UPLC: B31_1: Rt = 17,0 min

Método de UPLC: A6_1: Rt = 6,9 min

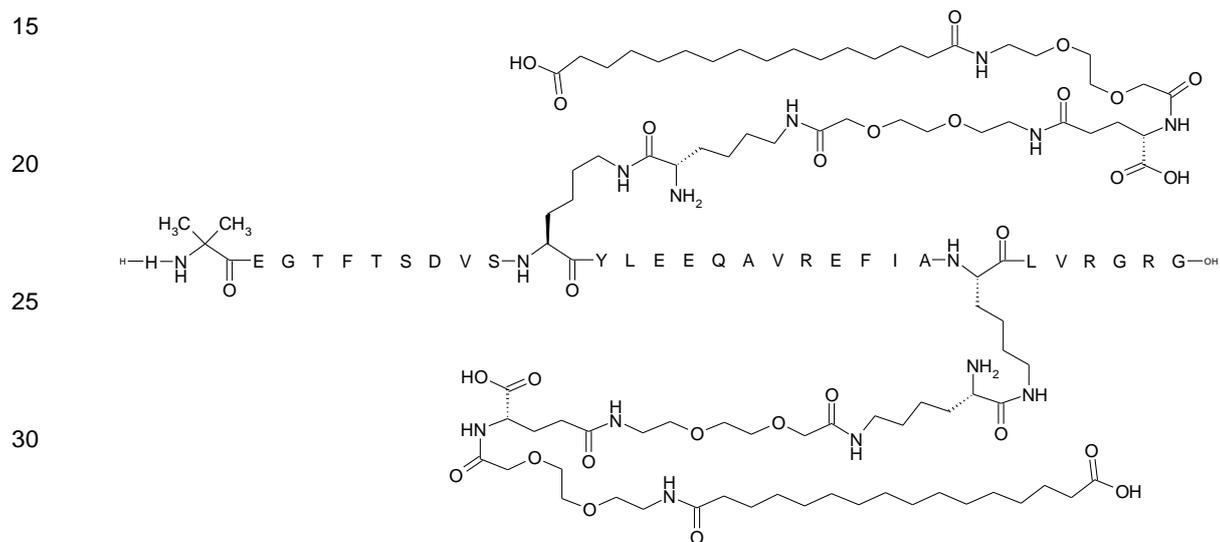
La masa molecular teórica de 4818.6 Da se confirmó mediante el Método: Maldi_MS: m/z 4817

Ejemplo 9

El siguiente compuesto se preparó y se caracterizó usando los métodos generales antes mencionados y en analogía con los compuestos de los ejemplos.

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-(15-carboxipentadecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 31}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-(15-carboxipentadecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Val²⁵,Arg²⁶,Lys³¹,Arg³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

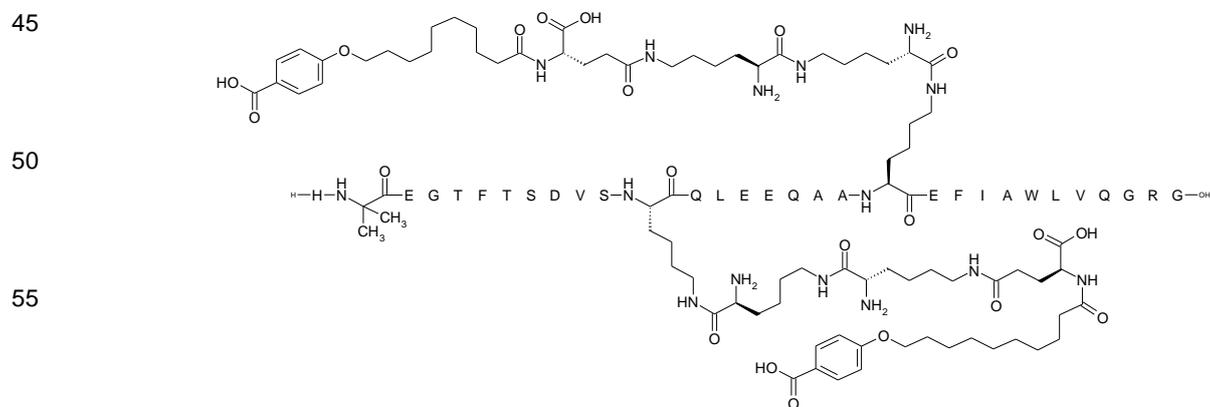
Quím. 28:



Ejemplo 10

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-(2S)-2-amino-6-[[4-(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-(2S)-2-amino-6-[[4-(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln¹⁹,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 29:



Método de preparación: SPPS_P; SC_P; CP_M1

Método de UPLC: B31_1: Rt = 14,5 min

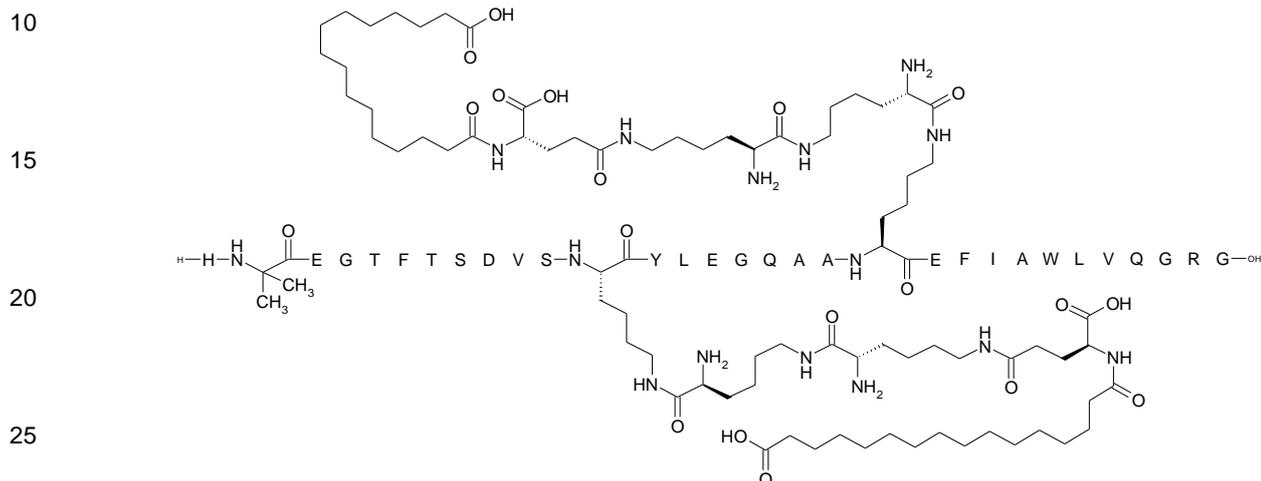
Método de UPLC: A6_1: Rt = 5,2 min

La masa molecular teórica de 4799.4 Da se confirmó mediante el Método: Maldi_MS: m/z 4799.6

Ejemplo 11

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 30:



Método de preparación: SPPS_P; SC_P; CP_M1

30 Método de UPLC: B31_1: Rt = 17,9 min

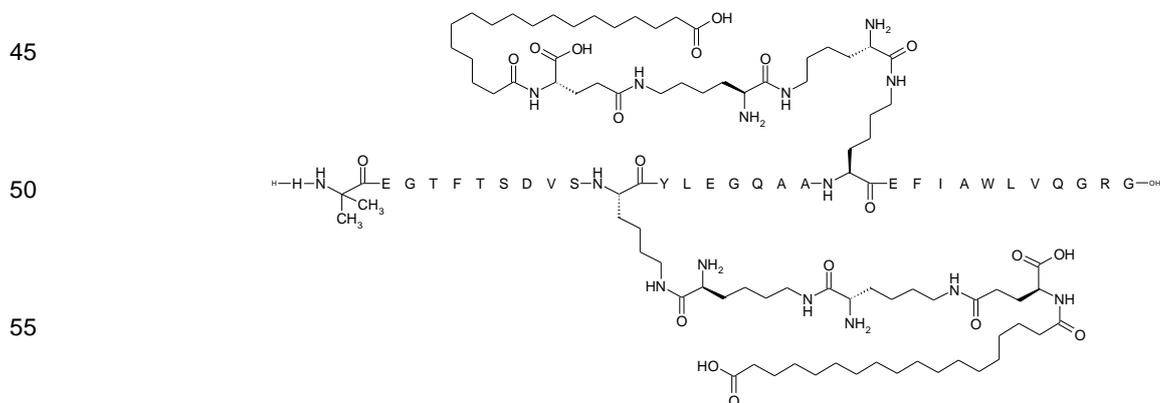
Método de UPLC: A6_1: Rt = 7,6 min

La masa molecular teórica de 4718.5 Da se confirmó mediante el Método: Maldi_MS: m/z 4716.98

35 Ejemplo 12

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 31:



60 Método de preparación: SPPS_P; SC_P; CP_M1

Método de UPLC: B31_1: Rt = 19,4 min

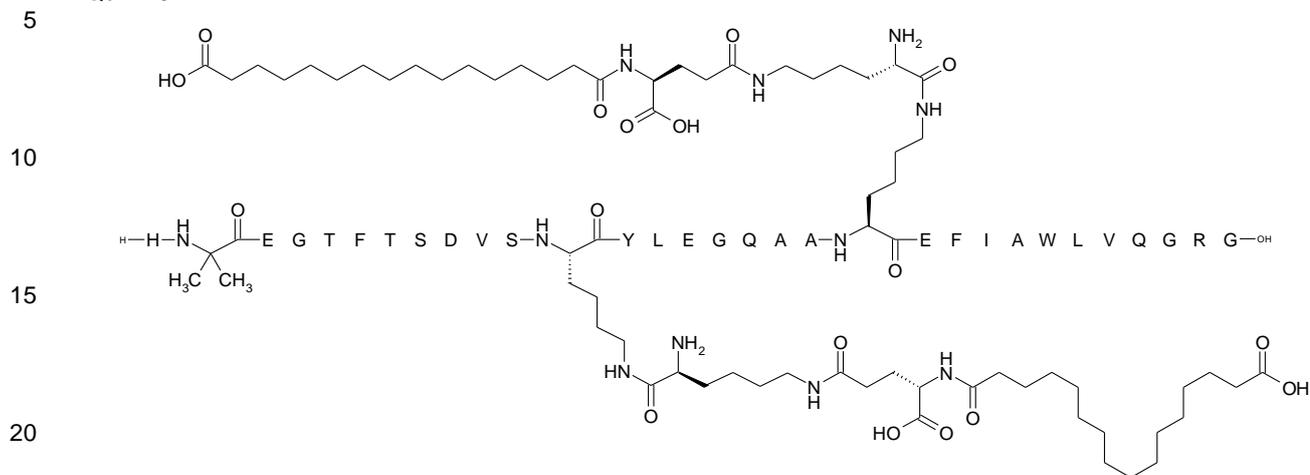
Método de UPLC: A6_1: Rt = 8,5 min

La masa molecular teórica de 4774.6 Da se confirmó mediante el Método: Maldi_MS: m/z 4773.8

65 Ejemplo 13

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 32:

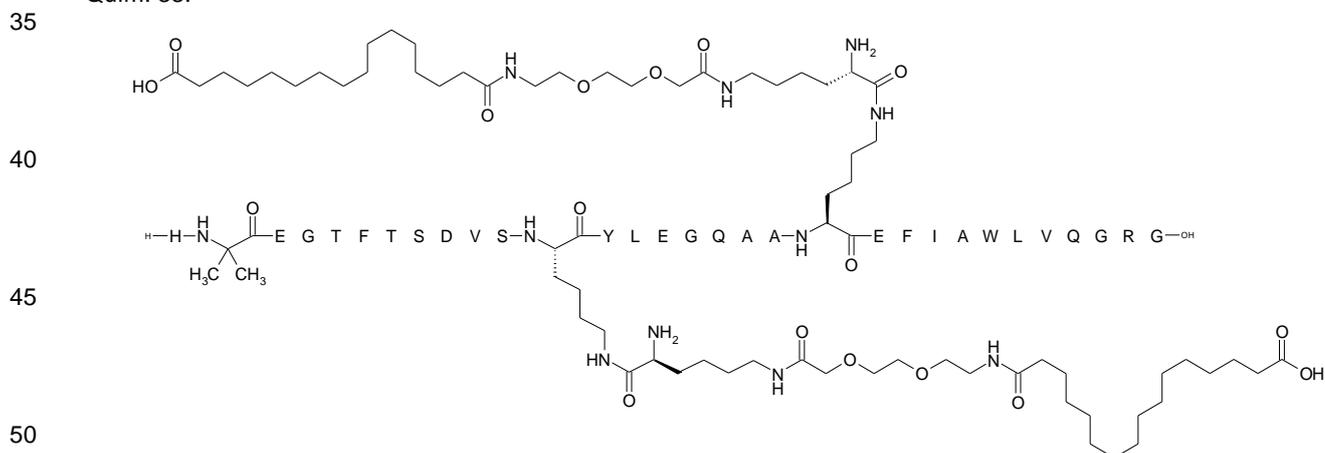


25 Método de preparación: SPPS_P; SC_P; CP_M1
 Método de UPLC: AP_B4_1: Rt = 9,04 min
 Método de LCMS: LCMS_AP: Rt = 5,61 min; m/3 = 1488; m/4 = 1116

Ejemplo 14

30 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[2-[2-[2-(15-carboxipentadecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[2-[2-[2-(15-carboxipentadecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 33:



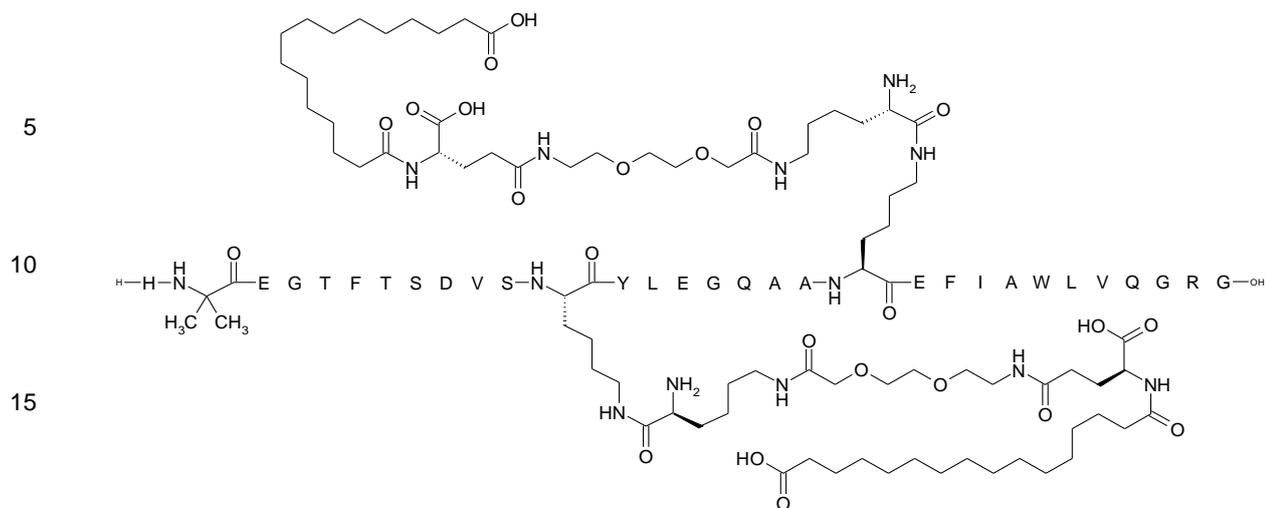
Método de preparación: SPPS_P; SC_P; CP_M1
 Método de UPLC: AP_B4_1: Rt = 9,35 min
 Método de LCMS: LCMS_AP: Rt = 5,71 min; m/3 = 1499; m/4 = 1124

Ejemplo 15

60 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 34:

65



Método de preparación: SPPS_P; SC_P; CP_M1

Método de UPLC: AP_B4_1: Rt = 9,00 min

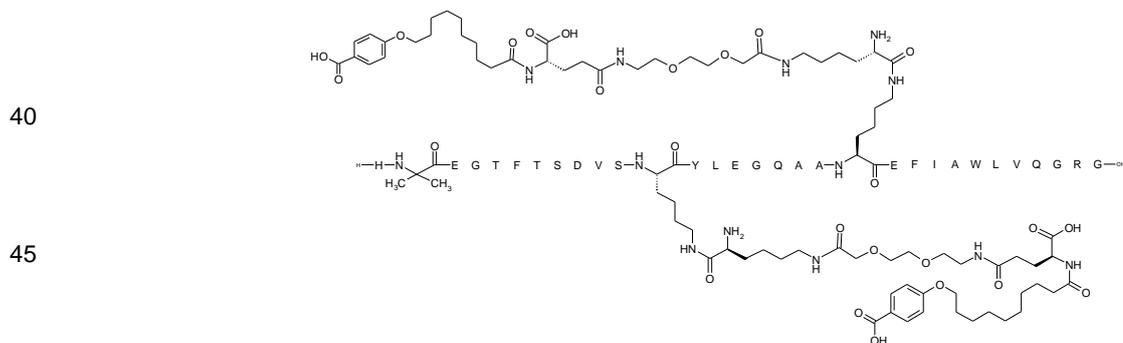
Método de LCMS: LCMS_AP: Rt = 5,57 min; m/3 = 1585; m/4 = 1189

25 Ejemplo 16

El siguiente compuesto se preparó y se caracterizó usando los métodos generales antes mencionados y en analogía con los compuestos de los ejemplos.

30 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

35 Quím. 35:



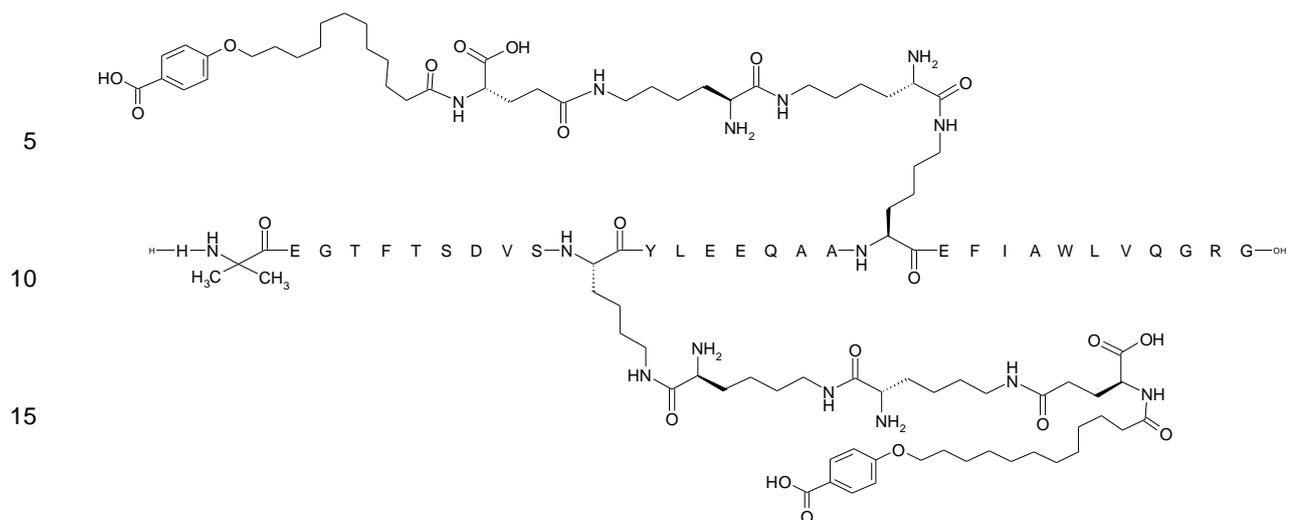
50 Ejemplo 17

El siguiente compuesto se preparó y se caracterizó usando los métodos generales antes mencionados y en analogía con los compuestos de los ejemplos.

55 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[2S)-2-amino-6-[[[4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[2S)-2-amino-6-[[[4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

60 Quím. 36:

65

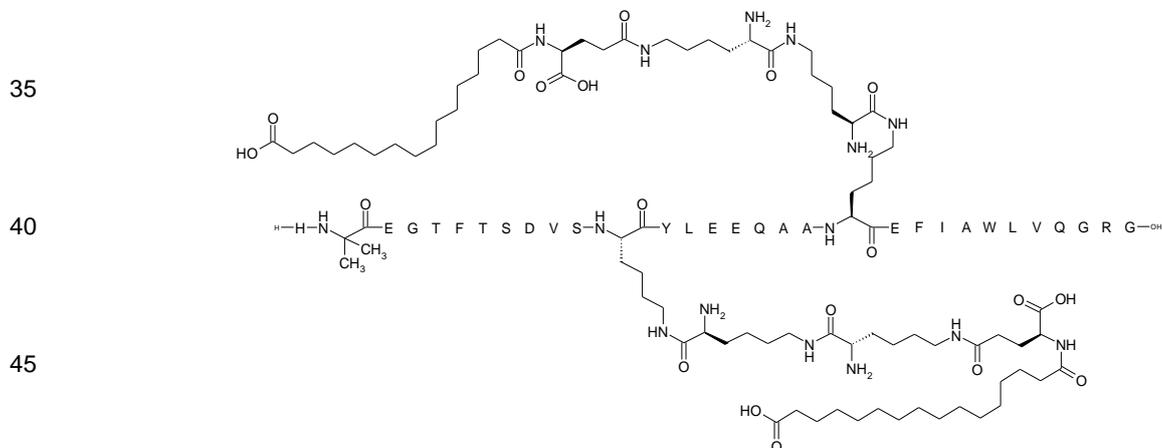


Ejemplo 18

El siguiente compuesto se preparó y se caracterizó usando los métodos generales antes mencionados y en analogía con los compuestos de los ejemplos.

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 37:



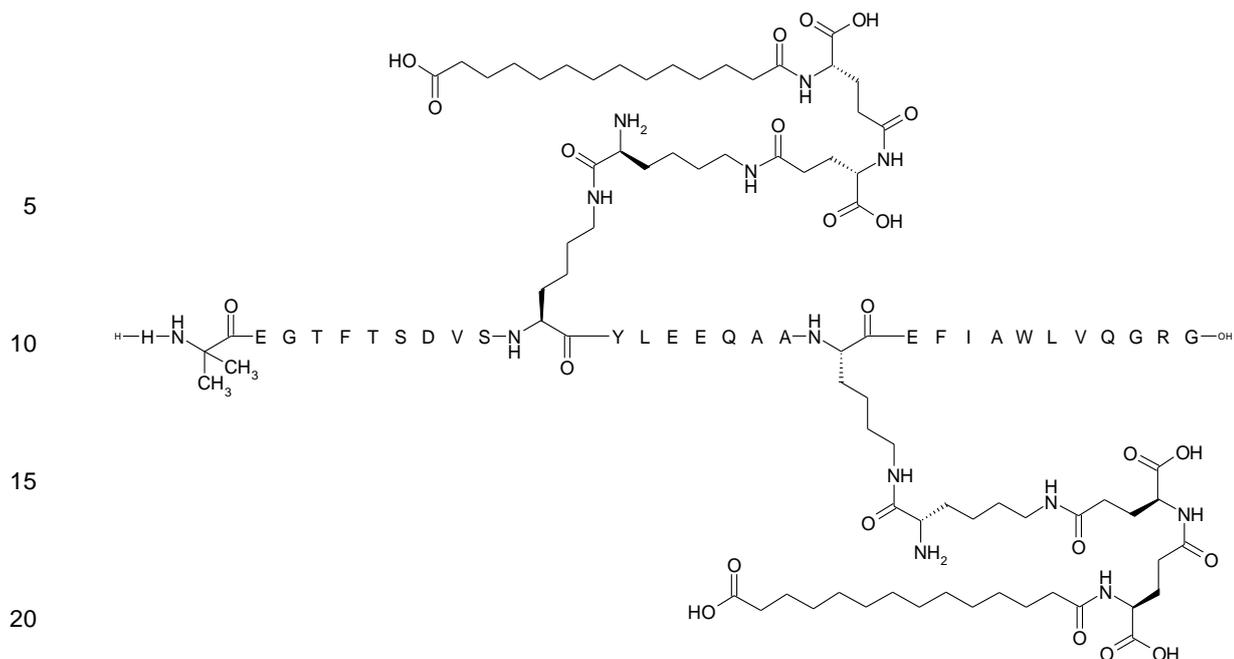
Ejemplo 19

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 38:

60

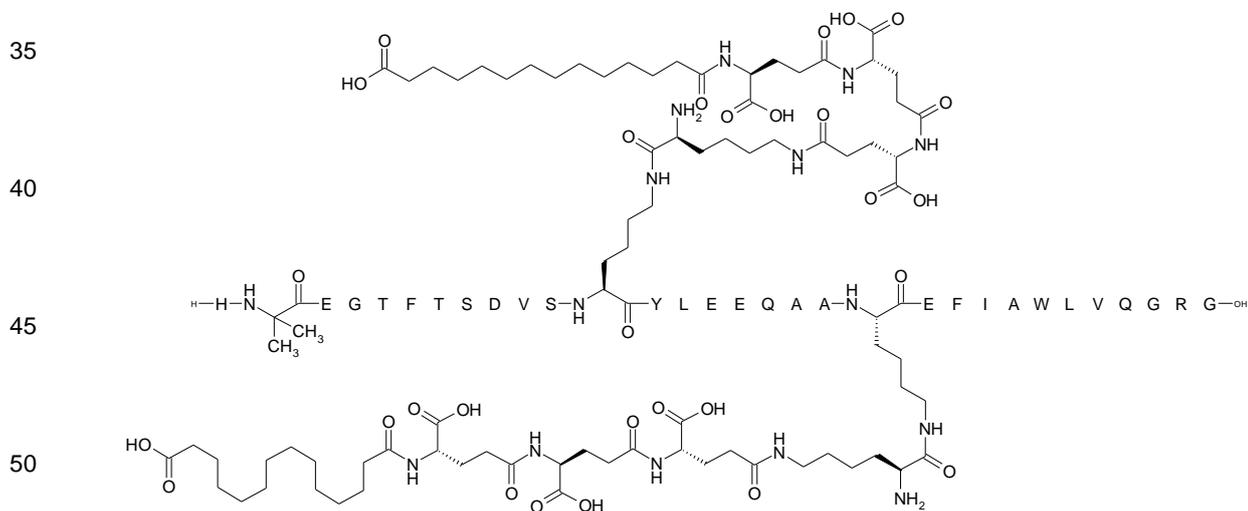
65



Ejemplo 22

25 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-
 carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-
 carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-
 carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-
 37)-péptido

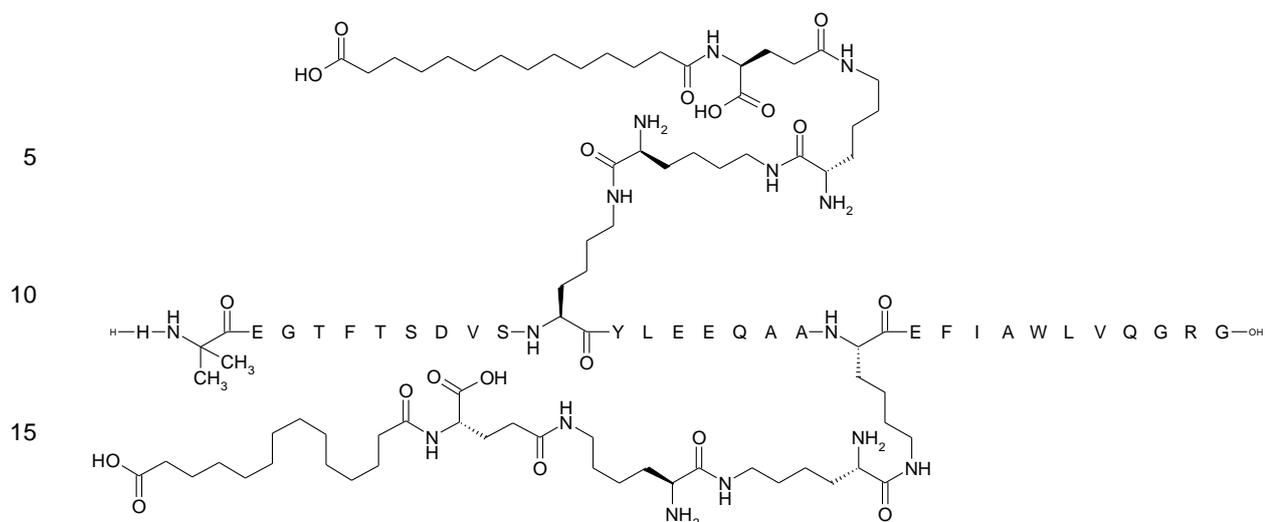
30 Quím. 41:



55 Ejemplo 23

60 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-
 carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-
 carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-
 péptido

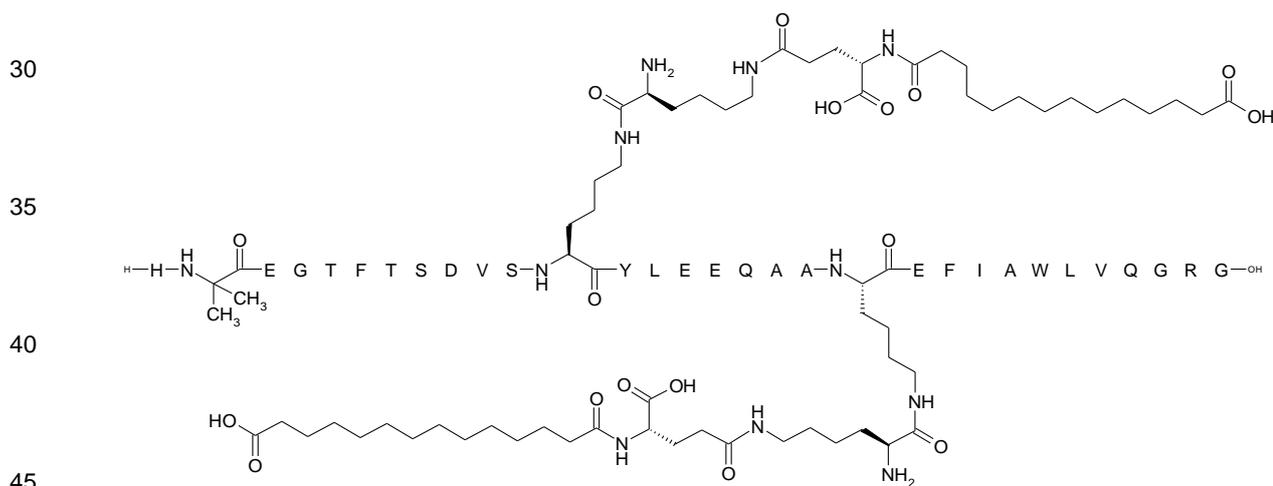
65 Quím. 42:



Ejemplo 24

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 43:



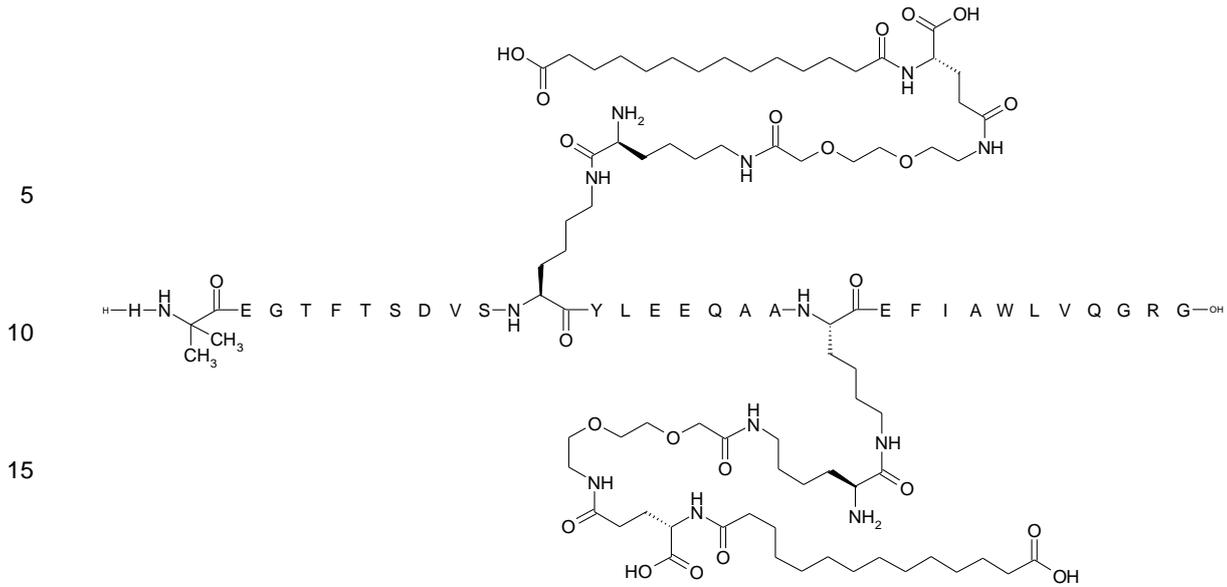
Ejemplo 25

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 44:

60

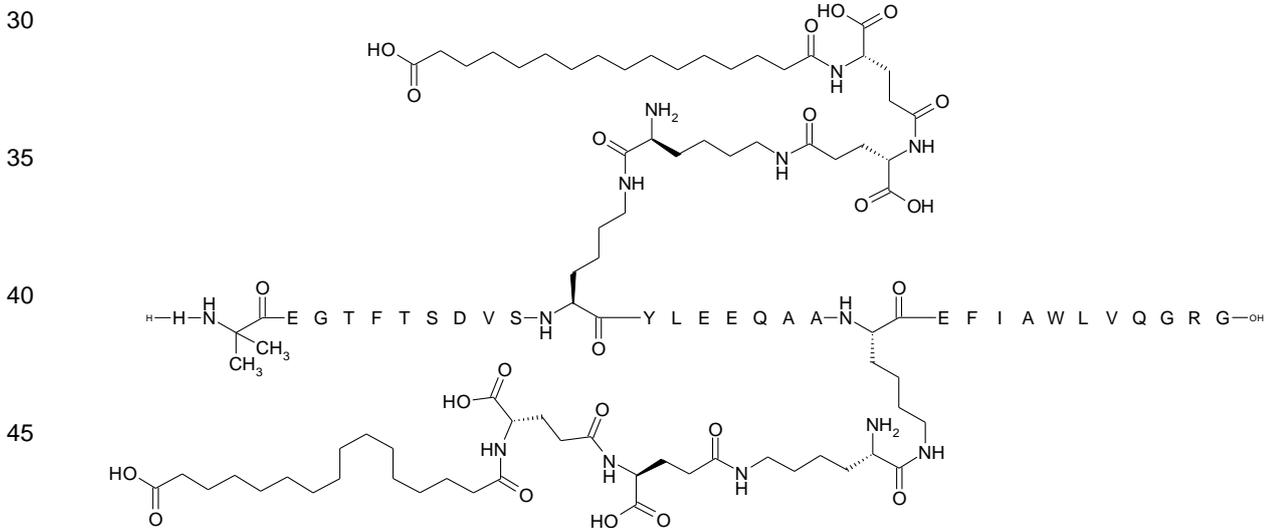
65



Ejemplo 26

25 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Glu²², Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 45:

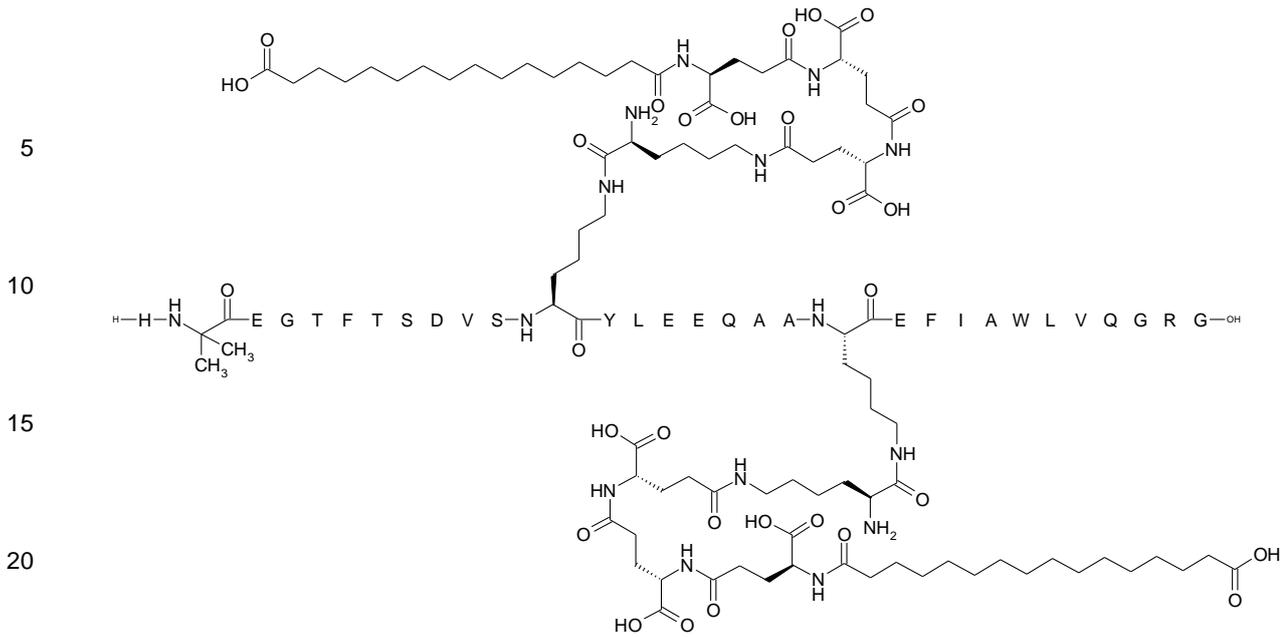


Ejemplo 27

55 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Glu²², Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

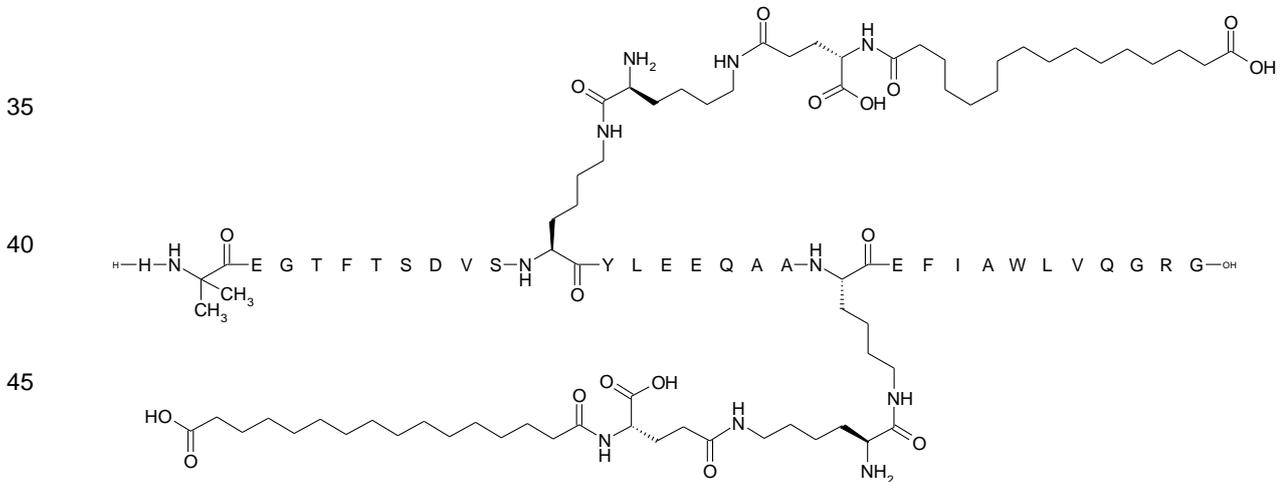
60 Quím. 46:

65



25 Ejemplo 28
 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

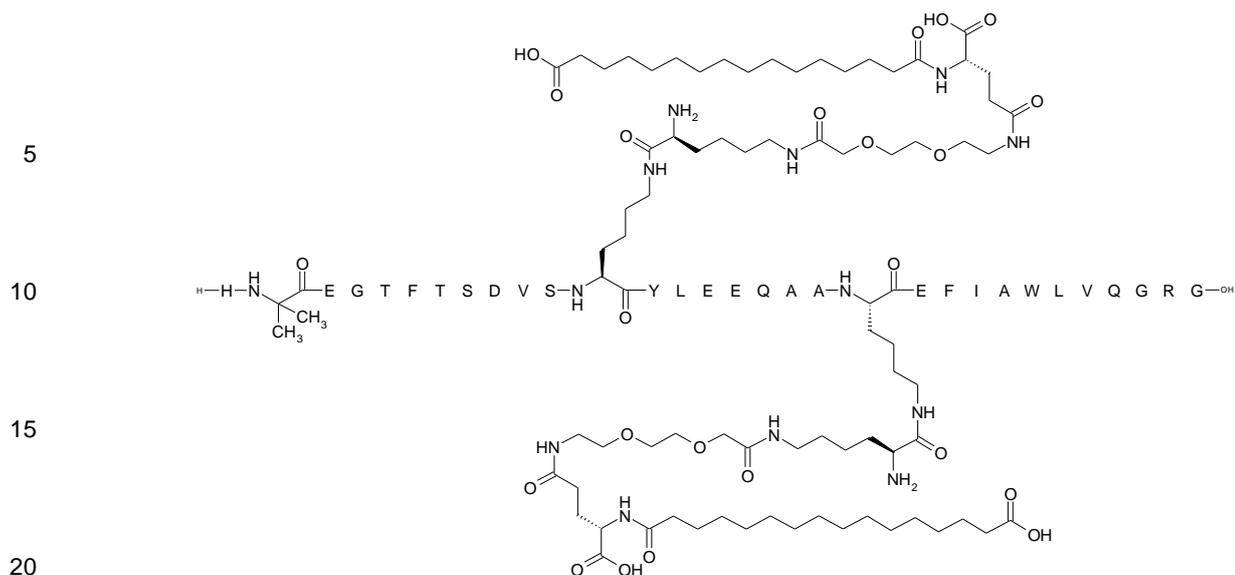
30 Quím. 47:



50 Ejemplo 29
 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

60 Quím. 48:

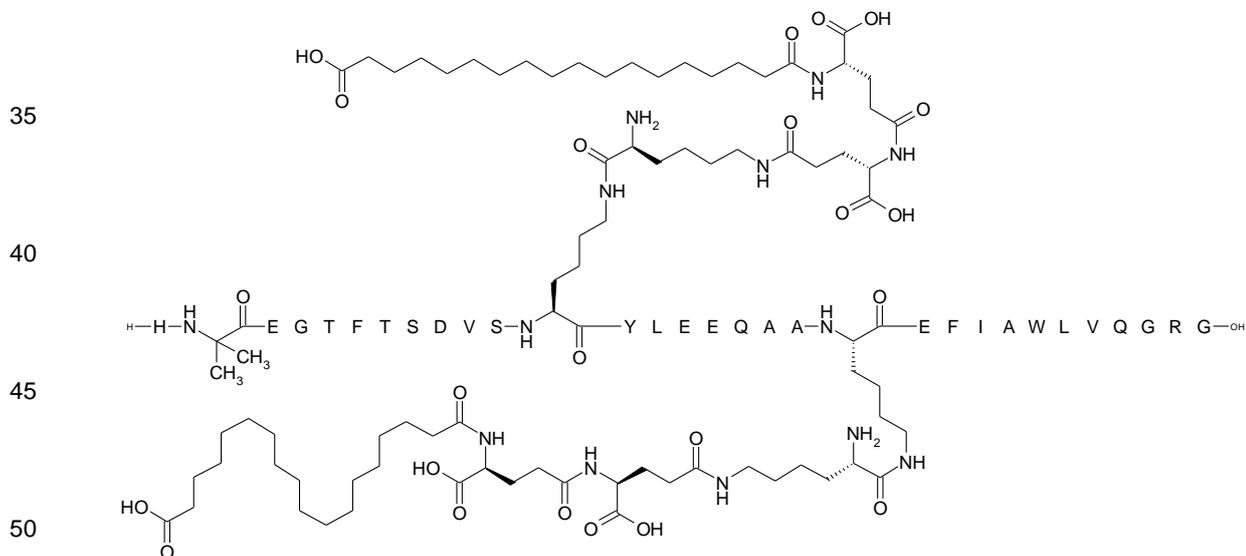
65



Ejemplo 30

25 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

30 Quím. 49:



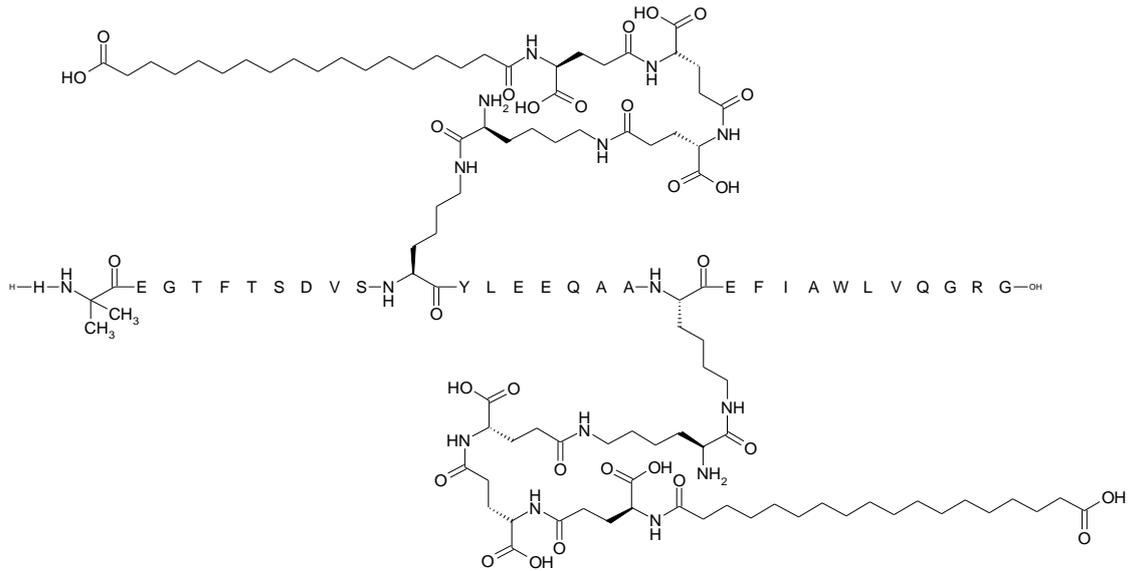
Ejemplo 31

55 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

60 Quím. 50:

65

ES 2 683 372 T3



5

10

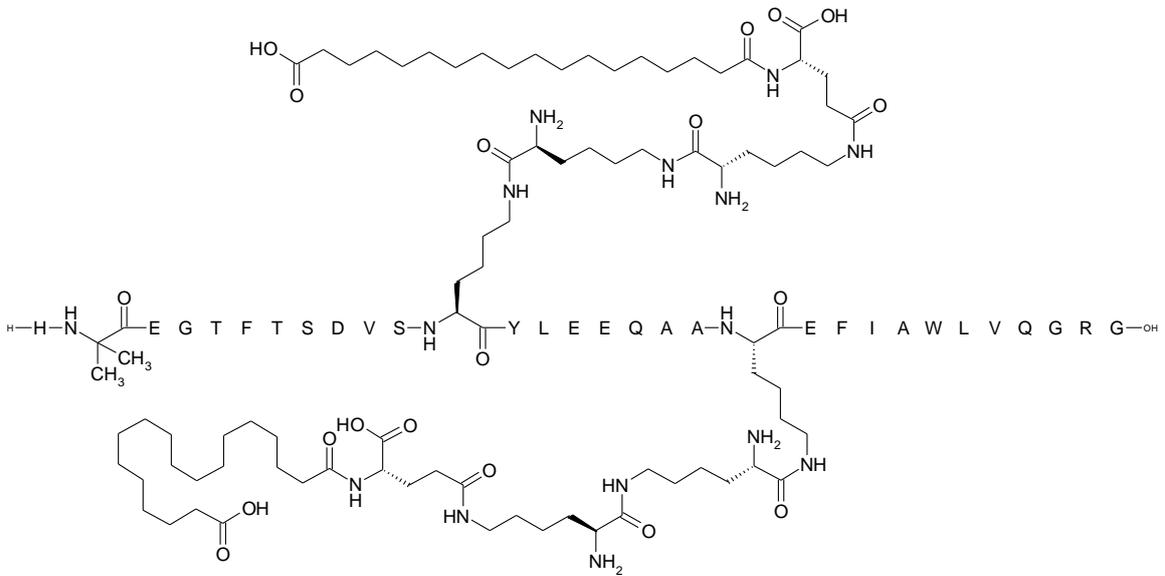
15

20

Ejemplo 32
 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

25

Quím. 51:



30

35

40

45

50

Ejemplo 33
 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

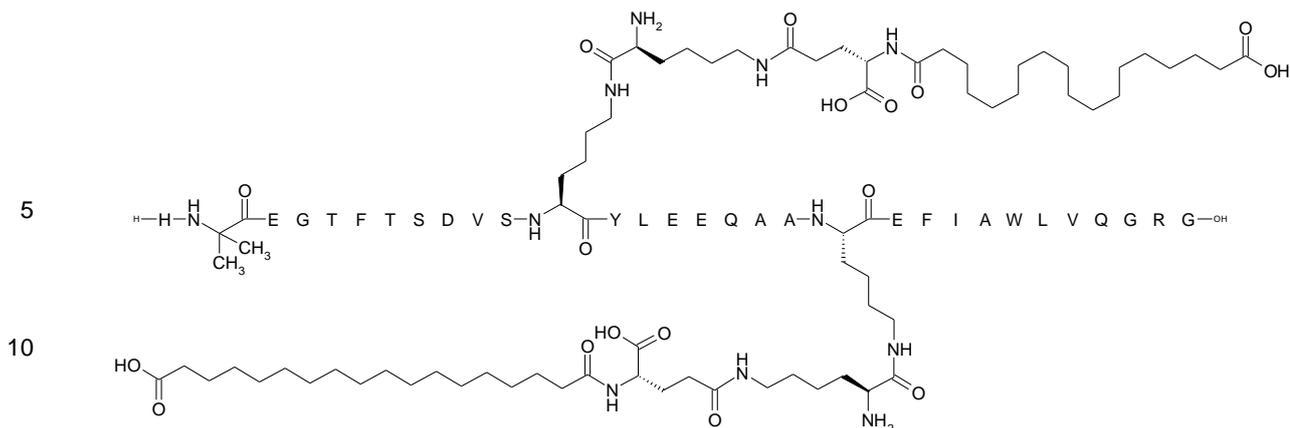
55

Quím. 52:

60

65

ES 2 683 372 T3

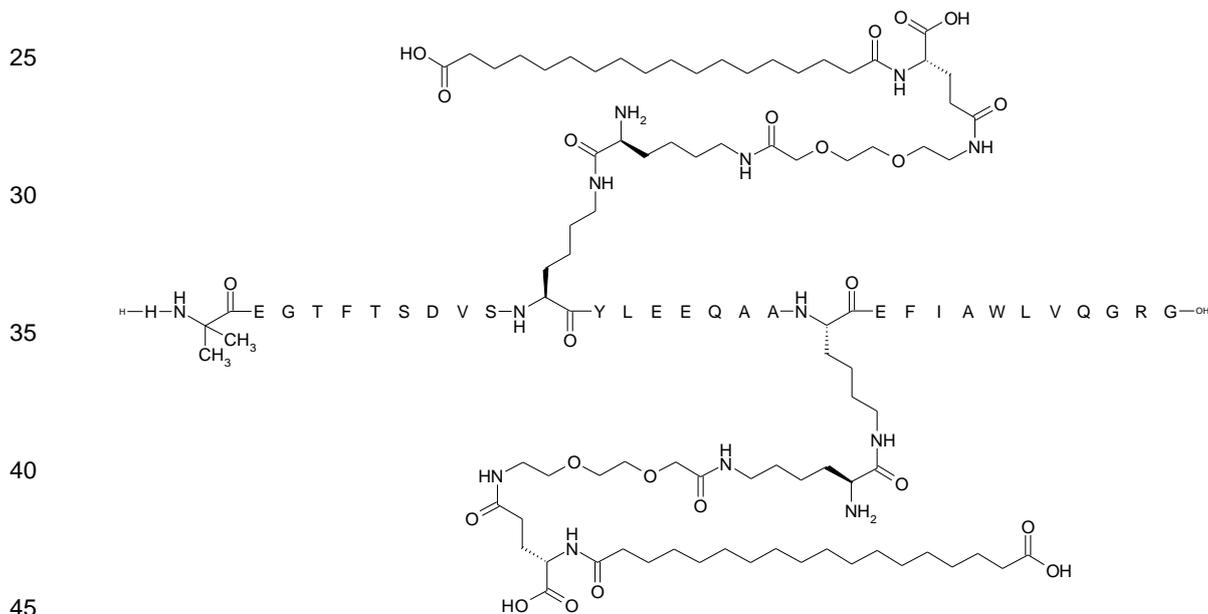


15 Ejemplo 34

N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

20

Quím. 53:



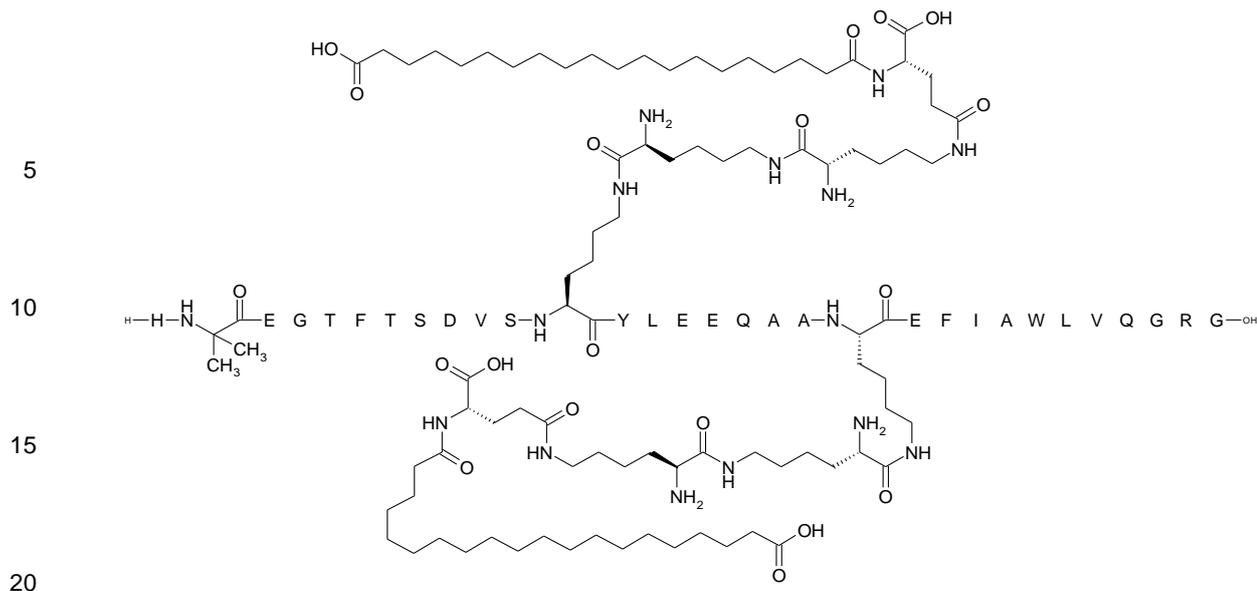
Ejemplo 35

50 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[[2-[[4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[[2-[[4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

55 Quím. 54:

60

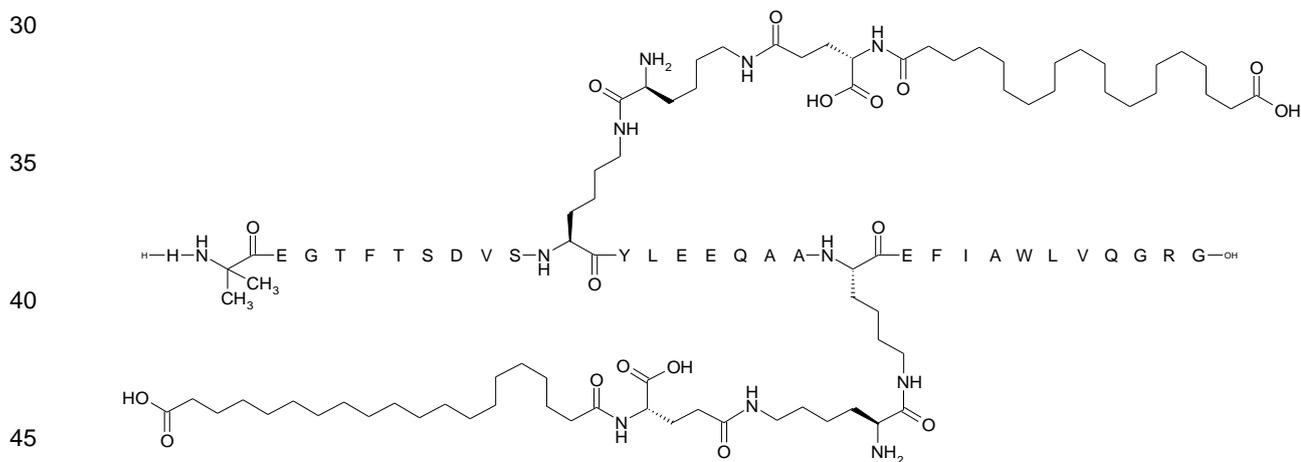
65



Ejemplo 36

25 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 55:



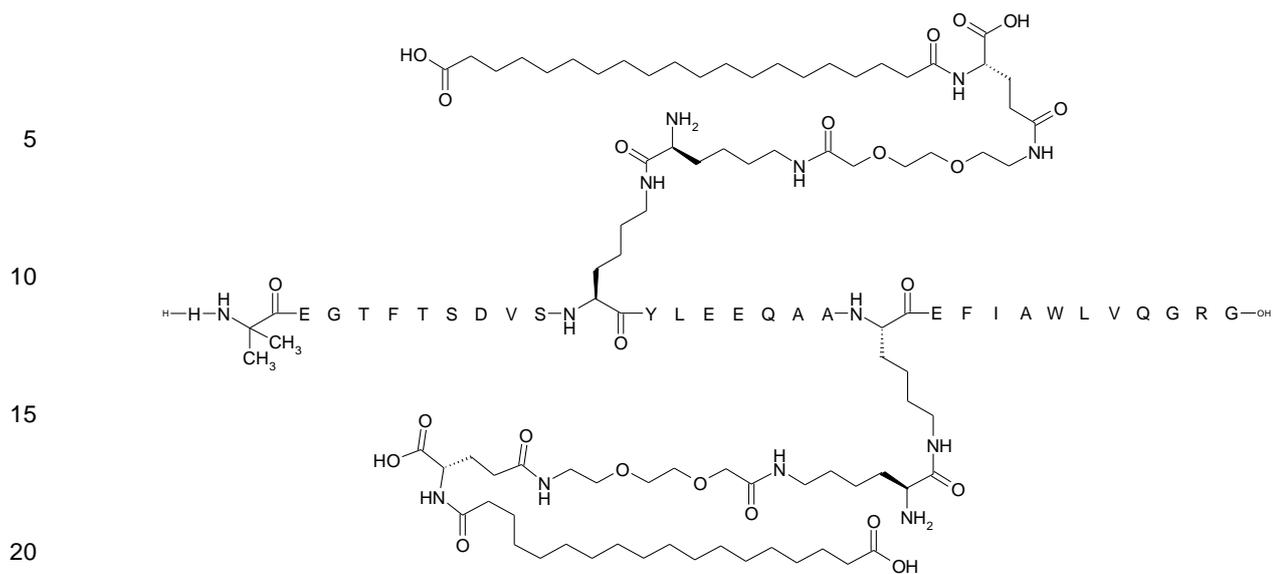
Ejemplo 37

50 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 56:

60

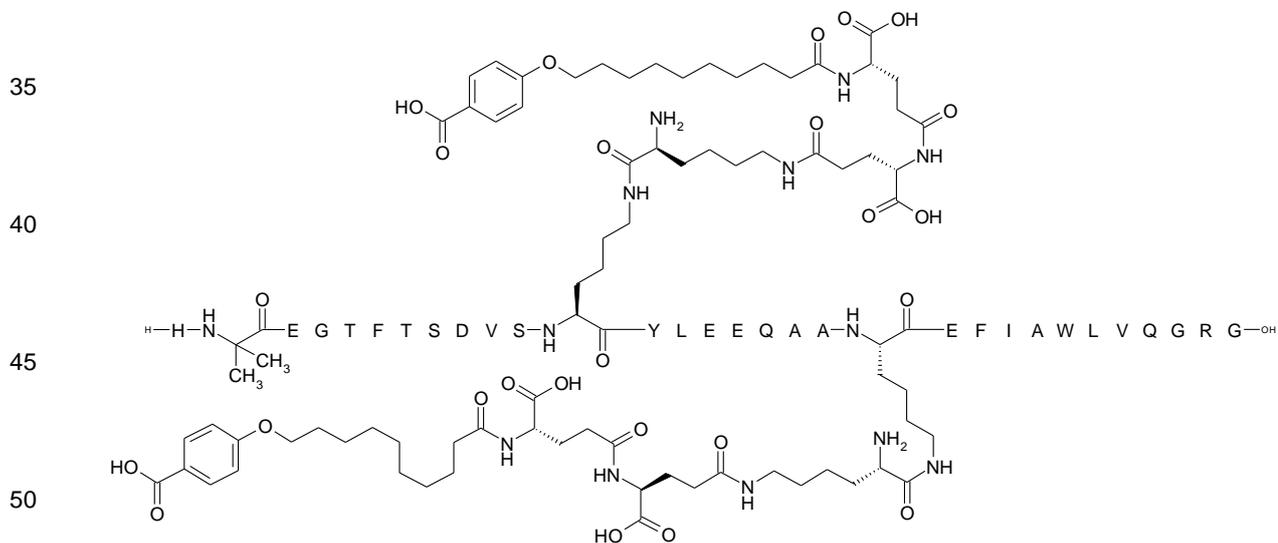
65



Ejemplo 38

25 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

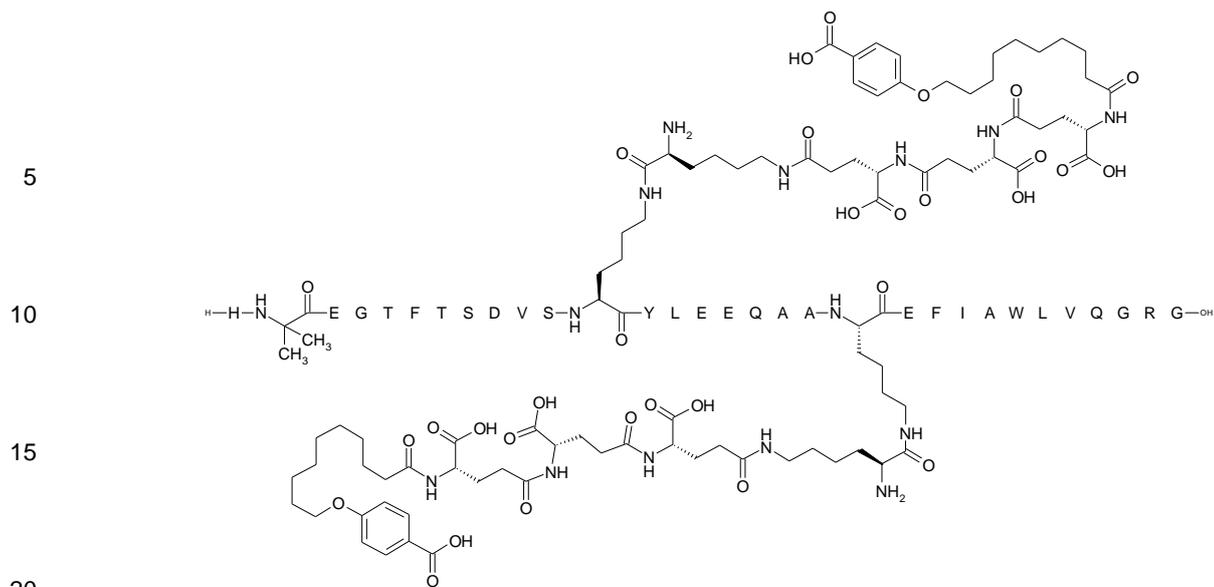
30 Quím. 57:



55 Ejemplo 39

60 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

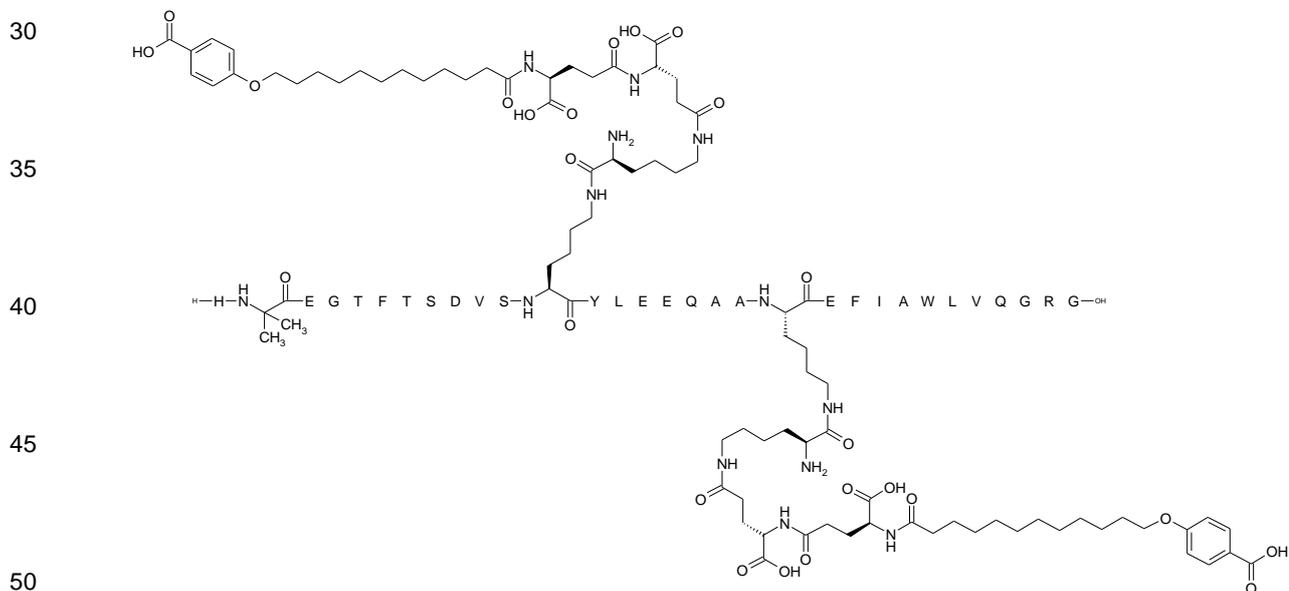
65 Quím. 58:



Ejemplo 40

25 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

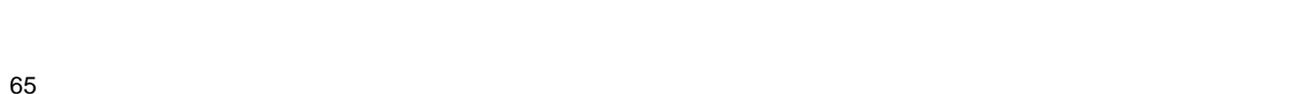
Quím. 59:

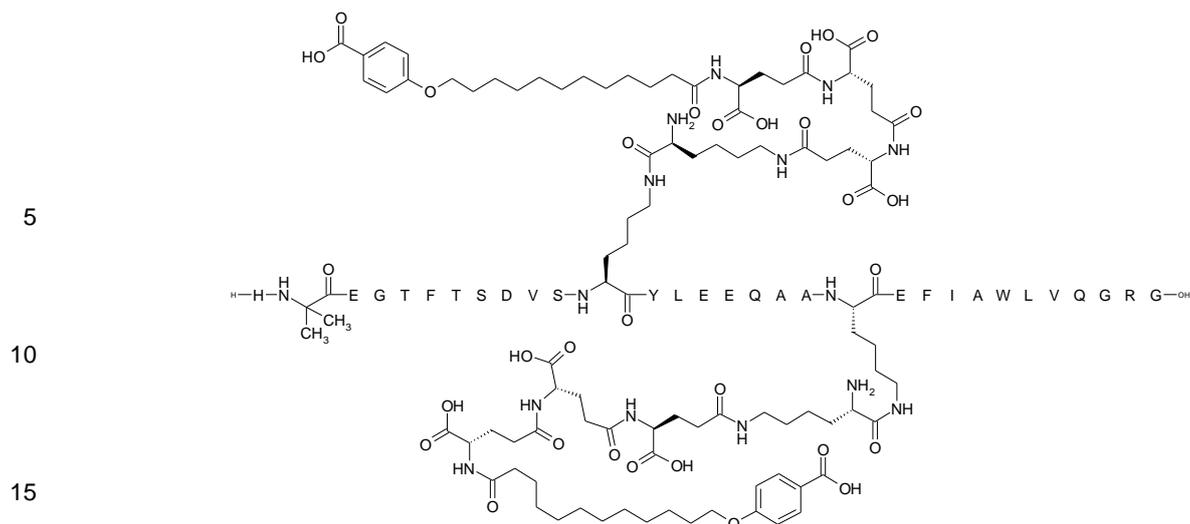


Ejemplo 41

55 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 60:

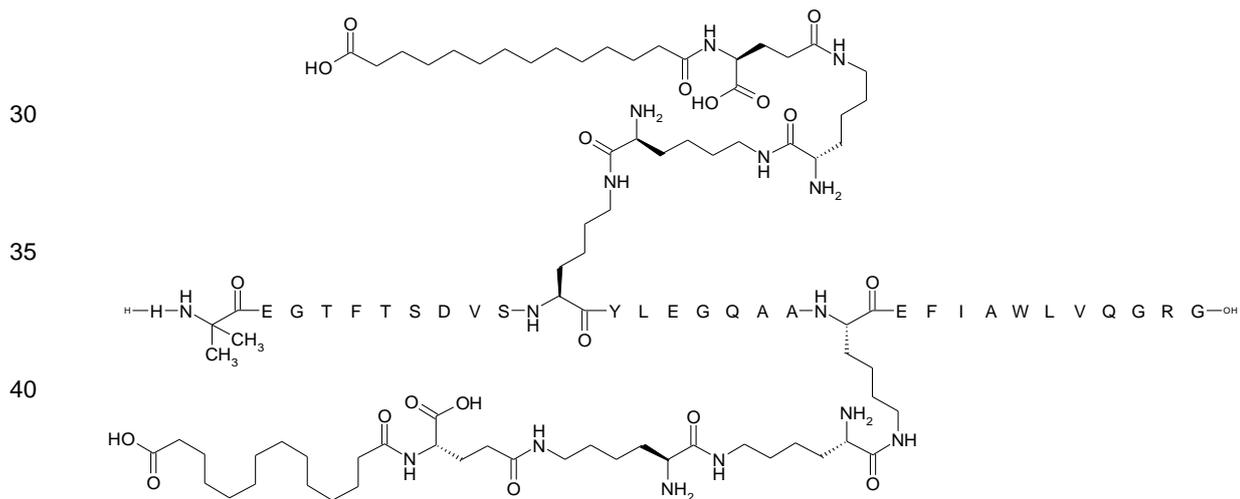




Ejemplo 42

20 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

25 Quím. 61:



Ejemplo 43

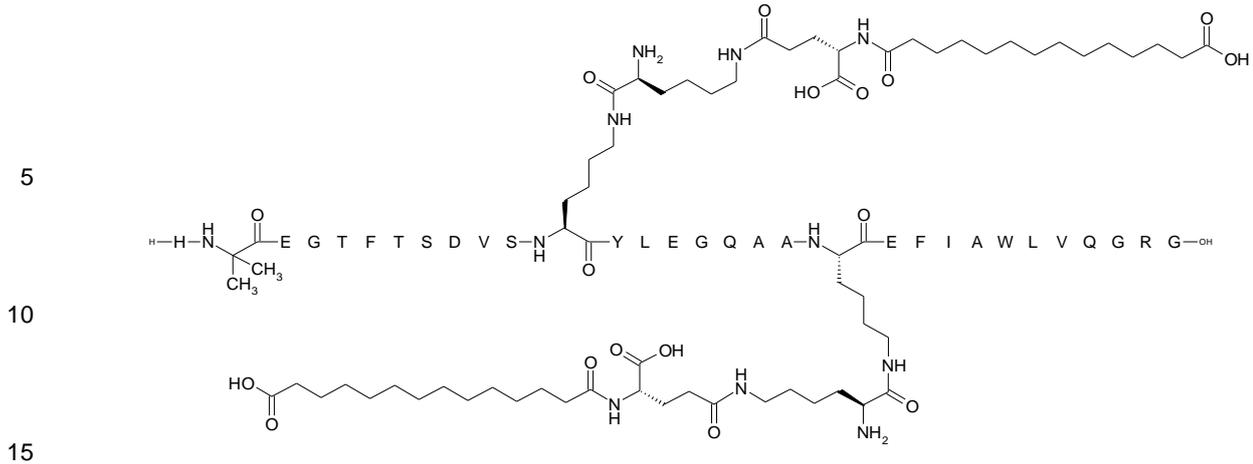
50 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸, Lys¹⁸, Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 62:

55

60

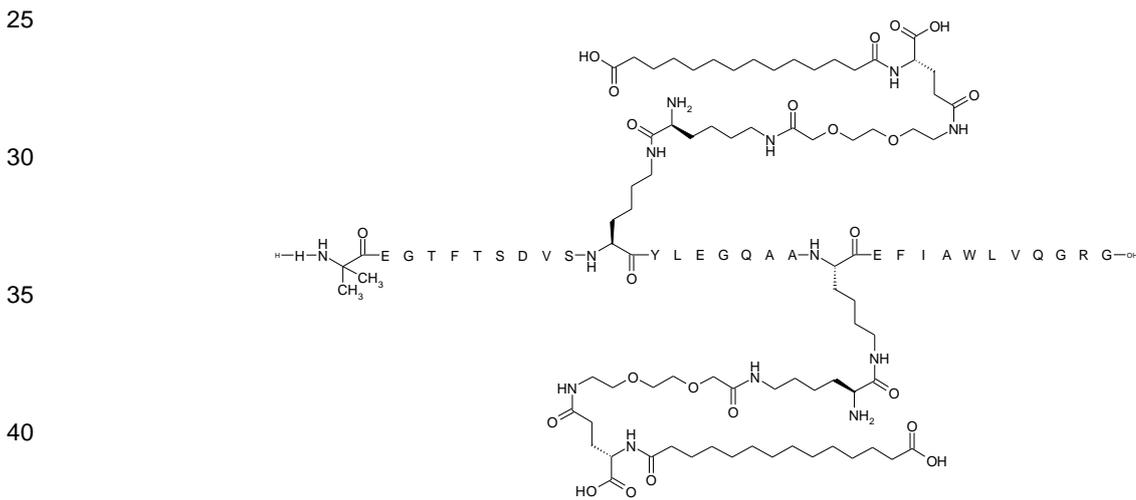
65



Ejemplo 44

20 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 63:



45 Ejemplo 45

50 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

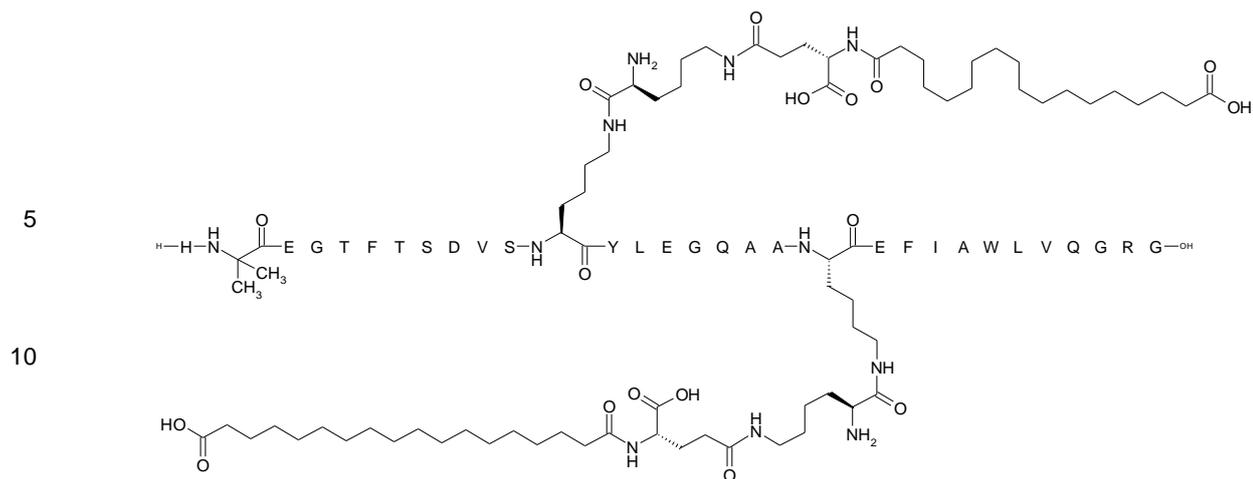
Quím. 64:

55

60

65

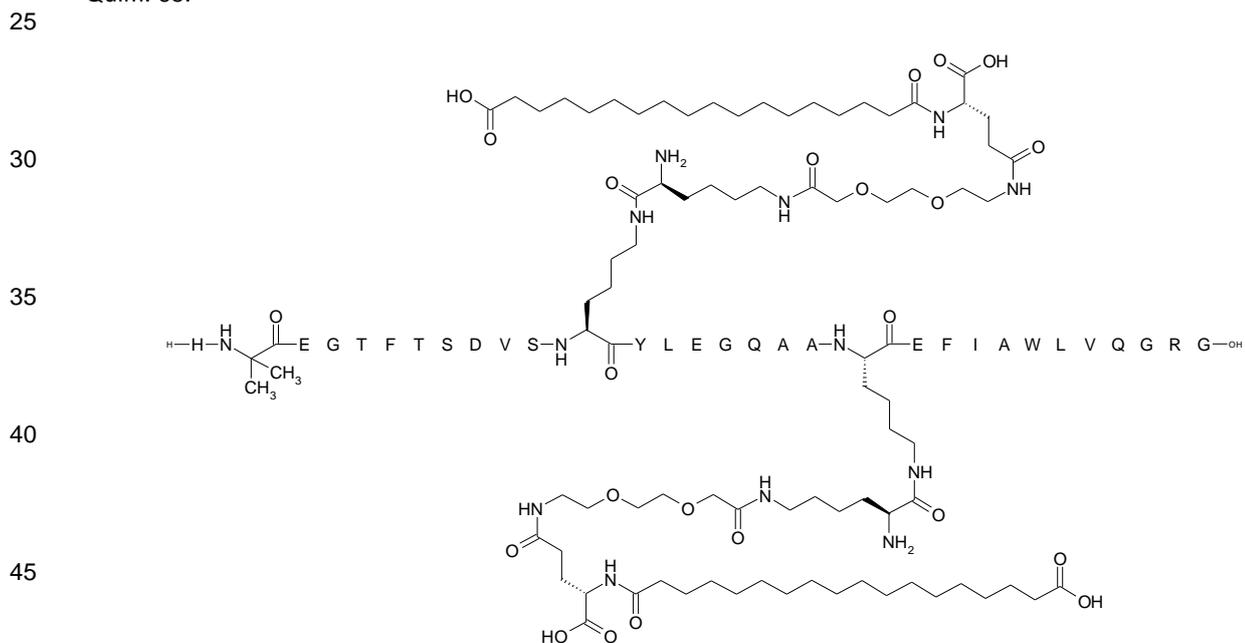
ES 2 683 372 T3



Ejemplo 46

20 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 65:



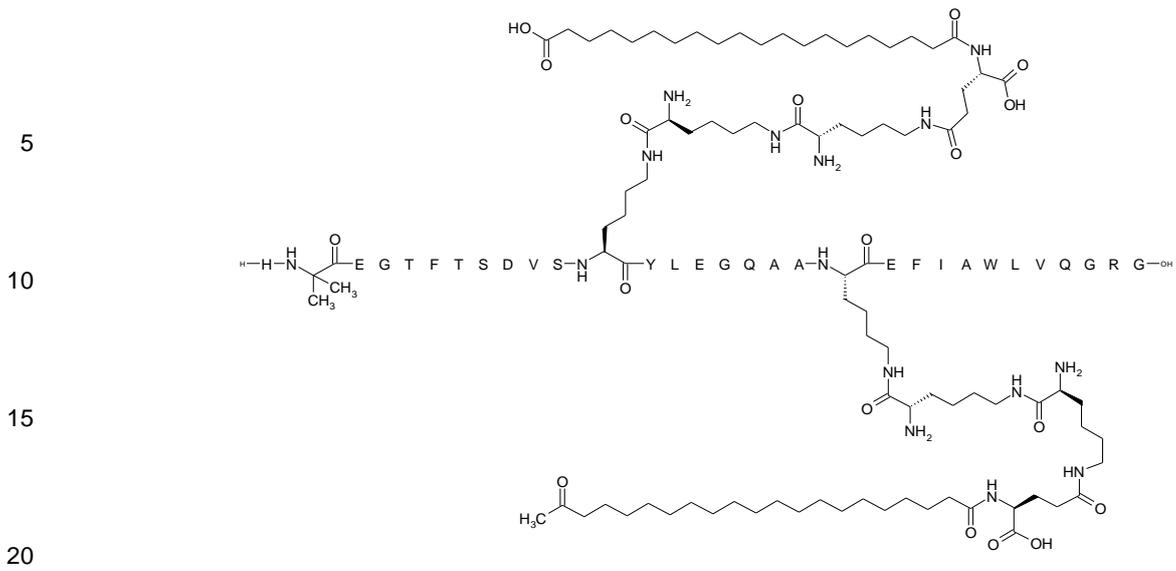
50 Ejemplo 47

55 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[(2S)-2-amino-6-[[4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[(2S)-2-amino-6-[[4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁹,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 66:

60

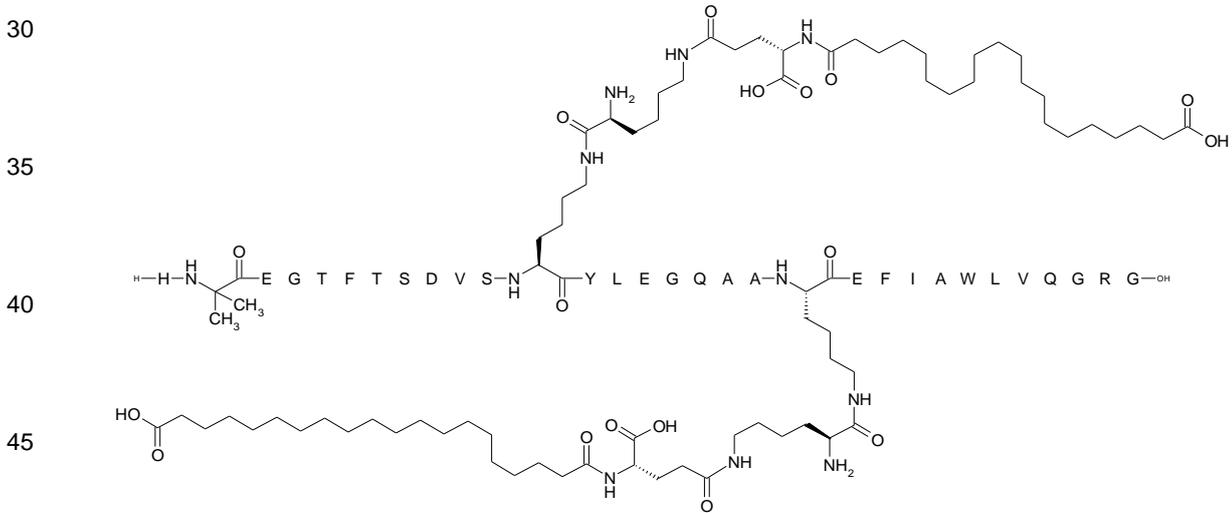
65



Ejemplo 48

25 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 67:



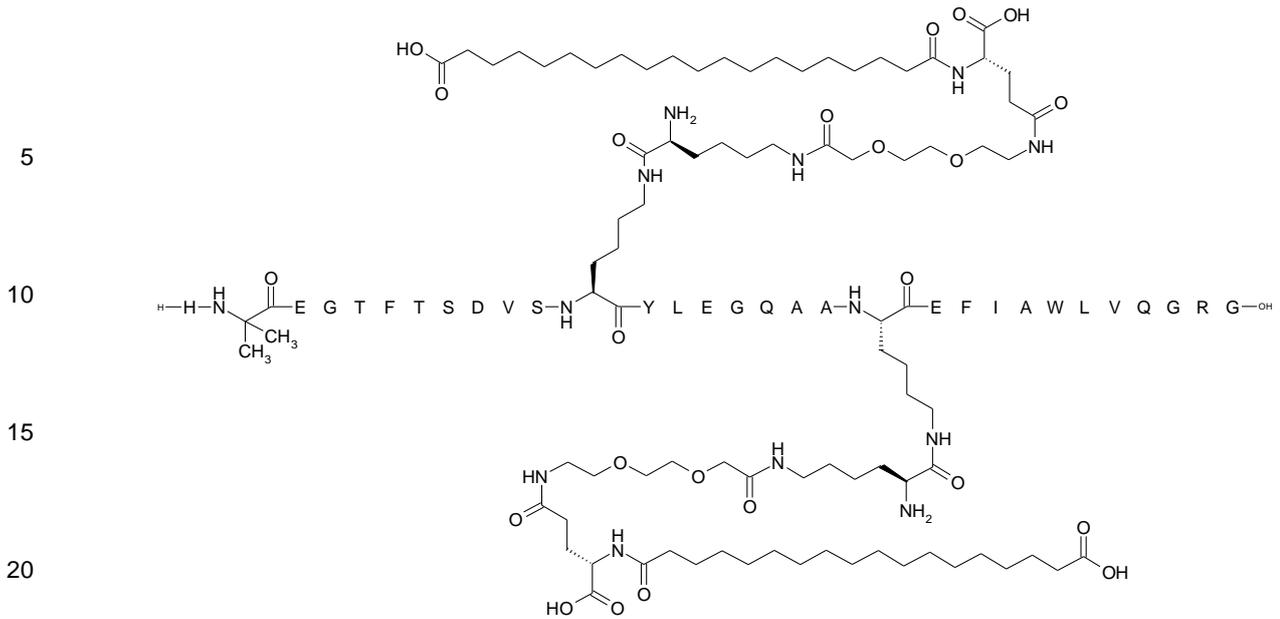
50 Ejemplo 49

55 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 68:

60

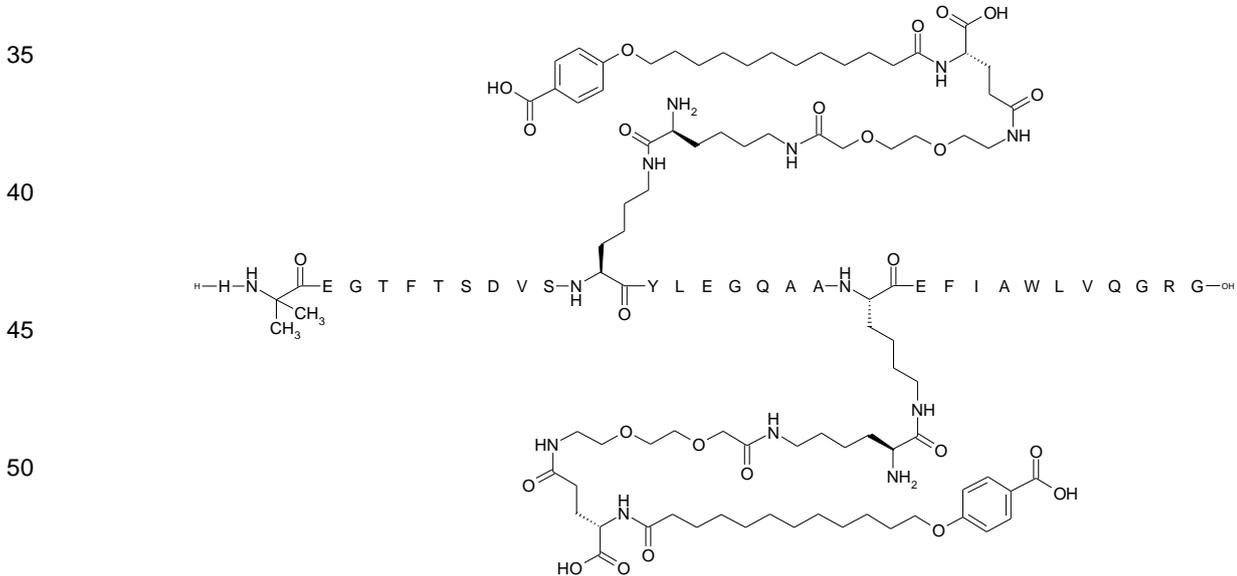
65



25 Ejemplo 50

30 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

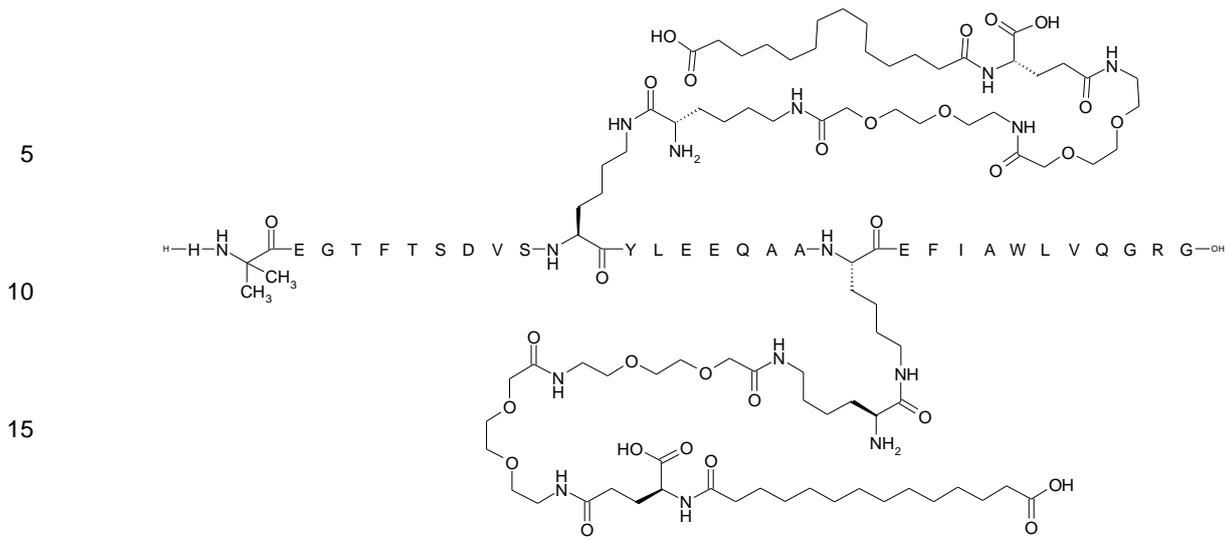
Quím. 69:



55 Ejemplo 51

60 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[4(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[4(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

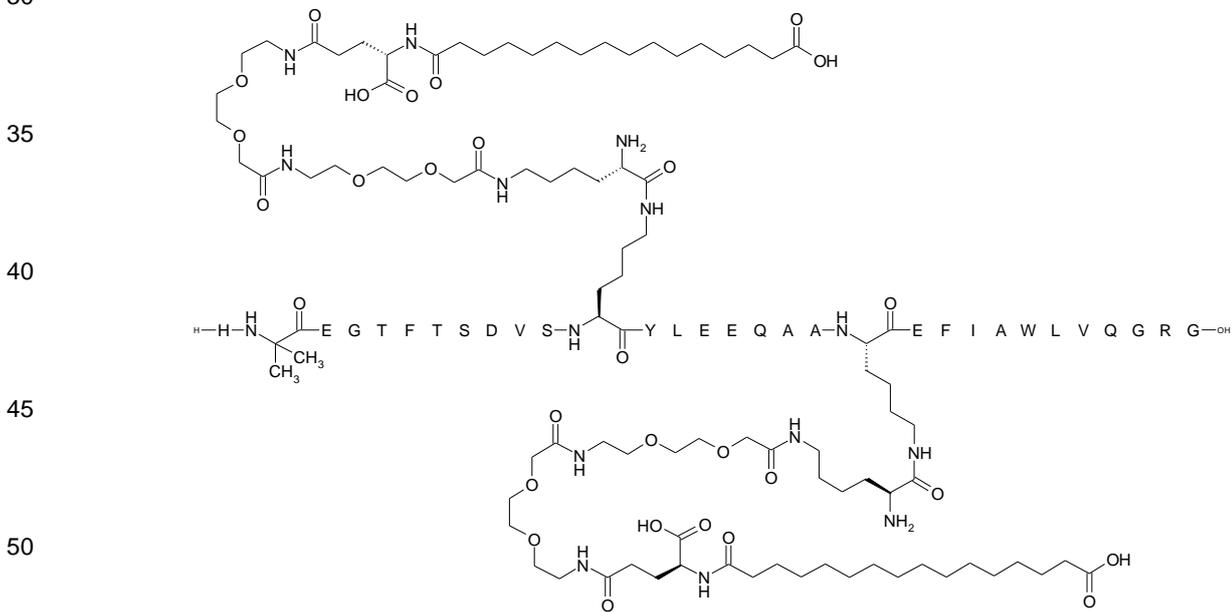
Quím. 70:



Ejemplo 52

25 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 71:



Ejemplo 53

55 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 72:

65

Métodos Biológicos

Ejemplo 59: Potencia in vitro

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

Se determinaron las potencias de los derivados de GLP-1 de los Ejemplos 1-8, 10-15 y 19 como se describe a continuación, es decir, como la estimulación de la formación de AMP cíclico (cAMP) en un medio que contiene membranas que expresan el receptor de GLP-1 humano.

10 Principio

Las membranas plasmáticas purificadas de una línea celular transfectada estable, BHK467-12A (tk-ts13), que expresan el receptor de GLP-1 humano se estimularon con el derivado de GLP-1 en cuestión y la potencia de la producción de cAMP se midió mediante el uso del kit de ensayo de cAMP AlphaScreen™ de Perkin Elmer Life Sciences. El principio básico de en Ensayo AlphaScreen es una competencia entre el cAMP endógeno y el cAMP-biotina añadido exógenamente. La captura de cAMP se alcanza mediante el uso de un anticuerpo específico conjugado a perlas receptoras.

20 Cultivo celular y preparación de membranas

Una línea celular transfectada estable y un clon de alta expresión se seleccionaron para tamizaje. Las células se cultivaron a CO₂ al 10 % en DMEM, FCS 5 %, Pen/Strep (penicilina/estreptomicina) al 1 % y 1,0 mg/ml del marcador de selección G418.

25 Las células a una confluencia aproximada del 80 % se lavaron 2 veces con PBS y se cosecharon con Versene (solución acuosa de la sal tetrasódica de ácido etilendiaminotetraacético), se centrifugaron 5 min a 1000 rpm y se eliminó el sobrenadante. Las etapas adicionales se hicieron todas en hielo. El sedimento celular se homogeneizó mediante Ultrathurax durante 20-30 segundos en 10 ml de Tampón 1 (Na-HEPES 20 mM, EDTA 10 mM, pH = 7,4), se centrifugó 15 minutos a 20 000 rpm y el sedimento se resuspendió en 10 ml de Tampón 2 (Na-HEPES 20 mM, EDTA 0,1 mM, pH = 7,4). La suspensión se homogeneizó durante 20-30 segundos y se centrifugó durante 15 minutos a 20 000 rpm. La suspensión en Tampón 2, homogeneización y centrifugación se repitieron una vez y las membranas se resuspendieron en Tampón 2. Se determinó la concentración de proteínas y las membranas se almacenaron a -80 °C hasta su uso.

35 El ensayo se realizó en placas de 96 pocillo de ½ área, de fondo plano (núm. de catálogo de Costar:3693). El volumen final por pocillo fue de 50 µl.

40 Soluciones y reactivos

Kit de ensayo de cAMP AlphaScreen de Perkin Elmer Life Sciences (núm. de catálogo: 6760625M); que contiene perlas aceptoras de Anti-cAMP (10 U/µl), perlas donantes de Estreptavidina (10 U/µl) y cAMP biotinilado (133 U/µl).

45 Tampón de AlphaScreen, pH=7,4: TRIS-HCl 50 mM (Sigma, núm. de catálogo: T3253); HEPES 5 mM (Sigma, núm. de catálogo: H3375); MgCl₂ 10 mM, 6H₂O (Merck, núm. de catálogo: 5833); NaCl 150 mM (Sigma, núm. de catálogo: S9625); Tween al 0,01 % (Merck, núm. de catálogo: 822184). Lo siguiente se añadió al Tampón de AlphaScreen antes de su uso (concentraciones finales indicadas): BSA (Sigma, núm. de catálogo A7906): 0,1 %; IBMX (Sigma, núm. de catálogo I5879): 0,5 mM; ATP (Sigma, núm. de catálogo A7699): 1 mM; GTP (Sigma, núm. de catálogo G8877): 1 uM.

50 Estándar de cAMP (factor de dilución en ensayo = 5): Solución de cAMP: 5 µl de una solución concentrada de 5 mM + 495 µl de Tampón de AlphaScreen.

55 Se prepararon series de dilución adecuadas en tampón de AlphaScreen del estándar de cAMP así como también del derivado de GLP-1 a analizar, por ejemplo, las siguientes ocho concentraciones del compuesto GLP-1: 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁹, 10⁻¹⁰, 10⁻¹¹, 10⁻¹², 10⁻¹³ y 10⁻¹⁴ M y una serie de, por ejemplo, 10⁻⁶ a 3x10⁻¹¹ de cAMP.

Membrana/Perlas aceptoras

60 Uso de membranas hGLP-1/ BHK 467-12A; 3 µg/pocillo que corresponde a 0,6 mg/ml (la cantidad de membranas usadas por pocillo puede variar)

“No membranas”: Perlas Aceptoras (2unidades/pocillo final) en tampón de AlphaScreen

65 “3 µg/pocillo membranas”: membranas + Perlas Aceptoras (2unidades/pocillo final) en tampón de AlphaScreen

Añadir 10 µl de "No membranas" al Estándar de cAMP (por pocillo en duplicados) y los controles positivos y negativos

Añadir 10 µl de "3 µg/pocillo de membranas" a los derivados de GLP-1 (por pocillo en duplicados/triplicados)

- 5 Control Positivo: 10 µl de "no membranas" + 10 µl de Tampón de AlphaScreen
- Control Negativo: 10 µl de "no membranas" + 10 µl de Solución Concentrada de cAMP (50µM)
- 10 Como las perlas son sensibles a la luz directa, cualquier manipulación se hizo en la oscuridad (lo más oscura posible) o en luz verde. Todas las diluciones se hicieron en hielo.

Procedimiento

- 15 1. Hacer el Tampón de AlphaScreen.
 2. Disolver y diluir los derivados de GLP-1/Estándar de cAMP en Tampón de AlphaScreen.
 3. Hacer la solución de perlas donantes (mediante la mezcla de perlas donantes de estreptavidina (2 unidades/pocillo) y cAMP biotinilado (1,2 unidades/pocillo) e incubar 20-30 min. en la oscuridad a RT.
 4. Añadir cAMP/derivados de GLP-1 a la placa: 10 µl por pocillo.
- 20 5. Preparar la solución de membrana/Perlas Aceptoras y añadir esto a las placas: 10 µl por pocillo.
 6. Añadir las Perlas Donantes: 30 µl por pocillo.
 7. Envolver la placa en papel de aluminio e incubar en el agitador durante 3 horas (muy lentamente) a RT.
 8. Contar en AlphaScreen – cada placa se incubaba previamente en el AlphaScreen durante 3 minutos antes del recuento.

25 Resultados

Los valores EC_{50} [nM] se calcularon mediante el uso del programa informático Graph-Pad Prism (versión 5).

- 30 La potencia de todos derivados in vitro se confirmó. 13 derivados tuvieron una potencia in vitro correspondiente a una EC_{50} de 1200 pM o menos; 11 derivados tuvieron una potencia todavía mejorada correspondiente a una EC_{50} a 500 pM o menos; 7 derivados fueron muy potentes y corresponden a una EC_{50} a 200 pM o menos; y 2 derivados tuvieron una muy buena potencia correspondiente a una EC_{50} de 100 pM o menos.

- 35 Para comparación, el compuesto núm. 13 en la Tabla 1 de Journal of Medicinal Chemistry (2000), vol. 43, núm. 9, páginas 1664-669 (GLP-1(7-37) acilado en $K^{26,34}$ con bis-C12-diácido) tuvo una potencia in vitro correspondiente a un valor EC_{50} de 1200 pM.

- 40 Si es conveniente, la variación en veces en relación con GLP-1 puede calcularse como EC_{50} (GLP-1)/ EC_{50} (análogo) – 3693.2.

Ejemplo 60: unión al receptor de GLP-1

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

- La afinidad de unión de los derivados de GLP-1 de los Ejemplos 1-8, 10-15 y 19 al receptor de GLP-1 humano se midió por medio de su capacidad para desplazar ^{125}I -GLP-1 del receptor. Para probar la unión de los derivados al receptor en presencia de albúmina, el ensayo se realizó con una baja concentración de albúmina (0,005 % - correspondiente a la cantidad residual de la misma en el trazador), así como también con una alta concentración de albúmina (2,0 % añadida). Un cambio en la afinidad de unión, IC_{50} , es una indicación de que el derivado en cuestión se une a albúmina y por lo tanto una predicción de un posible perfil farmacocinético prolongado del derivado en cuestión en modelos animales.

55 Condiciones

Especies (in vitro): Hámster
 Punto Final Biológico: Unión al Receptor
 Método de Ensayo: SPA
 60 Receptor: receptor de GLP-1
 Línea Celular: BHK tk-ts13

Cultivo celular y preparación de membranas

Una línea celular transfectada estable y un clon de alta expresión se seleccionaron para tamizaje. Las células se cultivaron a CO₂ al 10 % en DMEM, FCS 5 %, Pen/Strep (penicilina/estreptomicina) al 1 % y 1,0 mg/ml del marcador de selección G418.

5 Las células a una confluencia aproximada del 80 % se lavaron 2 veces con PBS y se cosecharon con Versene (solución acuosa de la sal tetrasódica de ácido etilendiaminotetraacético), se centrifugaron 5 min a 1000 rpm y se eliminó el sobrenadante. Las etapas adicionales se hicieron todas en hielo. El sedimento celular se homogeneizó mediante el Ultrathurax durante 20-30 segundos en una cantidad adecuada de Tampón 1 (Na-HEPES 20 mM, EDTA 10 mM, pH=7,4), por ejemplo 10-20 ml, se centrifugó 15 minutos a 20 000 rpm y el sedimento se resuspendió en una
10 cantidad adecuada de Tampón 2 (Na-HEPES 20 mM, EDTA 0,1 mM, pH = 7,4), por ejemplo 10-20 ml. La suspensión se homogeneizó durante 20-30 segundos y se centrifugó durante 15 minutos a 20 000 rpm. La suspensión en Tampón 2, homogeneización y centrifugación se repitieron una vez más y las membranas se resuspendieron en Tampón 2. Se determinó la concentración de proteínas y las membranas se almacenaron a -80 °C hasta su uso.

15 Ensayo de unión a SPA:

Los compuestos de prueba, membranas, partículas de SPA y [¹²⁵I]-GLP-1(7-36)NH₂ se diluyeron en tampón de ensayo. Se añaden 25 ul (microlitro) de compuestos de prueba a Optiplate. Se añadió HSA (experimento en "albúmina alta" que contenía HSA al 2 %) o tampón (experimento en "albúmina baja" que contenía HSA al 0,005 %) (50 ul). Se añadió 5-10 ug de proteína/muestra (50 ul) correspondiente a 0,1 - 0,2 mg de proteína/ml (para ser optimizada preferentemente para cada preparación de membrana). Las partículas de SPA (perlas SPA de aglutinina de trigo germinado, Perkin Elmer, núm. RPNQ0001) en una cantidad de 0,5 mg/pocillo (50 ul). La incubación se inició con [¹²⁵I]-GLP-1(7-36)NH₂ (concentración final 0,06 nM correspondiente a 49.880 DPM, 25 ul). Las placas se sellaron con PlateSealer y se incubaron durante 120 minutos a 30°C mientras se agitaba. Las placas se centrifugaron (1500 rpm, 10 min) y se contaron en Topcounter.

Tampón de ensayo:

30 HEPES 50 mM
EGTA 5 mM
MgCl₂ 5 mM
Tween 20 al 0,005 %
pH 7,4
35 HSA fue SIGMA A1653

Cálculos

40 El valor de IC₅₀ se leyó a partir de la curva como la concentración que desplaza el 50 % de ¹²⁵I-GLP-1 del receptor y se determinó la relación de [(IC₅₀/nM) a alta HSA] / [(IC₅₀/nM) a baja HSA].

Generalmente, la unión al receptor de GLP-1 a baja concentración de albúmina debería ser tan buena como sea posible, correspondiente a un bajo valor de IC₅₀.

45 El valor de IC₅₀ a alta concentración de albúmina es una medida de la influencia de la albúmina en la unión del derivado al receptor de GLP-1. Como se conoce, los derivados de GLP-1 también se unen a albúmina. Este es un efecto generalmente deseable, el que extiende su tiempo de vida media en plasma. Por lo tanto, el valor de IC₅₀ a albúmina alta generalmente será mayor que el valor de IC₅₀ a albúmina baja, correspondiente a una unión reducida al receptor de GLP-1, provocada por la unión a albúmina que compite con la unión al receptor de GLP-1.

50 Una relación alta (valor de IC₅₀ (albúmina alta) / valor de IC₅₀ (albúmina baja)) puede tomarse por lo tanto como una indicación de que el derivado en cuestión se une bien a albúmina (puede tener una vida media larga) y además *per se* se une bien al receptor de GLP-1 (el valor de IC₅₀ (albúmina alta) es alto y el valor de IC₅₀ (albúmina baja) es bajo).

55 Resultados

Los siguientes resultados se obtuvieron, donde "relación" se refiere a [(IC₅₀/nM) a alta HSA] / [(IC₅₀/nM) a baja HSA]):

60 Todos los derivados tuvieron una relación sobre 10; 13 derivados la tuvieron sobre 50; 11 derivados la tuvieron sobre 100; 8 derivados sobre 500; y 4 derivados tuvieron una relación sobre 1000.

65 Además, en lo que respecta a IC₅₀ (albúmina baja), todos los derivados tuvieron un IC₅₀ (albúmina baja) por debajo de 35 nM; 14 derivados la tuvieron por debajo de 15 nM; 13 derivados la tuvieron por debajo de 10 nM; 12 derivados

la tuvieron por debajo de 5,0 nM; 10 derivados la tuvieron por debajo de 1,0 nM; y 6 derivados la tuvieron por debajo de 0,50 nM.

5 Finalmente en lo que respecta a IC_{50} (albúmina alta), 10 derivados la tuvieron por debajo de 1000 nM; 7 derivados la tuvieron por debajo de 500 nM; y 3 derivados la tuvieron por debajo de 250 nM.

Ejemplo 61: Estimado de la biodisponibilidad oral - Inyección en intestino en rata (caprato de sodio)

10 El propósito de este experimento es estimar la biodisponibilidad oral de los derivados de GLP-1. Con este fin, la exposición en plasma después de la inyección directa en el lumen intestinal de los derivados de GLP-1 se estudia in vivo en ratas, como se describe a continuación. Los derivados de GLP-1 se analizan a una concentración de 1000 μ M en una solución de 55 mg/ml de caprato de sodio.

15 32 ratas Sprague Dawley machos con un peso corporal a la llegada de aproximadamente 240 g se obtienen de Taconic (Dinamarca) y se asignan a los diferentes tratamientos por aleatorización simple, 4 ratas por grupo. Las ratas se someten a ayuno durante aproximadamente 18 horas antes del experimento y se toman en anestesia general (Hypnorm/Dormicum).

20 Los derivados de GLP-1 se administran en el yeyuno ya sea en la parte proximal (10 cm distal para el duodeno) o en el intestino medio (50 cm proximal para el ciego). Se insertó un catéter PE50 de 10 cm de longitud en el yeyuno, se introdujo al menos 1,5 cm en el yeyuno y se aseguró antes de la dosificación mediante una ligadura alrededor del intestino y el catéter con una sutura de 3/0 distal a la punta para evitar la fuga o el desplazamiento del catéter. El catéter se coloca sin jeringa y aguja y se administran 2 ml de solución salina en el abdomen antes de cerrar la incisión con clips para heridas.

25 Se inyectan 100 μ l del derivado de GLP-1 respectivo en el lumen del yeyuno a través del catéter con una jeringa de 1 ml. Posteriormente, se introducen 200 μ l de aire en la luz del yeyuno con otra jeringa para "enjuagar" el catéter. Esta jeringa se deja conectada al catéter para evitar el flujo de regreso en el catéter.

30 Las muestras de sangre (200 μ l) se recolectan a intervalos deseados (generalmente en los tiempos 0, 10, 30, 60, 120 y 240 min) en tubos de EDTA de la vena caudal y se centrifugan 5 minutos, 10 000 G, a 4°C a los 20 minutos. El plasma (75 μ l) se separa en tubos micrónicos, se congela inmediatamente y se mantiene a -20 °C hasta que se analiza la concentración plasmática del derivado de GLP-1 respectivo con LOCI (Inmunoensayo Luminescente de Canalización de Oxígeno), generalmente como se describe para la determinación de insulina por Poulsen y Jensen en Journal of Biomolecular Screening 2007, vol. 12, páginas 240-247. Las perlas donantes se recubren con estreptavidina, mientras que las perlasceptoras se conjugan con un anticuerpo monoclonal que reconoce un epítopo medio/C-terminal del péptido. Otro anticuerpo monoclonal, específico para el N-terminal, se biotinila. Los tres reactivos se combinan con el analito y forman un inmunocomplejo de dos sitios. La iluminación del complejo libera átomos de oxígeno singlete de las perlas donantes, que se canalizan en las perlas receptoras y desencadenan la quimioluminiscencia que se mide en un lector de placas Envision. La cantidad de luz es proporcional a la concentración del compuesto.

45 Después de tomar la muestra de sangre las ratas se sacrifican bajo anestesia y se abre el abdomen para verificar la colocación correcta del catéter.

50 Las concentraciones plasmáticas medias (n=4) (pmol/l) se determinan como una función del tiempo. La relación de la concentración plasmática (pmol/l) dividida por la concentración de la solución de dosificación (μ mol/l) se calcula para cada tratamiento y los resultados para t = 30 min (30 minutos después de la inyección del compuesto en el yeyuno) se evalúan (exposición corregida para dosis a los 30 min) como una medida sustitutiva de la biodisponibilidad intestinal. Se espera que la exposición corregida para dosis se correlacione con la biodisponibilidad real.

55 La exposición corregida para dosis a los 30 minutos se refiere a (la concentración plasmática 30 minutos después de la inyección del compuesto en el yeyuno (pM)), dividida por (la concentración del compuesto en la solución de dosificación (μ M)).

Ejemplo 62: Estimado de biodisponibilidad oral - Inyección en intestino y alimentación por sonda gástrica en rata (SNAC)

60 El propósito de este experimento es estimar la biodisponibilidad oral de los derivados de GLP-1 en un modelo de rata. En breve, una solución líquida del derivado de GLP-1 en sodio N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]caprilato (SNAC) se administra por inyección en intestino (a los intestinos), o por alimentación por sonda gástrica (al estómago) y se mide la exposición posterior en plasma del derivado de GLP-1.

Una solución concentrada de 250 mg/ml de SNAC se preparó mediante la disolución de SNAC (12,5 g) en agua de laboratorio altamente pura (MilliQ) (50,0 ml). El pH se ajustó a aproximadamente 8,5 con NaOH (ac) 1 N.

5 Las soluciones con aproximadamente 1000 uM (800-1200 uM) de los derivados de GLP-1 de los Ejemplos 5-8, 11-13 y 15, respectivamente, en 250 mg/ml de SNAC se prepararon mediante la disolución de la cantidad deseada del derivado de GLP-1 respectivo en la solución concentrada de SNAC. La concentración del derivado de GLP-1 se determinó antes de la administración mediante un método del estado de la materia, tal como CLND-HPLC (detección de nitrógeno quimoluminiscente para HPLC).

10 32 ratas machos Sprague Dawley con un peso corporal a la llegada de aproximadamente 240 g se obtuvieron de Taconic (Dinamarca) y se asignaron a los diferentes tratamientos mediante aleatorización simple, 8 ratas por grupo. Todas las ratas se sometieron a ayuno en rejillas durante aproximadamente 18 horas antes del experimento.

15 Para inyección en intestino, en el día de experimento, las ratas se tomaron en anestesia general (Hypnorm/Dormicum) y permanecieron anestesiadas durante todo el experimento. Los derivados de GLP-1 de los Ejemplos 5-7 se administraron en la parte proximal del yeyuno (10 cm distal para el duodeno). Se insertó un catéter PE50, de 10 cm de longitud, en el yeyuno, se envió al menos 1,5 cm dentro del yeyuno y se aseguró antes de la dosificación mediante una ligadura alrededor del intestino. Además, el catéter se proporcionó con una sutura 3/0 distal a la punta para evitar la fuga o el desplazamiento del catéter. El catéter se colocó sin jeringa y aguja y se administraron 2 ml de solución salina en el abdomen antes de cerrar la incisión con clips para heridas.

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

25 Las muestras de sangre (200 µl) se recolectaron a intervalos deseados (generalmente a veces 0, 30, 60, 120 y 180 min) en tubos con EDTA de la vena caudal.

30 Para alimentación por sonda gástrica, los animales estuvieron conscientes durante todo el experimento.

Se administraron 100 µl de solución de SNAC de los derivados de GLP-1 de los Ejemplos 5-8, 11-13 y 15, respectivamente, mediante alimentación por sonda gástrica directamente al estómago.

35 Las muestras de sangre (200 µl) se recolectaron a intervalos deseados (generalmente a los 0, 30, 60, 120 y 180 minutos) en tubos con EDTA del plexo sublingual.

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

50 Después de tomar la muestra de sangre se sacrificaron todas las ratas bajo anestesia y se abrió el abdomen de las ratas de inyección en intestino para verificar la colocación correcta del catéter.

55 Las concentraciones plasmáticas medias (n=8) (pmol/l) se determinaron como una función del tiempo. El AUC de la curva de exposición en plasma (pmol/l) frente al tiempo, del tiempo 30 a 180 (min), se corrigió para dosis, es decir, se dividió por la cantidad (dosis) del derivado en la solución dosificada (pmol). Por lo tanto, el AUC corregida para dosis de la exposición en plasma del tiempo 30- 180 min (que tiene la unidad de min x pM / pmol = min/L) se usó como una medida indirecta de biodisponibilidad, una medida para clasificar los derivados con respecto a su ingesta en el modelo de rata.

60 Se obtuvieron los siguientes resultados:

Para el experimento de inyección en intestino, el AUC de la exposición en plasma corregida para dosis del tiempo 30 a 180 min para los derivados de GLP-1 analizados estaba en el intervalo de 170 a 322 min x pM / pmol. Dos de los tres compuestos analizados estuvieron sobre 250 min x pM / pmol.

Para el experimento de alimentación por sonda gástrica, el AUC de la exposición en plasma corregida para dosis del tiempo 30 a 180 min para los derivados de GLP-1 probados estuvo en el intervalo de 18 a 75 min x pM / pmol. De los ocho compuestos analizados, seis estuvieron sobre 20, cuatro sobre 40 y dos sobre 60 min x pM / pmol.

5 Ejemplo 63: Efecto sobre la glucosa en sangre y el peso corporal - PD en ratones db/db

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

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

15 Cincuenta ratones db/db (Taconic, Dinamarca), alimentados desde el nacimiento con la dieta NIH31 (NIH 31M Rodent Diet, comercialmente disponible de Taconic Farms, Inc., Estados Unidos, Consulte www.taconic.com), se inscriben para el estudio en el edad de 7-9 semanas. Los ratones tienen acceso libre a comida estándar (por ejemplo, Altromin 1324, Brogaarden, Gentofte, Dinamarca) y agua corriente y se mantienen a 24 °C.

20 Después de 1-2 semanas de aclimatación, la glucosa basal en sangre se evalúa dos veces en dos días consecutivos (es decir, a las 9 am). Los 8 ratones con los valores más bajos de glucosa en sangre se excluyen de los experimentos. En base a la media de los valores de glucosa en sangre, se seleccionan 42 ratones para experimentación adicional y se asignan a 7 grupos (n=6) con niveles de glucosa concordantes. Los ratones se usan en experimentos con una duración de 5 días hasta 4 veces. Después del último experimento, los ratones se sacrifican.

25 Los siete grupos reciben tratamiento de la siguiente manera:

1. Vehículo, s.c.
2. Derivado de GLP-1, 0,3 nmol/kg, s.c.
3. Derivado de GLP-1, 1,0 nmol/kg, s.c.
- 30 4. Derivado de GLP-1, 3,0 nmol/kg, s.c.
5. Derivado de GLP-1, 10 nmol/kg, s.c.
6. Derivado de GLP-1, 30 nmol/kg, s.c.
7. Derivado de GLP-1, 100 nmol/kg, s.c.

35 Vehículo: fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, tween 80 al 0,05 %, pH 7,4.

El derivado de GLP-1 se disuelve en el vehículo, a concentraciones de 0,05, 0,17, 0,5, 1,7, 5,0 y 17,0 nmol/ml. Los animales se dosifican s.c. con un volumen de dosis de 6 ml/kg (es decir, 300 µl por 50 g de ratón).

40 El día de la dosificación, la glucosa en sangre se evalúa en el tiempo de -½h (8.30 a.m.), donde después los ratones se pesan. El derivado de GLP-1 se dosifica a aproximadamente las 9 am (tiempo 0). El día de la dosificación, la glucosa en sangre se evalúa en los tiempos 1, 2, 4 y 8 h (10 am, 11 am, 1 pm y 5 pm).

45 En los días siguientes, la glucosa en sangre se evalúa a los 24 y 48 h después de la dosificación (y si se desea también a los 72 y 96 h después de la dosificación), es decir, a las 9 am en los días 2 y 3 y si se desea a las 9 am en el día 4 y 5). En cada día, los ratones se pesan después del muestreo de glucosa en sangre.

Los ratones se pesan individualmente en una pesa digital.

50 Las muestras para la medición de la glucosa en sangre se obtuvieron del capilar de la punta de la cola de ratones conscientes. La sangre, 10 µl, se recolecta en capilares heparinizados y se transfiere a 500 µl de tampón de glucosa (solución del sistema EKF, Eppendorf, Alemania). La concentración de glucosa se midió mediante el uso del método de glucosa oxidasa (analizador de glucosa Biosen 5040, EKF Diagnostic, GmbH, Barleben, Alemania). Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente durante hasta 1 h hasta el análisis. Si fue necesario posponer el análisis, las muestras se mantuvieron a 4 °C durante un máximo de 24 h.

55 ED₅₀ es la dosis que da lugar a efecto semimáximo en nmol /kg. Este valor se calcula sobre la base de la capacidad de los derivados a menor peso corporal así como también la capacidad a menor glucosa en sangre, como se explicó anteriormente.

60 ED₅₀ para peso corporal se calcula como la dosis que da lugar al efecto semimáximo sobre delta BW 24 horas después de la administración subcutánea del derivado. Por ejemplo, si la disminución máxima del peso corporal después de 24 horas es 4,0 g, entonces el ED₅₀ del peso corporal podría ser la dosis en nmol/kg lo que da lugar a una disminución del peso corporal después de 24 horas de 2,0 g. Esta dosis (ED₅₀ peso corporal) puede leerse a partir de la curva de respuesta a dosis.

65

ED₅₀ para la glucosa en sangre se calcula como la dosis que da lugar a un efecto semimáximo sobre delta BG en AUC 8 horas después de la administración subcutánea del análogo.

5 El valor de ED₅₀ sólo puede calcularse si existe una relación sigmoideal de respuesta a dosis apropiada con una clara definición de la respuesta máxima. Por lo tanto, si este no fuera el caso el derivado en cuestión se vuelve a analizar a un intervalo de dosis diferente hasta que se obtenga la relación sigmoideal de respuesta a dosis.

Ejemplo 64: Efecto sobre la ingesta de alimentos - PD en cerdos LYD

10 El propósito de este experimento es investigar el efecto de los derivados de GLP-1 sobre la ingesta de alimentos en cerdos. Esto se hace en un estudio farmacodinámico (PD) como se describe a continuación, en el cual la ingesta de alimentos se mide 1, 2, 3 y 4 días después de la administración de una dosis única del derivado de GLP-1, en comparación con un grupo de control tratado con vehículo.

15 Se usaron cerdos hembras Landrace Yorkshire Duroc (LYD), de aproximadamente 3 meses de edad, con peso de aproximadamente 30-35 kg (n=3-4 por grupo). Los animales se alojaron en un grupo durante 1-2 semanas durante la aclimatación a las instalaciones de los animales. Durante el período experimental, los animales se colocaron en corrales individuales desde el lunes por la mañana hasta el viernes por la tarde para la medición de la ingesta de alimentos individuales. Los animales se alimentaron ad libitum con forraje de cerdo (Svinefoder, Antonio) en todos los momentos durante la aclimatación y el período experimental. La ingesta de alimentos se controló en línea registrando el peso del forraje cada 15 minutos. El sistema usado fue Mpigwin (Ellegaard Systems, Faaborg, Dinamarca).

25 Los derivados de GLP-1 se disolvieron en un tampón fosfato (fosfato 50 mM, tween 80 al 0,05 %, pH 8) a concentraciones de 12, 40, 120, 400 o 1200 nmol/ml que corresponden a dosis de 0,3, 1, 3, 10 o 30 nmol/kg. El tampón fosfato sirvió como vehículo. Los animales se dosificaron con una sola dosis subcutánea del derivado de GLP-1 o vehículo (volumen de dosis de 0,025 ml/kg) en la mañana del día 1 y la ingesta de alimentos se midió durante 3-4 días después de la dosificación. El último día de cada estudio, 3-4 días después de la dosificación, se tomó una muestra de sangre para medir la exposición en plasma del derivado de GLP-1 del corazón en animales anestesiados. A continuación, los animales se sacrificaron con una sobredosis intracardíaca de pentobarbital. El contenido en plasma de los derivados de GLP-1 se analizó mediante el uso de ELISA o un ensayo basado en anticuerpos similar.

35 La ingesta de alimentos se calculó como la media \pm SEM 24 h de ingesta de alimentos en cada uno de los 3-4 días de estudio. Las comparaciones estadísticas de la ingesta de alimentos durante 24 horas en el grupo vehículo frente al de derivado de GLP-1 en los 4 días se realizaron mediante el uso de mediciones repetidas ANOVA de una o dos vías, seguido por la prueba posterior de Bonferroni.

40 Los derivados de los Ejemplos 1, 5 y 6 se analizaron como se describió anteriormente en una dosificación de 3 nM/kg. Dos de los derivados redujeron significativamente la ingesta de alimentos en comparación con el grupo tratado con vehículo en el día 1 (0-24h) y el día 2 (24-48h). Uno de estos también redujo significativamente la ingesta de alimentos en el día 3 (48-72h) y el día 4 (72-96h). Como se esperaba, el efecto reductor de la ingesta de alimentos de los derivados disminuyó día a día en el período de estudio, dependiendo de la vida media terminal del derivado.

45 Ejemplo 65: Vida media en rata - PK en rata

El propósito de este Ejemplo es investigar la vida media in vivo en rata.

50 Los estudios farmacocinéticos en ratas se realizaron con tres derivados de GLP-1 (compuestos de los Ejemplos 5, 7 y 11), como se describe a continuación.

55 Se obtuvieron ratas macho Sprague Dawley de la misma edad con un peso corporal de 400 a 600 g de Taconic (Dinamarca) y se asignaron a los tratamientos mediante aleatorización simple sobre el peso corporal, aproximadamente 3-6 ratas por grupo, de manera que todos los animales de cada grupo fueran de peso corporal similar.

60 Los derivados de GLP-1 (de aproximadamente 6 nmole/ml) se disolvieron en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, tween 80 al 0,05 %, pH 7,4. Se administraron inyecciones intravenosas (1,0 ml/kg) de los compuestos a través de un catéter implantado en la vena yugular derecha. Se tomaron muestras de sangre de la vena sublingual durante 5 días después de la dosificación. Las muestras de sangre (200 μ l) se recolectaron en tampón de EDTA (8 mM) y después se centrifugaron a 4 °C y 10 000 G durante 5 minutos. Las muestras de plasma se mantuvieron a -20 °C hasta que se analizaron las concentraciones plasmáticas del compuesto de GLP-1 respectivo.

Las concentraciones plasmáticas de los compuestos de GLP-1 se determinaron mediante el uso de un Inmunoensayo de Canalización de Oxígeno de Luminiscencia (LOCI), generalmente como se describe para la determinación de insulina por Poulsen y Jensen en Journal of Biomolecular Screening 2007, vol. 12, páginas 240-247. Las perlas donantes se recubrieron con estreptavidina, mientras que las perlasceptoras se conjugaron con un anticuerpo monoclonal que reconoce un epítipo medio/C-terminal del péptido. Otro anticuerpo monoclonal, específico para el N-terminal, se biotiniló. Los tres reactivos se combinaron con el analito y formaron un inmunocomplejo de dos sitios. La iluminación del complejo liberó átomos de oxígeno singlete de las perlas donantes, que se canalizaron en las esferasceptoras y desencadenaron la quimioluminiscencia que se midió en un lector de placas Envision. La cantidad de luz fue proporcional a la concentración del compuesto.

Los perfiles de concentración plasmática-tiempo se analizaron mediante el uso de WinNonlin (versión 5.0, Pharsight Inc., Mountain View, CA, Estados Unidos) y la vida media ($T_{1/2}$) calculada mediante el uso de perfiles de concentración plasmática-tiempo individuales de cada animal.

Todos los derivados analizados tuvieron una vida media sobre las 10 horas, dos la tuvieron sobre las 15 y uno la tuvo sobre las 20 horas.

Ejemplo 66: Vida media en minicerdos - PK en minicerdo

El propósito de este estudio fue determinar la prolongación in vivo de los derivados de GLP-1 después de la administración i.v. a minicerdos, es decir la prolongación de su tiempo de acción. Esto se hizo en un estudio farmacocinético (PK), donde se determinó la vida media terminal del derivado en cuestión. Por vida media terminal generalmente se entiende el período de tiempo que se tarda en reducir a la mitad una determinada concentración plasmática, medida después de la fase de distribución inicial.

En los estudios se usaron minicerdos macho de Göttingen (Ellegaard Göttingen Minipigs A/S, Dalmose, Dinamarca), de aproximadamente 7-14 meses de edad y con un peso aproximado de 16-35 kg. Los minicerdos se alojaron individualmente y se alimentaron de forma restringida una o dos veces al día con dieta SDS para minicerdos (Special Diets Services, Essex, Reino Unido). Después de al menos 2 semanas de aclimatación, se implantaron dos catéteres venosos centrales permanentes en la vena cava caudalis o cranial en cada animal. A los animales se les permitió una recuperación de 1 semana después de la cirugía y después se usaron para estudios farmacocinéticos repetidos con un período de lavado adecuado entre las dosificaciones.

Los animales se mantuvieron en ayunas durante aproximadamente 18 h antes de la dosificación y durante al menos 4 h después de la dosificación, pero tuvieron acceso ad libitum al agua durante todo el período.

Los derivados de GLP-1 de los Ejemplos 5, 6, 8 y 11 se disolvieron en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, Tween 80 al 0,05 %, pH 7,4 a una concentración generalmente de 20-60 nmol/ml.

Se administraron inyecciones intravenosas (el volumen correspondiente a generalmente 1-2 nmol/kg) de los compuestos a través de un catéter y se tomaron muestras de sangre en puntos de tiempo predefinidos hasta 13 días después de la dosificación (preferentemente a través del otro catéter). Las muestras de sangre se recolectaron en tampón de EDTA (8 mM) y luego se centrifugaron a 4 °C y 1942 G durante 10 minutos.

El plasma se pipeteó en tubos micrónicos sobre hielo seco y se mantuvo a -20 °C hasta que se analizó la concentración plasmática del compuesto GLP-1 respectivo mediante el uso de ELISA o un ensayo basado en anticuerpo similar o LC-MS. Los perfiles individuales de concentración plasmática-tiempo se analizaron mediante un modelo no compartimental en WinNonlin v. 5.0 (Pharsight Inc., Mountain View, CA, Estados Unidos) y se determinaron las vidas medias terminales resultantes (media armónica).

Se obtuvieron los siguientes resultados: Todos los derivados tuvieron una vida media terminal sobre las 5 horas; 3 derivados la tuvieron sobre las 25 horas; y 1 derivado la tuvo sobre las 50 horas.

Listado de secuencias

<110> Novo Nordisk A/S

<120> Derivados de GLP-1 doble acilados con un conector nuevo

<130> 8428.504-WO

<160> 1

<170> PatentIn versión 3,5

ES 2 683 372 T3

<210> 1
<211> 31
<212> PRT
5 <213> Homo sapiens

<220>
<221> PÉPTIDO
10 <222> (1)..(31)

<220>
<221> PÉPTIDO
<222> (1)..(31)
15 <223> GLP-1(7-37)

<400> 1

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

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

25

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de un análogo de GLP-1,

5 cuyo análogo comprende un primer residuo K en una posición correspondiente a la posición 18 de GLP-1(7-37) (sec. con núm. de ident.: 1), un segundo residuo K en otra posición y un máximo de doce cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37),
 cuyo derivado comprende dos porciones de prolongación unidas a dicho residuo K primero y segundo, respectivamente, mediante un conector, en donde
 10 la porción de prolongación se selecciona de Quím. 2 y Quím. 1:

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

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

15 en donde x es un número entero en el intervalo de 6-18 y y es un número entero en el intervalo de 3-17; y el conector comprende

Quím. 3: $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_q\text{-CH[(CH}_2\text{)}_w\text{-NH}_2\text{]-CO-}^*$,

20 en donde q es un número entero en el intervalo de 0-5 y w es un número entero en el intervalo de 0-5; o una sal farmacéuticamente aceptable, amida, o éster del mismo.

2. El derivado de conformidad con la reivindicación 1, en donde el primer residuo de K se designa K^{18} .

3. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el segundo residuo de K se designa K^T .

4. El derivado de conformidad con la reivindicación 3, en donde T es un entero seleccionado del intervalo de 19-37.

5. El derivado de conformidad con cualquier reivindicación 3-4, en donde T es 22, 26, 27, 30, 31, 34, o 37.

6. El derivado de conformidad con cualquier reivindicación 1-5, en donde el análogo comprende un análogo de GLP-1 de la Fórmula I:

35 Fórmula I: $\text{Xaa}_7\text{-Xaa}_8\text{-Glu-Gly-Thr-Xaa}_{12}\text{-Thr-Ser-Asp-Xaa}_{16}\text{-Ser-Lys-Xaa}_{19}\text{-Xaa}_{20}\text{-Glu-Xaa}_{22}\text{-Xaa}_{23}\text{-Ala-Xaa}_{25}\text{-Xaa}_{26}\text{-Xaa}_{27}\text{-Phe-Ile-Xaa}_{30}\text{-Xaa}_{31}\text{-Leu-Xaa}_{33}\text{-Xaa}_{34}\text{-Xaa}_{35}\text{-Xaa}_{36}\text{-Xaa}_{37}\text{-Xaa}_{38}$,

en donde

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

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

Xaa₁₂ es Phe o Leu;

Xaa₁₆ es Val o Leu;

Xaa₁₉ es Tyr o Gln;

50 Xaa₂₀ es Leu o Met;

Xaa₂₂ es Gly, Glu, Lys, o Aib;

Xaa₂₃ es Gln, Glu, o Arg;

Xaa₂₅ es Ala o Val;

Xaa₂₆ es Val, His, Lys, o Arg;

55 Xaa₂₇ es Glu, Leu, o Lys;

Xaa₃₀ es Ala, Glu, Lys, o Arg;

Xaa₃₁ es Trp, Lys, o His;

Xaa₃₃ es Val o Lys;

Xaa₃₄ es Lys, Glu, Asn, Gly, Gln, Arg, His, o ausente;

60 Xaa₃₅ es Gly, Aib, o ausente;

Xaa₃₆ es Arg, Gly, Lys, o ausente;

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

Xaa₃₈ es Ser, Gly, Ala, Glu, Pro, Lys, Arg, o ausente.

65 7. El derivado de conformidad con cualquier reivindicación 1-6, en donde x es 10, 12, 14, 16, o 18.

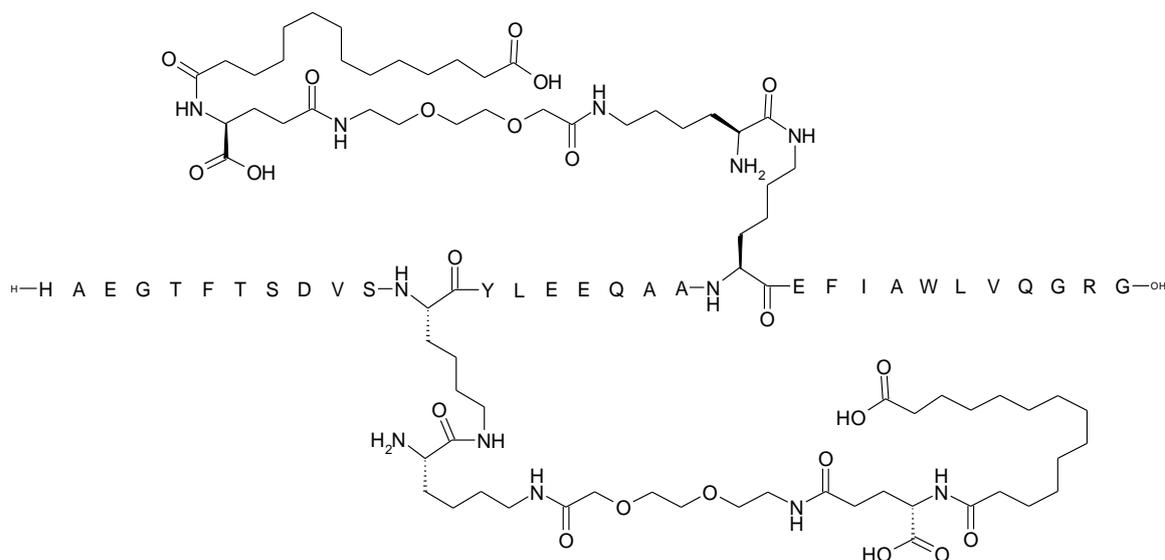
8. El derivado de conformidad con cualquier reivindicación 1-7, en donde y es 7, 8, 9, o 11.

9. El derivado de conformidad con cualquier reivindicación 1-8, en donde el análogo no comprende residuos de K que no sean el primer y el segundo residuo de K.

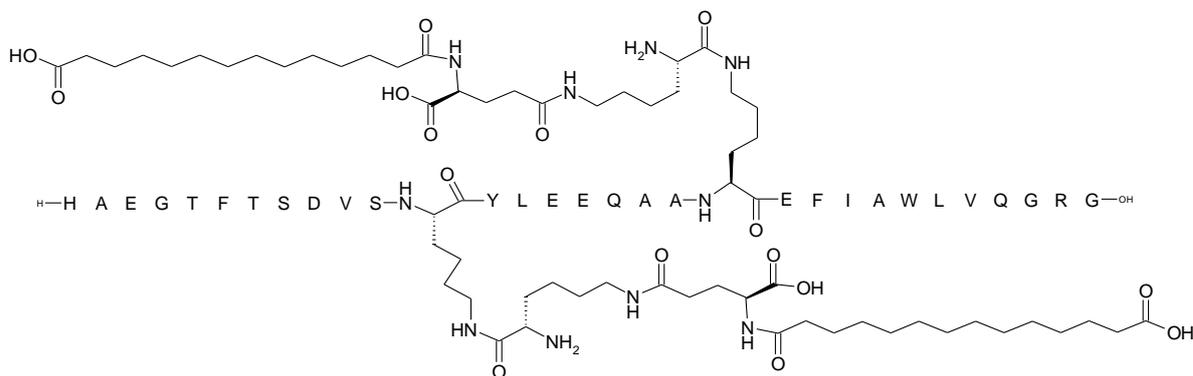
10. El derivado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde un grupo de ácido carboxílico del aminoácido C-terminal del análogo se convierte en amida de ácido carboxílico.

11. Un compuesto seleccionado de los siguientes:

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

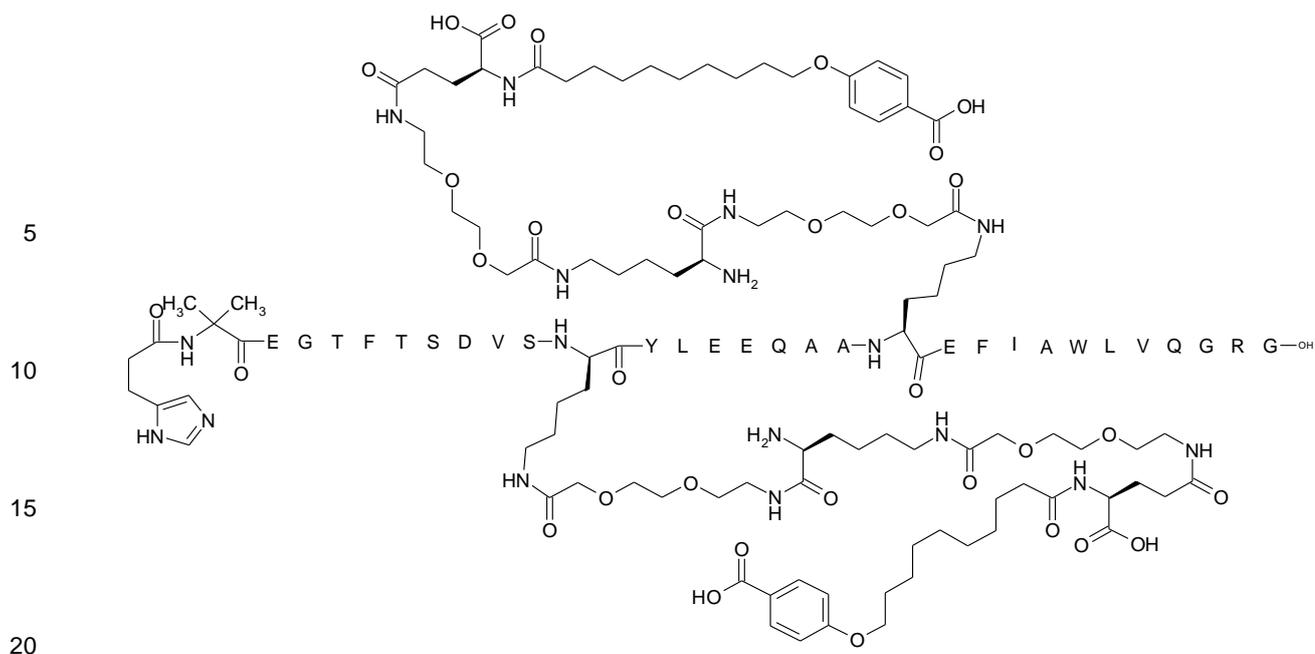


$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

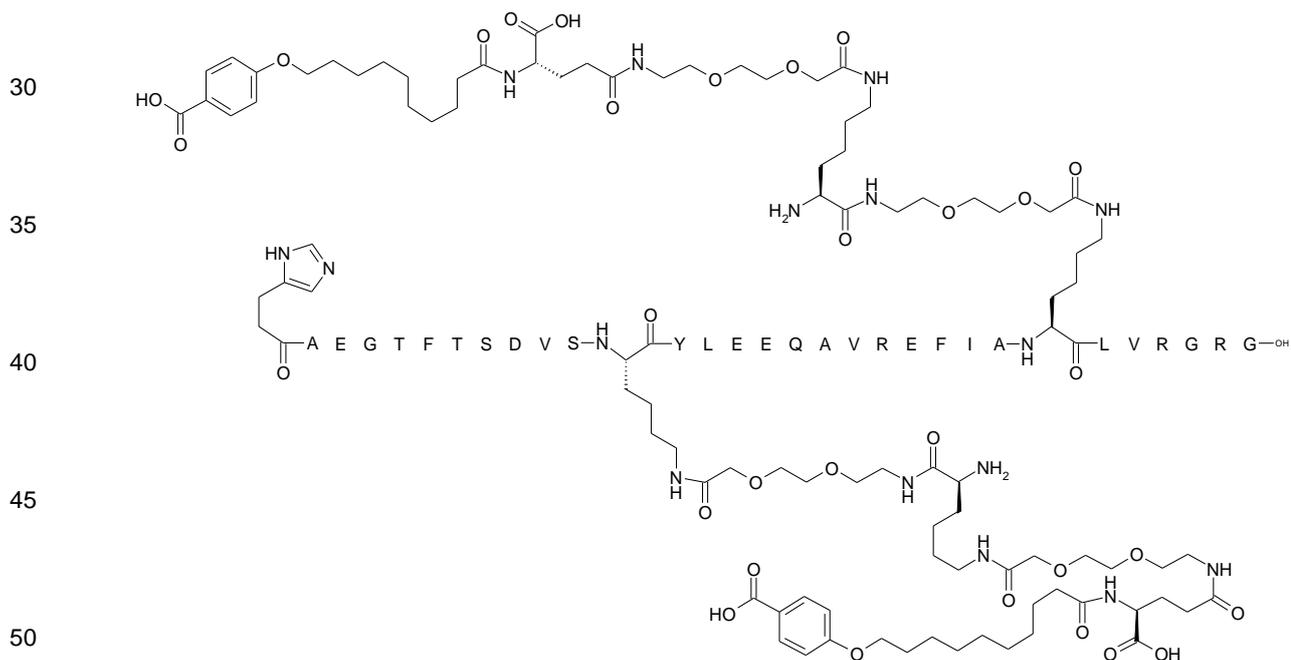


$N^{\epsilon 18}$ -[2-[2-[2-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], $N^{\epsilon 26}$ -[2-[2-[2-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Imp⁷,Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

ES 2 683 372 T3



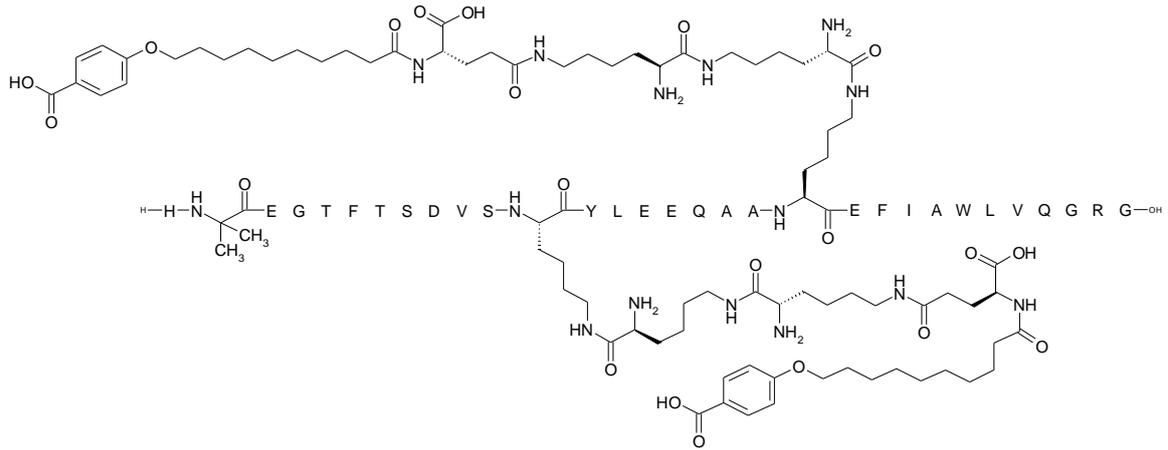
25 N^{E18} -[2-[2-[2-[[[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N^{E31} -[2-[2-[2-[[[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Imp⁷,Lys¹⁸,Glu²²,Val²⁵,Arg²⁶,Lys³¹,Arg³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



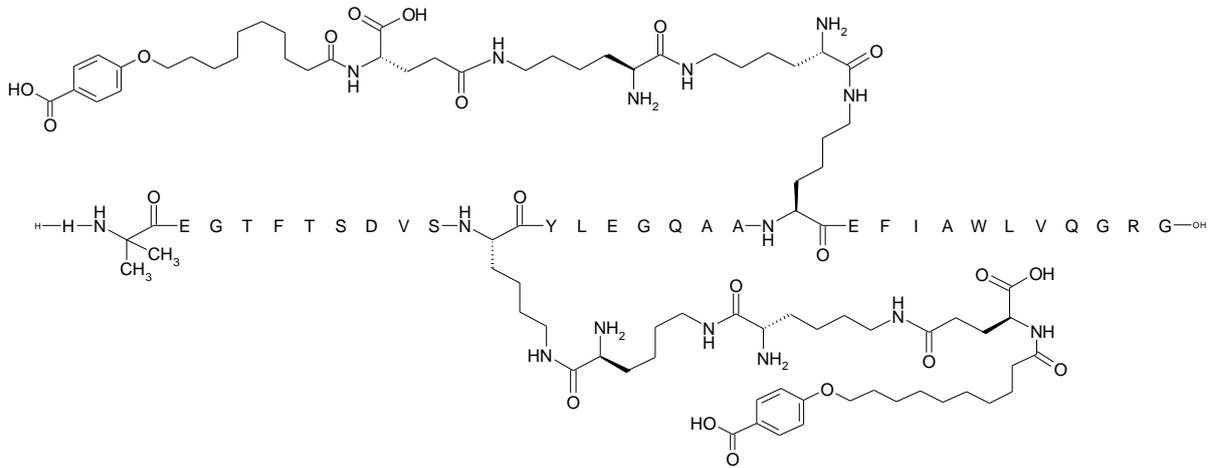
55 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

60

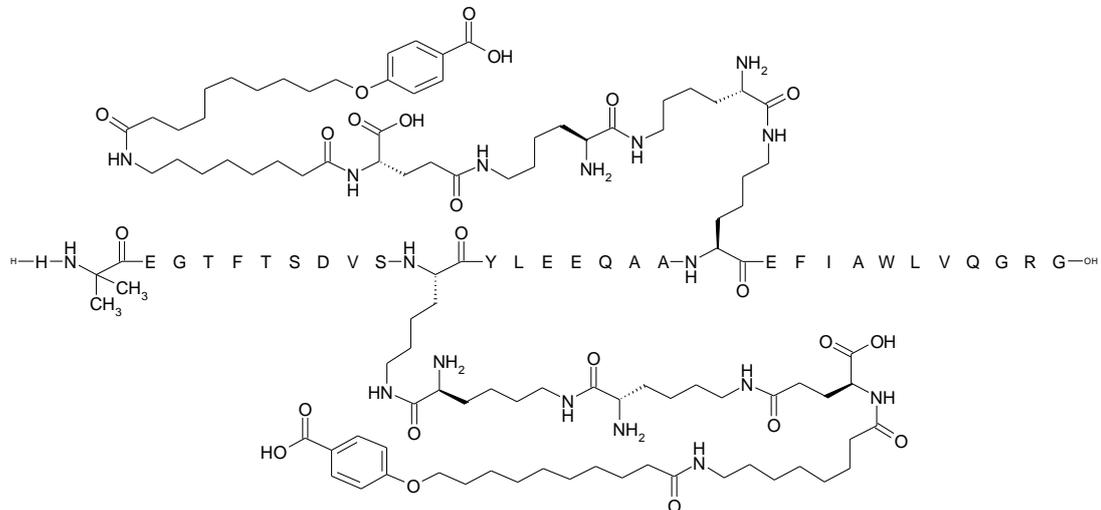
65



N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[8-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]octanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[8-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]octanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



N^{ε18}-[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{ε26}-[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

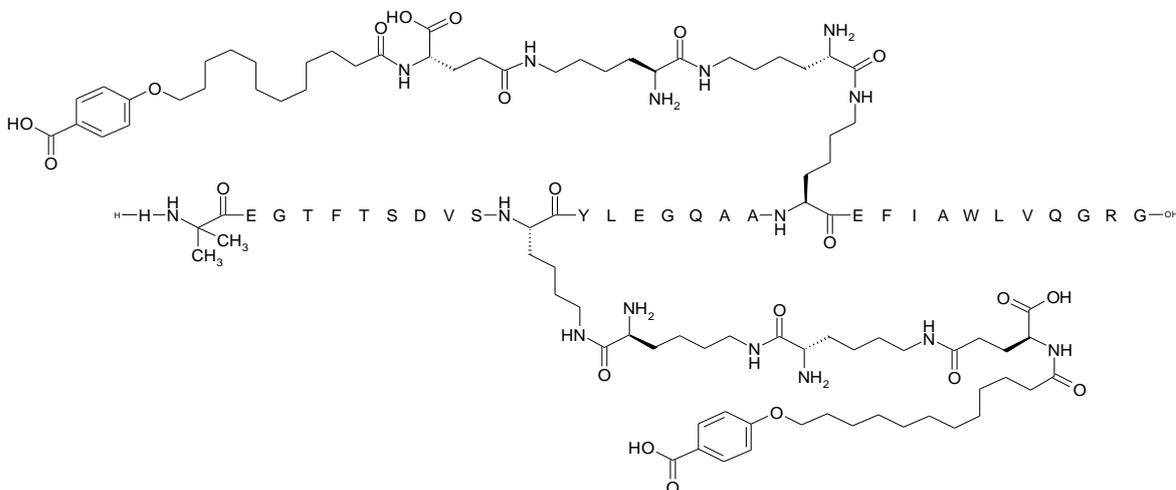
5

10

15

20

25



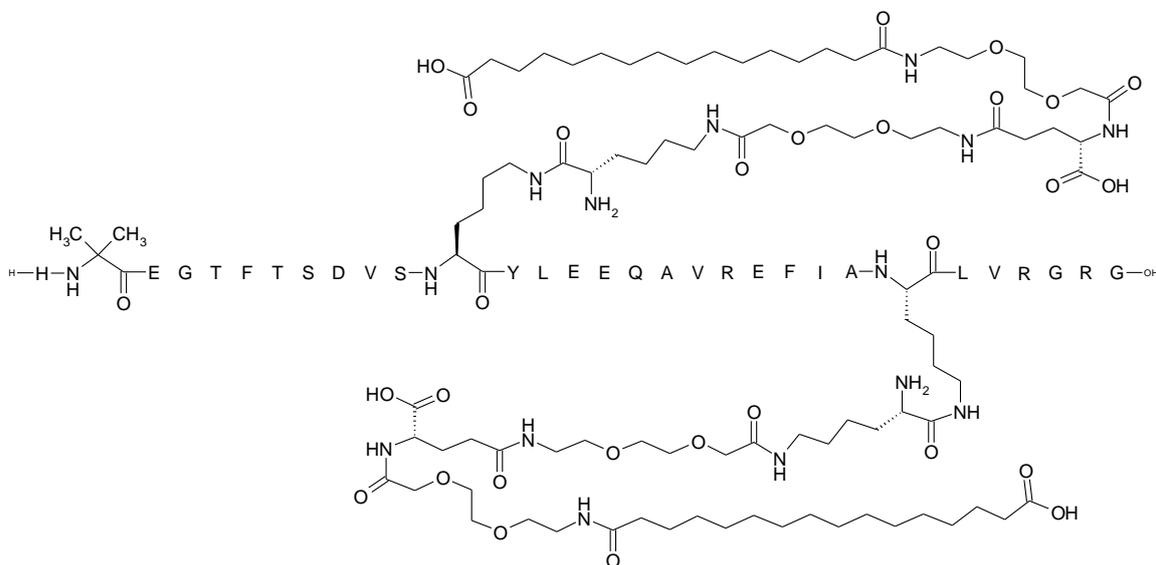
N^{ε18}-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-(15-carboxipentadecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{ε31}-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-(15-carboxipentadecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Val²⁵,Arg²⁶,Lys³¹,Arg³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

35

40

45

50



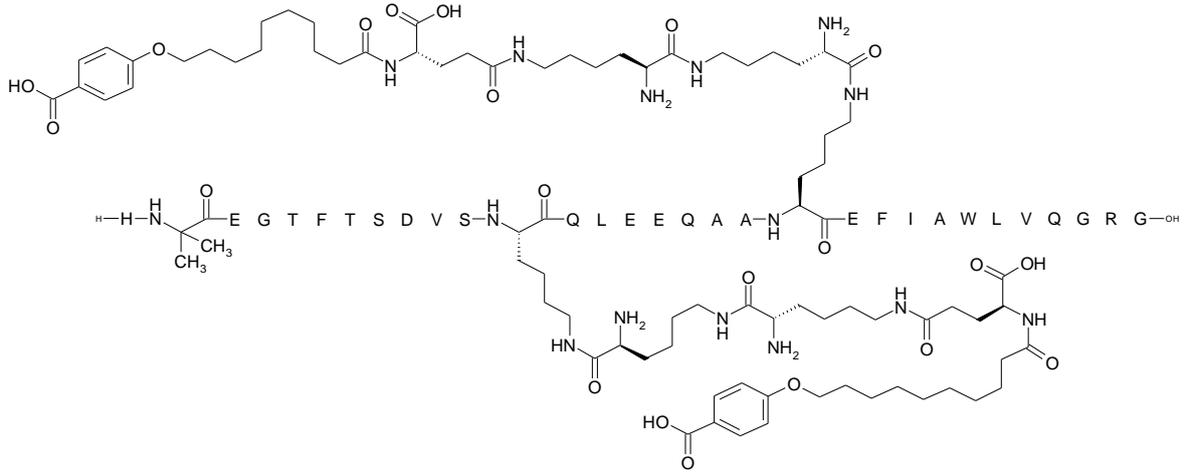
55

N^{ε18}-[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{ε26}-[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln¹⁹,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

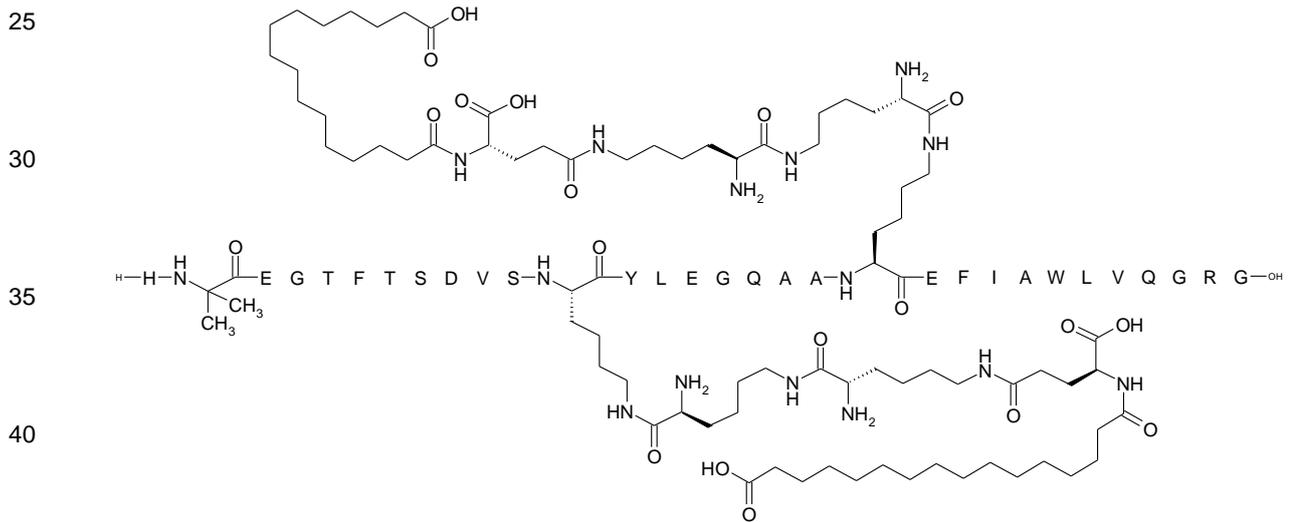
60

65

ES 2 683 372 T3



20 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



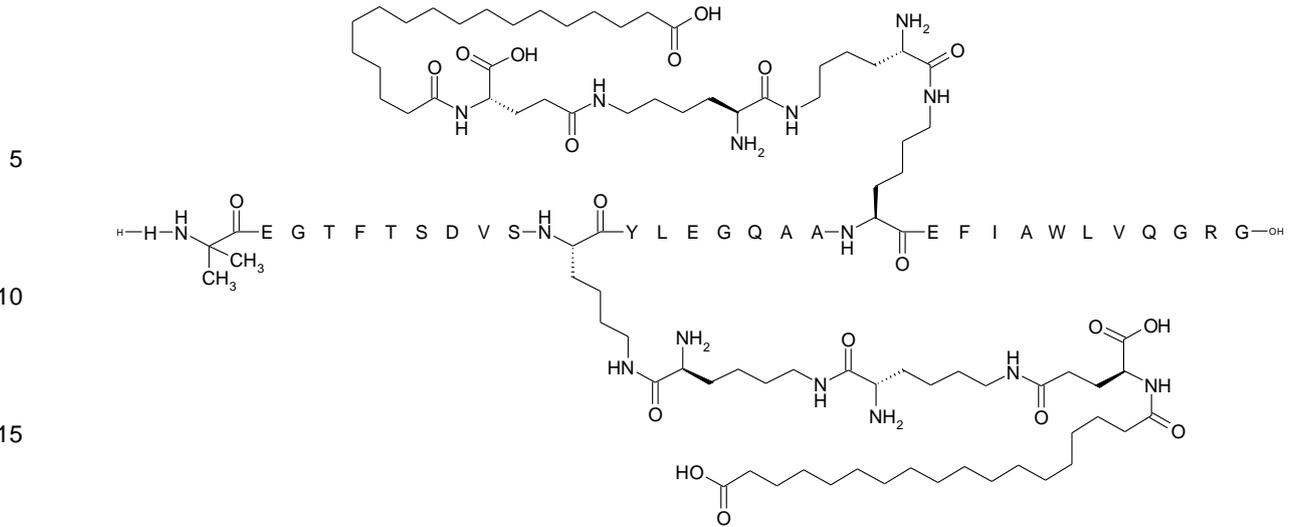
45 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

50

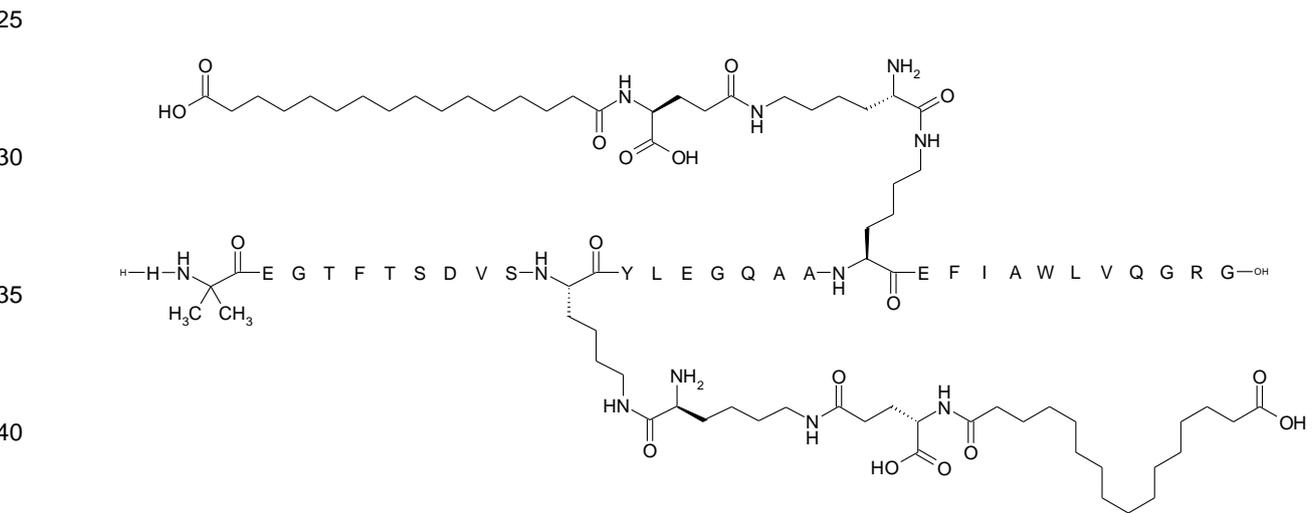
55

60

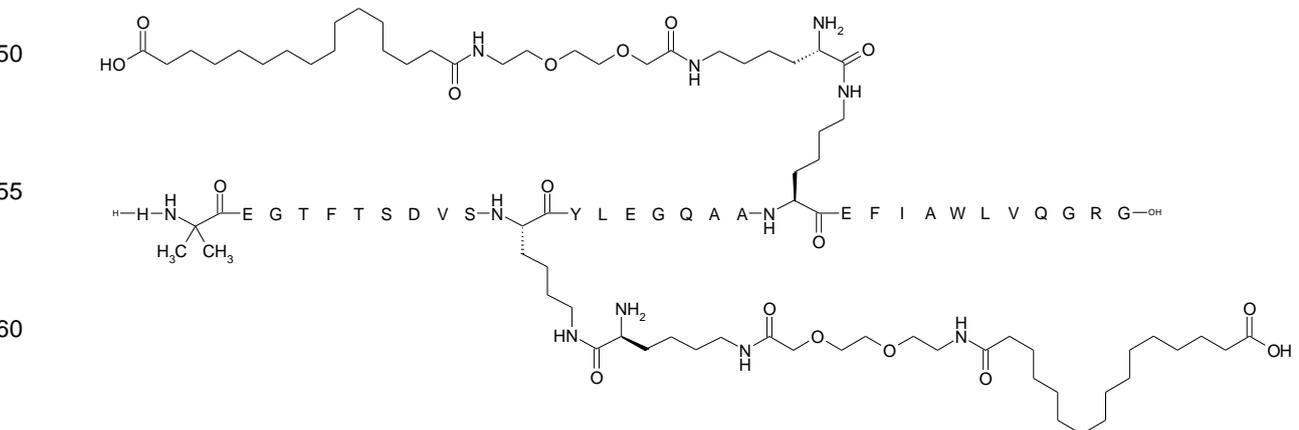
65



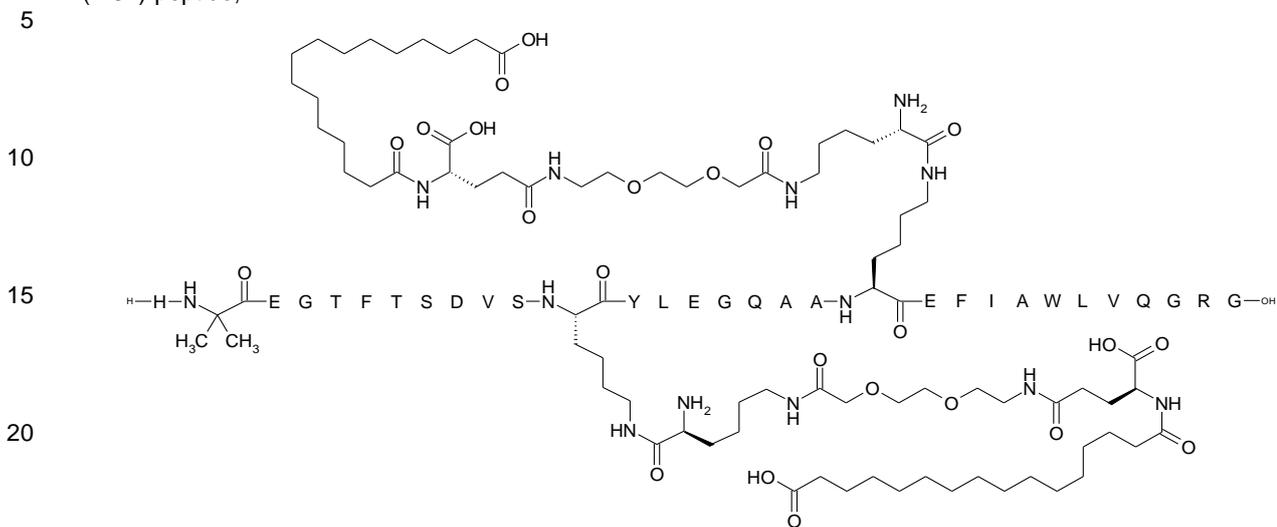
N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxy-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxy-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



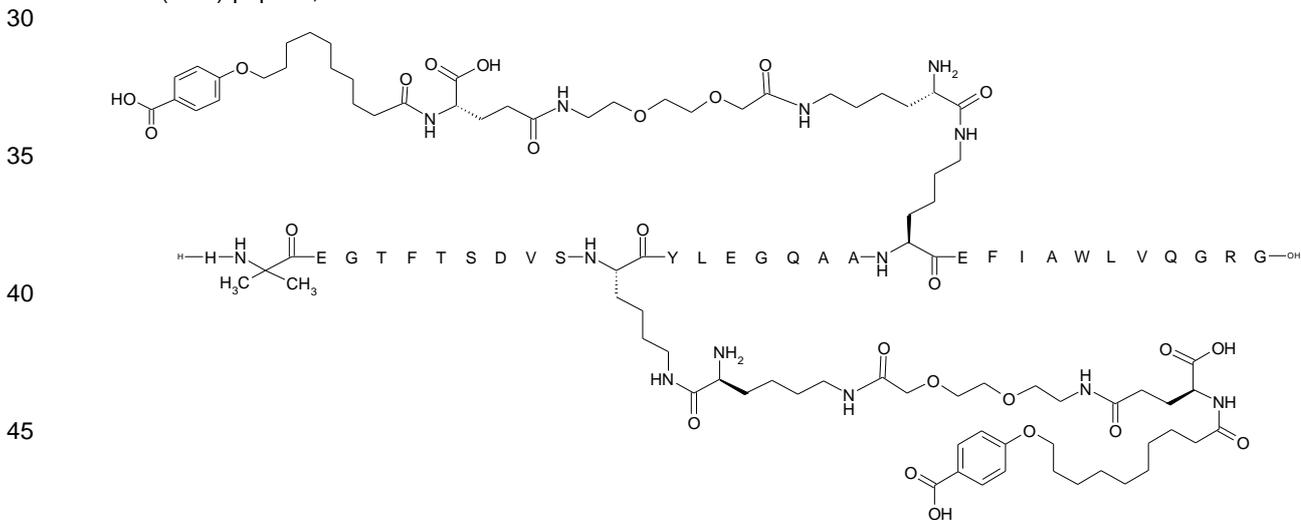
N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-(15-carboxipentadecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-(15-carboxipentadecanoilamino)etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



N^{ε18}-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{ε26}-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



N^{ε18}-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{ε26}-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

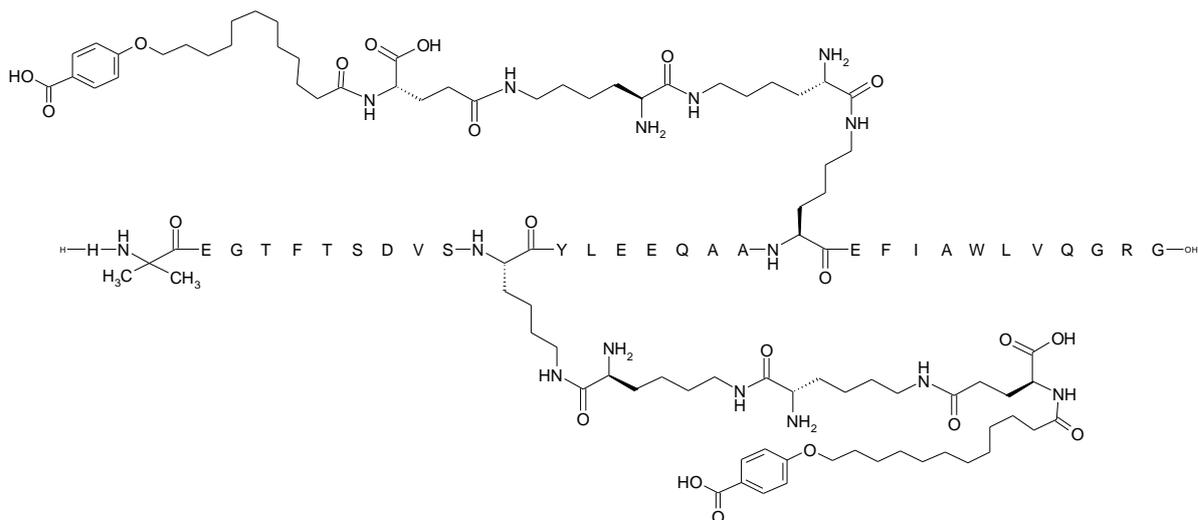


N^{ε18}-[(2S)-2-amino-6-[[2-(2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{ε26}-[(2S)-2-amino-6-[[2-(2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

55

60

65



5

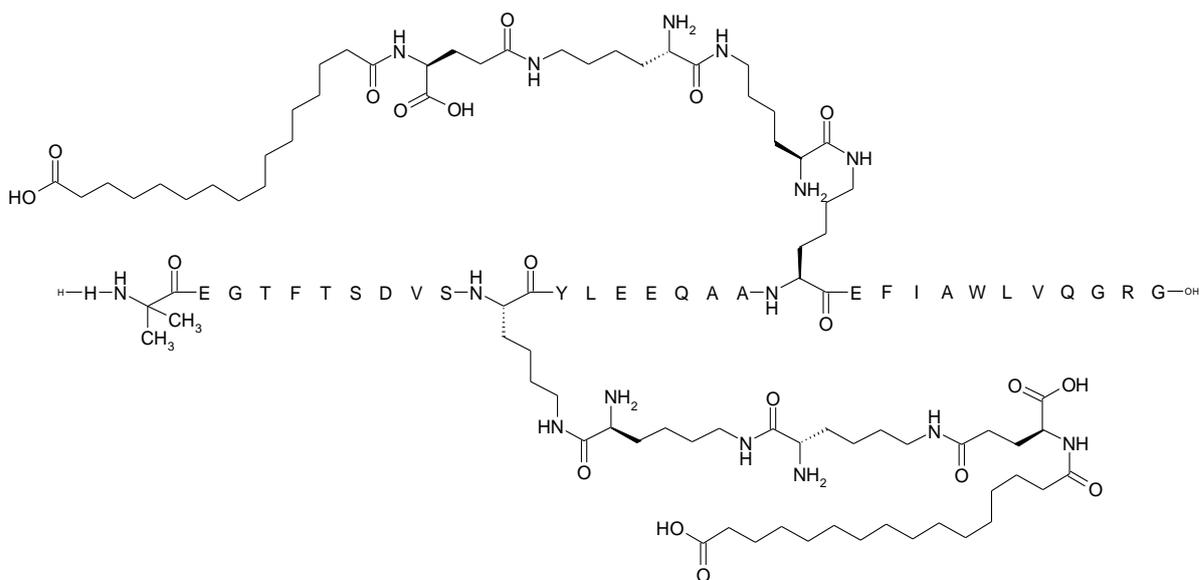
10

15

20

N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

25



30

35

40

45

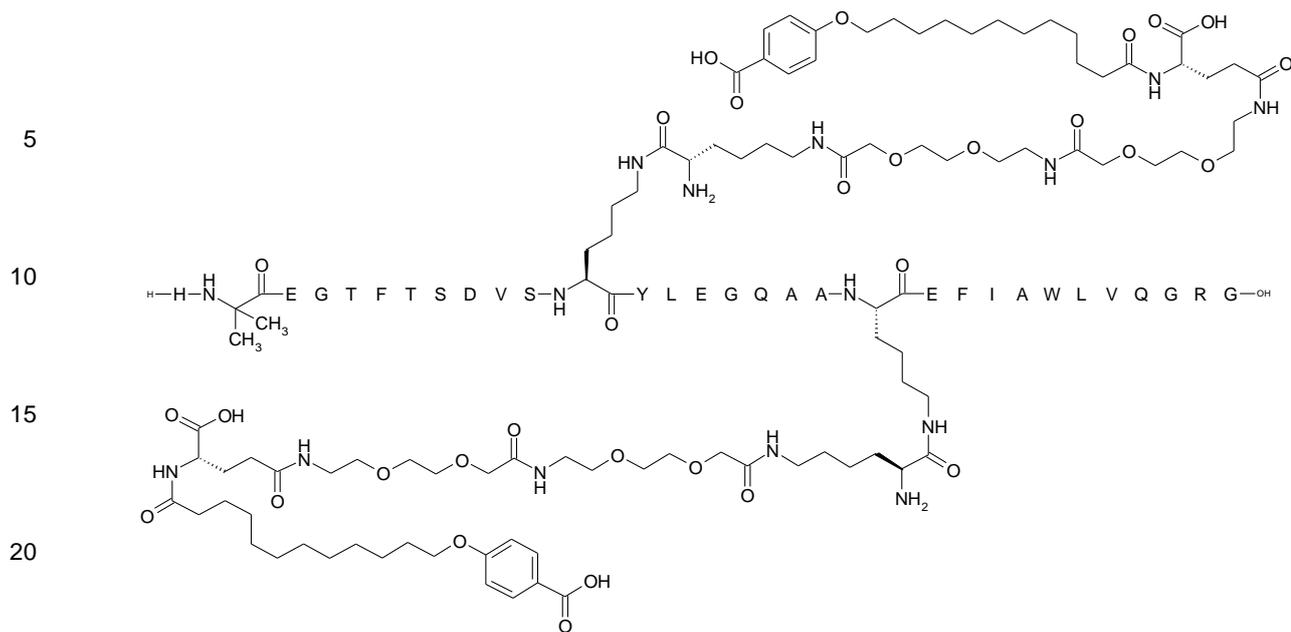
50

N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

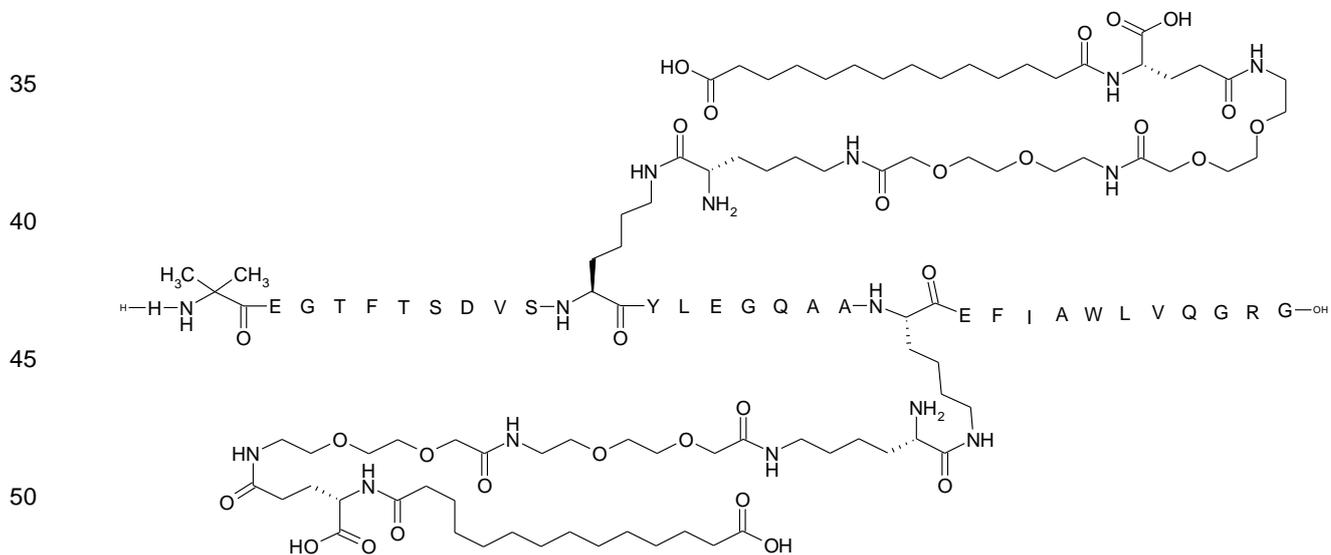
55

60

65

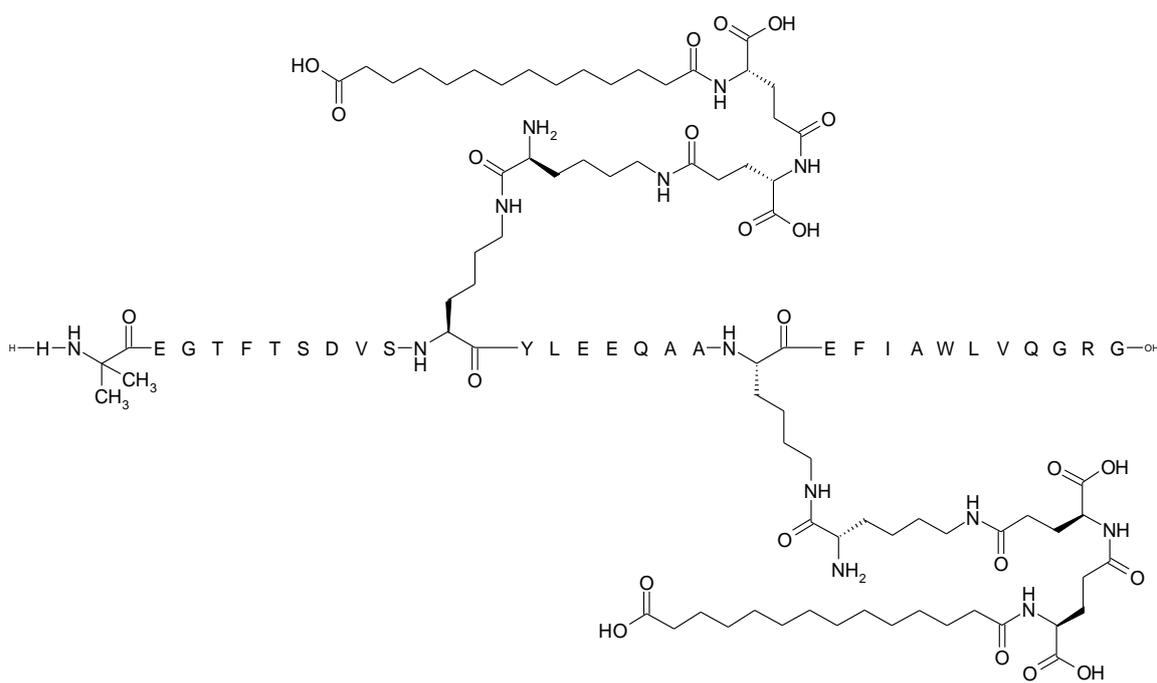


5
10
15
20
25
30
 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

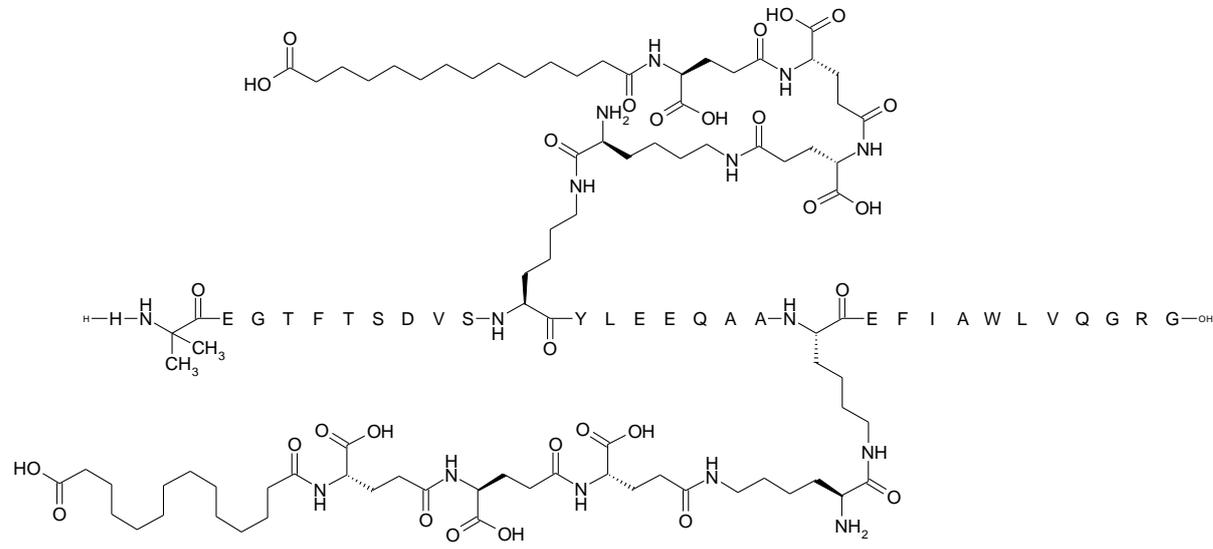


35
40
45
50
55
60
65
 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4S)-4-carboxi-4-[[4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

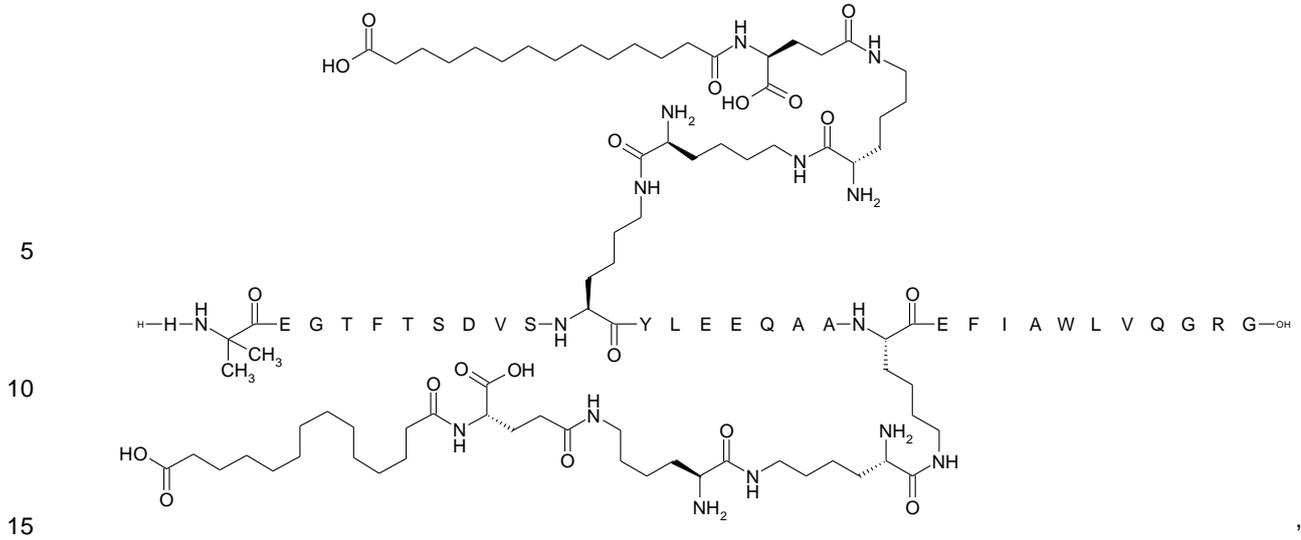


N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido, N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-

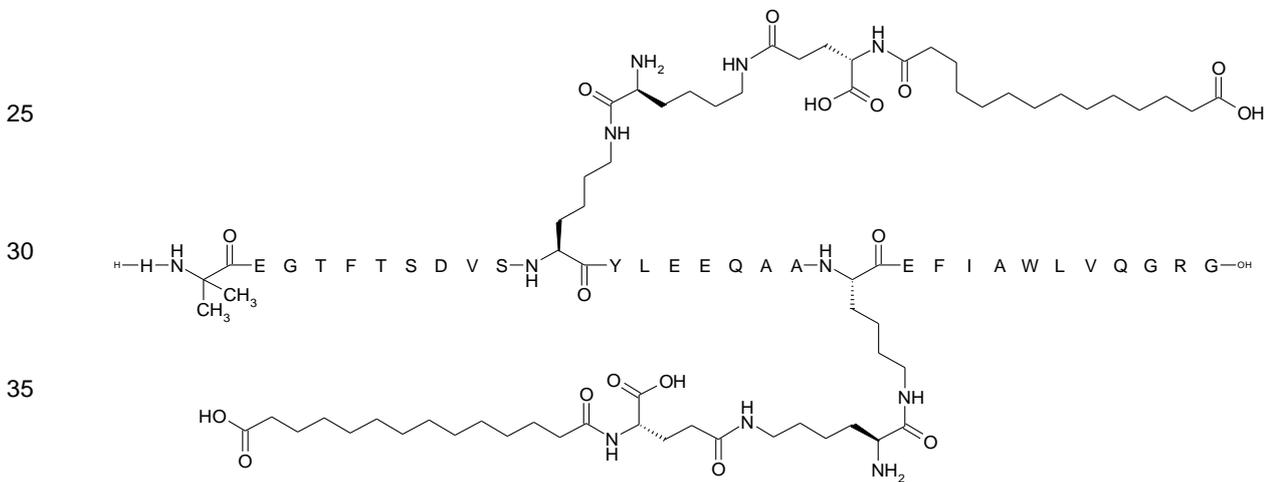


N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido, N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-

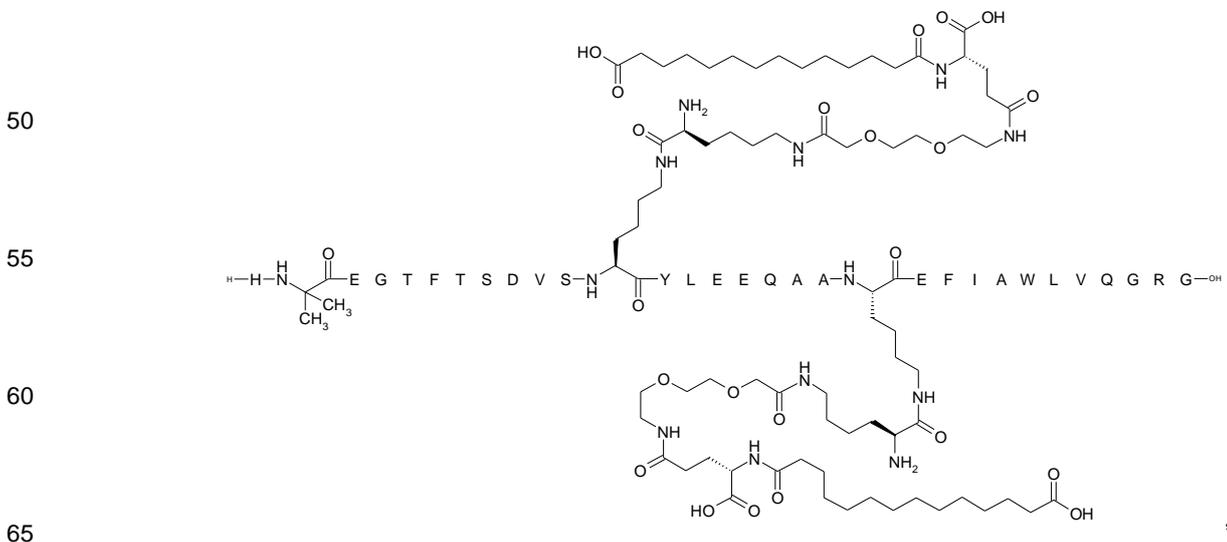
ES 2 683 372 T3



20 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxy-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-
 [[(4S)-4-carboxy-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁶, Lys¹⁸, Glu²², Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-
 péptido,



45 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxy-4-(13-
 carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-
 carboxy-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁶, Lys¹⁸, Glu²², Gln³⁴]-GLP-
 1-(7-37)-péptido,



$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

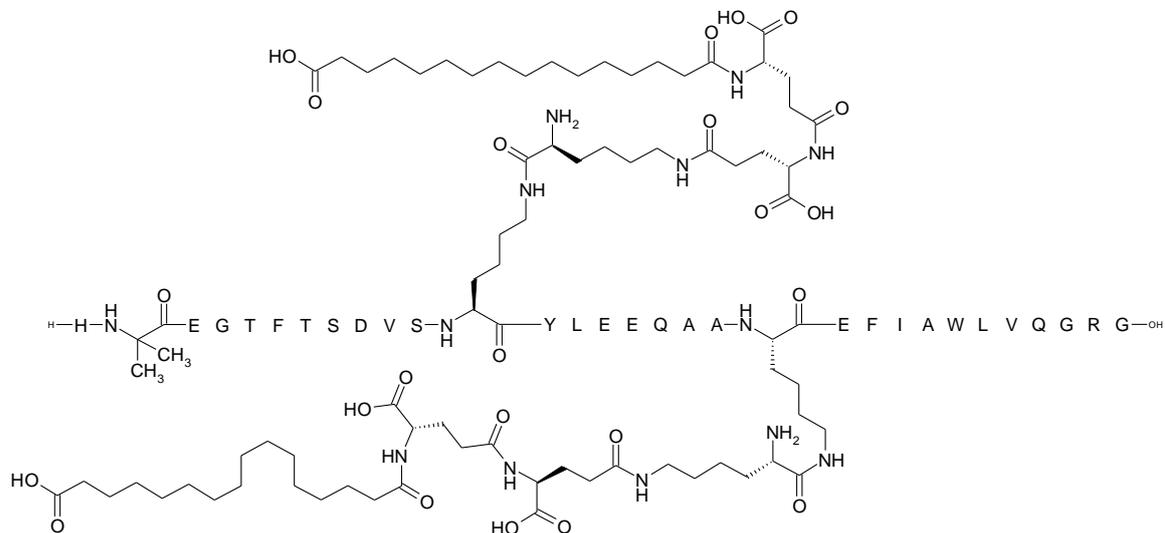
5

10

15

20

25



$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

30

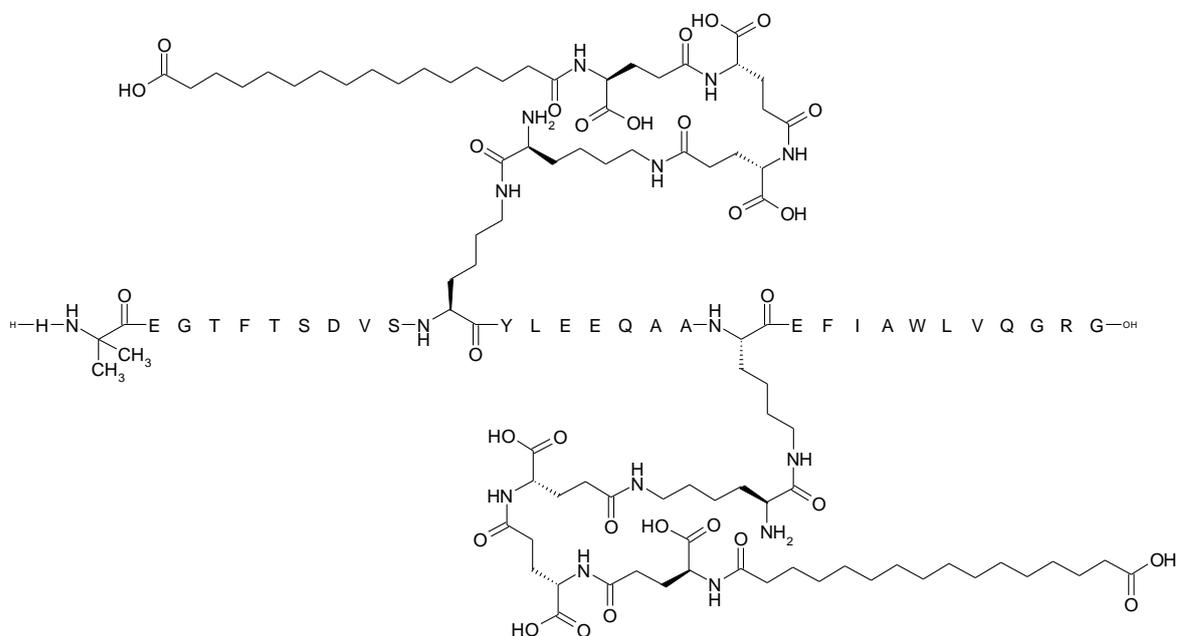
35

40

45

50

55

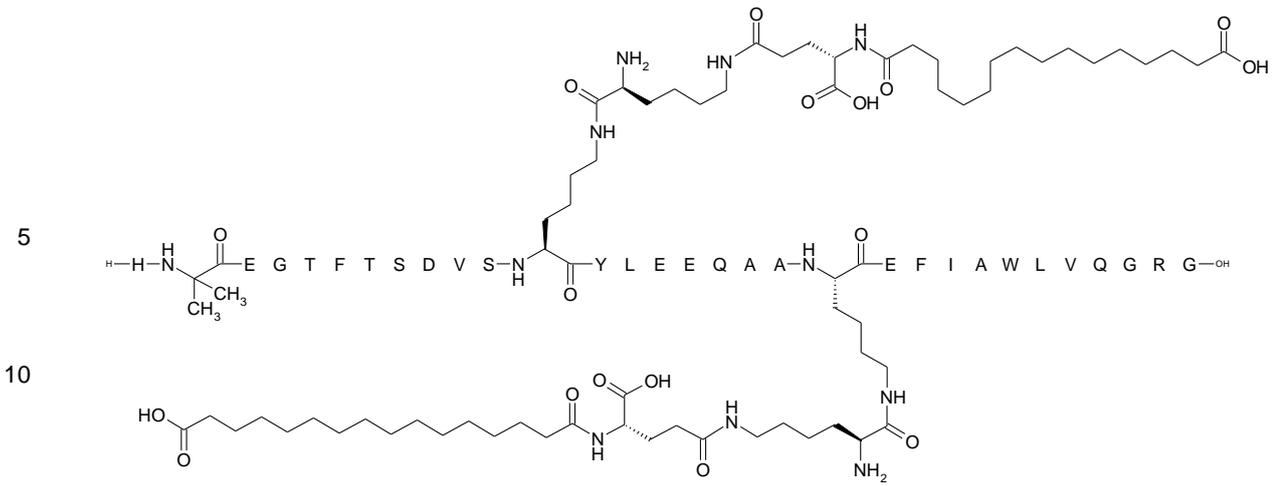


$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

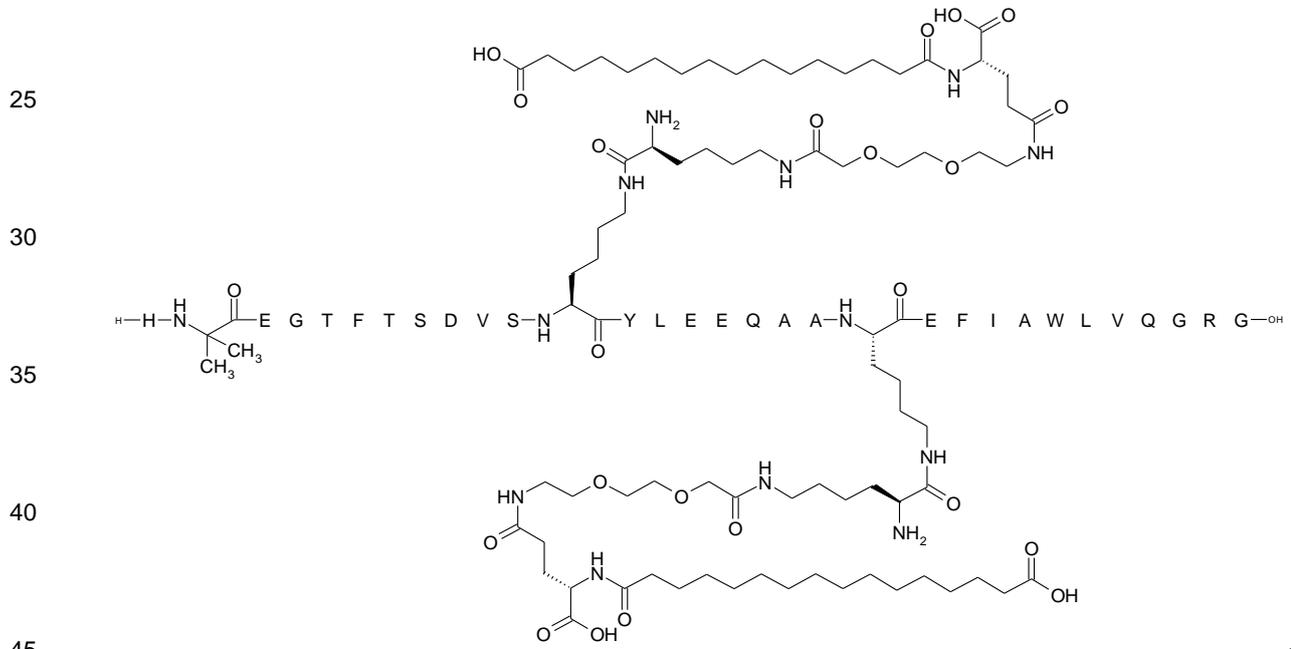
60

65

ES 2 683 372 T3



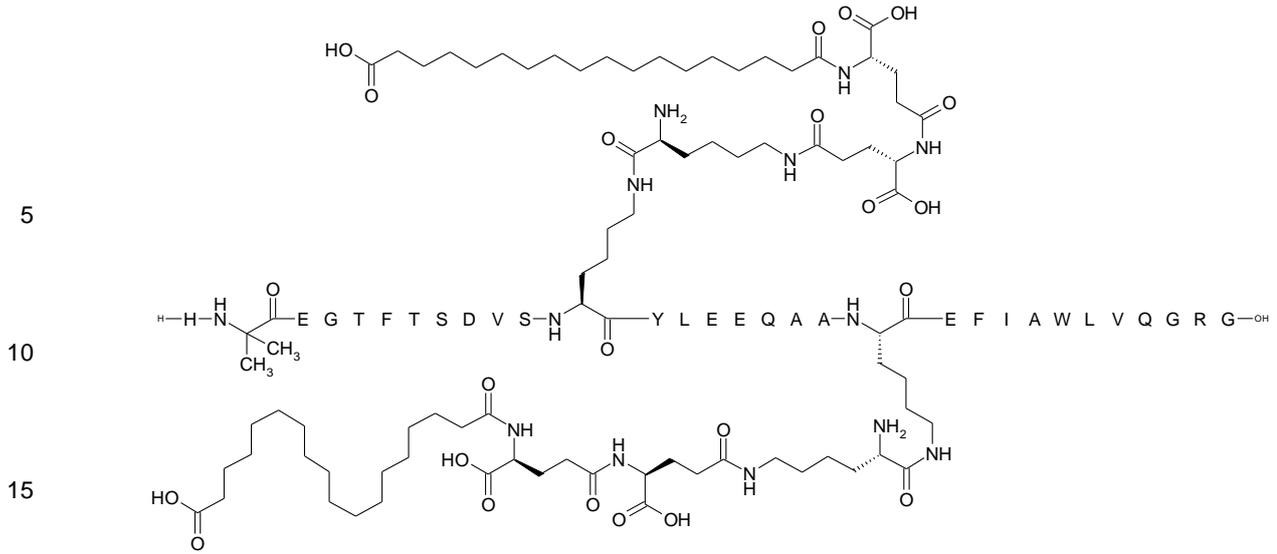
20 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



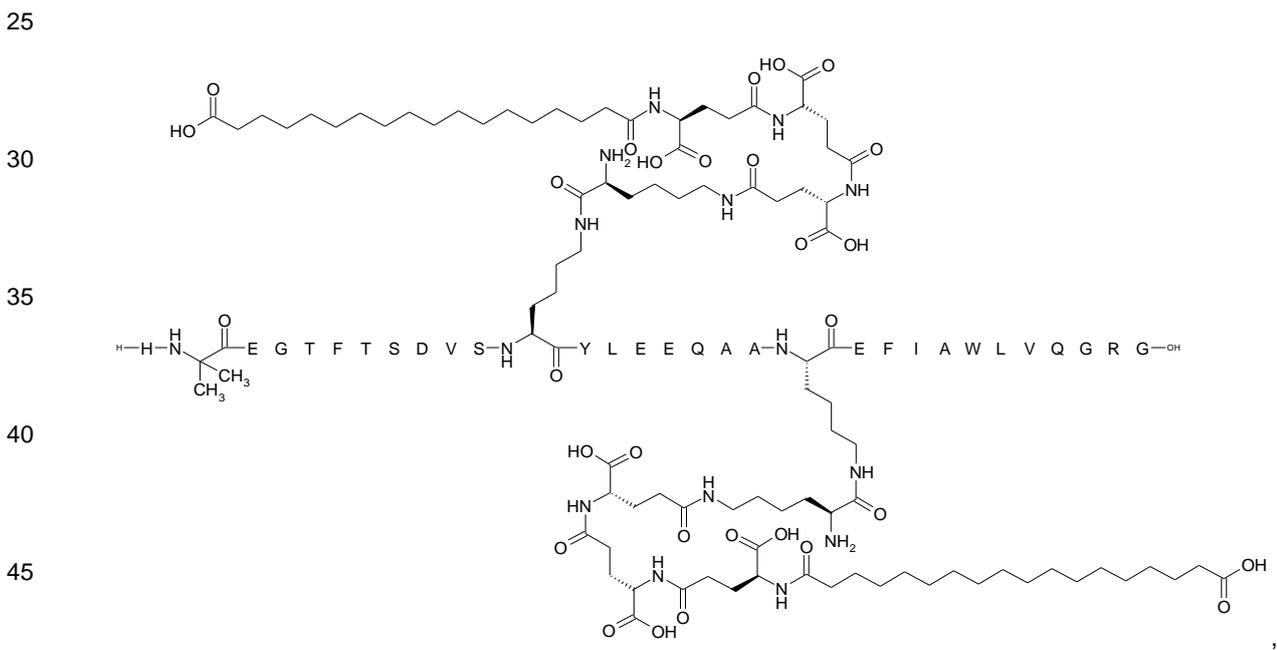
50 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

55
60
65

ES 2 683 372 T3



20 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



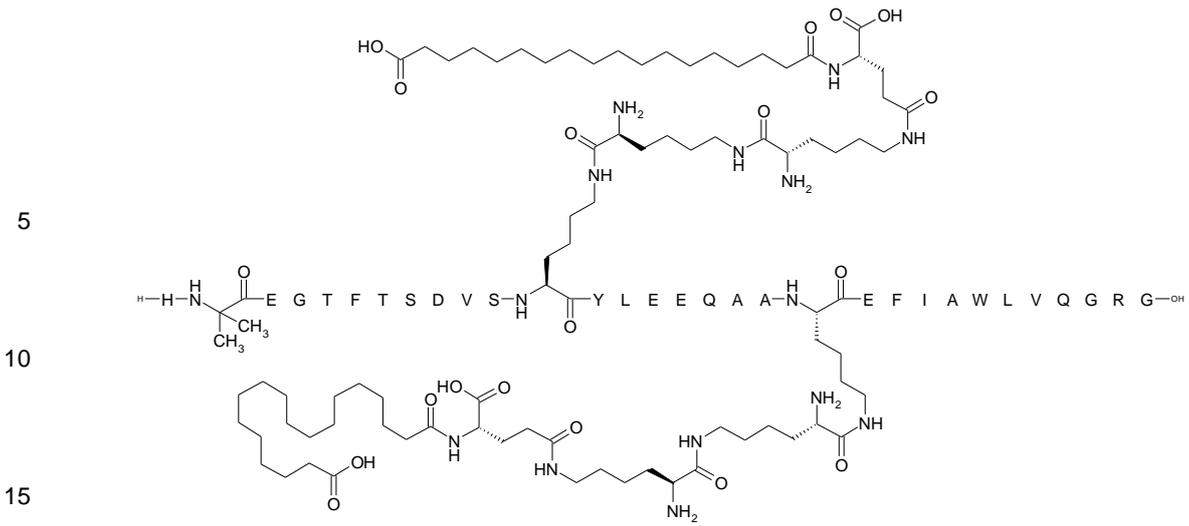
50 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2(S)-2-amino-6-[[4(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2(S)-2-amino-6-[[4(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

55

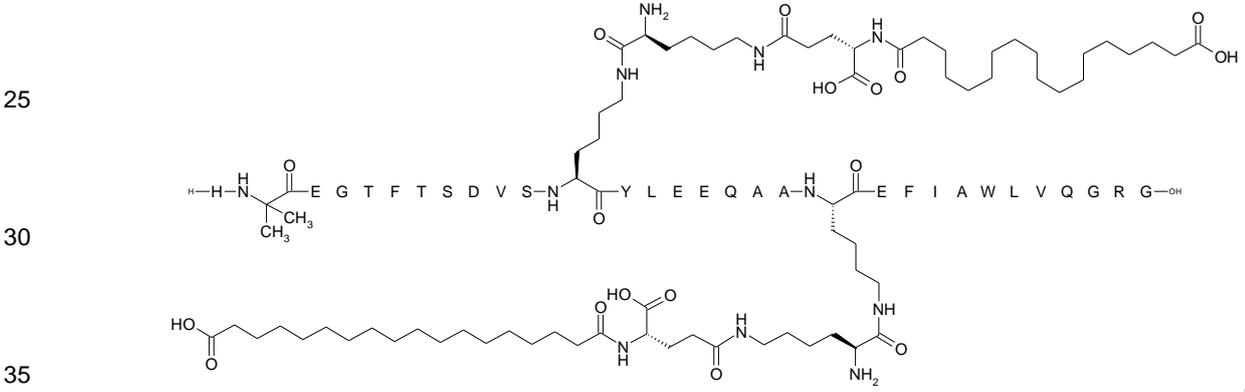
60

65

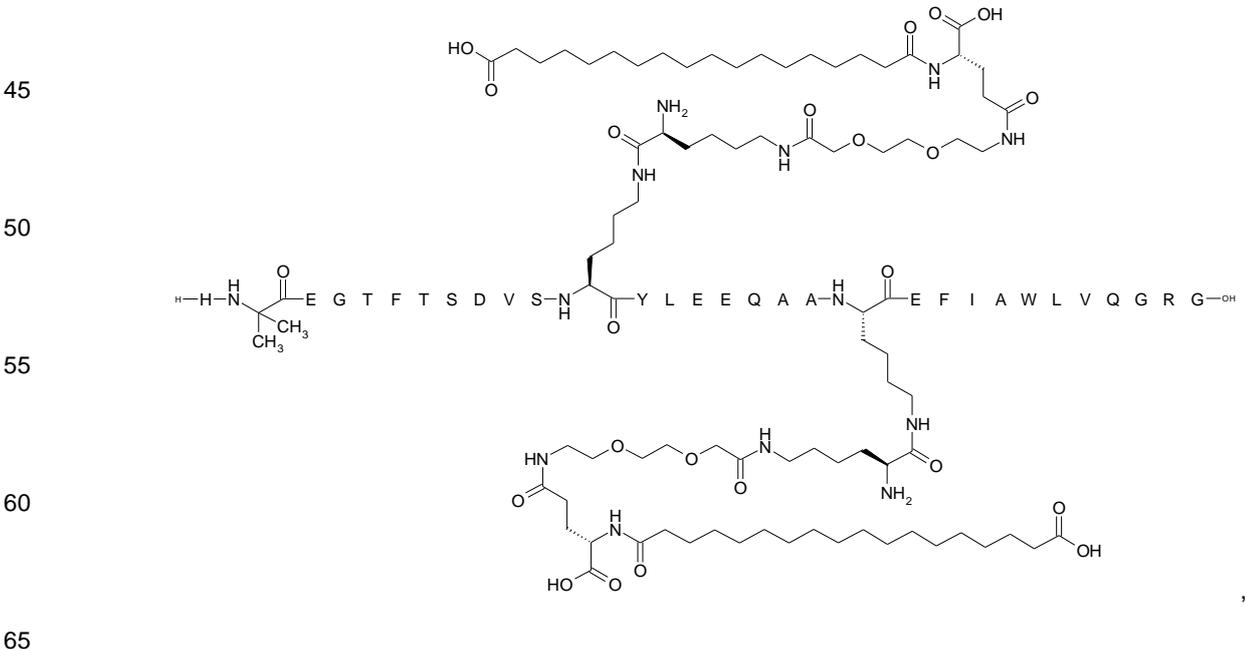
ES 2 683 372 T3



20 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



40 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



N^{ε18}-[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{ε26}-[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

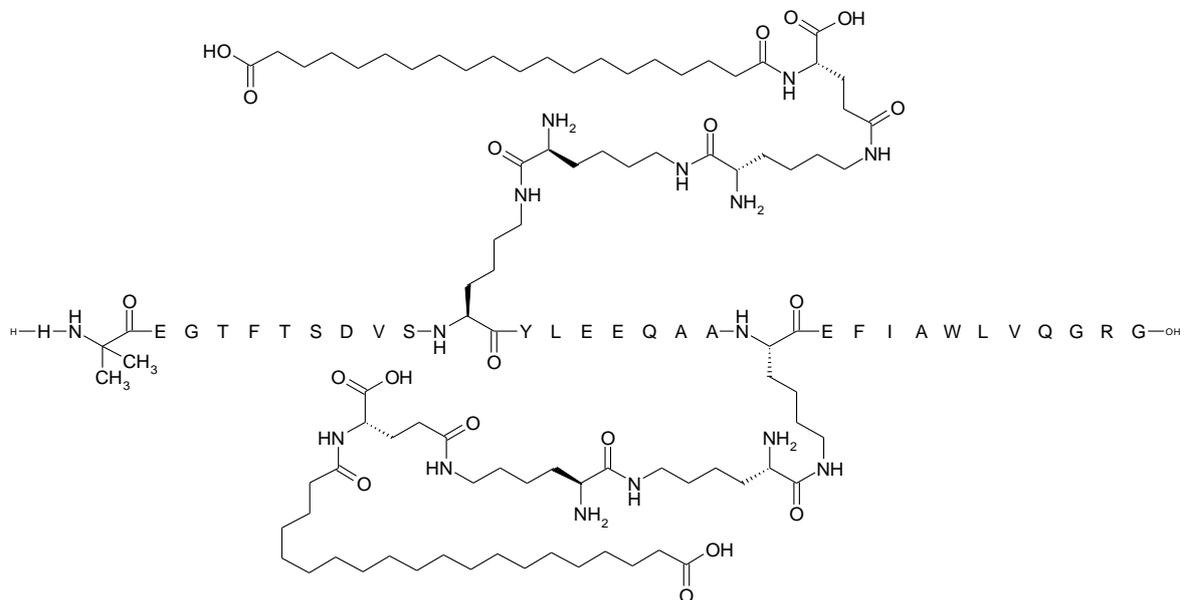
5

10

15

20

25



N^{ε18}-[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], N^{ε26}-[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

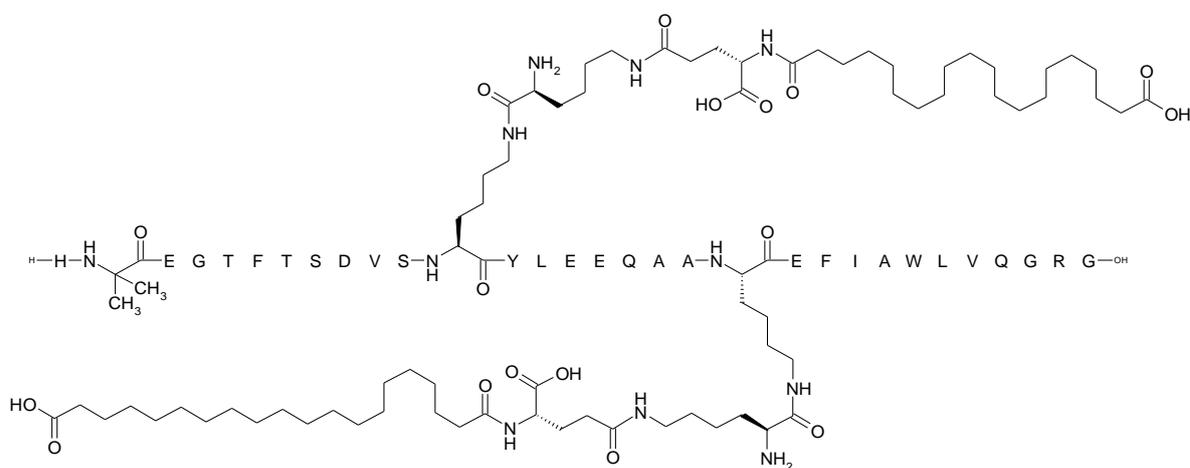
30

35

40

45

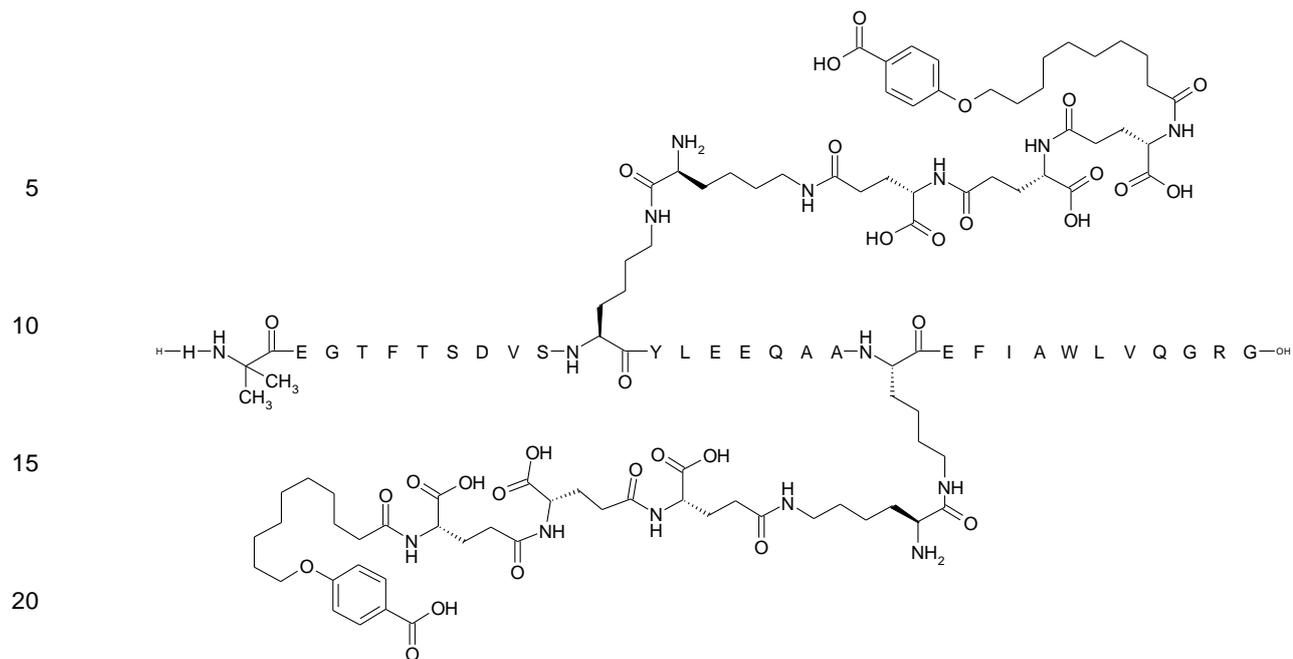
50



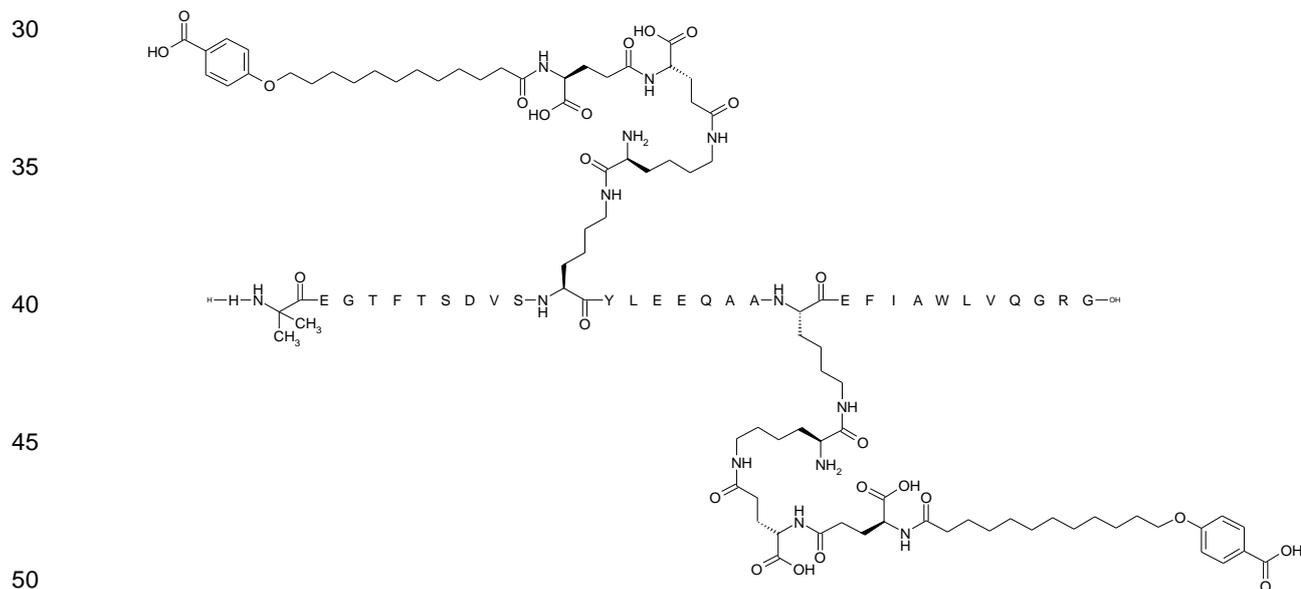
N^{ε18}-[(2S)-2-amino-6-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{ε26}-[(2S)-2-amino-6-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

60

65



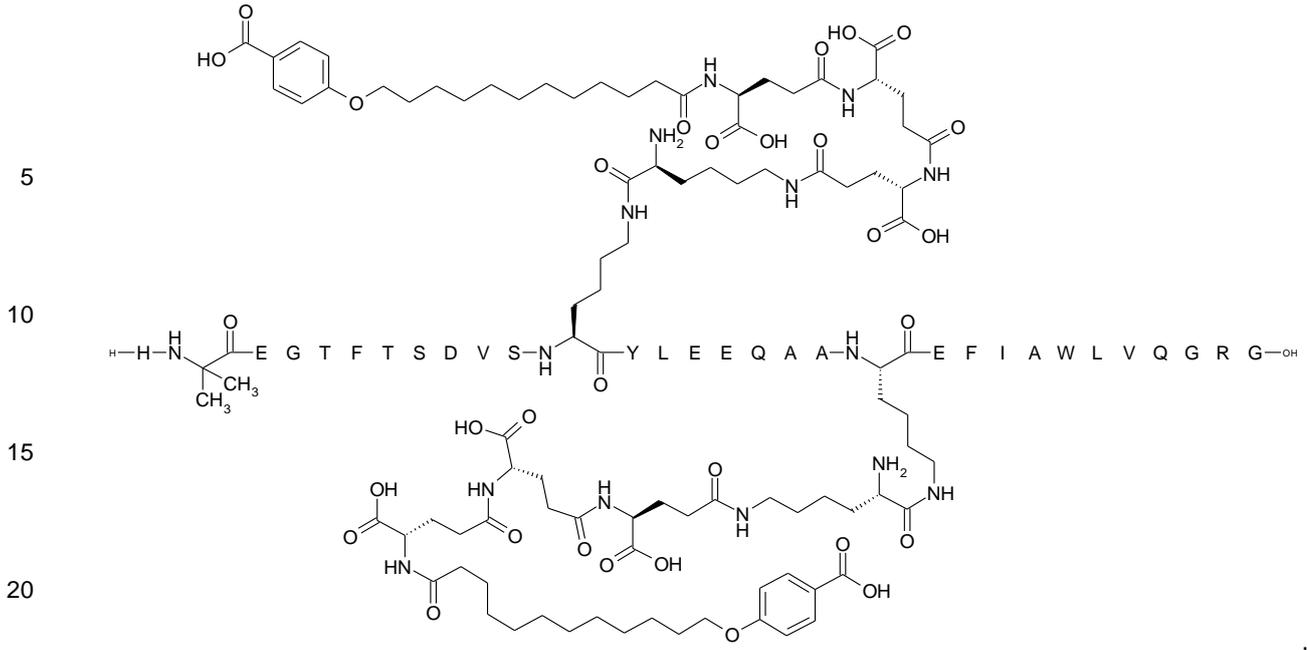
25 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



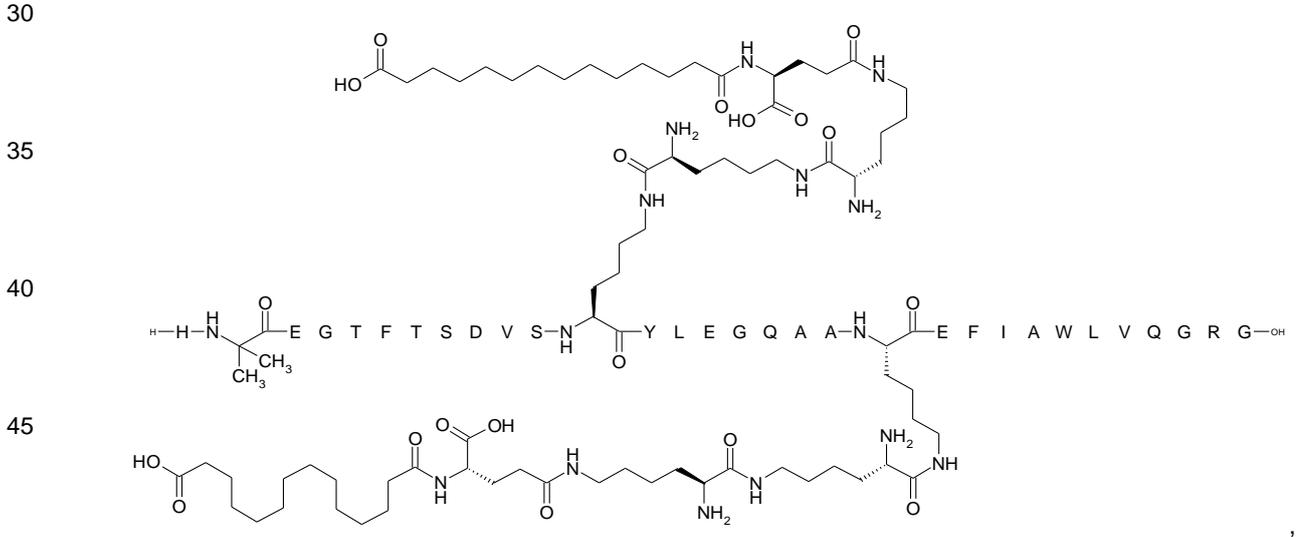
55 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

60

65



25 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

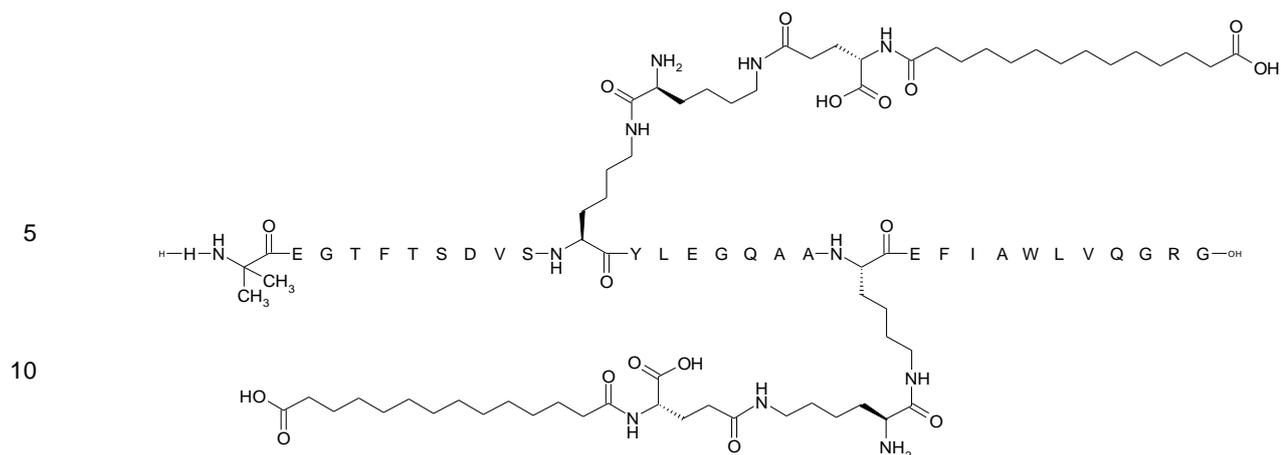


55 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

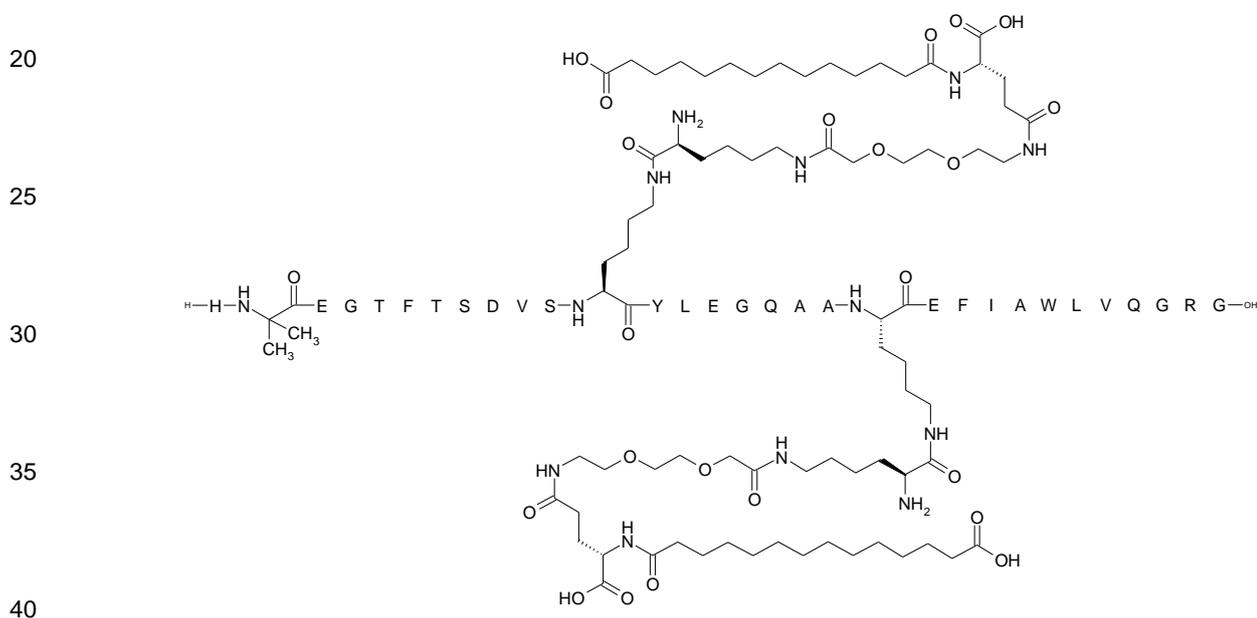
60

65

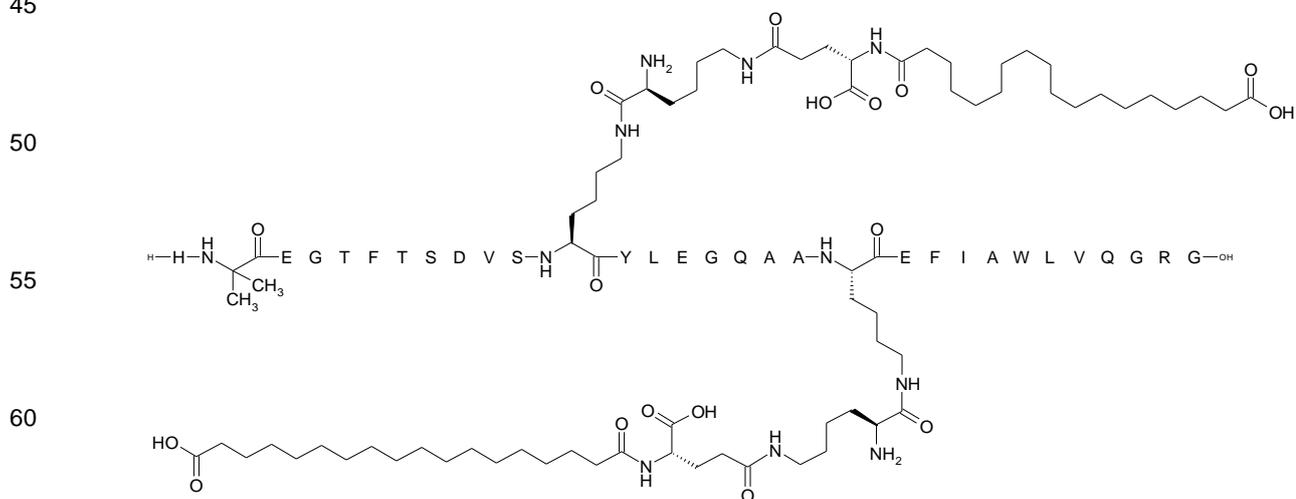
ES 2 683 372 T3



15 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



45 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



65

N^{E18}-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{E26}-[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

5

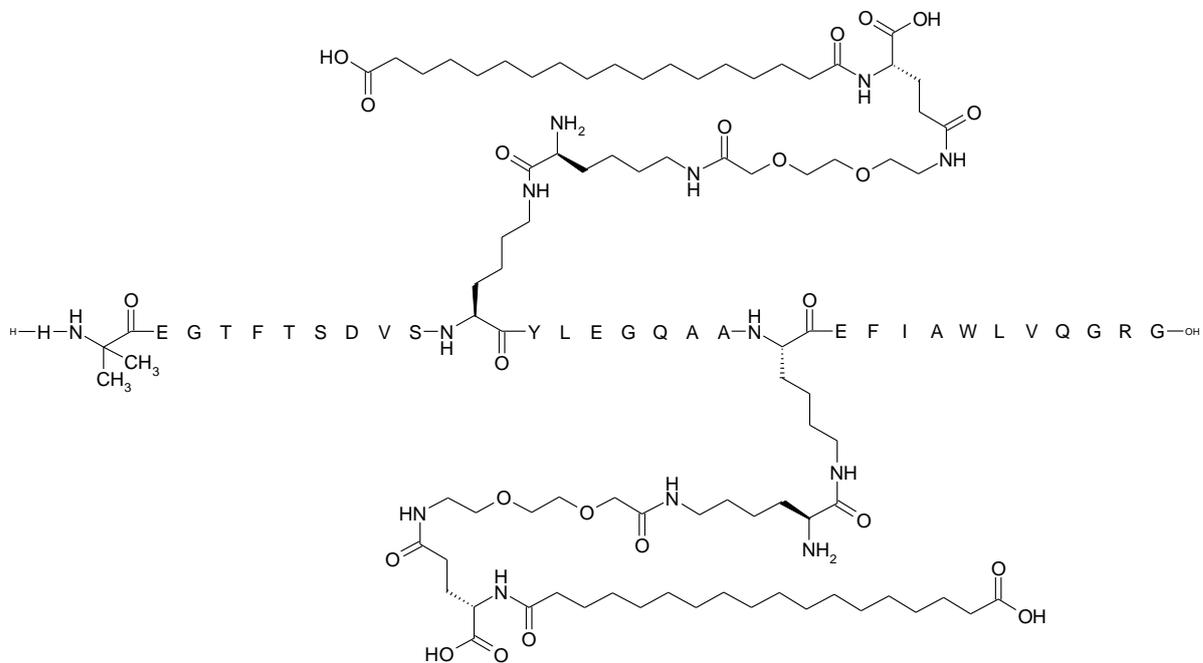
10

15

20

25

30



N^{E18}-[(2S)-2-amino-6-[[2-(2S)-2-amino-6-[[4(S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil], N^{E26}-[(2S)-2-amino-6-[[2-(2S)-2-amino-6-[[4(S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

35

40

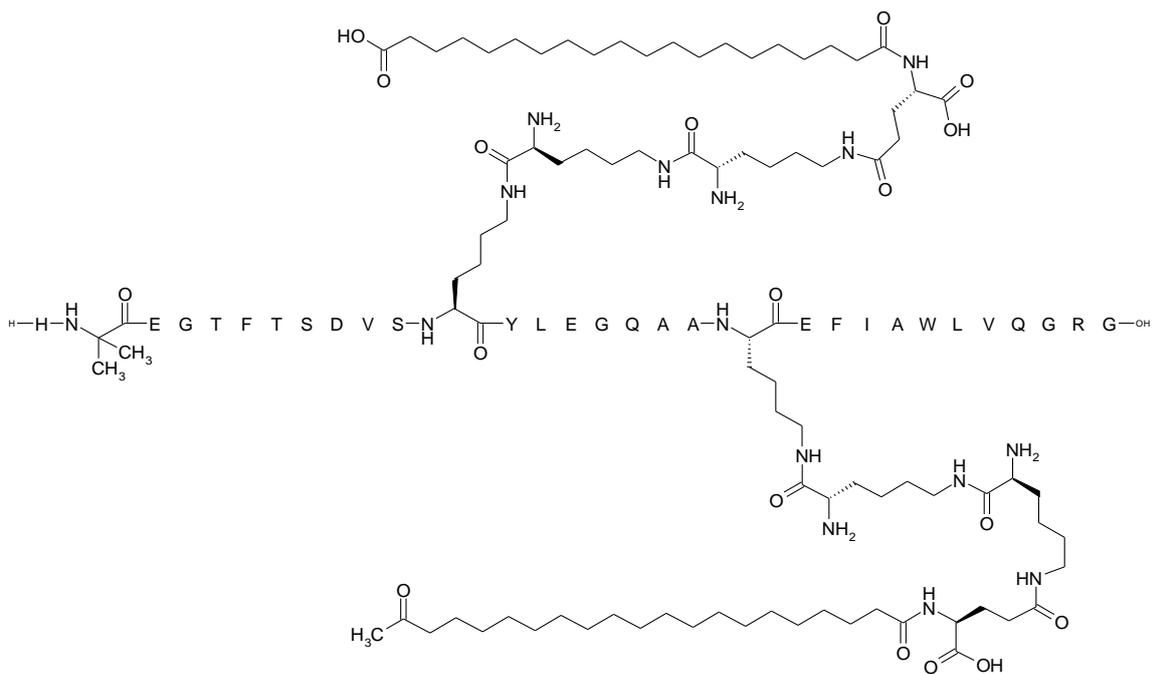
45

50

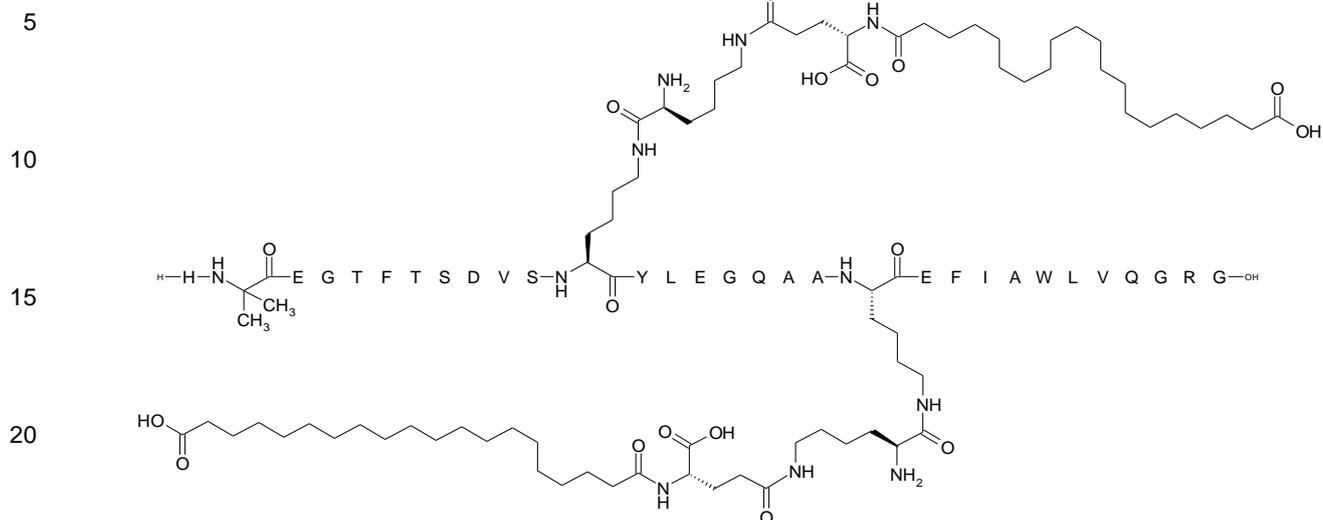
55

60

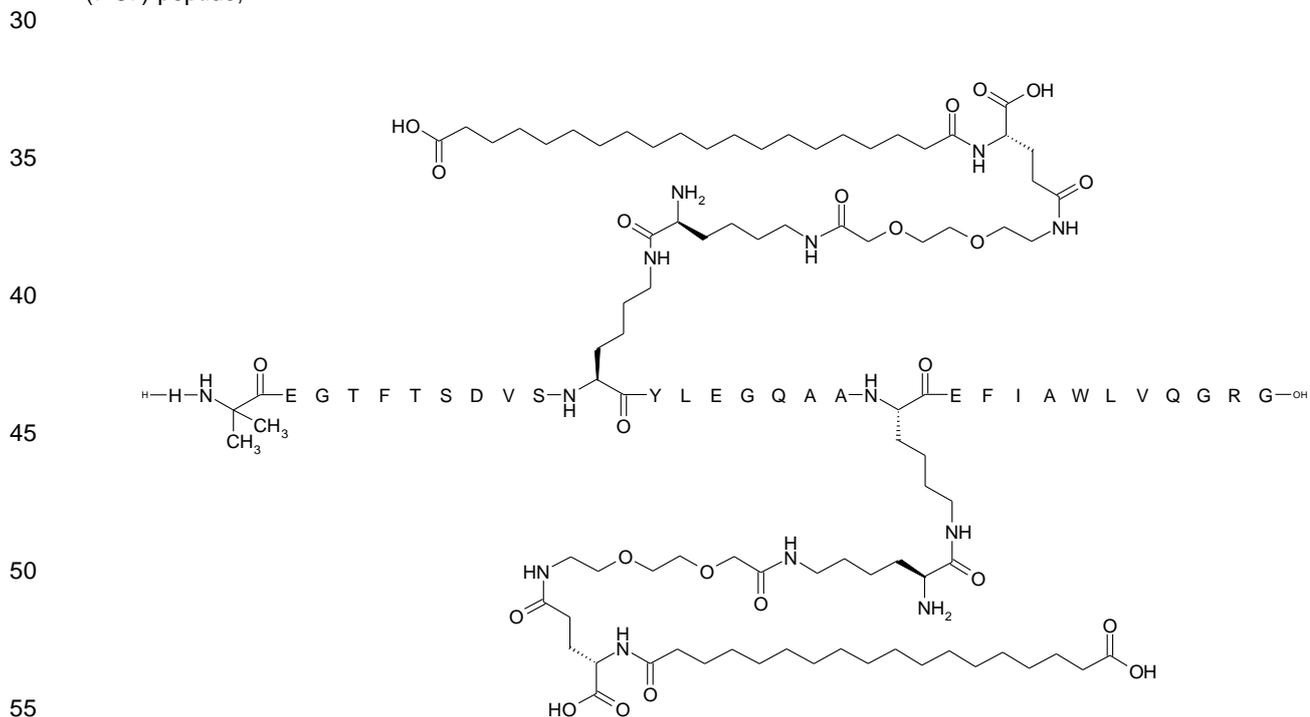
65



N^{E18}-[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil], N^{E26}-[(2S)-2-amino-6-[[[(4S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

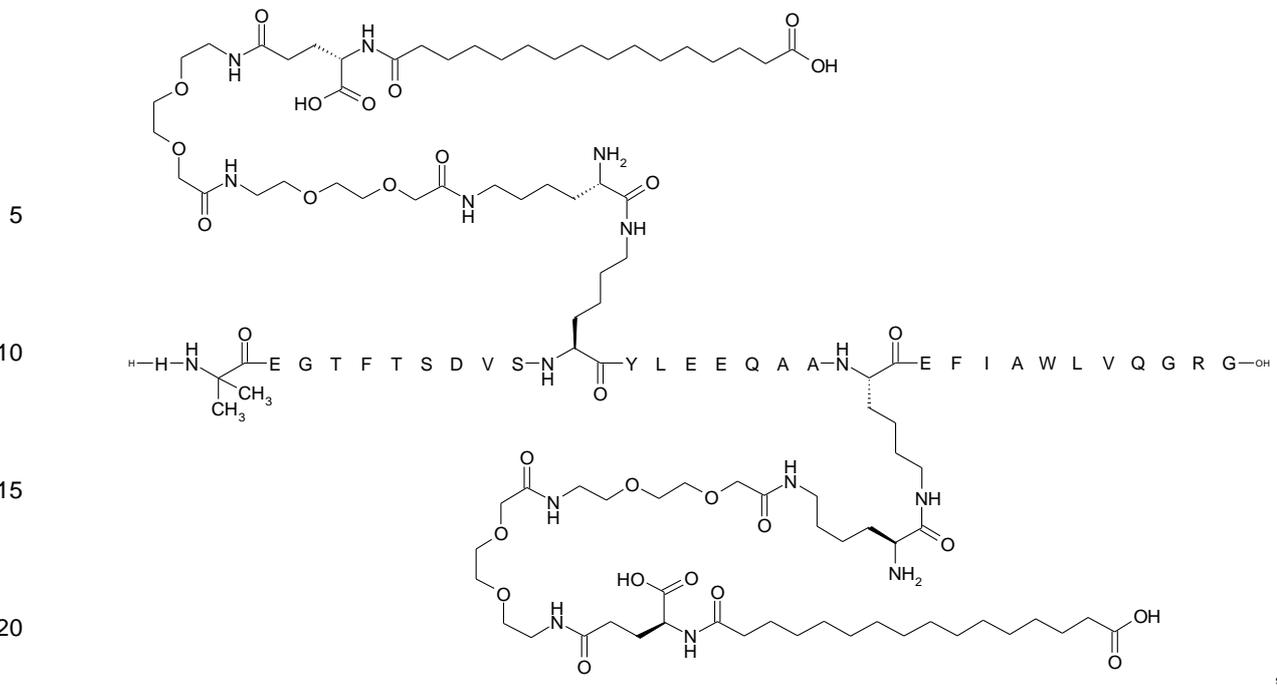


N^{E18}-[(2S)-2-amino-6-[[[2-[2-[2-[[4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{E26}-[(2S)-2-amino-6-[[[2-[2-[2-[[4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

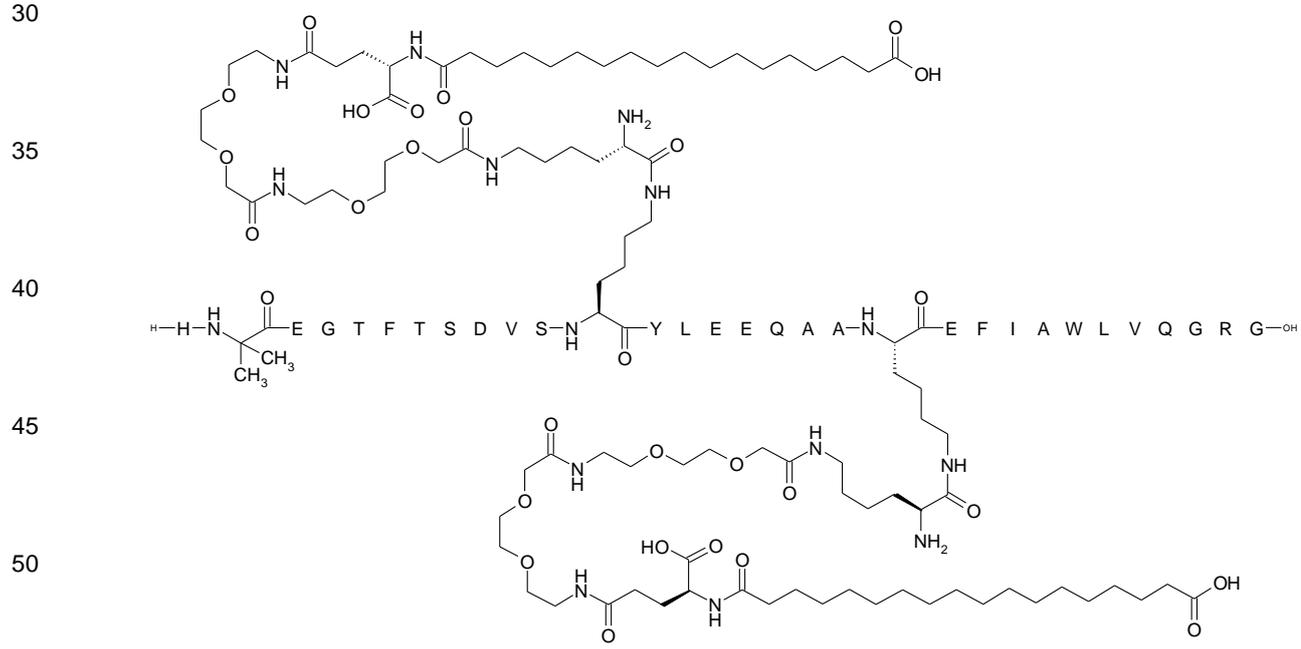


N^{E18}-[(2S)-2-amino-6-[[[2-[2-[2-[[4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{E26}-[(2S)-2-amino-6-[[[2-[2-[2-[[4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

65



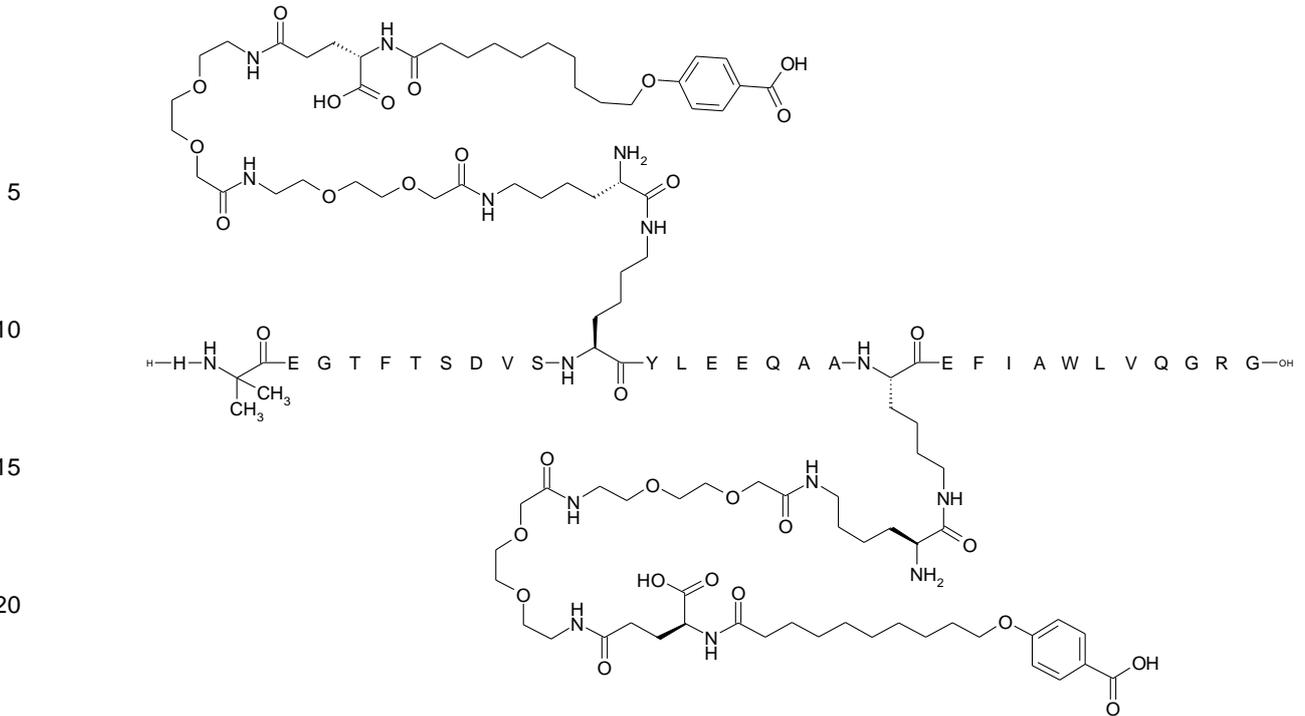
25 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(17-
 carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-
 amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(17-
 carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-
 [Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



55 N^{E18} -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-
 carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], N^{E26} -[(2S)-2-
 amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-
 carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-
 [Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

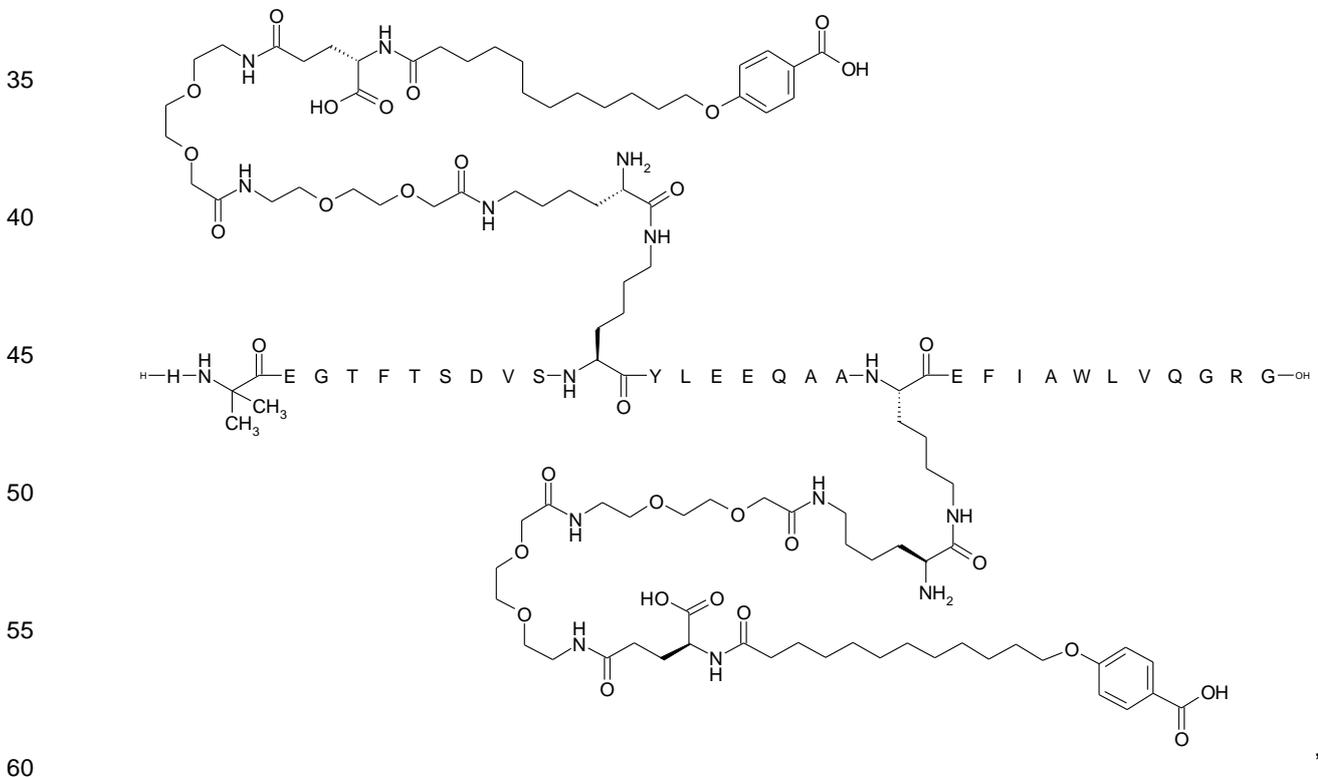
60

65



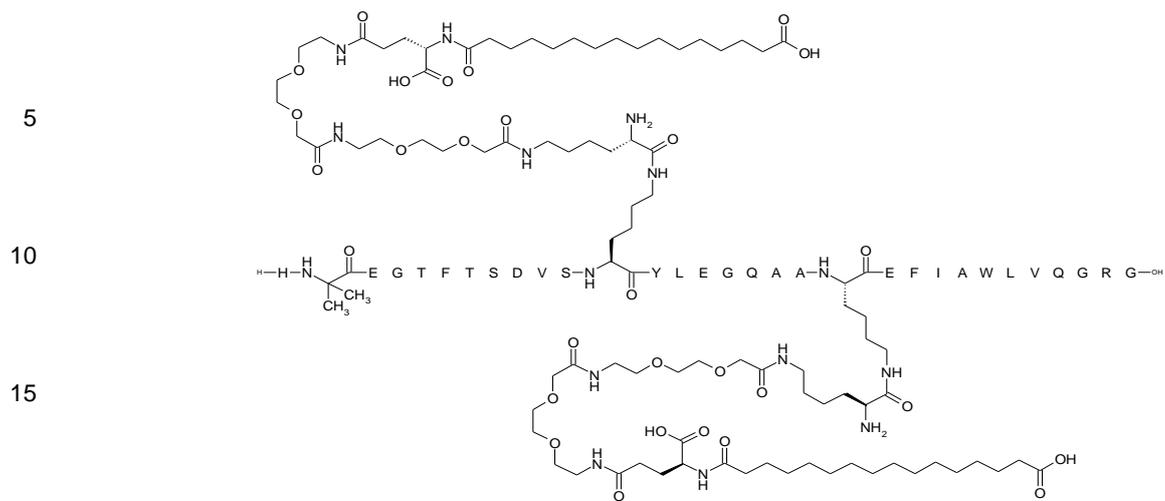
30

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Glu²²,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

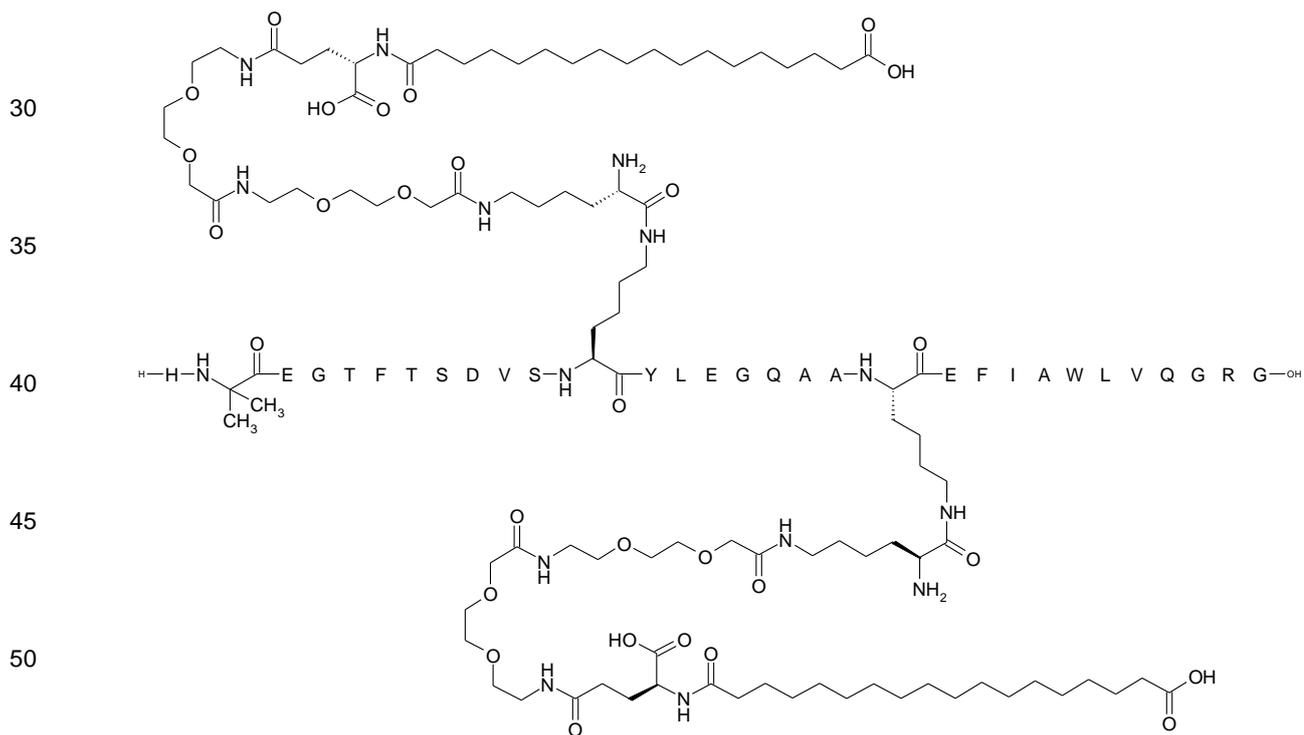


65

$N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoil]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,



25 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxy-4-(17-carboxiheptadecanoylamino)butanoyl]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoyl], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxy-4-(17-carboxiheptadecanoylamino)butanoyl]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoyl]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido,

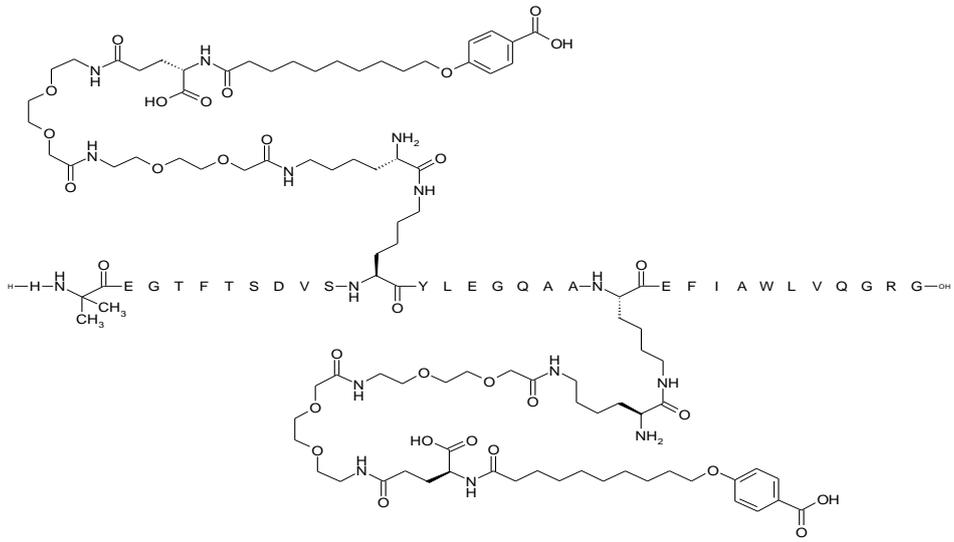


55 $N^{\epsilon 18}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxy-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoyl]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoyl], $N^{\epsilon 26}$ -[(2S)-2-amino-6-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxy-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoyl]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]hexanoyl]-[Aib⁸,Lys¹⁸,Gln³⁴]-GLP-1-(7-37)-péptido, o

60

65

5



10

15

12.

Un derivado o compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, para el uso como un medicamento.

20

13. Un derivado o compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, para el uso en el tratamiento y/o prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos alimenticios, enfermedades cardiovasculares, enfermedades gastrointestinales, complicaciones diabéticas, enfermedades crónicas, y/o síndrome del ovario poliquístico; y/o para mejorar parámetros lipídicos, mejorar la función de las células- β , y/o para retardar o evitar la progresión de la enfermedad diabética.

25