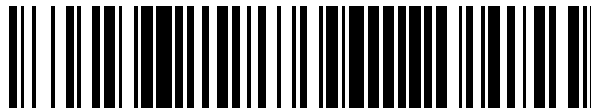


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 741 507**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/26** (2006.01)

**C07K 14/605** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.04.2015 PCT/EP2015/057442**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.10.2015 WO15155151**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.04.2015 E 15713772 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2019 EP 3129041**

54 Título: **Compuestos de GLP-1 acilados doblemente**

30 Prioridad:

**07.04.2014 EP 14163697**

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

**11.02.2020**

73 Titular/es:

**NOVO NORDISK A/S (100.0%)**

**Novo Allé**

**2880 Bagsværd, DK**

72 Inventor/es:

**LINDEROTH, LARS;**

**KOFOED, JACOB;**

**LAU, JESPER;**

**BLOCH, PAW;**

**GARIBAY, PATRICK WILLIAM y**

**KODRA, JÁNOS TIBOR**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 741 507 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

Compuestos de GLP-1 acilados doblemente

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a derivados de análogos del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), más en particular a derivados de GLP-1 acilados doblemente en Lys36 y en Lys37, y a su uso farmacéutico. La invención se refiere, además, a análogos de GLP-1 que tienen Lys36 y Lys37 y ningún otro residuo de Lys, así como también a un producto intermedio que comprende ácido 3-carboxifenoxi-nonanoico con un grupo de protección en el grupo carboxi del ácido nonanoico, opcionalmente a través de un enlazador.

Antecedentes de la invención

15 Los documentos WO 2011/080103, WO 2012/062803, WO 2012/062804, WO 2012/140117, WO 2013/037690, WO 2013/167455 y WO 2013/167454 describen diversos derivados de GLP-1 acilados doblemente, ninguno de los cuales tiene lisina en la posición 36, así como tampoco en la posición 37, y el documento US 7291594 B2 describe diversos análogos de péptidos GLP-1, lo que incluye algunos que tienen residuos de Lys en las posiciones 36 y 37 pero sin sustituyentes prolongadores unidos.

20 Breve descripción de la invención

La presente invención se refiere a derivados de GLP-1 acilados doblemente.

25 La liraglutida es un derivado de GLP-1 monoacilado para administrar una vez al día que se comercializa por Novo Nordisk A/S con el nombre comercial de VICTOZA®. Este compuesto se describe en el documento WO 98/08871 A1 (Ejemplo 37).

30 El documento WO 06/097537 A2 describe entre otros derivados de GLP-1 la semaglutida (Ejemplo 4), que es un derivado de GLP-1 monoacilado para administrar una vez a la semana que se encuentra en desarrollo clínico por Novo Nordisk A/S.

35 Los derivados de GLP-1 de la invención se acilan doblemente. Más en particular, los derivados de GLP-1 de la invención son péptidos GLP-1 que tienen dos cadenas laterales unidas covalentemente en dos posiciones vecinas, específicamente en las posiciones que corresponden a las posiciones 36 y 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1). Cada cadena lateral comprende un enlazador y un prolongador. El prolongador puede ser un radical de un diácido graso, o un radical de un ácido graso con un grupo carboxi fenoxi distal. El enlazador es un diradical que incorpora un grupo \*-NH y un grupo \*-CO. El grupo \*-NH está en el extremo izquierdo de la molécula, y el grupo \*-CO en el extremo derecho de la molécula, por referencia a las fórmulas lineales y estructurales en la presente descripción. Los enlazadores preferidos incluyen uno o más residuos de Glu, y/o uno o más residuos de Ado (Ado es ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico). El prolongador y el enlazador se interconectan a través de un enlace amida. El enlazador se conecta al grupo épsilon-amino de Lys36 o Lys37 del péptido, a través de un enlace amida.

45 El péptido GLP-1 incorporado en el derivado de la invención es un análogo de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), cuyo análogo comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) ("Lys36"), y un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) ("Lys37"). El péptido GLP-1 del derivado de la invención puede tener en total hasta siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), de los cuales Lys36 y Lys37 cuentan como dos cambios de aminoácidos. Los cinco cambios adicionales máximos pueden ser, independientemente, una o más extensiones, una o más inserciones, una o más delecciones, y/o una o más sustituciones.

50 Más en particular, la invención se refiere, en un primer aspecto, a un derivado de un péptido GLP-1, cuyo péptido comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y un máximo de siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37)(SEQ ID NO: 1); cuyo derivado comprende dos prolongadores unidos a dichos primer y segundo residuos de Lys, respectivamente, cada uno a través de un enlazador, en donde el prolongador se selecciona de:

60 Quím. 1:  $\text{HOOC-C}_6\text{H}_4\text{-O-(CH}_2\text{)}_y\text{-CO-}^*$ , y

Quím. 2:  $\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_x\text{-CO-}^*$ ,

en donde y es un número entero en el intervalo de 8-11, y x es 12; y el enlazador comprende al menos uno de:

65 Quím. 3:  $^*\text{-NH-CH(COOH)-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-}^*$ ,

Quím. 4: \*-NH-CH((CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-COOH)-CO-\*, y/o

Quím. 5: \*-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-[O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sub>k</sub>-O-[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>-CO-\*,

5 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, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.

Los derivados de GLP-1 preferidos de la invención denominados Quím. 21 hasta Quím. 48 se describen en la sección experimental.

10 En un segundo aspecto, la invención se refiere a un análogo de GLP-1 que comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), en donde el análogo (i) no incorpora ningún otro residuo de Lys, y/o (ii) incorpora uno o más de los cambios de aminoácidos (Aib8 o Gly8), Glu22, Arg26, Glu30, y/o (Arg34 o Gln34). La invención se refiere, además, a los análogos de GLP-1(9-37) correspondientes, así como también a las sales, amidas o ésteres aceptables farmacéuticamente de estos análogos de GLP-1(7-37) y GLP-1(9-37).

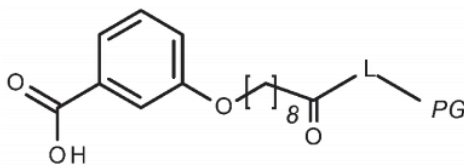
20 Más en particular, la invención se refiere a un péptido GLP-1 de Fórmula I:

25 Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Lys<sub>36</sub>-Lys<sub>37</sub>, en donde Xaa<sub>7</sub> es L-histidina, ácido (S)-2-hidroxi-3-(1H-imidazol-4-il)-propiónico, D-histidina, desamino-histidina (desH), N<sup>α</sup>-acetil-histidina, N<sup>α</sup>-formil-histidina; Xaa<sub>8</sub> es Ala, Gly, Ser, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico; Xaa<sub>16</sub> es Val o Leu; Xaa<sub>18</sub> es Ser o Arg; Xaa<sub>19</sub> es Tyr o Gln; Xaa<sub>20</sub> es Leu o Met; Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu; Xaa<sub>23</sub> es Gln, Glu o Arg; Xaa<sub>25</sub> es Ala o Val; Xaa<sub>26</sub> es Arg o Lys; Xaa<sub>27</sub> es Glu o Leu; Xaa<sub>30</sub> es Ala, o Glu; Xaa<sub>31</sub> es Trp o His; Xaa<sub>33</sub> es Val o Arg; Xaa<sub>34</sub> es Arg, Lys, His, Asn o Gln; y Xaa<sub>35</sub> es Gly o Aib.

30 La invención se refiere, además, a un péptido como se definió anteriormente, excepto que Xaa<sub>7</sub> y Xaa<sub>8</sub> están ausentes.

En un tercer aspecto, la invención se refiere a un producto intermedio que comprende ácido 3-carboxifenoxi-nonanoico con un grupo de protección en el grupo carboxi del ácido nonanoico, opcionalmente a través de un enlazador.

35 Más en particular, la invención se refiere a un producto intermedio que comprende una porción de cadena lateral del Quím. 6:



45 en donde L es un enlazador opcional que es un diradical que incorpora un grupo \*-NH y un grupo \*-CO, PG es un grupo de protección, y el grupo COOH distal y/o cualquier otro grupo COOH si se presenta, se protege también opcionalmente; o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.

50 En un cuarto aspecto, la invención se refiere al uso farmacéutico de los derivados y análogos de GLP-1 de la invención, por ejemplo, para su uso en el tratamiento y/o prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos de la alimentación, 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 prevenir la progresión de la enfermedad diabética.

55 Los derivados de la invención son biológicamente activos. Por ejemplo, son muy potentes, y, además o alternativamente, se unen muy bien al receptor de GLP-1.

Además, o alternativamente, tienen un perfil farmacocinético prolongado. Por ejemplo, tienen una vida media terminal muy larga cuando se administran i.v. a minicerdos y/o perros.

60 La combinación particular de buena potencia/unión y vida media larga es muy conveniente.

Además, o alternativamente, tienen una alta biodisponibilidad oral. Por ejemplo, cuando se administran oralmente pueden exhibir, preferentemente, una concentración plasmática suficientemente alta durante un período de tiempo deseado. Además, o alternativamente, la concentración plasmática puede exhibir una variación baja conveniente (es relativamente constante) entre administraciones sucesivas.

Además, o alternativamente, conducen a una reducción en la ingestión de alimentos, lo que puede indicar un efecto sobre la obesidad y otros trastornos de la alimentación.

Además, o alternativamente, el número de cambios de aminoácidos en el péptido GLP-1 es bajo.

- 5 Estas propiedades pueden ser importantes en el desarrollo de la siguiente generación de compuestos de GLP-1 para la administración subcutánea, intravenosa y/o, en particular, oral.

Además, o alternativamente, es sorprendente que los análogos de GLP-1 con dos cadenas laterales largas unidas a los residuos de aminoácidos vecinos en la cadena principal peptídica sean en absoluto funcionales, y aún más que  
10 tienen un rendimiento mejorado.

#### Descripción

15 En lo siguiente, las letras del alfabeto griego pueden representarse por su símbolo o el nombre escrito correspondiente, por ejemplo:  $\alpha$  = alfa;  $\beta$  = beta;  $\varepsilon$  = épsilon;  $\gamma$  = gamma;  $\omega$  = omega; etcétera. Además, la letra griega de  $\mu$  puede representarse por "u", por ejemplo en  $\mu\text{l}=\text{ul}$ , o en  $\mu\text{M}=\text{uM}$ .

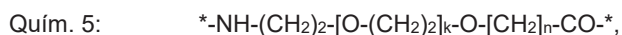
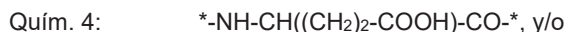
Un asterisco (\*) en una fórmula química designa i) un punto de unión, ii) un radical, y/o iii) un electrón no compartido.

20 En un primer aspecto, la invención se refiere a un derivado de un péptido GLP-1, cuyo péptido comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y un máximo de siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1); cuyo derivado comprende dos prolongadores unidos a dichos primer y segundo residuos de Lys, respectivamente, cada uno a través de un enlazador; en donde el prolongador se selecciona de:



30 en donde y es un número entero en el intervalo de 8-11, y x es 12; y

el enlazador comprende al menos uno de:



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, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.

#### Péptidos y análogos de GLP-1

45 El péptido GLP-1 del derivado de la invención puede denominarse de vez en cuando como la "cadena principal" o la "cadena principal peptídica" del derivado.

50 El término "péptido GLP-1", como se usa en la presente descripción, se refiere a un análogo o variante del péptido similar al Glucagón-1 humano (GLP-1(7-37)), la secuencia del cual se incluye en el listado de secuencias como SEQ ID NO: 1. El péptido que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 1 puede denominarse, además, como GLP-1 "natural".

55 En el listado de secuencias, al primer residuo de aminoácido del GLP-1 natural de la SEQ ID NO: 1 (histidina) se le asigna el núm. 1. Sin embargo, en lo siguiente, de acuerdo con la práctica establecida en la técnica, este residuo de histidina se denomina como núm. 7, y los residuos de aminoácidos subsecuentes se enumeran en consecuencia, y terminan en el GLP-1 natural con la glicina núm. 37. Por lo tanto, generalmente, cualquier referencia en la presente descripción a un número de residuo de aminoácido o a un número de posición en el GLP-1 natural es con respecto a la secuencia que comienza con His en la posición 7 y termina con Gly en la posición 37.

60 Esta práctica se sigue en la presente descripción, además, para los péptidos GLP-1 de la invención, que pueden describirse por referencia i) al número del residuo de aminoácido en el GLP-1(7-37) natural que corresponde al residuo de aminoácido que se cambia (es decir, la posición correspondiente en el GLP-1 natural), y ii) al propio cambio.

65 Por ejemplo, el péptido GLP-1 de la invención se define para comprender un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1). Estos dos residuos de Lys del péptido GLP-1 de la

5 invención pueden denominarse como Lys36 y Lys37, respectivamente. Por ejemplo, un péptido GLP-1 de la invención que solo tiene estos dos cambios en comparación con el GLP-1 natural, puede denominarse como Lys36, Lys37 GLP-1(7-37) y/o como GLP-1(7-37) R36K, G37K. Además, en estas denominaciones los números de posiciones 36 y 37, respectivamente, se refieren a las posiciones que corresponden a la posición 36 y 37, respectivamente, en el GLP-1 natural. En la última expresión se indica, además, el residuo que se sustituye con Lys (K) (R y G, respectivamente, para las posiciones 36 y 37).

10 El péptido GLP-1 de la invención puede tener cambios de aminoácidos adicionales en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), sin embargo, se limita a un máximo de siete cambios de aminoácidos. Estos cambios son también en comparación con el GLP-1(7-37) natural (SEQ ID NO: 1), y pueden representar, independientemente, una o más sustituciones, inserciones, extensiones, y/o delecciones de aminoácidos.

15 En una modalidad particular, los cambios de aminoácidos están en una o más posiciones que corresponden a una o más de las posiciones 8, 22, 26, 30, 34, 36 y 37 del GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).

20 En otra modalidad particular, el péptido GLP-1 de la invención comprende Lys36 y Lys37, y opcionalmente uno o más de los siguientes cambios de aminoácidos adicionales: (Aib8 o Gly8), Glu22, Arg26, Glu30, y/o (Arg34 o Gln34). En esta modalidad, la referencia al GLP-1(7-37) de SEQ ID NO: 1 está implícita, y los números de posición se refieren, como se explicó anteriormente, a las posiciones que corresponden a las posiciones 36, 37, 8, 22, 26, 30 y 34, respectivamente, en el GLP-1 natural. La expresión (Arg34 o Gln34) significa que el residuo en la posición que corresponde a la posición 34 en el GLP-1 natural es Arg o Gln.

25 Los péptidos GLP-1 particulares de la invención, que se incorporan, además, en los derivados particulares de la invención que se describen en la sección experimental, son de la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5, y la SEQ ID NO: 6 del listado de secuencias.

Un péptido "que comprende" ciertos cambios especificados puede comprender cambios adicionales, cuando se compara con la SEQ ID NO: 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 El número total de cambios de aminoácidos, así como también los cambios específicos (en cuál(es) posición(es) y en qué) en comparación con el GLP-1 natural, pueden identificarse como se conoce en la técnica, por ejemplo, mediante escritura e inspección visual, y/o mediante un programa adecuado, preferentemente, una alineación de Needleman-Wunsch, tal como "align". El algoritmo se describe en Needleman, S.B. y Wunsch, C.D., (1970), Journal of Molecular Biology, 48: 443-453, y el programa align por Myers y W. Miller en "Optimal Alignments in Linear Space" CABIOS (aplicaciones informáticas en las biociencias) (1988) 4:11-17. Para la alineación, pueden usarse la matriz de puntuación predeterminada tal como BLOSUM62 y la matriz de identidad predeterminada, y la penalización por el primer residuo en un hueco puede fijarse en -10, y las penalizaciones por residuos adicionales en un hueco en -0,5.

Un ejemplo de dicha alineación de la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 2 se inserta en la presente más abajo:

```

=====
# Secuencias alineadas: 2
# 1: SEQ_ID_NO_1
# 2: SEQ_ID_NO_2
# Matriz: EBLOSUM62
# Penalización por hueco: 10,0
# Penalización por extensión: 0,5
#
# Longitud: 31
# Identidad: 25/31 (80,6 %)
# Similitud: 28/31 (90,3 %)
# Huecos: 0/31 (0,0 %)
# Puntuación: 132,0
=====
                SEQ_ID_NO_1      1 HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRG      31
                        |.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|.|
                SEQ_ID_NO_2      1 HXEGTFTSDVSSYLEEQAAREFIAWLVRGKK      31
=====

```

65 Como puede inferirse a partir de la alineación anterior, en el caso de los aminoácidos no codificados tales como Aib que se incluyen en la secuencia, estos pueden, para propósitos de alineación, reemplazarse con X. Si es conveniente, X puede corregirse después manualmente.

- Como puede inferirse, además, a partir de la alineación anterior, la SEQ ID NO: 2 es el siguiente análogo del GLP-1 natural (SEQ ID NO: 1): Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37 (donde está implícita la referencia a GLP-1(7-37)). En otras palabras, este análogo tiene 6 cambios de aminoácidos en comparación con el GLP-1 natural, específicamente en las posiciones que corresponden a las posiciones 8, 22, 26, 34, 36, y 37 del GLP-1 natural, y los cambios de aminoácidos son todas sustituciones, específicamente en Aib, Glu, Arg, Arg, Lys y Lys, respectivamente.
- El término "péptido" se refiere a un compuesto que comprende una serie de aminoácidos interconectados a través de enlaces amida (o peptídicos).
- Los péptidos de la invención comprenden al menos cinco aminoácidos constituyentes conectados a través de enlaces peptídicos. En modalidades particulares, el péptido comprende al menos 10, preferentemente, al menos 15, con mayor preferencia, al menos 20, aún con mayor preferencia, al menos 25, o con la máxima preferencia, al menos 28 aminoácidos.
- En modalidades particulares, el péptido se compone de al menos cinco aminoácidos constituyentes, se compone, preferentemente, de al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25, o con la máxima preferencia, se compone de al menos 28 aminoácidos.
- En modalidades particulares adicionales, el péptido a) se compone de, o b) consiste en, i) 28, ii) 29, iii) 30, iv) 31, v) 32, o vi) 33 aminoácidos.
- En aún otra modalidad particular, el péptido consiste en aminoácidos interconectados a través de enlaces peptídicos.
- Un aminoácido puede definirse como un compuesto que comprende un grupo amino y un grupo ácido carboxílico y, opcionalmente, uno o más grupos adicionales, denominados frecuentemente como una cadena lateral. El grupo amino puede, por ejemplo, ser un grupo amino primario o secundario.
- Un residuo de aminoácido es un radical de un aminoácido incorporado en un péptido o proteína.
- En una modalidad particular, los aminoácidos del péptido de la invención son  $\alpha$ -aminoácidos donde el átomo de nitrógeno del grupo amino primario o secundario se une al átomo de carbono  $\alpha$ .
- En otra modalidad particular, los aminoácidos del péptido de la invención se seleccionan de aminoácidos codificados y aminoácidos no codificados.
- En aún otras modalidades particulares, al menos 60 %, preferentemente, al menos 70 %, con mayor preferencia, al menos 80 %, aún con mayor preferencia, al menos 90 %, aún con mayor preferencia, al menos 95 %, o con la máxima preferencia, al menos 97 % de los aminoácidos del péptido de la invención son aminoácidos codificados.
- Los aminoácidos codificados pueden definirse como en la Tabla 1 en la sección 3AA-1 de las recomendaciones de la IUPAC (INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY; ver <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/>), donde se proporcionan la estructura, nombre común, nombre sistemático, símbolos de una y tres letras para 20 aminoácidos codificados.
- El término "aminoácidos no codificados" se refiere a todos los otros aminoácidos. Los ejemplos no limitantes de aminoácidos no codificados que pueden incorporarse en el péptido de la invención son: Aad (ácido 2-aminoadípico (ácido 2-aminohexanodioico)), Abu (ácido 2-aminobutanoico), Aca (ácido 2-aminocáprico (ácido 2-aminodecanoico)), Aib (ácido  $\alpha$ -aminoisobutírico ( $\alpha$ -metilalanina)), Apm (ácido 2-aminopimélico (ácido 2-aminoheptanodioico)), Bal ( $\beta$ -Alanina), Bly (ácido 3,6-diaminohexanoico ( $\beta$ -lisina)), Bux (ácido 4-amino-3-hidroxitbutanoico), Cha (3-ciclohexilalanina), Cit (N5-aminocarbonilornitina o citrulina), Cya (ácido cisteico, 3-sulfoalanina), Dab (ácido 2,4-diaminobutanoico), Dpm (ácido diaminopimélico), Dpr (ácido 2,3-diaminopropanoico), Gla (ácido  $\gamma$ -carboxiglutámico), pGlu (ácido piroglutámico), hArg (Homoarginina), hCys (Homocisteína), hHis (Homohistidina), hSer (Homoserina), Hyl (5-Hidroxilisina), Hyp (4-Hidroxiprolina), Iva (Isovalina), Nal tales como 1-Nal o 2-Nal (1-Naftilalanina, y 2-Naftilalanina, respectivamente), Nle (Norleucina), Nva (Norvalina), Orn (ornitina, ácido 2,5-diaminohexanoico), Pen (Penicilamina (3-mercaptovalina)), Phg (2-fenilglicina), pSer (Fosfoserina), pThr (Fosfotreonina), pTyr (Fosfotirosina), Sar (Sarcosina (N-metilglicina)), Tle (3-metilvalina), Tml ( $\epsilon$ -N-Trimetillisina), y Tza (3-tiazolilalanina).
- Ejemplos no limitantes adicionales de aminoácidos no codificados son los isómeros D de los aminoácidos codificados tales como D-alanina y D-leucina. Un aminoácido no codificado preferido es Aib.
- En una modalidad particular adicional, el residuo N-terminal del péptido de la invención puede decirse, estrictamente, que no es un aminoácido. Por ejemplo, puede modificarse, intencional o espontáneamente, de manera que ya no sea un aminoácido. Los ejemplos no limitantes de dichas modificaciones son sustituciones de la histidina N-terminal con imidazopropionilo (desaminohistidina), o con 2-hidroxi-desamino-histidina. Otro ejemplo es la transformación de un ácido glutámico N-terminal o glutamina en ácido piroglutámico (5-oxo-prolina, ácido pidólico) que puede producirse espontáneamente.

En lo siguiente, debe entenderse que todos los aminoácidos específicos para los cuales no se indica el isómero óptico significan el isómero L (a menos que se especifique de cualquier otra manera), por ejemplo, cuando se hace referencia al aminoácido específico de glutamina, esto pretende referirse a la L-glutamina, a menos que se indique de cualquier otra manera. Por otro lado, cuando los aminoácidos se describen por fórmulas más generales tales como fórmulas brutas o fórmulas estructurales y cuando no se muestra ninguna estereoquímica, estas fórmulas pretenden englobar todos los estereoisómeros.

De acuerdo con la práctica general en la técnica, el extremo N-terminal de los péptidos GLP-1 de la invención se muestra hacia la izquierda y el extremo C-terminal hacia la derecha.

#### Derivados de GLP-1

El término "derivado", como se usa en la presente descripción en el contexto de un péptido GLP-1 significa un péptido GLP-1 o análogo modificado químicamente, en el que un número bien definido de sustituyentes se han unido covalentemente a uno o más residuos de aminoácidos específicos del péptido. El(los) sustituyente(s) puede(n) denominarse como una(s) cadena(s) lateral(es).

En una modalidad particular, la cadena lateral es capaz de formar agregados no covalentes con la albúmina, lo que promueve de esta manera la circulación del derivado con la corriente sanguínea, y tiene, además, el efecto de prolongar el tiempo de acción del derivado, debido al hecho de que el agregado del derivado de GLP-1 y la albúmina se desintegran sólo lentamente para liberar el ingrediente farmacéutico activo.

La cadena lateral comprende una porción que se denomina en la presente descripción como un prolongador.

El prolongador puede estar en, o cerca, del extremo distal de la cadena lateral, con relación a su punto de unión al péptido.

En aún otra modalidad particular, la cadena lateral comprende una porción entre el prolongador y el punto de unión al péptido, cuya porción puede denominarse como un enlazador. El enlazador puede consistir en uno o más elementos enlazadores.

En modalidades particulares, la cadena lateral y/o el prolongador son lipófilos, y/o se cargan negativamente a pH fisiológico (7,4).

La cadena lateral puede unirse covalentemente a un residuo de lisina del péptido GLP-1 mediante acilación.

En una modalidad preferida, un éster activo de la cadena lateral se une covalentemente a un grupo amino de un residuo de lisina, preferentemente, al grupo épsilon amino de esta, con la formación de un enlace amida (este proceso se denomina como acilación).

A menos que se indique 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 de esta.

Un derivado que comprende dos prolongadores unidos a un primer y un segundo residuos de K de un péptido GLP-1 (por ejemplo, a Lys36 y Lys37), cada uno a través de un enlazador, puede denominarse como un derivado de GLP-1 que se ha acilado dos veces, acilado doblemente, o acilado dual.

Para los propósitos presentes, los términos prolongador y enlazador pueden incluir las formas no reactivas, así como también las reactivas de estas moléculas. Si se quiere decir o no una forma u otra queda claro a partir del contexto en el que se usa el término.

En un aspecto, cada prolongador comprende, o consiste en, un prolongador seleccionado de:

Quím. 1:  $\text{HOOC-C}_6\text{H}_4\text{-O-(CH}_2\text{)}_y\text{-CO-}^*$ , y

Quím. 2:  $\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_x\text{-CO-}^*$ ,

en donde y es un número entero en el intervalo de 8-11, y x es 12.

En una modalidad particular,  $^*(\text{CH}_2)_y\text{-}^*$  se refiere a un alquileo lineal en el que y es un número entero en el intervalo de 9-11.

En otra modalidad particular,  $^*(\text{CH}_2)_x\text{-}^*$  se refiere a un alquileo lineal en el que x es 12. Este prolongador puede denominarse brevemente como diácido C14, es decir, un ácido  $\alpha,\omega$  dicarboxílico graso con 14 átomos de carbono.

El término "ácido graso" se refiere generalmente a ácidos monocarboxílicos alifáticos que tienen de 4 a 28 átomos de carbono, son, preferentemente, no ramificados, y/o incluso enumerados, y pueden ser saturados o insaturados.

La nomenclatura es como es común en la técnica, por ejemplo, en las fórmulas anteriores  $^*-\text{C}_6\text{H}_4-^*$  se refiere a fenileno; y  $^*-\text{CO}-^*$  a carbonilo ( $^*-\text{C}(=\text{O})-^*$ ). Por ejemplo, en cualquier fórmula ( $\text{R}-\text{CO}-^*$ ) en la presente descripción (donde R es como se define por cada fórmula),  $\text{R}-\text{CO}-^*$  se refiere a  $\text{R}-\text{C}(=\text{O})-^*$ . En una modalidad particular, el radical fenileno puede ser para. En otra modalidad particular, el radical fenileno puede ser meta.

Como se explicó anteriormente, los derivados de GLP-1 de la presente invención son acilados doblemente, es decir, dos cadenas laterales se unen covalentemente al péptido GLP-1.

En una modalidad particular, las dos cadenas laterales son similares, preferentemente, idénticas sustancialmente, o con la máxima preferencia, idénticas.

En otra modalidad particular, los dos prolongadores son similares, preferentemente, idénticos sustancialmente, o con la máxima preferencia, idénticos.

En aún otra modalidad particular, los dos enlazadores son similares, preferentemente, idénticos sustancialmente, o con la máxima preferencia, idénticos.

El término "idéntico sustancialmente" incluye diferencias de identidad que se deben 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; aún 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.

En el contexto de los compuestos químicos tales como las cadenas laterales, prolongadores, y enlazadores, la similitud y/o identidad pueden determinarse mediante el uso de cualquier programa de computadora adecuado y/o algoritmo conocido en la técnica.

Por ejemplo, la similitud de dos prolongadores, dos enlazadores, y/o dos cadenas laterales completas puede determinarse adecuadamente mediante el uso de huellas moleculares. La huella 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).

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, los dos prolongadores, los dos enlazadores, y/o las dos cadenas laterales se representan como a) huellas ECFP\_6; b) huellas UNITY; y/o c) huellas MDL.

Preferentemente, se usa el coeficiente de Tanimoto para calcular la similitud de las dos huellas, sin importar que se use a), b), o c).

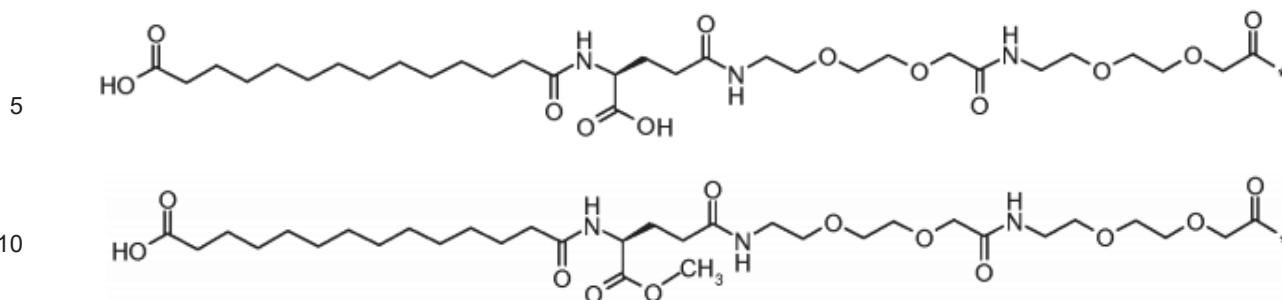
En modalidades particulares, sin importar que se use a), b), o c), los dos prolongadores, los dos enlazadores, y/o las dos cadenas laterales, respectivamente, tienen una similitud de al menos 0,5 (50 %); preferentemente, al menos 0,6 (60 %); con mayor preferencia, al menos 0,7 (70 %), o al menos 0,8 (80 %); aún 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 %).

Las huellas UNITY pueden calcularse mediante el uso del programa SYBYL (disponible de Tripos, 1699 South Hanley Road, St. Louis, MO 63144-2319, EE.UU.). 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, EE.UU.).

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. Chem. 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, EE.UU., y las guías [http://www.tripos.com/tripos\\_resources/fileroot/pdfs/Unity\\_111408.pdf](http://www.tripos.com/tripos_resources/fileroot/pdfs/Unity_111408.pdf) y [http://www.tripos.com/data/SYBYL/SYBYL\\_072505.pdf](http://www.tripos.com/data/SYBYL/SYBYL_072505.pdf).

Un ejemplo de un cálculo de similitud se inserta más abajo, en el cual una cadena lateral completa conocida de un derivado de GLP-1 conocido se comparó con un éster de metilo de este:





15 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.

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

20 En modalidades particulares, el coeficiente de similitud es al menos 0,80, preferentemente, al menos 0,85, con mayor preferencia, al menos 0,90, aún con mayor preferencia, al menos 0,95, o con la máxima preferencia, al menos 0,99.

El enlazador del derivado de la invención comprende al menos uno de los elementos enlazadores siguientes:

- 25 Quím. 3:  $^*-\text{NH}-\text{CH}(\text{COOH})-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-^*$ ,  
 Quím. 4:  $^*-\text{NH}-\text{CH}((\text{CH}_2)_2-\text{COOH})-\text{CO}-^*$ , y/o  
 Quím. 5:  $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-[\text{O}-(\text{CH}_2)_2]_k-\text{O}-[\text{CH}_2]_n-\text{CO}-^*$ ,
- 30

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.

35 El elemento enlazador del Quím. 3 puede denominarse brevemente como gGlu, gamma Glu, o  $\gamma$ -Glu. En gGlu, es el grupo gamma carboxi del aminoácido ácido glutámico el que se usa para la conexión a otro elemento enlazador, o al grupo épsilon amino de la lisina.

40 El elemento enlazador del Quím. 4 puede denominarse brevemente como aGlu, alfa Glu,  $\alpha$ -Glu, o preferentemente, solo Glu. En Glu, es el grupo alfa carboxi del aminoácido ácido glutámico el que se usa para la conexión a otro elemento enlazador, o al grupo épsilon amino de la lisina.

En una modalidad particular, el (cada) elemento enlazador gGlu está en la forma L. En otra modalidad particular, el (cada) elemento enlazador Glu está en la forma L.

45 En el elemento enlazador del Quím. 5, "k" y "n" pueden variar ambos entre 1 y 5. Cuando k=n=1 la estructura de este elemento enlazador corresponde al Quím. 5b:

Quím. 5b:  $^*-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO}-^*$ . El elemento enlazador del Quím. 5b puede denominarse brevemente como Ado (ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico) ya que es un diradical de este.

50 El enlazador del derivado de la invención puede comprender uno o más de estos tres tipos diferentes de elementos enlazadores, y puede comprender además uno o más de cada elemento enlazador individual.

55 A modo de ejemplo no limitante, el enlazador puede consistir en dos elementos Quím. 3, y dos elementos Quím. 5b (2xQuím.3 - 2xQuím.5b), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo  $^*-\text{NH}$  al extremo  $\text{CO}-^*$  del prolongador, y en su extremo  $\text{CO}-^*$  al grupo épsilon amino del primer o segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

60 De más está decir, solo para el buen orden: La frase "en la secuencia indicada" significa, que el extremo  $^*-\text{NH}$  del primer elemento enlazador mencionado (aquí el primero de las dos veces el Quím. 3) se conecta al extremo  $^*-\text{CO}$  del prolongador y el extremo  $^*-\text{CO}$  del último elemento enlazador mencionado (aquí el último de las dos veces el Quím. 5b) se conecta al grupo épsilon amino del residuo K en cuestión del análogo de GLP-1.

65 Los derivados de la invención pueden existir en formas estereoisoméricas diferentes 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.

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 Luminiscencia de Canalización de Oxígeno). Los protocolos generales para ensayos RIA y ELISA adecuados se encuentran en, por ejemplo, el documento WO09/030738 en las pág. 116-118. Un ensayo preferido es el ensayo LOCI. La abreviatura LOCI se refiere al Inmunoensayo de Luminiscencia de Canalización de Oxígeno, que se describe generalmente para la determinación de insulina por Poulsen y Jensen en Journal of Biomolecular Screening 2007, vol. 12, p. 240-247. En resumen, las perlas donantes se recubren con estreptavidina, mientras que las perlasceptoras se conjugan con un anticuerpo monoclonal que reconoce un epítipo medio-/C-terminal del péptido. Otro anticuerpo monoclonal, específico para el N-terminal, se biotinila. Los tres reactantes 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 perlasceptoras y desencadenan la quimioluminiscencia que se mide, por ejemplo, en un lector de placas Envision. La cantidad de luz es proporcional a la concentración del compuesto.

#### Productos Intermedios

La invención se refiere, además, a un producto intermedio en la forma de la novedosa cadena principal de los derivados de la invención, a saber, un péptido GLP-1 que comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y que tiene al menos uno de los siguientes elementos adicionales, cada uno en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1):

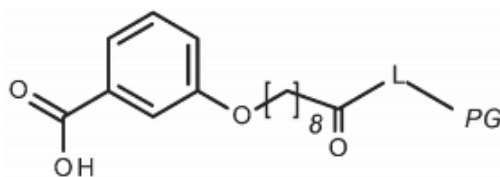
i) no comprende otros residuos de Lys, y/o

ii) comprende al menos uno de (Aib8 o Gly8), Glu22, Arg26, Glu30, y/o (Arg34 o Gln34); o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.

Los ejemplos no limitantes de dichos péptidos GLP-1 de la invención son los péptidos de las SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5 y 6.

La invención se refiere, además, a un producto intermedio en forma de un novedoso derivado de cadena lateral, que cuando se une a la cadena principal peptídica conduce a los derivados de GLP-1 de la invención. Este producto intermedio comprende ácido 3-carboxifenoxi-nonanoico con un grupo de protección en el grupo carboxi del ácido nonanoico, opcionalmente, a través de un enlazador.

Más en particular, el producto intermedio de cadena lateral de la invención comprende el Quím. 6:



en donde L es un enlazador opcional que es un diradical que incorpora un grupo \*-NH y un grupo \*-CO (el grupo \*-NH está en el extremo izquierdo de la molécula, y el grupo \*-CO en el extremo derecho de la molécula), PG es un grupo de protección; y el grupo COOH distal (en posición meta en el anillo aromático) y/o cualquier otro grupo COOH, si está presente, también se protege opcionalmente; o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.

En una modalidad particular, PG es un grupo que vuelve al compuesto no reactivo de forma reversible, y que puede eliminarse selectivamente.

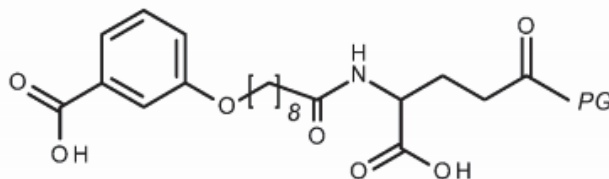
Los ejemplos no limitantes de grupos PG son -OH, o grupos funcionalizados como un éster activado, por ejemplo, sin limitación, OPfp, OPnp y OSuc.

Otros ésteres activados adecuados pueden seleccionarse, por ejemplo, de acuerdo con las enseñanzas de M. Bodanszky, "Principles of Peptide Synthesis", 2da ed., Springer Verlag, 1993.

Modalidades particulares del producto intermedio de cadena lateral de la invención incluyen el Quím. 7 y el Quím. 8:

Quím. 7:

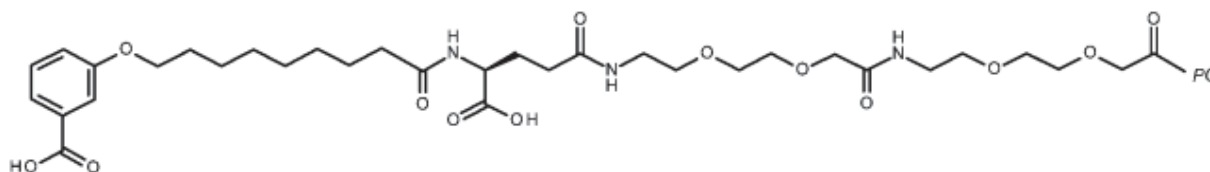
5



10

Quím. 8:

15



20

en donde i) ninguno de los grupos COOH, ii) solo el grupo COOH distal, iii) solo el grupo COOH no distal, o iv) ambos grupos COOH se protege(n); o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.

El producto intermedio del Quím. 6. puede convertirse en el Quím. 7, que a su vez puede convertirse en el Quím. 8 como sigue:

25

El Quím. 6 (sin L, que tiene un grupo protector apropiado tal como OBn en el ácido carboxílico en posición meta, y con un éster activo apropiado CO-PG donde PG se deriva de, por ejemplo, N-hidroxi succinimida) puede convertirse en el Quím. 7 mediante una reacción del éster activo con, por ejemplo, H-Glu-OBn y la conversión del grupo COOH de Glu a un éster activo apropiado tal como un éster de N-hidroxi succinimida. El Quím. 7 puede convertirse a Chem 8 mediante una reacción del éster activo con, por ejemplo, H-Ado-Ado-OH y la conversión del grupo COOH de Ado a un éster activo apropiado tal como un éster de N-hidroxi succinimida.

30

Sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente

35

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

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

40

La sal puede ser una sal básica, una sal ácida, o puede no ser ninguna de estas (es decir una sal neutra). En agua, las sales básicas producen iones hidróxido y las sales ácidas iones hidronio.

45

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.

50

Los ejemplos no limitantes de 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 incluye frecuentemente 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.

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

55

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

60

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.

65

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.

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

- 5 Propiedades funcionales
- Los derivados de la invención son biológicamente activos. Por ejemplo, son muy potentes, y, además o alternativamente, se unen muy bien al receptor de GLP-1.
- 10 Además, o alternativamente, tienen un perfil farmacocinético prolongado. Por ejemplo, tienen una vida media terminal muy larga cuando se administran i.v. a minicerdos y/o perros.
- 15 La combinación particular de buena potencia/unión y vida media larga es muy conveniente.
- Además, o alternativamente, tienen una alta biodisponibilidad oral. Por ejemplo, cuando se administran oralmente pueden exhibir, preferentemente, una concentración plasmática suficientemente alta durante un período de tiempo deseado. Además, o alternativamente, la concentración plasmática puede exhibir una variación baja conveniente (es relativamente constante) entre administraciones sucesivas.
- 20 Además, o alternativamente, conducen a una reducción en la ingestión de alimentos, lo que puede indicar un efecto sobre la obesidad y otros trastornos de la alimentación.
- Además, o alternativamente, el número de cambios de aminoácidos en el péptido GLP-1 es bajo.
- 25 Estas propiedades pueden ser importantes en el desarrollo de la siguiente generación de compuestos de GLP-1 para la administración subcutánea, intravenosa y/o, en particular, oral.
- Además, o alternativamente, es sorprendente que los análogos de GLP-1 con dos cadenas laterales largas unidas a los residuos de aminoácidos vecinos en la cadena principal peptídica sean en absoluto funcionales, y aún más que tienen un rendimiento mejorado.
- 30 De acuerdo con un primer aspecto, los derivados y péptidos GLP-1 de la invención tienen actividad GLP-1. Por ejemplo, los derivados de la invención tienen una potencia sorprendentemente buena, y/o una capacidad sorprendentemente buena de unión al receptor de GLP-1 humano.
- 35 En una primera modalidad particular, la potencia y/o actividad se refiere a la potencia in vitro, es decir, el rendimiento en un ensayo funcional del receptor de GLP-1, más en particular a la capacidad de activar el receptor de GLP-1 humano.
- 40 La potencia in vitro puede determinarse, por ejemplo, en un medio que contiene membranas que expresan el receptor de GLP-1 humano, y/o en un ensayo con células completas que expresan el receptor de GLP-1 humano.
- 45 Por ejemplo, la respuesta del receptor de GLP-1 humano puede medirse en un ensayo de gen reportero, por ejemplo, en una línea celular BHK transfectada establemente que expresa el receptor de GLP-1 humano y que contiene el ADN para el elemento de respuesta al AMPc (CRE) acoplado a un promotor y el gen para la luciferasa de luciérnaga (CRE luciferasa). Cuando se produce AMPc como resultado de la activación del receptor de GLP-1 esto a su vez resulta en que se exprese la luciferasa. La luciferasa puede determinarse mediante la adición de luciferina, que se convierte por la enzima en oxiluciferina y produce bioluminiscencia, que se mide y es una medida de la potencia in vitro. Un ejemplo no limitante de dicho ensayo se describe en el Ejemplo 29.
- 50 El valor de  $EC_{50}$  se usa comúnmente como una medida de la potencia de un fármaco. Se refiere a la concentración del compuesto en cuestión que induce una respuesta intermedia entre la línea base y el máximo, con referencia a la curva de respuesta a la dosis. En términos populares, la  $EC_{50}$  representa la concentración donde se observa el 50 % del efecto máximo.
- 55 La potencia in vitro de los derivados de la invención puede determinarse como se describió anteriormente, y determinarse la  $EC_{50}$  del derivado en cuestión. A menor valor de  $EC_{50}$ , mejor será la potencia. Como un ejemplo no limitante, el derivado de la invención tiene una potencia que corresponde a una  $EC_{50}$  con un 0 % de HSA inferior a 20 pM, preferentemente, inferior a 105 pM, con mayor preferencia, inferior a 5,0 pM, o aún con mayor preferencia, inferior a 1,5 pM, (por ejemplo, determinado como se describe en el Ejemplo 29).
- 60 En algunas modalidades, los derivados de la invención son más potentes in vitro a 0 % de HSA que la liraglutida.
- 65 En algunas modalidades, los derivados de la invención son más potentes in vitro a 0 % de HSA que la semaglutida.

En algunas modalidades, el valor de EC<sub>50</sub> de la potencia in vitro del derivado de la invención a 0 % de HSA es menor del 250 % del de la semaglutida. Un valor de EC<sub>50</sub> que es "menor del 250 % del de la semaglutida" significa un valor de EC<sub>50</sub> que es menos de 2,5 veces el valor de EC<sub>50</sub> de la semaglutida, determinado de la misma manera. Esta definición se aplica por analogía, además, para otras indicaciones de porcentaje, así como también para indicaciones de porcentaje similares en relación con otros parámetros, tales como la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>).

Para estas comparaciones se usa, preferentemente, una prueba de potencia in vitro en la línea de la prueba del Ejemplo 29 (0 % de HSA).

Además, o alternativamente, la capacidad de los péptidos y derivados de la invención de unirse al receptor de GLP-1 (afinidad por el receptor) puede medirse, y, si es relevante, usarse como una medida de la actividad GLP-1. La unión del receptor puede, por ejemplo, medirse en un ensayo de unión competitiva. En este tipo de ensayo un ligando marcado (tal como <sup>125</sup>I-GLP-1) se une al receptor. Cada derivado se añade en una serie de concentraciones al receptor de GLP-1 humano (como por ejemplo, contenido en membranas aisladas) y se monitorea el desplazamiento del ligando marcado. La unión al receptor se informa como el valor de IC<sub>50</sub>, que es la concentración a la que la mitad del ligando marcado se desplaza del receptor. Esto puede determinarse, por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 30.

Generalmente, la unión al receptor de GLP-1 a baja concentración de albúmina deber ser tan buena como sea posible, lo que corresponde a un valor de IC<sub>50</sub> bajo.

Como un ejemplo no limitante, el derivado de la invención se une al receptor de GLP-1 humano in vitro (a una concentración muy baja de albúmina, tal como máx. 0,001 % de HSA) con un valor de IC<sub>50</sub> de 0,30 nM o inferior. Por ejemplo, los derivados de la invención son mejores en la unión al receptor de GLP-1 humano que la liraglutida, donde para estas comparaciones se usa, preferentemente, una prueba de unión al receptor in vitro en la línea de la prueba del Ejemplo 30 (0,001 % de HSA).

En una segunda modalidad particular, la potencia y/o la actividad se refieren a la potencia in vivo. Los péptidos y derivados de la invención son potentes in vivo, lo que puede determinarse como se conoce en la técnica en cualquier modelo animal adecuado, así como también en ensayos clínicos.

El ratón diabético db/db 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 dichos ratones in vivo.

El cerdo LYD es otro ejemplo de un modelo animal adecuado, y la reducción de la ingestión de alimentos puede determinarse en un estudio PD en dichos cerdos in vivo. Por ejemplo, cuando los derivados de la invención se administran en una dosis única s.c. a los cerdos como se describe en el Ejemplo 34, tienen el efecto de reducir la ingestión de alimentos (en comparación con un grupo control tratado con vehículo).

De acuerdo con un segundo aspecto, los derivados de la invención se prolongan. La prolongación puede estimarse in vitro, y/o determinarse a partir de estudios farmacocinéticos in vivo.

La capacidad de los derivados de la invención de unirse al receptor de GLP-1 en presencia de una concentración baja y una alta de albúmina, respectivamente, puede determinarse como se describe en el Ejemplo 30.

El valor de IC<sub>50</sub> a concentración alta 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 la albúmina. Este es un efecto conveniente generalmente, que extiende su permanencia en el plasma. Por lo tanto, el valor de IC<sub>50</sub> a albúmina alta será mayor generalmente que el valor de IC<sub>50</sub> a albúmina baja, lo que corresponde a una unión reducida al receptor de GLP-1, provocada por la unión a la albúmina que compite con la unión al receptor de GLP-1.

Además, o alternativamente, la unión de los derivados a la albúmina puede medirse mediante el uso del ensayo de potencia in vitro del Ejemplo 29, que puede realizarse en ausencia de albúmina sérica, así como también en presencia de albúmina sérica. Un aumento de la potencia in vitro, valor de EC<sub>50</sub>, en presencia de albúmina sérica indica una afinidad a la albúmina sérica y representa un método para predecir un perfil farmacocinético prolongado de la sustancia de prueba en modelos animales.

La prolongación puede determinarse, por ejemplo, como vida media terminal (t<sub>1/2</sub>) después de la administración i.v. a, por ejemplo, minicerdos o perros.

Como un ejemplo no limitante, el derivado de la invención tiene una vida media terminal después de la administración i.v. a minicerdos de al menos 60 horas, con mayor preferencia, al menos 65 horas, o con la máxima preferencia, al menos 70 horas (determinada, por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 31).

Como otro ejemplo no limitante, el derivado de la invención tiene una vida media terminal después de la administración i.v. a perros Beagle de al menos 60 horas, con mayor preferencia, al menos 65 horas, o con la máxima preferencia, al menos 70 horas (determinada, por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 32).

Por ejemplo, los derivados de la invención tienen vidas medias más largas después de la administración i.v. a minicerdos y/o perros Beagle que la liraglutida, y/o que la semaglutida, donde para estas comparaciones se usan, preferentemente, estudios de PK en la línea de los Ejemplos 31 y 32.

5 El aumento de la vida media terminal y/o la disminución del aclaramiento significa que el compuesto en cuestión se elimina de manera más lenta del cuerpo. Para los derivados de la invención esto implica una duración extendida del efecto farmacológico.

10 Las propiedades farmacocinéticas de los derivados de la invención pueden determinarse de manera adecuada en estudios farmacocinéticos (PK) in vivo. Tales estudios se realizan para evaluar cómo los compuestos farmacéuticos se absorben, distribuyen, y eliminan en el cuerpo, y cómo estos procesos afectan la concentración del compuesto en el cuerpo, en el transcurso del tiempo.

15 En el descubrimiento y la fase preclínica del desarrollo farmacéutico de fármacos, los modelos animales tales como el ratón, rata, mono, perro, o cerdo, pueden usarse para realizar esta caracterización. Cualquiera de estos modelos puede usarse para probar las propiedades farmacocinéticas de los derivados de la invención.

20 En tales estudios, los animales se administran típicamente con una dosis única del fármaco, ya sea por vía intravenosa, subcutánea (s.c.), u oralmente (p.o.) en una formulación relevante. Se extraen las muestras de sangre en puntos temporales predefinidos después de la administración de la dosis, y las muestras se analizan para determinar la concentración del fármaco con un ensayo cuantitativo relevante. En base a estas mediciones, se representan los perfiles de concentración plasmática frente al tiempo para el compuesto de estudio y se realiza un denominado análisis farmacocinético no compartimental de los datos.

25 Para la mayoría de los compuestos, la parte terminal de los perfiles de concentración plasmática será lineal cuando se dibuje en una gráfica semilogarítmica, lo que refleja que después de la absorción y distribución inicial, el fármaco se elimina del cuerpo a una tasa fraccional constante. La tasa ( $\lambda_z$  o  $\lambda_z$ ) es igual a menos la pendiente de la parte terminal de la gráfica. A partir de esta tasa, puede calcularse, además, una vida media terminal, como  $t_{1/2} = \ln(2)/\lambda_z$  (ver, por ejemplo, Johan Gabrielsson y Daniel Weiner: *Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications*, 3ra Ed., Swedish Pharmaceutical Press, Estocolmo (2000)).

30 El aclaramiento puede determinarse después de la administración i.v. y se define como la dosis (D) dividida por el área bajo la curva (AUC) en el perfil de concentración en plasma frente al tiempo (Rowland, M y Tozer TN: *Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications*, 3<sup>ra</sup> edición, 1995 Williams Wilkins).

35 El cálculo de la vida media terminal y/o el aclaramiento es relevante para la evaluación de regímenes de administración de la dosis y un parámetro importante en el desarrollo de fármacos, en la evaluación de nuevos compuestos farmacológicos.

40 De acuerdo con un tercer aspecto, los derivados de la invención se prolongan y al mismo tiempo tienen una potencia muy buena. La combinación particular de buena potencia/unión y vida media larga puede ser muy conveniente. Por ejemplo, cuando se administran por vía oral tales compuestos pueden exhibir una concentración en plasma suficientemente alta por un periodo de tiempo deseado, y además, o alternativamente, la concentración en plasma puede exhibir una variación baja conveniente (es relativamente constante) entre las administraciones sucesivas.

45 De acuerdo con un cuarto aspecto, los derivados de la invención tienen una alta biodisponibilidad oral.

50 La biodisponibilidad oral (o la biodisponibilidad p.o.) puede determinarse, por ejemplo, en perros Beagle como se describe en el Ejemplo 32. Los comprimidos orales que contienen el derivado de GLP-1 como ingrediente farmacéutico activo (API) pueden prepararse como se describe en el Ejemplo 33.

55 A modo de un ejemplo no limitante, el derivado de la invención cuando se administra p.o. a perros Beagle en una composición de comprimido como se describe en el Ejemplo 33, tiene una biodisponibilidad oral que es mayor que la de la semaglutida cuando se administra p.o. a perros Beagle en una formulación similar de comprimido, donde similar significa idéntico excepto por el ingrediente farmacéutico activo. En una modalidad, la biodisponibilidad oral del derivado de la invención corresponde a un valor de F de al menos 1,5 %.

60 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 del 100 %. Sin embargo, cuando se administra a través de otras vías (tales como por vía oral), su biodisponibilidad disminuye (debido a la degradación y/o absorción incompleta y al metabolismo de primer paso). El conocimiento sobre la biodisponibilidad es importante cuando se calculan las dosificaciones para vías de administración no intravenosas.

65 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 del mismo API después de la administración intravenosa. Es la fracción del 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 al dividirla por la dosis correspondiente administrada.

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

10 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 insulínotropicos, por ejemplo, mediante el uso de una cualquiera o más de las formulaciones descritas en el documento WO 2008/145728, o preferentemente, como se describe en el Ejemplo 33 en la presente descripción.

15 De acuerdo con un quinto aspecto, los 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 natural (SEQ ID NO: 1). El cambio de las propiedades oligoméricas de los derivados puede ser al menos parcialmente responsable de las propiedades biofísicas mejoradas.

20 En la sección titulada "MODALIDADES PARTICULARES", antes de la sección experimental, se describen modalidades particulares adicionales de los derivados de la invención.

#### Procesos de producción

25 La producción de péptidos similares a GLP-1(7-37) y análogos de este se conoce bien en la técnica.

30 Los péptidos GLP-1 de los derivados de la invención, a saber, 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 la química de 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.

35 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.

40 Aquellos derivados de la invención que incluyen aminoácidos no naturales y/o miméticos mono o dipeptídicos N-terminales unidos covalentemente pueden, por ejemplo, producirse como se describe en la parte experimental. O ver, por ejemplo, Hodgson y otros: "The synthesis of peptides and proteins containing non-natural amino acids", Chemical Society Reviews, vol. 33, núm. 7 (2004), p. 422-430; y el documento WO 2009/083549 A1 (7724) titulado "Semi-recombinant preparation of GLP-1 analogues". Los ejemplos específicos de métodos para preparar varios derivados de la invención se incluyen en la parte experimental.

#### Composiciones farmacéuticas

50 Las composiciones farmacéuticas que comprenden un derivado de la invención o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este, y un excipiente aceptable farmacéuticamente pueden prepararse como se conoce en la técnica.

55 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 el comprimido, y/o para mejorar la administración, y/o la absorción de la sustancia activa.

60 En la técnica se conoce la formulación de ingredientes farmacéuticamente activos con diversos excipientes, ver, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (por ejemplo 19<sup>na</sup> edición (1995) y cualquiera de las ediciones posteriores).

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

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 comprende típicamente al menos 50 % p/p de agua, o al menos 60 %, 70 %, 80 %, o incluso al menos 90 % p/p de agua.

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

10 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.

15 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 y mezclas de estos.

20 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 mezclas de estos. El conservante puede presentarse en una concentración de 0,1 mg/ml a 20 mg/ml.

25 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 mezclas de estos. Puede usarse cualquier azúcar tal como mono-, di-, o polisacáridos, o glucanos solubles en agua, lo que incluye, 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 azúcar alcohólico 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 mezclas de estos.

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 tipo aminoácido suficiente para disminuir la formación de agregados por el péptido durante el almacenamiento de la composición. El término "base de tipo aminoácido" 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 presentarse ya sea en su forma de base libre o en su forma de sal. Cualquier estereoisómero (es decir, L, D, o una mezcla de estos) de la base de tipo aminoácido puede presentarse.

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-/hidroxicelulosa o 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).

65



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.

5 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 (lipófila). El tensioactivo puede seleccionarse, por ejemplo, del grupo que consiste en tensioactivos aniónicos, tensioactivos catiónicos, tensioactivos no iónicos y/o tensioactivos zwitteriónicos.

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

15 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).

20 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.

25 En algunas modalidades, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica, por ejemplo, en forma de un comprimido, que comprende un derivado de GLP-1 de la presente invención y un potenciador de la absorción seleccionado de SNAC y caprato de sodio. SNAC es la sal de sodio del ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y puede prepararse mediante el uso del método descrito en, por ejemplo, el documento WO96/030036.

30 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.

35 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 la piel o sitios de mucosa; en sitios en donde no se produce absorción tales como en una arteria, en una vena, o en el corazón; y en sitios que implican la absorción, tales como en la piel, bajo la piel, en un músculo o en el abdomen.

40 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 sus combinaciones; parenteral, epidérmico; dérmico; transdérmico; conjuntival; uretral; vaginal; rectal; y/u ocular. En una modalidad particular, la ruta de administración es por vía oral.

45 Una composición puede administrarse en varias formas de dosificación, por ejemplo como una solución; una suspensión; una emulsión; una microemulsión; emulsiones múltiples; una espuma; una pomada; una pasta; una escayola; un ungüento; un comprimido; un comprimido recubierto; una goma masticable; un enjuague; una cápsula tal como cápsulas de gelatina duras o blandas; un supositorio; una cápsula rectal; gotas; un gel; un pulverizador; 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, tal como gelificación in situ, endurecimiento, precipitación y 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.

60 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.

65 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. 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 temporales después de la exposición a diferentes condiciones ambientales, por ejemplo, mediante SEC-HPLC, LCMS y/o RP-HPLC.

El tratamiento con un derivado de acuerdo con la presente invención puede combinarse, además, con una o más sustancias farmacológicamente activas 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, inhibidores de la 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 de la HMG CoA (estatinas), polipéptidos inhibidores gástricos (análogos de GIP), compuestos que reducen la ingestión de alimentos, agonistas RXR y agentes que actúan sobre el canal de potasio dependiente de ATP de las  $\beta$ -células; colestiramina, colestipol, clofibrato, gemfibrozilo, lovastatina, pravastatina, simvastatina, probucol, dextrotiroxina, neteglínida, repaglinida;  $\beta$ -bloqueadores tales como alprenolol, atenolol, timolol, pindolol, propranolol y metoprolol, inhibidores de la 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  $\alpha$ -bloqueadores 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, agonistas  $\beta$ 3, oxintomodulina y análogos, agonistas de MSH (hormona estimulante de melanocitos), antagonistas de MCH (hormona concentradora de melanocitos), agonistas de CCK (colecistocinina), 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 del 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, dorexina), inhibidores de lipasa/amilasa, moduladores de RXR (receptor X retinoide), agonistas TR $\beta$ ; antagonistas de histamina H3, agonistas o antagonistas del polipéptido inhibidor gástrico, 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 su 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 hiperglucemia, diabetes tipo 2, tolerancia a la glucosa alterada, diabetes tipo 1, diabetes no dependiente de insulina, MODY (diabetes de aparición 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 en la diabetes tipo 2, retardar la progresión de la tolerancia a la glucosa alterada (IGT, por sus siglas en inglés) a diabetes tipo 2 que requiere insulina y/o retardar la progresión de la diabetes tipo 2 que no requiere insulina a diabetes tipo 2 que requiere insulina;

(iii) mejorar la función de las células  $\beta$ , tal como disminuir la apoptosis de las células  $\beta$ , aumentar la función de las células  $\beta$  y/o la masa de células  $\beta$ , y/o restablecer la sensibilidad a la glucosa de las células  $\beta$ ;

(iv) prevención y/o tratamiento de trastornos cognitivos;

(v) prevención y/o tratamiento de trastornos de la alimentación, tales como obesidad, por ejemplo, mediante disminución de la ingestión de alimentos, reducción del peso corporal, supresión del apetito, inducción de saciedad; tratamiento o prevención del trastorno por sobreingestión compulsiva, la bulimia nerviosa y/u obesidad inducida por la administración de un antipsicótico o un esteroide; reducción de la motilidad gástrica; y/o retardar el vaciamiento gástrico (para modalidades más detalladas, ver Re (v), más abajo);

(vi) prevención y/o tratamiento de complicaciones diabéticas, tales como neuropatía, lo que incluye la neuropatía periférica; nefropatía; o retinopatía;

(vii) mejorar los parámetros lipídicos, tales como la prevención y/o el tratamiento de la dislipidemia, la disminución de los lípidos séricos totales; disminución de HDL; disminución de LDL densa y pequeña; disminución de VLDL; disminución de triglicéridos; reducir colesterol; aumentar HDL; reducir 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;

(viii) prevención y/o tratamiento de enfermedades cardiovasculares, tales como el síndrome X; aterosclerosis; infarto de 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; disritmia cardíaca; síncope, aterosclerosis; insuficiencia cardíaca crónica leve; angina de pecho; reoclusión de derivación cardíaca; claudicación intermitente (aterosclerosis ocluyente); disfunción diastólica; y/o disfunción sistólica;

(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;

(x) prevención y/o tratamiento de enfermedades críticas, tales como el tratamiento de un paciente crítico, un paciente de polinefropatía por enfermedad crítica (CIPNP, por sus siglas en inglés), y/o un paciente con CIPNP potencial; prevención de enfermedades críticas o desarrollo de CIPNP; prevención, tratamiento y/o curación del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS, por sus siglas en inglés) en un paciente; y/o para la prevención o reducción de la posibilidad de que un paciente sufra de bacteriemia, septicemia y/o choque séptico durante la hospitalización; y/o

(xi) prevención y/o tratamiento del síndrome de ovario poliquístico (PCOS).

Re (v):

En algunas modalidades, la invención se refiere a un método para el manejo del peso. En algunas modalidades, la invención se refiere a un método para la reducción del apetito. En algunas modalidades, la invención se refiere a un método para la reducción de la ingestión de alimentos.

Generalmente, todos los sujetos que padecen de obesidad se considera, además, que sufren de sobrepeso.

El índice de masa corporal (IMC) es una medida de la grasa corporal basada en la altura y el peso. La fórmula para el cálculo es  $IMC = \text{peso en kilogramos} / \text{altura en metros}^2$ .

Obesidad: En algunas modalidades, el sujeto que padece de obesidad es humano, tal como un humano adulto o un humano pediátrico (lo que incluye lactantes, niños y adolescentes). Un sujeto humano que padece de obesidad puede tener un IMC de  $\geq 30$ ; este sujeto también puede denominarse obeso. En algunas modalidades, el sujeto humano que padece de obesidad puede tener un IMC de  $\geq 35$  o un IMC en el intervalo de  $\geq 30$  a  $< 40$ . En algunas modalidades, la obesidad es obesidad grave u obesidad mórbida, en donde el sujeto humano puede tener un IMC de  $\geq 40$ .

Sobrepeso: En algunas modalidades, la invención se refiere al uso de los derivados de la invención para el tratamiento o prevención del sobrepeso, opcionalmente en presencia de al menos una comorbilidad relacionada con el peso.

En algunas modalidades, el sujeto que padece de sobrepeso es humano, tal como un humano adulto o un humano pediátrico (lo que incluye lactantes, niños y adolescentes). En algunas modalidades, un sujeto humano que padece de sobrepeso puede tener un IMC de  $\geq 25$ , tal como un IMC de  $\geq 27$ . En algunas modalidades, un sujeto humano que padece de sobrepeso tiene un IMC en el intervalo de 25 a  $< 30$  o en el intervalo de 27 a  $< 30$ . En algunas modalidades, la comorbilidad relacionada con el peso se selecciona del grupo que consiste en hipertensión, diabetes (tal como diabetes tipo 2), dislipidemia, colesterol alto y apnea obstructiva del sueño.

Reducción del peso corporal: En algunas modalidades, la invención se refiere al uso de los derivados de la invención para la reducción del peso corporal. Un humano sujeto a reducción del peso corporal de acuerdo con la presente invención puede tener un IMC de  $\geq 25$ , tal como un IMC de  $\geq 27$  o un IMC de  $\geq 30$ . En algunas modalidades, el humano que se somete a reducción del peso corporal de acuerdo con la presente invención puede tener un IMC de  $\geq 35$  o un IMC de  $\geq 40$ . El término "reducción del peso corporal" puede incluir tratamiento o prevención de la obesidad y/o sobrepeso.

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

En otra modalidad particular, la indicación es (i). En una modalidad particular adicional, la indicación es (v). En aún otra modalidad particular, la indicación es (iix).

Se prefieren particularmente las siguientes indicaciones: Diabetes tipo 2, diabetes tipo 1, y/o trastornos de la alimentación (tales como, en particular, obesidad, sobrepeso, y reducción del peso corporal).

Modalidades particulares

Las siguientes son modalidades particulares de la invención:

1. Un derivado de un péptido GLP-1,

cuyo péptido comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y un máximo de siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1);

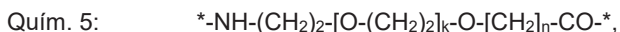
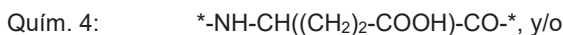
cuyo derivado comprende dos prolongadores unidos a dichos primer y segundo residuos de Lys, respectivamente, cada uno a través de un enlazador; en donde

el prolongador se selecciona de:



en donde y es un número entero en el intervalo de 8-11, y x es 12; y

el enlazador comprende al menos uno de:



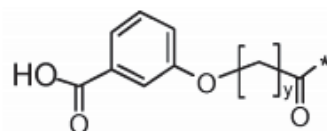
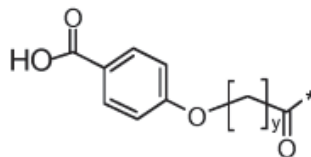
en donde k es un número entero en el intervalo de 1-5 y n es un número entero en el intervalo de 1-5;

o una sal, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.

2. El derivado de la modalidad 1, en donde el prolongador es el Quím. 1.

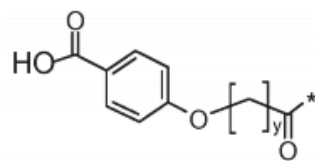
3. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-2, en donde el prolongador se selecciona de:

Quím. 1a:



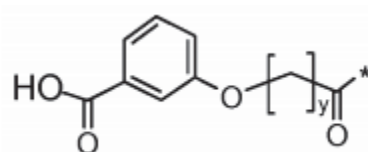
4. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-3, en donde el prolongador es el

Quím. 1a:



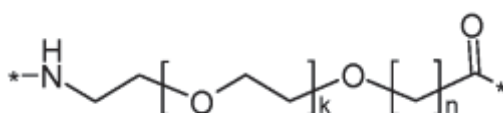
5. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-3, en donde el prolongador es el

Quím. 1b:



6. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-5, en donde y es 8, 9, 10 u 11.  
 7. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-6, en donde y es 8.  
 8. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-6, en donde y es 9.  
 9. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-6, en donde y es 10.  
 10. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-6, en donde y es 11.  
 11. El derivado de la modalidad 1, en donde el prolongador es el Quím. 2.  
 12. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-11, en donde el enlazador comprende el Quím. 5.  
 13. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-12, en donde el enlazador comprende el

Quím. 5a:



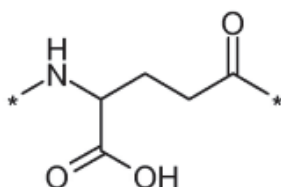
14. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-13, en donde k=n=1.  
 15. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-14, en donde el enlazador comprende el



16. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-15, en donde el Quím. 5 se incluye una, dos, tres, o cuatro veces.  
 17. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, en donde el Quím. 5 se incluye una vez.  
 18. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, en donde el Quím. 5 se incluye dos veces.  
 19. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, en donde el Quím. 5 se incluye tres veces.  
 20. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, en donde el Quím. 5 se incluye cuatro veces.  
 21. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, en donde el Quím. 5a se incluye una, dos, tres, o cuatro veces.  
 22. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, o 21, en donde el Quím. 5a se incluye una vez.  
 23. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, o 21, en donde el Quím. 5a se incluye dos veces.

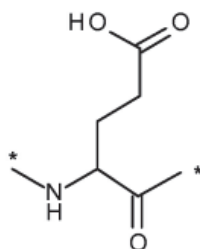
24. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, o 21, en donde el Quím. 5a se incluye tres veces.
25. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16 o 21, en donde el Quím. 5a se incluye cuatro veces.
26. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, en donde el Quím. 5b se incluye una, dos, tres, o cuatro veces.
27. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, o 26, en donde el Quím. 5b se incluye una vez.
28. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, o 26, en donde el Quím. 5b se incluye dos veces.
29. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, o 26, en donde el Quím. 5b se incluye tres veces.
30. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-16, o 26, en donde el Quím. 5b se incluye cuatro veces.
31. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-30, en donde el enlazador comprende el Quím. 3.
32. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-31, en donde el enlazador comprende el

Quím. 3a:



33. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-32, en donde el Quím. 3 no se incluye, se incluye una vez, se incluye dos veces, o se incluye tres veces.
34. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-33, en donde el Quím. 3 no se incluye.
35. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-33, en donde el Quím. 3 se incluye una vez.
36. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-33, en donde el Quím. 3 se incluye dos veces.
37. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-33, en donde el Quím. 3 se incluye tres veces.
38. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-37, en donde el Quím. 3a no se incluye, se incluye una vez, se incluye dos veces, o se incluye tres veces.
39. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-33, o 38, en donde el Quím. 3a no se incluye.
40. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-33, o 38, en donde el Quím. 3a se incluye una vez.
41. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-33, o 38, en donde el Quím. 3a se incluye dos veces.
42. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-33, o 38, en donde el Quím. 3a se incluye tres veces.
43. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-34, o 38-39, en donde el enlazador comprende el Quím. 4.
44. El derivado de la modalidad 43, en donde el enlazador comprende el

Quím. 4a:



## ES 2 741 507 T3

45. El derivado de cualquiera de las modalidades 43-44, en donde el Quím. 4 no se incluye, o se incluye dos veces.
46. El derivado de cualquiera de las modalidades 43-45, en donde el Quím. 4 no se incluye.
- 5 47. El derivado de cualquiera de las modalidades 43-45, en donde el Quím. 4 se incluye dos veces.
48. El derivado de la modalidad 44, en donde el Quím. 4a no se incluye, o se incluye dos veces.
49. El derivado de cualquiera de las modalidades 44 o 48, en donde el Quím. 4a no se incluye.
- 10 50. El derivado de cualquiera de las modalidades 44 o 48, en donde el Quím. 4a se incluye dos veces.
51. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en dos elementos Quím. 3, y dos elementos Quím. 5b (2xQuím.3 - 2xQuím.5b), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
- 15 52. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en dos elementos Quím. 3a, y dos elementos Quím. 5a donde  $n=k=1$  (2xQuím.3a - 2xQuím.5a), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
- 20 53. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en un elemento Quím. 3, y dos elementos Quím. 5b (Quím.3 - 2xQuím.5b), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
- 25 54. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en un elemento Quím. 3a, y dos elementos Quím. 5a donde  $n=k=1$  (Quím.3a - 2xQuím.5a), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
- 30 55. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en un elemento Quím. 3, y tres elementos Quím. 5b (Quím.3 - 3xQuím.5b), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
- 35 56. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en un elemento Quím. 3a, y tres elementos Quím. 5a donde  $n=k=1$  (Quím.3a - 3xQuím.5a), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
- 40 57. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en dos elementos Quím. 4, y un elemento Quím. 5b (2xQuím.4 - Quím.5b), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
- 45 58. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en dos elementos Quím. 4a, y un elemento Quím. 5a donde  $n=k=1$  (2xQuím.4a - Quím.5a), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
- 50 59. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en tres elementos Quím. 3, y dos elementos Quím. 5b (3xQuím.3 - 2xQuím.5b), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
- 55 60. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en tres elementos Quím. 3a, y dos elementos Quím. 5a donde  $n=k=1$  (3xQuím.3a - 2xQuím.5a), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
- 60 61. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en un elemento Quím. 3, y cuatro elementos Quím. 5b (Quím.3 - 4xQuím.5b), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
- 65

## ES 2 741 507 T3

- 5 62. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-50, en donde el enlazador consiste en un elemento Quím. 3a, y cuatro elementos Quím. 5a donde  $n=k=1$  (Quím.3a – 4xQuím.5a), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.
63. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-62, en donde el enlazador y el prolongador se interconectan a través de un enlace amida.
- 10 64. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-63, en donde el enlazador y el péptido GLP-1 se interconectan a través de un enlace amida.
65. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-64, en donde el extremo CO-\* del enlazador forma un enlace amida con el grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys.
- 15 66. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-65, en donde los dos prolongadores son sustancialmente idénticos, preferentemente, idénticos.
- 20 67. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-66, en donde los dos prolongadores 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; aún con mayor preferencia, al menos 0,9; o con la máxima preferencia, al menos 0,99, tal como una similitud de 1,0.
68. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-677, en donde los dos enlazadores son sustancialmente idénticos, preferentemente, idénticos.
- 25 69. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-688, en donde los dos enlazadores 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; aún con mayor preferencia, al menos 0,9; o con la máxima preferencia, al menos 0,99, tal como una similitud de 1,0.
- 30 70. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-69, en donde las dos cadenas laterales que consisten en el prolongador y el enlazador son sustancialmente idénticas, preferentemente, idénticas.
71. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-70, en donde las dos cadenas laterales que consisten en un prolongador y un enlazador 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; aún con mayor preferencia, al menos 0,9; o con la máxima preferencia, al menos 0,99, tal como una similitud de 1,0.
- 35 72. El derivado de cualquiera de las modalidades 66-711, en donde las dos estructuras químicas a comparar se representan como huellas, tales como a) huellas de ECFP\_6; b) huellas de UNITY; y/o c) huellas de MDL; y en donde para cada uno de a), b) y c) se usa, preferentemente, el coeficiente de Tanimoto para calcular la similitud de las dos huellas.
- 40 73. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-72, en donde el primer residuo de Lys se denomina Lys36.
74. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-73, en donde el segundo residuo de Lys se denomina Lys37.
- 45 75. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-74, en donde la posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica por escritura e inspección visual.
- 50 76. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-66, en donde la posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica por escritura e inspección visual.
77. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-76, en donde el número total de cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifican por escritura e inspección visual.
- 55 78. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-77, en donde la posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
- 60 79. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-78, en donde la posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
- 65 80. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-79, en donde el número de cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.



## ES 2 741 507 T3

81. El derivado de cualquiera de las modalidades 78-80, en donde el programa de alineación es una alineación de Needleman-Wunsch.
- 5 82. El derivado de cualquiera de las modalidades 78-81, en donde se usan la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.
83. El derivado de cualquiera de las modalidades 78-82, en donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.
84. El derivado de cualquiera de las modalidades 78-83, en donde la penalización por el primer residuo en un hueco es -10 (menos diez).
- 10 85. El derivado de cualquiera de las modalidades 78-84, en donde las penalizaciones por residuos adicionales en un hueco es -0,5 (menos cero coma cinco).
- 15 86. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-85, en donde el péptido GLP-1 es un análogo de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) que comprende al menos las sustituciones R36K y G37K.
87. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-86, en donde el péptido GLP-1 no comprende residuos de Lys distintos de Lys36 y Lys37.
- 20 88. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-87, en donde el péptido GLP-1 tiene un máximo de cinco cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
89. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-87, en donde el péptido GLP-1 tiene un máximo de seis cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
- 25 90. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-87, u 89, en donde el péptido GLP-1 tiene un mínimo de cinco cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
- 30 91. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-87, en donde el péptido GLP-1 tiene un mínimo de seis cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
92. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-87, en donde el péptido GLP-1 tiene un mínimo de siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
- 35 93. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-87, en donde el péptido GLP-1 tiene cinco, seis o siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
94. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-87, en donde el péptido GLP-1 tiene cinco cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
- 40 95. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-87, en donde el péptido GLP-1 tiene seis cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
- 45 96. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-87, en donde el péptido GLP-1 tiene siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
97. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-96, en donde la cantidad máxima de cambios de aminoácidos, la cantidad mínima de cambios de aminoácidos, y/o la cantidad de cambios de aminoácidos incluye los dos cambios de aminoácidos en Lys36 y Lys37.
- 50 98. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-97, en donde los cambios de aminoácidos son en una o más posiciones que corresponden a una o más de las posiciones 8, 22, 26, 30, 34, 36, y 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
- 55 99. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-98, en donde el péptido comprende Lys36 y Lys37, y opcionalmente, uno o más de los siguientes cambios de aminoácidos adicionales: Gly8, Aib8, Glu22, Arg26, Glu30, y/o (Arg34 o Gln34).
- 60 100. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-99, en donde el péptido comprende Aib8.
101. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-99, en donde el péptido comprende Gly8.
102. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-99, en donde el péptido no comprende Gly8.
- 65 103. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-102, en donde el péptido comprende Glu22.

104. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-103, en donde el péptido comprende Arg26.
105. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-104, en donde el péptido comprende Glu30.
- 5 106. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-105, en donde el péptido comprende Arg34.
107. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-105, en donde el péptido comprende Gln34.
108. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-107, en donde, para la determinación de los cambios en el péptido, la secuencia de aminoácidos del péptido se compara con la secuencia de aminoácidos del GLP-1(7-37) natural (SEQ ID NO: 1).
- 10 109. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-108, en donde, para la determinación de una posición en un péptido que corresponde a una posición específica en el GLP-1(7-37) natural (SEQ ID NO: 1), la secuencia de aminoácidos del péptido se compara con la secuencia de aminoácidos del GLP-1(7-37) natural (SEQ ID NO: 1).
- 15 110. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-109, en donde la comparación de la secuencia de aminoácidos del péptido con la de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se hace por escritura e inspección visual.
- 20 111. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-110, en donde la comparación de la secuencia de aminoácidos del péptido con la de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se hace mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
112. El derivado de la modalidad 111, en donde el programa de alineación es una alineación de Needleman-Wunsch.
- 25 113. El derivado de cualquiera de las modalidades 111-112, en donde se usan la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.
114. El derivado de cualquiera de las modalidades 111-113, en donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.
- 30 115. El derivado de cualquiera de las modalidades 111-114, en donde la penalización por el primer residuo en un hueco es -10 (menos diez).
116. El derivado de cualquiera de las modalidades 111-115, en donde las penalizaciones por residuos adicionales en un hueco es -0,5 (menos cero coma cinco).
- 35 117. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-116, en donde la posición que corresponde a cualquiera de las posiciones indicadas de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica mediante escritura e inspección visual.
- 40 118. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-117, en donde la posición que corresponde a cualquiera de las posiciones indicadas de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica como se describió para la posición 36 y la posición 37 en cualquiera de las modalidades 78-85.
119. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118, en donde el péptido GLP-1 a) comprende un compuesto de GLP-1 de Fórmula I; y/o b) es un compuesto de GLP-1 de Fórmula I:
- 45

Fórmula I: Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Lys<sub>36</sub>-Lys<sub>37</sub>, en donde

- 50 Xaa<sub>7</sub> es L-histidina, ácido (S)-2-hidroxi-3-(1H-imidazol-4-il)-propiónico, D-histidina, desamino-histidina (desH), N<sup>α</sup>-acetil-histidina, N<sup>α</sup>-formil-histidina;
- Xaa<sub>8</sub> es Ala, Gly, Ser, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico;
- Xaa<sub>16</sub> es Val o Leu;
- Xaa<sub>18</sub> es Ser o Arg;
- 55 Xaa<sub>19</sub> es Tyr o Gln;
- Xaa<sub>20</sub> es Leu o Met;
- Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu;
- Xaa<sub>23</sub> es Gln, Glu o Arg;
- Xaa<sub>25</sub> es Ala o Val;
- 60 Xaa<sub>26</sub> es Arg o Lys;
- Xaa<sub>27</sub> es Glu o Leu;
- Xaa<sub>30</sub> es Ala, o Glu;
- Xaa<sub>31</sub> es Trp o His;
- Xaa<sub>33</sub> es Val o Arg;
- 65 Xaa<sub>34</sub> es Arg, Lys, His, Asn o Gln; y
- Xaa<sub>35</sub> es Gly o Aib.

## ES 2 741 507 T3

120. El derivado de la modalidad 119, en donde Xaa<sub>7</sub> es His; Xaa<sub>8</sub> es Gly o Aib; Xaa<sub>16</sub> es Val; Xaa<sub>18</sub> es Ser; Xaa<sub>19</sub> es Tyr; Xaa<sub>20</sub> es Leu; Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu; Xaa<sub>23</sub> es Gln; Xaa<sub>25</sub> es Ala; Xaa<sub>26</sub> es Arg; Xaa<sub>27</sub> es Glu; Xaa<sub>30</sub> es Ala o Glu; Xaa<sub>31</sub> es Trp; Xaa<sub>33</sub> es Val; Xaa<sub>34</sub> es Arg o Gln; y Xaa<sub>35</sub> es Gly.

5 121. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-118, en donde el péptido GLP-1 a) comprende un compuesto de GLP-1 de Fórmula II; y/o b) es un compuesto de GLP-1 de Fórmula II:

Fórmula II: Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Lys<sub>36</sub>-Lys<sub>37</sub>, en donde

10 Xaa<sub>7</sub> es L-histidina, ácido (S)-2-hidroxi-3-(1H-imidazol-4-il)-propiónico, D-histidina, desamino-histidina (desH), N<sup>α</sup>-acetil-histidina, N<sup>α</sup>-formil-histidina;

Xaa<sub>8</sub> es Ala, Ser, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico;

Xaa<sub>16</sub> es Val o Leu;

15 Xaa<sub>18</sub> es Ser o Arg;

Xaa<sub>19</sub> es Tyr o Gln;

Xaa<sub>20</sub> es Leu o Met;

Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu;

Xaa<sub>23</sub> es Gln, Glu o Arg;

20 Xaa<sub>25</sub> es Ala o Val;

Xaa<sub>26</sub> es Arg o Lys;

Xaa<sub>27</sub> es Glu o Leu;

Xaa<sub>30</sub> es Ala, o Glu;

Xaa<sub>31</sub> es Trp o His;

25 Xaa<sub>33</sub> es Val o Arg;

Xaa<sub>34</sub> es Arg, Lys, His, Asn o Gln; y

Xaa<sub>35</sub> es Gly o Aib.

30 122. El derivado de la modalidad 121, en donde Xaa<sub>7</sub> es His; Xaa<sub>8</sub> es Aib; Xaa<sub>16</sub> es Val; Xaa<sub>18</sub> es Ser; Xaa<sub>19</sub> es Tyr; Xaa<sub>20</sub> es Leu; Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu; Xaa<sub>23</sub> es Gln; Xaa<sub>25</sub> es Ala; Xaa<sub>26</sub> es Arg; Xaa<sub>27</sub> es Glu; Xaa<sub>30</sub> es Ala o Glu; Xaa<sub>31</sub> es Trp; Xaa<sub>33</sub> es Val; Xaa<sub>34</sub> es Arg o Gln y Xaa<sub>35</sub> es Gly.

35 123. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-122, en donde el compuesto de GLP-1 de Fórmula I, o el compuesto de GLP-1 de Fórmula II, respectivamente, es un análogo de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).

124. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-123, en donde Xaa<sub>7</sub> es His.

125. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-124, en donde Xaa<sub>8</sub> es Aib.

40 126. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-120, o 123-124, en donde Xaa<sub>8</sub> es Gly.

127. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-126, en donde Xaa<sub>16</sub> es Val.

45 128. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-126, en donde Xaa<sub>18</sub> es Ser.

129. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-128, en donde Xaa<sub>19</sub> es Tyr.

130. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-129, en donde Xaa<sub>20</sub> es Leu.

50 131. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-130, en donde Xaa<sub>22</sub> es Gly.

132. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-130, en donde Xaa<sub>22</sub> es Glu.

133. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-132, en donde Xaa<sub>23</sub> es Gln.

55 134. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-133, en donde Xaa<sub>25</sub> es Ala.

135. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-134, en donde Xaa<sub>26</sub> es Arg.

60 136. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-135, en donde Xaa<sub>27</sub> es Glu.

137. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-136, en donde Xaa<sub>30</sub> es Ala.

138. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-136, en donde Xaa<sub>30</sub> es Glu.

65 139. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-138, en donde Xaa<sub>31</sub> es Trp.

## ES 2 741 507 T3

140. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-139, en donde Xaa<sub>33</sub> es Val.
141. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-140, en donde Xaa<sub>34</sub> es Arg.
- 5 142. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-140, en donde Xaa<sub>34</sub> es Gln.
143. El derivado de cualquiera de las modalidades 119-142, en donde Xaa<sub>35</sub> es Gly.
144. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-143, en donde el péptido comprende los siguientes cambios de aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1): (i) Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (ii) 10 Aib8, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (iii) Aib8, Glu22, Arg26, Gln34, Lys36 y Lys37; (iv) Gly8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37; o (v) Aib8, Glu22, Arg26, Glu30, Arg34, Lys36, Lys37.
145. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-144, en donde el péptido tiene los siguientes cambios de 15 aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1):  
(i) Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (ii) Aib8, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; o (iii) Aib8, Glu22, Arg26, Gln34, Lys36 y Lys37; (iv) Gly8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37; o (v) Aib8, Glu22, Arg26, Glu30, Arg34, Lys36, Lys37.
- 20 146. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-145, en donde el péptido es la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5, o la SEQ ID NO: 6.
147. Un compuesto, preferentemente, un derivado de GLP-1 de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-146, 25 seleccionado de los siguientes: 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, o Quím. 48; o una sal, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.
148. Un compuesto, preferentemente, un compuesto de la modalidad 147, caracterizado por su nombre, y 30 seleccionado de una lista de cada uno de los nombres de los compuestos de los Ejemplos 1-28 en la presente descripción; o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.
149. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-148, que tiene actividad GLP-1.
150. El derivado de la modalidad 149, en donde la actividad GLP-1 se refiere a la capacidad de activar el receptor 35 de GLP-1 humano.
151. El derivado de la modalidad 150, en donde la activación del receptor de GLP-1 humano se mide en un ensayo in vitro, como la potencia de la producción de AMPc.
152. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-151, en donde la activación del receptor de GLP-1 humano 40 se mide en un ensayo in vitro, en un ensayo de gen reportero.
153. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-152, en donde el ensayo se realiza en una línea celular BHK transfectada establemente que expresa el receptor de GLP-1 humano y contiene el ADN para el elemento de respuesta 45 al AMPc (CRE) acoplado a un promotor y el gen para luciferasa de luciérnaga (CRE luciferasa).
154. El derivado de la modalidad 153, en donde cuando se termina la incubación del ensayo se añade luciferina y se mide la luminiscencia.
155. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-154, en donde el ensayo se realiza en ausencia de albúmina 50 sérica (0 % de HSA, concentración final en el ensayo).
156. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-155, en donde el ensayo se realiza en presencia de albúmina sérica (1,0 % de HSA, concentración final en el ensayo).
- 55 157. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-156, en donde las células son células BHK con BHKTS13 como una línea celular parental.
158. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-157, en donde las células se derivan del clon FCW467-12A.
- 60 159. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-158, en donde las células se cultivan en CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de cultivo celular, se dividen en alícuotas y se almacenan en nitrógeno líquido.
160. El derivado de la modalidad 159, en donde el medio de cultivo celular es medio DMEM con FBS (suero fetal 65 bovino) al 10 %, G418 1 mg/ml, MTX (metotrexato) 240 nM y 1 % de pen/estrep (penicilina/estreptomicina).

## ES 2 741 507 T3

160. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-159, en donde antes de cada ensayo se toma una alícuota de cultivo celular y se lava dos veces en PBS antes de suspenderse a la concentración deseada en el tampón de ensayo específico.
- 5 161. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-160, en donde se hace la suspensión para placas de 96 pocillos para obtener una concentración final de  $5 \times 10^3$  células/pocillo.
162. El derivado de cualquiera de las modalidades 160-161, en donde el tampón específico del ensayo es tampón de ensayo al 1 %, que consiste en 2 % de ovoalbúmina, 0,2 % de Pluronic F-68 y 2 % de HSA en medio de ensayo.
- 10 163. El derivado de cualquiera de las modalidades 160-161, en donde el tampón de ensayo es tampón de ensayo al 0 %, que consiste en 2 % de ovoalbúmina y 0,2 % de Pluronic F-68 en medio de ensayo.
164. El derivado de cualquiera de las modalidades 162-163, en donde el medio de ensayo consiste en DMEM sin rojo de fenol, Hepes 10 mM y Glutamax 1x.
- 15 165. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-164, en donde el procedimiento del ensayo comprende las etapas siguientes:
- 20 i) Las reservas de células se descongelan en un baño de agua a 37 °C;
- ii) las células se lavan tres veces en PBS;
- iii) las células se cuentan y se ajustan a  $5 \times 10^3$  células/50  $\mu$ l ( $1 \times 10^5$  células/ml) en medio de ensayo, y se transfiere una alícuota de 50  $\mu$ l de células a cada pocillo en la placa de ensayo;
- 25 iv) las soluciones madre de los compuestos de prueba y los compuestos de referencia, en caso de haber, se diluyen a una concentración de 0,2  $\mu$ M en tampón de ensayo al 0 % para el ensayo con 0 % de HSA o tampón de ensayo al 1 % para el ensayo con 1 % de HSA; y los compuestos se diluyen 10 veces para obtener un intervalo adecuado de concentraciones (tales como:  $2 \times 10^{-7}$  M,  $2 \times 10^{-8}$  M;  $2 \times 10^{-9}$  M,  $2 \times 10^{-10}$  M,  $2 \times 10^{-11}$  M,  $2 \times 10^{-12}$  M,  $2 \times 10^{-13}$  M y  $2 \times 10^{-14}$  M), y para cada compuesto se incluye, además, un control con un blanco de tampón de ensayo;
- 30 v) se transfiere una alícuota de 50  $\mu$ l de compuesto o blanco por triplicado desde la placa de dilución a la placa de ensayo, y los compuestos se prueban a concentraciones adecuadas (tales como las siguientes concentraciones finales:  $1 \times 10^{-7}$  M,  $1 \times 10^{-8}$  M;  $1 \times 10^{-9}$  M,  $1 \times 10^{-10}$  M,  $1 \times 10^{-11}$  M,  $1 \times 10^{-12}$  M,  $1 \times 10^{-13}$  M y  $1 \times 10^{-14}$  M);
- 35 vi) la placa de ensayo se incuba durante 3 h en una incubadora con CO<sub>2</sub> al 5 % a 37 °C;
- vii) la placa de ensayo se retira de la incubadora y se deja reposar a temperatura ambiente durante 15 min;
- 40 ix) se añade una alícuota de 100  $\mu$ l de luciferina (tal como reactivo steadylite plus) a cada pocillo de la placa de ensayo;
- ix) cada placa de ensayo se cubre para protegerla de la luz y se agita durante 30 min a temperatura ambiente; y
- 45 x) cada placa de ensayo se lee, por ejemplo, en un instrumento Packard TopCount NXT.
166. El derivado de la modalidad 165, en donde los datos, por ejemplo, del instrumento TopCount se transfieren a un programa informático adecuado tal como GraphPad Prism 5 para realizar los cálculos deseados.
- 50 167. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-166, en donde los valores para cada triplicado se promedian, se realiza una regresión no lineal, y se calculan los valores de EC<sub>50</sub>.
168. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-167, en donde la regresión es log(agonista) frente a la respuesta.
- 55 169. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-151, en donde la potencia se determina como se describió en cualquiera de las modalidades 152-153.
170. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-169, en donde la potencia se determina como se describe en el Ejemplo 29.
- 60 171. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-170, que tiene una potencia que corresponde a una EC<sub>50</sub> a 0 % de HSA
- a) inferior a 60 pM, preferentemente, inferior a 40 pM, con mayor preferencia, inferior a 20 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 15 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 10 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 8,0 pM;
- 65

- b) inferior a 7,0 pM, preferentemente, inferior a 6,0 pM, con mayor preferencia, inferior a 5,0 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 4,0 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 3,0 pM; o
- c) inferior a 2,5 pM, preferentemente, inferior a 2,0 pM, con mayor preferencia, inferior a 1,5 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 1,2 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 1,0 pM.
- 5 172. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-171, que tiene una potencia que corresponde a una EC<sub>50</sub> a 1,0 % de HSA
- a) inferior a 600 pM, preferentemente, inferior a 500 pM, con mayor preferencia, inferior a 450 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 400 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 300 pM;
- 10 b) inferior a 270 pM, preferentemente, inferior a 250 pM, con mayor preferencia, inferior a 200 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 150 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 100 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 50 pM; o
- c) inferior a 40 pM, preferentemente, inferior a 35 pM, con mayor preferencia, inferior a 30 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 25 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 20 pM.
- 15 173. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-172, cuyo valor de EC<sub>50</sub> de la potencia in vitro, a 0 % de HSA es menor del 250 % del de la semaglutida.
174. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-173, cuyo valor de EC<sub>50</sub> de la potencia in vitro, a 0 % de HSA es menor del 200 % del de la semaglutida.
- 20 175. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-174, cuyo valor de EC<sub>50</sub> de la potencia in vitro, a 0 % de HSA y/o 1,0 % de HSA, es menor del de la semaglutida.
- 25 176. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-175, cuyo valor de EC<sub>50</sub> de la potencia in vitro, a 0 % de HSA y/o 1,0 % de HSA, es de o inferior al 50 % del valor de EC<sub>50</sub> de la semaglutida.
177. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-176, cuyo valor de EC<sub>50</sub> de la potencia in vitro, a 0 % de HSA y/o 1,0 % de HSA, es de o inferior al 30 % del valor de EC<sub>50</sub> de la semaglutida.
- 30 178. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-177, cuyo valor de EC<sub>50</sub> de la potencia in vitro, a 0 % de HSA y/o 1,0 % de HSA, es de o inferior al 20 % del valor de EC<sub>50</sub> de la semaglutida.
179. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-178, cuyo valor de EC<sub>50</sub> de la potencia in vitro, a 0 % de HSA y/o 1,0 % de HSA, es de o inferior al 10 % del valor de EC<sub>50</sub> de la semaglutida.
- 35 180. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-179, que es capaz de unirse al receptor de GLP-1 humano.
181. El derivado de la modalidad 180, donde la actividad de unión al receptor se determina in vitro.
- 40 182. El derivado de cualquiera de las modalidades 180-181, donde la unión al receptor se mide en un ensayo de unión competitiva, donde un ligando marcado tal como <sup>125</sup>I-GLP-1 se une al receptor, el derivado se añade en una serie de concentraciones deseadas, y se monitorea el desplazamiento del ligando marcado, preferentemente, mediante el uso de un ensayo de unión SPA.
- 45 183. El derivado de la modalidad 182, donde la unión al receptor se informa como la concentración a la cual la mitad del ligando marcado se desplaza del receptor (el valor de IC<sub>50</sub>).
- 50 184. El derivado de cualquiera de las modalidades 180-183, en donde la activación del receptor de GLP-1 humano se mide como la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>) en una concentración muy baja de albúmina sérica (máx. 0,001 % de HSA, concentración final en el ensayo), y/o en una concentración alta de albúmina sérica (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo).
- 55 185. El derivado de cualquiera de las modalidades 180-185, en donde se usan membranas aisladas que contienen el receptor de GLP-1 humano.
186. El derivado de la modalidad 185, en donde las membranas se preparan a partir de células que expresan el receptor de GLP-1 humano.
187. El derivado de la modalidad 186, en donde las células son células BHK.
- 60 188. El derivado de la modalidad 187, en donde las células BHK tienen a BHKTS13 como una línea celular parental.
189. El derivado de la modalidad 188, en donde las células son células BHK del clon FCW467-12A.
- 65 190. El derivado de cualquiera de las modalidades 180-189, en donde la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>) se determina como se describe en el Ejemplo 30.

191. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-190, para el cual la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>) en presencia de albúmina baja (aproximadamente 0,001 % de HSA, concentración final en el ensayo) es
- 5 a) inferior a 6,0 nM, preferentemente, inferior a 3,0 nM, con mayor preferencia, inferior a 2,1 nM, aún con mayor preferencia, inferior a 1,0 nM, aún con mayor preferencia, inferior a 0,8 nM, o con la máxima preferencia, inferior a 0,60 nM; o
- b) inferior a 0,50 nM, preferentemente, inferior a 0,40 nM, aún con mayor preferencia, inferior a 0,30 nM, o con la máxima preferencia, inferior a 0,20 nM.
192. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-191, para el cual la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>) en presencia de albúmina alta (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo) es
- 10 a) inferior a 1000 nM, preferentemente, inferior a 600 nM, con mayor preferencia, inferior a 500 nM, o con la máxima preferencia, inferior a 300 nM;
- b) inferior a 200 nM, preferentemente, inferior a 100 nM, con mayor preferencia, inferior a 80 nM; o
- 15 c) inferior a 70 nM, preferentemente, inferior a 40 nM, o con mayor preferencia, inferior a 30 nM.
193. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-192, cuya afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>), en presencia de albúmina baja (aproximadamente 0,001 % de HSA, concentración final en el ensayo) es menor del 350 % del de la semaglutida.
- 20 194. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-193, cuya afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>), en presencia de albúmina baja (aproximadamente 0,001 % de HSA, concentración final en el ensayo) es menor del 200 % del de la semaglutida.
- 25 195. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-194, cuya afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>), en presencia de albúmina baja (aproximadamente 0,001 % de HSA, concentración final en el ensayo) y/o en presencia de albúmina alta (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo), es menor del 150 % del de la semaglutida.
196. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-195, cuya afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>), en presencia de albúmina baja (aproximadamente 0,001 % de HSA, concentración final en el ensayo) y/o en presencia de albúmina alta (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo), es menor del de la semaglutida.
- 30 197. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-196, cuya afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>), en presencia de albúmina baja (aproximadamente 0,001 % de HSA, concentración final en el ensayo) y/o en presencia de albúmina alta (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo), es menor del 75 % del de la semaglutida.
- 35 198. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-197, cuya afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>), en presencia de albúmina baja (aproximadamente 0,001 % de HSA, concentración final en el ensayo) y/o en presencia de albúmina alta (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo), es menor del 50 % del de la semaglutida.
- 40 199. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-198, cuya afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>), en presencia de albúmina baja (aproximadamente 0,001 % de HSA, concentración final en el ensayo) y/o en presencia de albúmina alta (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo), es menor del 35 % del de la semaglutida.
- 45 200. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-199, cuya afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>), en presencia de albúmina alta (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo), es menor del 25 % del de la semaglutida.
- 50 201. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-200, cuya afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>), en presencia de albúmina alta (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo), es menor del 10 % del de la semaglutida.
202. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-201, cuya afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>), en presencia de albúmina alta (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo), es menor del 5 % del de la semaglutida.
203. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-202, que tiene un perfil de acción más prolongado que la liraglutida y/o la semaglutida.
- 55 204. El derivado de la modalidad 203, en donde el perfil de acción prolongado se refiere a la vida media terminal in vivo en una especie animal relevante, tal como ratones db/db, rata, cerdo y perro, preferentemente, minicerdo y/o perro Beagle; en donde el derivado se administra i) s.c., y/o, ii) i.v.; preferentemente, ii) i.v.
- 60 205. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-204, en donde la vida media terminal (t<sub>1/2</sub>) después de la administración i.v. en minicerdos es
- a) al menos 55 horas, preferentemente, al menos 60 horas, con mayor preferencia, al menos 70 horas, aún con mayor preferencia, al menos 80 horas, o con la máxima preferencia, al menos 85 horas;
- b) al menos 90 horas, preferentemente, al menos 95 horas, con mayor preferencia, al menos 100 horas, aún con mayor preferencia, al menos 105 horas, o con la máxima preferencia, al menos 110 horas; o

- c) al menos 115 horas, preferentemente, al menos 120 horas, con mayor preferencia, al menos 125 horas, aún con mayor preferencia, al menos 130 horas, aún con mayor preferencia, al menos 135 horas, o con la máxima preferencia, al menos 140 horas.
- 5 206. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-176, en donde la vida media terminal ( $t_{1/2}$ ) después de la administración i.v. en minicerdos es
- a) al menos a la par con la de la semaglutida;  
 b) al menos 25 % mayor que la de la semaglutida;  
 c) al menos 50 % mayor que la de la semaglutida;  
 10 d) al menos 80 % mayor que la de la semaglutida;  
 e) al menos 100 % mayor que la de la semaglutida; o  
 f) al menos 150 % mayor que la de la semaglutida.
207. El derivado de cualquiera de las modalidades 204-206, en donde los minicerdos son hembras, preferentemente, 15 obtenidas de Ellegaard Göttingen Minipigs.
208. El derivado de cualquiera de las modalidades 204-207, en donde los minicerdos tienen aproximadamente 5 meses de edad, y, preferentemente, pesan aproximadamente 10 kg.
- 20 209. El derivado de cualquiera de las modalidades 204-208, en donde los minicerdos se alojan en corrales con lecho de paja, de cuatro a seis juntos en cada corral y se alimentan una o dos veces al día, preferentemente, con dieta Altromin 9023 para minicerdos.
210. El derivado de cualquiera de las modalidades 204-209, en donde el derivado se dosifica, i.v., después de un 25 período de aclimatación de 1 semana.
211. El derivado de cualquiera de las modalidades 204-210, en donde el derivado de GLP-1 se disuelve en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 70 mM, tween 80 al 0,05 %, pH 7,4 hasta una concentración adecuada, tal como 20 nmol/ml.
- 30 212. El derivado de cualquiera de las modalidades 204-211, en donde las inyecciones intravenosas del derivado se dan en un volumen que corresponde a, por ejemplo, 2 nmol/kg.
213. El derivado de cualquiera de las modalidades 204-212, en donde la vida media terminal ( $t_{1/2}$ ) se determina en 35 estudios farmacocinéticos in vivo en minicerdos, por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 31.
214. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-213, en donde la vida media terminal ( $t_{1/2}$ ) después de la administración i.v. a perros Beagle es
- a) al menos 56 horas, preferentemente, al menos 60 horas, con mayor preferencia, al menos 65 horas, aún con mayor preferencia, al menos 70 horas, o con la máxima preferencia, al menos 75 horas; o  
 40 b) al menos 80 horas, preferentemente, al menos 85 horas, con mayor preferencia, al menos 90 horas, aún con mayor preferencia, al menos 100 horas, aún con mayor preferencia, al menos 105 horas, o con la máxima preferencia, al menos 115 horas.
215. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-214, en donde la vida media terminal ( $t_{1/2}$ ) después de la 45 administración i.v. a perros Beagle es
- a) al menos a la par con la de la semaglutida;  
 b) al menos 10 % mayor que la de la semaglutida;  
 c) al menos 25 % mayor que la de la semaglutida;  
 d) al menos 40 % mayor que la de la semaglutida;  
 50 e) al menos 60 % mayor que la de la semaglutida;  
 f) al menos 80 % mayor que la de la semaglutida;  
 g) al menos 100 % mayor que la de la semaglutida; o  
 h) al menos 110 % mayor que la de la semaglutida.
- 55 216. El derivado de cualquiera de las modalidades 214-215, en donde los perros Beagle se alojan en grupos sociales (12 horas de luz : 12 horas de oscuridad), y se alimentan de manera individual y restringidamente una vez al día.
217. El derivado de cualquiera de las modalidades 214-216, en donde el derivado se dosifica, i.v., después de un 60 período de aclimatación apropiado.
218. El derivado de cualquiera de las modalidades 214-217, en donde el derivado de GLP-1 se disuelve en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 70 mM, 70 ppm de Polisorbato 20, pH 7,4 hasta una concentración adecuada, tal como 20 nmol/ml.
- 65 219. El derivado de cualquiera de las modalidades 214-218, en donde las inyecciones intravenosas del derivado se dan en un volumen que corresponde a, por ejemplo, 2 nmol/kg.



220. El derivado de cualquiera de las modalidades 214-219, en donde la vida media terminal ( $t_{1/2}$ ) se determina en estudios farmacocinéticos in vivo en perros Beagle, por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 32.
221. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-220, en donde la biodisponibilidad p.o del derivado, después de la administración oral en una composición de comprimido como se describe en el Ejemplo 33 a perros Beagle, es
- 5 a) al menos 1,5 %, preferentemente, al menos 2,0 %, o con mayor preferencia, al menos 2,4 %; o
- b) al menos 3,0 %, con mayor preferencia, al menos 3,2 %, o con mayor preferencia, al menos 3,4 %.
- 10 222. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-221, en donde la biodisponibilidad p.o. (F) del derivado, después de la administración oral en una composición de comprimido como se describe en el Ejemplo 33 a perros Beagle, es
- 15 a) al menos a la par con la de la semaglutida;
- b) al menos 10 % mayor que la de la semaglutida;
- c) al menos 25 % mayor que la de la semaglutida;
- d) al menos 50 % mayor que la de la semaglutida;
- e) al menos 75 % mayor que la de la semaglutida;
- 20 f) al menos 100 % mayor que la de la semaglutida;
- g) al menos 150 % mayor que la de la semaglutida; o
- h) al menos 200 % mayor que la de la semaglutida.
223. El derivado de cualquiera de las modalidades 221-222, en donde el comprimido comprende
- 25 i) un núcleo del comprimido, un subrecubrimiento de Pharmacoat, y un recubrimiento entérico FS30D:L30D-55 80:20, o
- ii) un núcleo del comprimido, un subrecubrimiento de Opadry Clear, y un recubrimiento entérico FS30D:L30D-55 80:20; y en donde el comprimido contiene 10 mg del derivado.
- 30 224. El derivado de cualquiera de las modalidades 221-223, en donde el comprimido tiene una composición final como se muestra en i) la Tabla 6, o ii) la Tabla 7.
225. El derivado de cualquiera de las modalidades 221-224, en donde la biodisponibilidad p.o. es la biodisponibilidad absoluta (F).
- 35 226. El derivado de la modalidad 225, en donde F se calcula como  $AUC/D_{po}$  dividido por  $AUC/D_{iv}$ , donde  $D_{po}$  es la dosis oral esperada por kg del derivado, calculada en base a la cantidad dosificada, y  $D_{iv}$  es la dosis por kg del derivado que se administró por vía intravenosa.
- 40 227. El derivado de la modalidad 226, en donde AUC representa el área bajo la curva de la concentración plasmática frente al tiempo (unidad = tiempo x concentración), que se calcula después tanto de la administración oral como de la administración intravenosa.
228. El derivado de la modalidad 227, en donde el AUC se calcula durante el período de tiempo hasta 240-288 horas después de la administración de la dosis, o hasta la última concentración medida.
- 45 229. El derivado de cualquiera de las modalidades 221-227, en donde los perros Beagle se alojan en grupos sociales (12 horas de luz : 12 horas de oscuridad), y se alimentan de manera individual y restringidamente una vez al día.
- 50 230. El derivado de cualquiera de las modalidades 221-229, en donde el derivado se dosifica, además, i.v., después de un período de aclimatación apropiado.
231. El derivado de la modalidad 230, en donde el derivado de GLP-1 se disuelve en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 70 mM, 70 ppm de Polisorbato 20, pH 7,4 hasta una concentración adecuada, tal como 20 nmol/ml.
- 55 232. El derivado de cualquiera de las modalidades 230-231, en donde las inyecciones intravenosas del derivado se dan en un volumen que corresponde a, por ejemplo, 2 nmol/kg.
233. El derivado de cualquiera de las modalidades 221-232, en donde los comprimidos que contienen el derivado de GLP-1 se administran de la manera siguiente: La secreción de ácido gástrico se induce por administración subcutánea en el cuello de pentagastrina a una dosis de aproximadamente 4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal (120  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 20 minutos antes de la administración oral del comprimido; el comprimido se coloca en la parte posterior de la boca del perro para evitar la masticación; la boca se cierra; y se proporcionan 10 ml de agua del grifo, mediante una jeringa, para facilitar la ingestión del comprimido.
- 60 234. El derivado de cualquiera de las modalidades 221-233, en donde la biodisponibilidad p.o. se determina
- 65

esencialmente como se describe en el Ejemplo 32.

- 5 235. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-234, que en un estudio farmacodinámico (PD) en cerdos y cuando se administra como una dosis única s.c. tiene el efecto de reducir la ingestión de alimentos en comparación con un grupo control tratado con vehículo.
- 10 236. El derivado de la modalidad 235, en donde los cerdos son cerdos Landrace Yorkshire Duroc (LYD) hembras o híbridos Large White, de aproximadamente 3 meses de edad, y que pesan aproximadamente 30-35 kg (preferentemente, n=3-4 por grupo).
- 15 237. El derivado de cualquiera de las modalidades 235-236, en donde los cerdos se alojan en un grupo durante aproximadamente 1 semana durante la aclimatación a las instalaciones para animales, y posteriormente, durante el período experimental, los animales se colocan en corrales individuales al menos 2 días antes de la administración de la dosis y durante todo el experimento para medir la ingestión de alimentos individual.
- 20 238. El derivado de cualquiera de las modalidades 235-237, en donde los cerdos se alimentan a voluntad en todo momento, o se ofrece el pienso por la mañana cada día, y se asegura la disponibilidad durante todo el período de 24 horas.
- 25 239. El derivado de cualquiera de las modalidades 235-238, en donde los derivados se disuelven en un tampón de fosfato (fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 70 mM, tween 80 al 0,05 %, pH 7,4) a concentraciones de aproximadamente 120 nmol/ml que corresponden a dosis de 3 nmol/kg.
- 30 240. El derivado de la modalidad 239, en donde el tampón de fosfato sirve como vehículo.
- 35 241. El derivado de cualquiera de las modalidades 235-240, en donde los cerdos se dosifican con una dosis única subcutánea del derivado de GLP-1 o el vehículo (volumen de dosis de 0,025 ml/kg) en la mañana del día 1, y la ingestión de alimentos se mide durante 2-4 días después de la administración de la dosis.
- 40 242. El derivado de cualquiera de las modalidades 235-241, en donde la ingestión de alimentos se calcula en intervalos de 24 h (0-24 h, 24-48 h, 48-72 h y 72-96 h), y la ingestión de alimentos promedio se calcula como el porcentaje de la ingestión de alimentos promedio del grupo vehículo en el mismo intervalo de tiempo.
- 45 243. El derivado de cualquiera de las modalidades 235-242, en donde la ingestión de alimentos se determina como se describe en el Ejemplo 34.
- 50 244. El derivado de cualquiera de las modalidades 235-243, en donde la ingestión de alimentos durante 0-24 horas, en comparación con el grupo vehículo, es
- 55 a) no más de 80 %, preferentemente, no más de 70 %, con mayor preferencia, no más de 60 %, aún con mayor preferencia, no más de 60 %, o con la máxima preferencia, no más de 50 %; o
- b) no más de 50 %, preferentemente, no más de 40 %, con mayor preferencia, no más de 30 %, aún con mayor preferencia, no más de 20 %, o con la máxima preferencia, no más de 10 %.
- 60 245. El derivado de cualquiera de las modalidades 235-244, en donde la ingestión de alimentos durante 24-48 horas, en comparación con el grupo vehículo, es
- a) no más de 70 %, preferentemente, no más de 60 %, con mayor preferencia, no más de 50 %, aún con mayor preferencia, no más de 40 %, o con la máxima preferencia, no más de 30 %; o
- b) no más de 25 %, o preferentemente, no más de 20 %.
- 65 246. El derivado de cualquiera de las modalidades 235-245, en donde la ingestión de alimentos durante 48-72 horas, en comparación con el grupo vehículo, es no más de 70 %, preferentemente, no más de 65 %.
247. Un péptido GLP-1 que comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y sin otros residuos de Lys, o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.248. El péptido de la modalidad 247 que tiene un máximo de siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), preferentemente, un máximo de seis cambios de aminoácidos, con mayor preferencia, un máximo de cinco cambios de aminoácidos.
249. El péptido de la modalidad 248, en donde el máximo de cinco, seis o siete cambios de aminoácidos incluye Lys36 y Lys37.

## ES 2 741 507 T3

250. El péptido de cualquiera de las modalidades 247-249, que es un péptido GLP-1(7-37).
251. El péptido de cualquiera de las modalidades 247-249, que es un péptido GLP-1(9-37).
- 5 252. El péptido de la modalidad 251, en donde los residuos de aminoácido en las posiciones que corresponden a las posiciones 7 y 8 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se han eliminado.
253. El péptido de cualquiera de las modalidades 247-252, que comprende uno o más de los siguientes cambios de aminoácidos adicionales: (Aib8 o Gly8), Glu22, Arg26, Glu30, y/o (Arg34 o Gln34).
- 10 254. El péptido de cualquiera de las modalidades 247-253, que comprende los siguientes cambios de aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1): (i) Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (ii) Aib8, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (iii) Aib8, Glu22, Arg26, Gln34, Lys36 y Lys37; (iv) Gly8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37; o (v) Aib8, Glu22, Arg26, Glu30, Arg34, Lys36, Lys37.
- 15 255. El derivado de cualquiera de las modalidades 247-254, que tiene los siguientes cambios de aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1):
- (i) Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, y Lys37; (ii) Aib8, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (iii) Aib8, Glu22, Arg26, Gln34, Lys36 y Lys37; (iv) Gly8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37; o (v) Aib8, Glu22, Arg26, Glu30, Arg34, Lys36, Lys37.
- 20 260. El péptido de cualquiera de las modalidades 247-259, que es la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5, o la SEQ ID NO: 6.
261. El péptido de cualquiera de las modalidades 247-260, en donde la comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se hace por escritura e inspección visual.
- 25 262. El péptido de cualquiera de las modalidades 247-261, en donde la comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se hace mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
- 30 263. El péptido de la modalidad 262, en donde el programa de alineación es una alineación de Needleman-Wunsch.
264. El péptido de cualquiera de las modalidades 262-263, en donde se usan la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.
- 35 265. El péptido de cualquiera de las modalidades 262-264, en donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.
266. El péptido de cualquiera de las modalidades 262-265, en donde la penalización por el primer residuo en un hueco es -10 (menos diez).
- 40 267. El péptido de cualquiera de las modalidades 262-266, en donde las penalizaciones por residuos adicionales en un hueco es -0,5 (menos cero coma cinco).
268. Un péptido GLP-1 de Fórmula I:
- 45 Fórmula I: Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Lys<sub>36</sub>-Lys<sub>37</sub>, en donde
- Xaa<sub>7</sub> es L-histidina, ácido (S)-2-hidroxi-3-(1H-imidazol-4-il)-propiónico, D-histidina, desamino-histidina (desH), N<sup>α</sup>-acetil-histidina, N<sup>α</sup>-formil-histidina;
- 50 Xaa<sub>8</sub> es Ala, Gly, Ser, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico;
- Xaa<sub>16</sub> es Val o Leu;
- Xaa<sub>18</sub> es Ser o Arg;
- Xaa<sub>19</sub> es Tyr o Gln;
- Xaa<sub>20</sub> es Leu o Met;
- 55 Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu;
- Xaa<sub>23</sub> es Gln, Glu o Arg;
- Xaa<sub>25</sub> es Ala o Val;
- Xaa<sub>26</sub> es Arg o Lys;
- Xaa<sub>27</sub> es Glu o Leu;
- 60 Xaa<sub>30</sub> es Ala, o Glu;
- Xaa<sub>31</sub> es Trp o His;
- Xaa<sub>33</sub> es Val o Arg;
- Xaa<sub>34</sub> es Arg, Lys, His, Asn o Gln; y
- Xaa<sub>35</sub> es Gly o Aib.
- 65

269. El péptido GLP-1 de la modalidad 268, donde Xaa<sub>7</sub> es His; Xaa<sub>8</sub> es Gly o Aib; Xaa<sub>16</sub> es Val; Xaa<sub>18</sub> es Ser; Xaa<sub>19</sub> es Tyr; Xaa<sub>20</sub> es Leu; Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu; Xaa<sub>23</sub> es Gln; Xaa<sub>25</sub> es Ala; Xaa<sub>26</sub> es Arg; Xaa<sub>27</sub> es Glu; Xaa<sub>30</sub> es Ala o Glu; Xaa<sub>31</sub> es Trp; Xaa<sub>33</sub> es Val; Xaa<sub>34</sub> es Arg o Gln y Xaa<sub>35</sub> es Gly.

5 270. Un péptido GLP-1 de Fórmula II:

Fórmula II: Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Lys<sub>36</sub>-Lys<sub>37</sub>, en donde

- 10 Xaa<sub>7</sub> es L-histidina, ácido (S)-2-hidroxi-3-(1H-imidazol-4-il)-propiónico, D-histidina, desamino-histidina (desH), N<sup>α</sup>-acetil-histidina, N<sup>α</sup>-formil-histidina;  
 Xaa<sub>8</sub> es Ala, Ser, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico;  
 Xaa<sub>16</sub> es Val o Leu;  
 Xaa<sub>18</sub> es Ser o Arg;  
 15 Xaa<sub>19</sub> es Tyr o Gln;  
 Xaa<sub>20</sub> es Leu o Met;  
 Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu;  
 Xaa<sub>23</sub> es Gln, Glu o Arg;  
 Xaa<sub>25</sub> es Ala o Val;  
 20 Xaa<sub>26</sub> es Arg o Lys;  
 Xaa<sub>27</sub> es Glu o Leu;  
 Xaa<sub>30</sub> es Ala, o Glu;  
 Xaa<sub>31</sub> es Trp o His;  
 Xaa<sub>33</sub> es Val o Arg;  
 25 Xaa<sub>34</sub> es Arg, Lys, His, Asn o Gln; y  
 Xaa<sub>35</sub> es Gly o Aib.

271. El péptido GLP-1 de la modalidad 270, en donde Xaa<sub>7</sub> es His; Xaa<sub>8</sub> es Aib; Xaa<sub>16</sub> es Val; Xaa<sub>18</sub> es Ser; Xaa<sub>19</sub> es Tyr; Xaa<sub>20</sub> es Leu; Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu; Xaa<sub>23</sub> es Gln; Xaa<sub>25</sub> es Ala; Xaa<sub>26</sub> es Arg; Xaa<sub>27</sub> es Glu; Xaa<sub>30</sub> es Ala o Glu; Xaa<sub>31</sub> es Trp; Xaa<sub>33</sub> es Val; Xaa<sub>34</sub> es Arg o Gln; y Xaa<sub>35</sub> es Gly.

272. Un péptido GLP-1 (9-37) que es un péptido como se define en cualquiera de las modalidades 268-271, excepto que Xaa<sub>7</sub> y Xaa<sub>8</sub> están ausentes.

35 273. El péptido de cualquiera de las modalidades 247-272, que es un análogo de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).

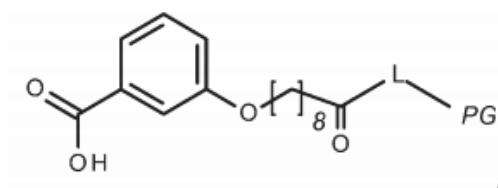
274. El péptido de cualquiera de las modalidades 247-273, que tiene actividad GLP-1.

40 275. El péptido de la modalidad 274, en donde la actividad GLP-1 puede determinarse de cualquier manera apropiada, por ejemplo, como se describió en cualquiera de las modalidades 149-202.

276. Un producto intermedio que comprende, o que consiste en, una porción de cadena lateral del Quím. 6:

Quím. 6:

45



50

en donde L es un enlazador opcional que es un diradical que incorpora un grupo \*-NH y un grupo \*-CO (el grupo \*-NH está en el extremo izquierdo de la molécula, y el grupo \*-CO en el extremo derecho de la molécula), PG es un grupo de protección; y el grupo COOH distal (en posición meta en el anillo aromático) y/o cualquier otro grupo COOH, si se presenta, también se protege opcionalmente;

55

o una sal, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.

60 277. El producto intermedio de la modalidad 276, en donde (cuando L está ausente) CO-PG es, o (cuando L está presente) L-PG incluye un

i) grupo COOH distal, o

65

ii) un éster activado.

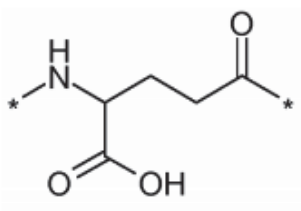
278. El producto intermedio de la modalidad 277, en donde el éster activado es un éster de p-nitrofenol; 2,4,5-triclorofenol; N-hidroxisuccinimida; N-hidroxisulfosuccinimida; 3,4-dihidro-3-hidroxi-1,2,3-benzotriazina-4-ona; 5-cloro-8-hidroxiquinolina; ácido N-hidroxi-5-norborneno-2,3-dicarboxílico imida; pentafluorofenol; p-sulfotetrafluorofenol; N-hidroxitallimida; 1-hidroxibenzotriazol; 1-hidroxi-7-azabenzotriazol; N-hidroximaleimida; ácido 4-hidroxi-3-nitrobenceno sulfónico; o cualquier otro éster activado conocido en la técnica.

279. El producto intermedio de la modalidad 278, en donde el éster activado es N-hidroxisuccinimida.

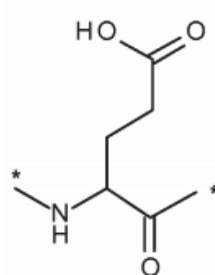
280. El producto intermedio de cualquiera de las modalidades 276-279, en donde el enlazador está ausente.

281. El producto intermedio de cualquiera de las modalidades 276-279, en donde el enlazador comprende al menos uno de Quím. 3a, Quím. 4a, y Quím. 5a:

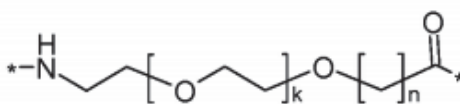
Quím. 3a:



Quím. 4a:



Quím. 5a:



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.

282. El producto intermedio de cualquiera de las modalidades 276-281, en donde el enlazador es como se definió en cualquiera de las modalidades 12-62.

283. El producto intermedio de cualquiera de las modalidades 276-282, en donde, opcionalmente, el grupo COOH distal del Quím. 6, y/o uno o más grupos COOH adicionales, si están presentes en la parte del enlazador (L) del Quím. 6, se protege(n), además, como se conoce en la técnica.

284. El producto intermedio de cualquiera de las modalidades 276-283, en donde, opcionalmente, el grupo COOH distal del Quím. 6 y/o uno o más grupos COOH adicionales, si están presentes en la parte del enlazador (L) del Quím. 6, se protege(n), además, mediante la formación de un éster no reactivo.

285. El producto intermedio de la modalidad 284, en donde el éster no reactivo es i) un éster de un alcohol con una cadena lateral voluminosa tal como un grupo aromático, o ii) un éster de un alcohol de alquilo ramificado, preferentemente, alquilo ramificado inferior.

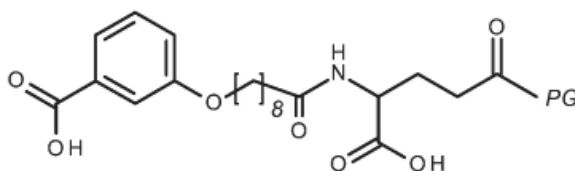
286. El producto intermedio de la modalidad 284, en donde el éster no reactivo es un éster de terc. butilo (OtBu), un éster de benzoilo (OBz), o similares.

287. El producto intermedio de la modalidad 285, en donde el alcohol con un grupo aromático voluminoso es alcohol bencílico.

288. El producto intermedio de la modalidad 285, en donde el alcohol de alquilo ramificado inferior es alcohol terc. butílico.

289. Un producto intermedio de acuerdo con, preferentemente, cualquiera de las modalidades 276-288, que es el Quím. 7:

Quím. 7:



en donde i) ninguno de los grupos COOH, ii) el grupo COOH distal solamente, iii) el grupo COOH no distal solamente, o iv) ambos grupos COOH se protege(n) como se describió en cualquiera de las modalidades 284-288;

o una sal, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.

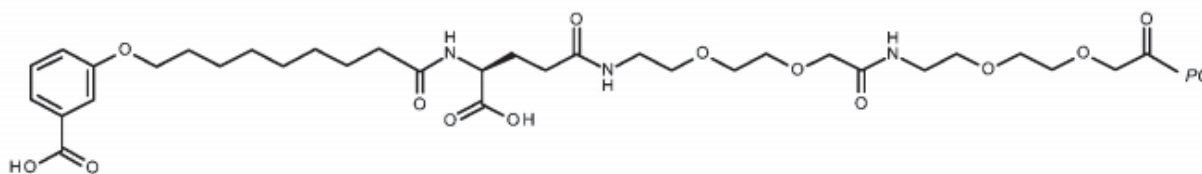
290. El producto intermedio de la modalidad 289, en donde ninguno de los grupos COOH se protege.

291. El producto intermedio de la modalidad 289, en donde cada uno de los dos grupos COOH se protege como un éster de terc-butilo.

292. El producto intermedio de la modalidad 289, en donde cada uno de los dos grupos COOH se protege como un éster de benzoilo.

293. Un producto intermedio de acuerdo con, preferentemente, cualquiera de las modalidades 276-288, que es el Quím. 8:

Quím. 8:



en donde

i) ninguno de los grupos COOH, ii) el grupo COOH distal solamente, iii) el grupo COOH no distal solamente, o iv) ambos grupos COOH se protege(n) como se describió en cualquiera de las modalidades 284-288;

o una sal, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.

294. El producto intermedio de la modalidad 293, en donde ninguno de los grupos COOH se protege.

295. El producto intermedio de la modalidad 293, en donde cada uno de los dos grupos COOH se protege como un éster de terc-butilo.

296. El producto intermedio de la modalidad 293, en donde cada uno de los dos grupos COOH se protege como un éster de benzoilo.

297. Un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-246, o un péptido de acuerdo con cualquiera de las modalidades 247-275, para su uso como un medicamento.

298. Un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-246, o un péptido de acuerdo con cualquiera de las modalidades 247-275, para su uso en el tratamiento y/o prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos de la alimentación, 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 prevenir la progresión de la enfermedad diabética.

299. El uso de un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-246, o un péptido de acuerdo con cualquiera de las modalidades 247-275, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos de la alimentación, 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- $\beta$ , y/o para retardar o prevenir la progresión de la enfermedad diabética.

- 5 300. Un método para tratar o prevenir todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos de la alimentación, 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- $\beta$ , y/o para retardar o prevenir la progresión de la enfermedad diabética, mediante la administración de una cantidad activa farmacéuticamente de un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-246, o un péptido de acuerdo con cualquiera de las modalidades 247-275.

La invención se refiere, además, a un derivado de un péptido GLP-1, cuyo péptido comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y un máximo de siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), cuyo derivado comprende un primer y un segundo prolongador unidos a dichos primer y segundo residuos de Lys, respectivamente, a través de un primer y un segundo enlazador, respectivamente, en donde el primer y el segundo prolongador se seleccionan de:

20 Quím. 1:  $\text{HOOC-C}_6\text{H}_4\text{-O-(CH}_2\text{)}_y\text{-CO-}^*$ , y

Quím. 2:  $\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_x\text{-CO-}^*$ ,

en donde y es un número entero en el intervalo de 8-11, y x es 12; y el primer y el segundo enlazador comprenden al menos uno de:

25 Quím. 3:  $^*\text{-NH-CH(COOH)-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-}^*$ ,

Quím. 4:  $^*\text{-NH-CH((CH}_2\text{)}_2\text{-COOH)-CO-}^*$ , y/o

30 Quím. 5:  $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-[O-(CH}_2\text{)}_2\text{]}_k\text{-O-[CH}_2\text{]}_n\text{-CO-}^*$ ,

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, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este;

35 así como también, cualquiera de las modalidades anteriores 2-246, adjuntas a la presente como modalidades dependientes, con los cambios necesarios y/o por analogía.

Las siguientes son modalidades particulares adicionales de la invención:

40 1. Un derivado de un péptido GLP-1,

cuyo péptido comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y un máximo de siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1);

45 cuyo derivado comprende dos prolongadores unidos a dichos primer y segundo residuos de Lys, respectivamente, cada uno a través de un enlazador; en donde

el prolongador se selecciona de:

50 Quím. 1:  $\text{HOOC-C}_6\text{H}_4\text{-O-(CH}_2\text{)}_y\text{-CO-}^*$ , y

Quím. 2:  $\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_x\text{-CO-}^*$ ,

55 en donde y es un número entero en el intervalo de 9-11, y x es 12; y el enlazador comprende al menos uno de:

Quím. 3:  $^*\text{-NH-CH(COOH)-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-}^*$ ,

60 Quím. 4:  $^*\text{-NH-CH((CH}_2\text{)}_2\text{-COOH)-CO-}^*$ , y/o

Quím. 5:  $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-[O-(CH}_2\text{)}_2\text{]}_k\text{-O-[CH}_2\text{]}_n\text{-CO-}^*$ ,

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;

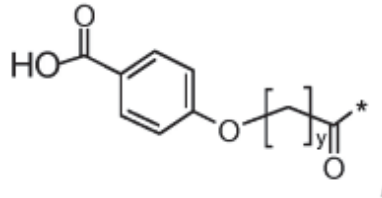
65 o una sal, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.

2. El derivado de la reivindicación 1, en donde el prolongador es el Quím. 1.

3. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el prolongador se selecciona de:

5

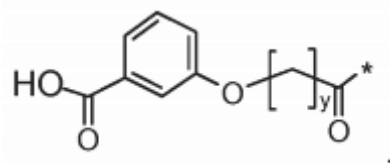
Quím. 1a:



10

15 , o

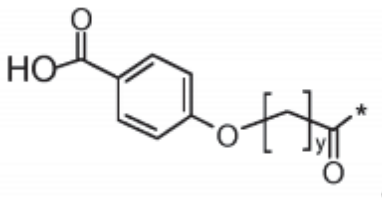
Quím. 1b:



20

25 4. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el prolongador es

Quím. 1a:

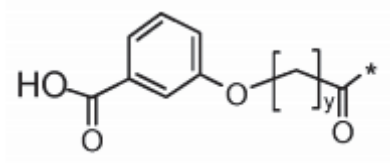


30

35

5. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el prolongador es

Quím. 1b:



40

45

6. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde y es 9, 10 u 11.

7. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde y es 9.

50

8. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde y es 10.

9. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde y es 11.

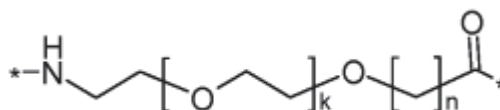
55 10. El derivado de la reivindicación 1, en donde el prolongador es el Quím. 2.

11. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde el enlazador comprende el Quím. 5.

12. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde el enlazador comprende el

60

Quím. 5a:

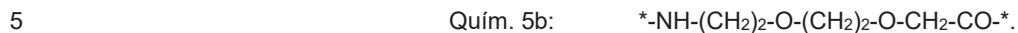


65



13. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde  $k=n=1$ .

14. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde el enlazador comprende el



15. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde el Quím. 5 se incluye una, dos, o tres veces.

16. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el Quím. 5 se incluye una vez.

10

17. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el Quím. 5 se incluye dos veces.

18. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el Quím. 5 se incluye tres veces.

15 19. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el Quím. 5a se incluye una, dos, o tres veces.

20. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el Quím. 5a se incluye una vez.

21. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el Quím. 5a se incluye dos veces.

20

22. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el Quím. 5a se incluye tres veces.

23. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el Quím. 5b se incluye una, dos, o tres veces.

25 24. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el Quím. 5b se incluye una vez.

25. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el Quím. 5b se incluye dos veces.

26. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el Quím. 5b se incluye tres veces.

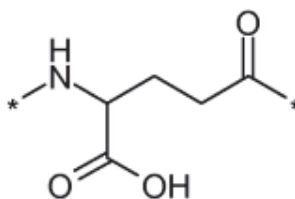
30

27. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-26, en donde el enlazador comprende el Quím. 3.

28. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-27, en donde el enlazador comprende el

35

Quím. 3a:



40

45

29. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-28, en donde el Quím. 3 no se incluye, se incluye una vez, o se incluye dos veces.

30. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en donde el Quím. 3 no se incluye.

50

31. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en donde el Quím. 3 se incluye una vez.

32. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en donde el Quím. 3 se incluye dos veces.

55

33. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en donde el Quím. 3a no se incluye, se incluye una vez, o se incluye dos veces.

34. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en donde el Quím. 3a no se incluye.

60

35. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en donde el Quím. 3a se incluye una vez.

36. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en donde el Quím. 3a se incluye dos veces.

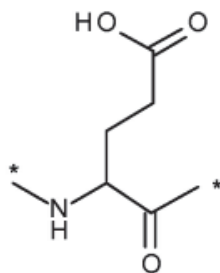
37. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-36, en donde el enlazador comprende el Quím. 4.

65

38. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-37, en donde el enlazador comprende el

Quím. 4a:

5



10

39. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-38, en donde el Quím. 4 no se incluye, o se incluye dos veces.

15

40. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-39, en donde el Quím. 4 no se incluye.

41. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-39, en donde el Quím. 4 se incluye dos veces.

20

42. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-39, en donde el Quím. 4a no se incluye, o se incluye dos veces.

43. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-39, en donde el Quím. 4a no se incluye.

25

44. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-39, en donde el Quím. 4a se incluye dos veces.

45. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-44, en donde el enlazador consiste en dos elementos Quím. 3, y dos elementos Quím. 5b (2xQuím.3 - 2xQuím.5b), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

30

46. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-44, en donde el enlazador consiste en dos elementos Quím. 3a, y dos elementos Quím. 5a donde n=k=1 (2xQuím.3a - 2xQuím.5a), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

35

47. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-44, en donde el enlazador consiste en un elemento Quím. 3, y dos elementos Quím. 5b (Quím.3 - 2xQuím.5b), interconectados mediante enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

40

48. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-44, en donde el enlazador consiste en un elemento Quím. 3a, y dos elementos Quím. 5a donde n=k=1 (Quím.3a - 2xQuím.5a), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

45

49. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-44, en donde el enlazador consiste en un elemento Quím. 3, y tres elementos Quím. 5b (Quím.3 - 3xQuím.5b), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

50

50. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-44, en donde el enlazador consiste en un elemento Quím. 3a, y tres elementos Quím. 5a donde n=k=1 (Quím.3a - 3xQuím.5a), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

55

51. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-44, en donde el enlazador consiste en dos elementos Quím. 4, y un elemento Quím. 5b (2xQuím.4 - Quím.5b), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

60

52. El derivado de cualquiera de las reivindicaciones 1-44, en donde el enlazador consiste en dos elementos Quím. 4a, y un elemento Quím. 5a donde n=k=1 (2xQuím.4a - Quím.5a), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo \*-NH al extremo CO-\* del prolongador, y en su extremo CO-\* al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

65

## ES 2 741 507 T3

53. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-52, en donde el enlazador y el prolongador se interconectan a través de un enlace amida.
54. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-53, en donde el enlazador y el péptido GLP-1 se interconectan a través de un enlace amida.
55. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-54, en donde el extremo CO-\* del enlazador forma un enlace amida con el grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys.
56. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-55, en donde los dos prolongadores son sustancialmente idénticos, preferentemente, idénticos.
57. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-56, en donde los dos prolongadores 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; aún con mayor preferencia, al menos 0,9; o con la máxima preferencia, al menos 0,99, tal como una similitud de 1,0.
58. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-57, en donde los dos enlazadores son sustancialmente idénticos, preferentemente, idénticos.
59. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-58, en donde los dos enlazadores 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; aún con mayor preferencia, al menos 0,9; o con la máxima preferencia, al menos 0,99, tal como una similitud de 1,0.
60. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-59, en donde las dos cadenas laterales que consisten en el prolongador y el enlazador son sustancialmente idénticas, preferentemente, idénticas.
61. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-60, en donde las dos cadenas laterales que consisten en un prolongador y un enlazador 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; aún con mayor preferencia, al menos 0,9; o con la máxima preferencia, al menos 0,99, tal como una similitud de 1,0.
62. El derivado de cualquiera de las modalidades 56-61, en donde las dos estructuras químicas a comparar se representan como huellas, tales como a) huellas de ECFP\_6; b) huellas de UNITY; y/o c) huellas de MDL; y en donde para cada uno de a), b) y c) se usa, preferentemente, el coeficiente de Tanimoto para calcular la similitud de las dos huellas.
63. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-62, en donde el primer residuo de Lys se denomina Lys36.
64. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-63, en donde el segundo residuo de Lys se denomina Lys37.
65. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-64, en donde la posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica por escritura e inspección visual.
66. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-65, en donde la posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica por escritura e inspección visual.
67. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-66, en donde el número total de cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifican por escritura e inspección visual.
68. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-67, en donde los dos cambios de aminoácidos de Lys36 y Lys37 se incluyen cuando se cuenta el número de cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
69. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-68, en donde la posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
70. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-69, en donde la posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
71. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-70, en donde el número de cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.

## ES 2 741 507 T3

72. El derivado de cualquiera de las modalidades 69-71, en donde el programa de alineación es una alineación de Needleman-Wunsch.
- 5 73. El derivado de cualquiera de las modalidades 69-72, en donde se usan la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.
74. El derivado de cualquiera de las modalidades 69-73, en donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.
- 10 75. El derivado de cualquiera de las modalidades 69-74, en donde la penalización por el primer residuo en un hueco es -10 (menos diez).
- 15 76. El derivado de cualquiera de las modalidades 69-75, en donde las penalizaciones por residuos adicionales en un hueco es -0,5 (menos cero coma cinco).
- 20 77. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-76, en donde el péptido GLP-1 es un análogo de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) que comprende al menos las sustituciones R36K y G37K.
78. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-77, en donde el péptido GLP-1 no comprende residuos de Lys distintos de Lys36 y Lys37.
- 25 79. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-78, en donde el péptido GLP-1 tiene un máximo de cinco cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
80. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-78, en donde el péptido GLP-1 tiene un máximo de seis cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
- 30 81. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-78, en donde el péptido GLP-1 tiene un mínimo de cinco cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
82. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-78, en donde el péptido GLP-1 tiene un mínimo de seis cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
- 35 83. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-78, en donde el péptido GLP-1 tiene cinco o seis cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
84. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-78, en donde el péptido GLP-1 tiene cinco cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
- 40 85. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-78, en donde el péptido GLP-1 tiene seis cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
86. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-85, en donde los cambios de aminoácidos son en una o más posiciones que corresponden a una o más de las posiciones 8, 22, 26, 34, 36 y 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
- 45 87. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-86, en donde el péptido comprende Lys36 y Lys37, y opcionalmente, uno o más de los siguientes cambios de aminoácidos adicionales: Aib8, Glu22, Arg26, y/o (Arg34 o Gln34).
- 50 88. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-87, en donde el péptido comprende Aib8.
89. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-88, en donde el péptido comprende Glu22.
90. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-89, en donde el péptido comprende Arg26.
- 55 91. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-90, en donde el péptido comprende Arg34.
92. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-90, en donde el péptido comprende Gln34.
- 60 93. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-92, en donde, para la determinación de los cambios en el péptido, la secuencia de aminoácidos del péptido se compara con la secuencia de aminoácidos del GLP-1(7-37) natural (SEQ ID NO: 1).
- 65 94. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-93, en donde, para la determinación de una posición en un péptido que corresponde a una posición específica en el GLP-1(7-37) natural (SEQ ID NO: 1), la secuencia de aminoácidos del péptido se compara con la secuencia de aminoácidos del GLP-1(7-37) natural (SEQ ID NO: 1).

## ES 2 741 507 T3

95. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-94, en donde la comparación de la secuencia de aminoácidos del péptido con la de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se hace por escritura e inspección visual.
- 5 96. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-95, en donde la comparación de la secuencia de aminoácidos del péptido con la de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se hace mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.
97. El derivado de la modalidad 96, en donde el programa de alineación es una alineación de Needleman-Wunsch.
- 10 98. El derivado de cualquiera de las modalidades 96-97, en donde se usan la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.
99. El derivado de cualquiera de las modalidades 96-98, en donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.
- 15 100. El derivado de cualquiera de las modalidades 96-99, en donde la penalización por el primer residuo en un hueco es -10 (menos diez).
101. El derivado de cualquiera de las modalidades 96-100, en donde las penalizaciones por residuos adicionales en un hueco es -0,5 (menos coma cinco).
- 20 102. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-101, en donde la posición que corresponde a cualquiera de las posiciones indicadas de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica mediante escritura e inspección visual.
103. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-102, en donde la posición que corresponde a cualquiera de las posiciones indicadas de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se identifica como se describió para la posición 36 y la posición 37 en cualquiera de las modalidades 69-76.
- 25 104. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-103, en donde el péptido GLP-1 a) comprende un compuesto de GLP-1 de Fórmula I; y/o b) es un compuesto de GLP-1 de Fórmula I:
- 30 Fórmula I: Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Lys<sub>36</sub>-Lys<sub>37</sub>, en donde
- 35 Xaa<sub>7</sub> es L-histidina, ácido (S)-2-hidroxi-3-(1H-imidazol-4-il)-propiónico, D-histidina, desamino-histidina (desH), N<sup>α</sup>-acetil-histidina, N<sup>α</sup>-formil-histidina;  
Xaa<sub>8</sub> es Ala, Gly, Ser, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico;  
Xaa<sub>16</sub> es Val o Leu;  
Xaa<sub>18</sub> es Ser o Arg;  
Xaa<sub>19</sub> es Tyr o Gln;  
40 Xaa<sub>20</sub> es Leu o Met;  
Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu;  
Xaa<sub>23</sub> es Gln, Glu o Arg;  
Xaa<sub>25</sub> es Ala o Val;  
Xaa<sub>26</sub> es Arg o Lys;  
45 Xaa<sub>27</sub> es Glu o Leu;  
Xaa<sub>30</sub> es Ala, o Glu;  
Xaa<sub>31</sub> es Trp o His;  
Xaa<sub>33</sub> es Val o Arg;  
Xaa<sub>34</sub> es Arg, Lys, His, Asn o Gln; y  
50 Xaa<sub>35</sub> es Gly o Aib.
105. El derivado de la modalidad 104, en donde el compuesto de GLP-1 de Fórmula I es un análogo de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).
- 55 106. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-105, en donde Xaa<sub>7</sub> es His; Xaa<sub>8</sub> es Aib; Xaa<sub>16</sub> es Val; Xaa<sub>18</sub> es Ser; Xaa<sub>19</sub> es Tyr; Xaa<sub>20</sub> es Leu; Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu; Xaa<sub>23</sub> es Gln; Xaa<sub>25</sub> es Ala; Xaa<sub>26</sub> es Arg; Xaa<sub>27</sub> es Glu; Xaa<sub>30</sub> es Ala; Xaa<sub>31</sub> es Trp; Xaa<sub>33</sub> es Val; Xaa<sub>34</sub> es Arg o Gln; y Xaa<sub>35</sub> es Gly.
107. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-106, en donde Xaa<sub>7</sub> es His.
- 60 108. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-107, en donde Xaa<sub>8</sub> es Aib.
109. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-108, en donde Xaa<sub>12</sub> es Phe.
- 65 110. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-109, en donde Xaa<sub>16</sub> es Val.

## ES 2 741 507 T3

111. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-110, en donde Xaa<sub>18</sub> es Ser.
112. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-111, en donde Xaa<sub>19</sub> es Tyr.
- 5 113. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-112, en donde Xaa<sub>20</sub> es Leu.
114. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-113, en donde Xaa<sub>22</sub> es Gly.
115. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-113, en donde Xaa<sub>22</sub> es Glu.
- 10 116. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-115, en donde Xaa<sub>23</sub> es Gln.
117. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-116, en donde Xaa<sub>25</sub> es Ala.
- 15 118. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-117, en donde Xaa<sub>26</sub> es Arg.
119. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-118, en donde Xaa<sub>27</sub> es Glu.
120. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-119, en donde Xaa<sub>30</sub> es Ala.
- 20 121. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-120, en donde Xaa<sub>31</sub> es Trp.
122. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-121, en donde Xaa<sub>33</sub> es Val.
- 25 123. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-122, en donde Xaa<sub>34</sub> es Arg.
124. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-122, en donde Xaa<sub>34</sub> es Gln.
125. El derivado de cualquiera de las modalidades 104-124, en donde Xaa<sub>35</sub> es Gly.
- 30 126. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-125, en donde el péptido comprende los siguientes cambios de aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1): (i) Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (ii) Aib8, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; o (iii) Aib8, Glu22, Arg26, Gln34, Lys36 y Lys37.
- 35 127. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-126, en donde el péptido tiene los siguientes cambios de aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1):
- (i) Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (ii) Aib8, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; o (iii) Aib8, Glu22, Arg26, Gln34, Lys36 y Lys37.
- 40 128. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-127, en donde el péptido es la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4.
129. Un compuesto, preferentemente, un derivado de GLP-1 de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, seleccionado de los siguientes: 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, y Quím. 36; o una sal, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.
- 45 130. Un compuesto, preferentemente, un compuesto de la modalidad 129, caracterizado por su nombre, y seleccionado de una lista de cada uno de los nombres de los compuestos de los Ejemplos 1-16 en la presente descripción; o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.
- 50 131. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-130, que tiene actividad GLP-1.
- 55 132. El derivado de la modalidad 131, en donde la actividad GLP-1 se refiere a la capacidad de activar el receptor de GLP-1 humano.
133. El derivado de la modalidad 132, en donde la activación del receptor de GLP-1 humano se mide en un ensayo in vitro, como la potencia de la producción de AMPc.
- 60 134. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-132, en donde la activación del receptor de GLP-1 humano se mide en un ensayo in vitro, en un ensayo de gen reportero.
135. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-134, en donde el ensayo se realiza en una línea celular BHK transfectada establemente que expresa el receptor de GLP-1 humano y contiene el ADN para el elemento de respuesta al AMPc (CRE) acoplado a un promotor y el gen para luciferasa de luciérnaga (CRE luciferasa).
- 65

## ES 2 741 507 T3

136. El derivado de la modalidad 135, en donde cuando se termina la incubación del ensayo se añade luciferina y se mide la luminiscencia.
- 5 137. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-136, en donde el ensayo se realiza en ausencia de albúmina sérica (0 % de HSA, concentración final en el ensayo).
138. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-137, en donde el ensayo se realiza en presencia de albúmina sérica (1,0 % de HSA, concentración final en el ensayo).
- 10 139. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-138, en donde las células son células BHK con BHKTS13 como una línea celular parental.
140. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-139, en donde las células se derivan del clon FCW467-12A.
- 15 141. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-140, en donde las células se cultivan en CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de cultivo celular, se dividen en alícuotas y se almacenan en nitrógeno líquido.
142. El derivado de la modalidad 141, en donde el medio de cultivo celular es FBS al 10 % (suero fetal bovino), G418 1 mg/ml, MTX 240 nM (metotrexato) y 1 % de pen/estrep (penicilina/estreptomicina).
- 20 143. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-142, en donde antes de cada ensayo se toma una alícuota de cultivo celular y se lava dos veces en PBS antes de suspenderse a la concentración deseada en el tampón de ensayo específico.
- 25 144. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-143, en donde se hace la suspensión para placas de 96 pocillos para obtener una concentración final de  $5 \times 10^3$  células/pocillo.
145. El derivado de cualquiera de las modalidades 143-144, en donde el tampón específico del ensayo es tampón de ensayo al 1 %, que consiste en 2 % de ovoalbúmina, 0,2 % de Pluronic F-68 y 2 % de HSA en medio de ensayo.
- 30 146. El derivado de cualquiera de las modalidades 143-144, en donde el tampón de ensayo es tampón de ensayo al 0 %, que consiste en 2 % de ovoalbúmina y 0,2 % de Pluronic F-68 en medio de ensayo.
147. El derivado de cualquiera de las modalidades 145-146, en donde el medio de ensayo consiste en DMEM sin rojo de fenol, Hepes 10 Mm y Glutamax 1x.
- 35 148. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-147, en donde el procedimiento del ensayo comprende las etapas siguientes:
- 40 i) Las reservas de células se descongelan en un baño de agua a 37 °C;
- ii) las células se lavan tres veces en PBS;
- iii) las células se cuentan y se ajustan a  $5 \times 10^3$  células/50  $\mu$ l ( $1 \times 10^5$  células/ml) en medio de ensayo, y se transfiere una alícuota de 50  $\mu$ l de células a cada pocillo en la placa de ensayo;
- 45 iv) las soluciones madre de los compuestos de prueba y los compuestos de referencia, en caso de haber, se diluyen a una concentración de 0,2  $\mu$ M en tampón de ensayo al 0 % para el ensayo con 0 % de HSA o tampón de ensayo al 1 % para el ensayo con 1 % de HSA; y los compuestos se diluyen 10 veces para obtener un intervalo adecuado de concentraciones (tales como:  $2 \times 10^{-7}$  M,  $2 \times 10^{-8}$  M;  $2 \times 10^{-9}$  M,  $2 \times 10^{-10}$  M,  $2 \times 10^{-11}$  M,  $2 \times 10^{-12}$  M,  $2 \times 10^{-13}$  M y  $2 \times 10^{-14}$  M), y para cada compuesto se incluye, además, un control con un blanco de tampón de ensayo;
- 50 v) se transfiere una alícuota de 50  $\mu$ l de compuesto o blanco por triplicado desde la placa de dilución a la placa de ensayo, y los compuestos se prueban a concentraciones adecuadas (tales como las siguientes concentraciones finales:  $1 \times 10^{-7}$  M,  $1 \times 10^{-8}$  M;  $1 \times 10^{-9}$  M,  $1 \times 10^{-10}$  M,  $1 \times 10^{-11}$  M,  $1 \times 10^{-12}$  M,  $1 \times 10^{-13}$  M y  $1 \times 10^{-14}$  M);
- vi) la placa de ensayo se incuba durante 3 h en una incubadora con CO<sub>2</sub> al 5 % a 37 °C;
- vii) la placa de ensayo se retira de la incubadora y se deja reposar a temperatura ambiente durante 15 min;
- ix) se añade una alícuota de 100  $\mu$ l de luciferina (tal como reactivo steadylite plus) a cada pocillo de la placa de ensayo;
- 55 ix) cada placa de ensayo se cubre para protegerla de la luz y se agita durante 30 min a temperatura ambiente; y
- x) cada placa de ensayo se lee, por ejemplo, en un instrumento Packard TopCount NXT.
149. El derivado de la modalidad 148, en donde los datos, por ejemplo, del instrumento TopCount se transfieren a un programa informático adecuado tal como GraphPad Prism 5 para realizar los cálculos deseados.
- 60 150. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-149, en donde los valores para cada triplicado se promedian, se realiza una regresión no lineal, y se calculan los valores de EC<sub>50</sub>.
151. El derivado de cualquiera de las modalidades 149-150, en donde la regresión es log(agonista) frente a la respuesta.
- 65

## ES 2 741 507 T3

152. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-133, en donde la potencia se determina como se describió en cualquiera de las modalidades 134-151.
- 5 153. El derivado de cualquiera de las modalidades 131-152, en donde la potencia se determina como se describe en el ejemplo 29.
154. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-153, que tiene una potencia que corresponde a una  $EC_{50}$  a 0 % de HSA
- 10 a) inferior a 60 pM, preferentemente, inferior a 40 pM, con mayor preferencia, inferior a 20 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 10 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 8,0 pM;
- b) inferior a 7,0 pM, preferentemente, inferior a 6,0 pM, con mayor preferencia, inferior a 5,0 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 4,0 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 3,0 pM; o
- 15 c) inferior a 2,5 pM, preferentemente, inferior a 2,0 pM, con mayor preferencia, inferior a 1,5 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 1,2 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 1,0 pM.
155. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-153, que tiene una potencia que corresponde a una  $EC_{50}$  a 1,0 % de HSA
- 20 a) inferior a 600 pM, preferentemente, inferior a 500 pM, con mayor preferencia, inferior a 450 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 400 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 300 pM;
- b) inferior a 270 pM, preferentemente, inferior a 200 pM, con mayor preferencia, inferior a 250 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 100 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 50 pM; o
- 25 c) inferior a 40 pM, preferentemente, inferior a 35 pM, con mayor preferencia, inferior a 30 pM, aún con mayor preferencia, inferior a 25 pM, o con la máxima preferencia, inferior a 20 pM.
156. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-155, cuyo valor de  $EC_{50}$  de la potencia in vitro, a 0 % de HSA y/o 1,0 % de HSA, es menor del de la semaglutida.
157. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-156, cuyo valor de  $EC_{50}$  de la potencia in vitro, a 0 % de HSA y/o 1,0 % de HSA, es de o inferior al 50 % del valor de  $EC_{50}$  de la semaglutida.
- 30 158. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-157, cuyo valor de  $EC_{50}$  de la potencia in vitro, a 0 % de HSA y/o 1,0 % de HSA, es de o inferior al 30 % del valor de  $EC_{50}$  de la semaglutida.
159. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-158, cuyo valor de  $EC_{50}$  de la potencia in vitro, a 0 % de HSA y/o 1,0 % de HSA, es de o inferior al 20 % del valor de  $EC_{50}$  de la semaglutida.
- 35 160. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-159, cuyo valor de  $EC_{50}$  de la potencia in vitro, a 0 % de HSA y/o 1,0 % de HSA, es de o inferior al 10 % del valor de  $EC_{50}$  de la semaglutida.
- 40 161. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-160, que es capaz de unirse al receptor de GLP-1 humano.
162. El derivado de la modalidad 161, donde la actividad de unión al receptor se determina in vitro.
163. El derivado de cualquiera de las modalidades 161-162, donde la unión al receptor se mide en un ensayo de unión competitiva, donde un ligando marcado tal como  $^{125}I$ -GLP-1 se une al receptor, el derivado se añade en una serie de concentraciones deseadas, y se monitorea el desplazamiento del ligando marcado, preferentemente, mediante el uso de un ensayo de unión SPA.
- 45 164. El derivado de la modalidad 163, donde la unión al receptor se informa como la concentración a la cual la mitad del ligando marcado se desplaza del receptor (el valor de  $IC_{50}$ ).
- 50 165. El derivado de cualquiera de las modalidades 161-164, en donde la activación del receptor de GLP-1 humano se mide como la afinidad de unión al receptor de GLP-1 ( $IC_{50}$ ) en una concentración muy baja de albúmina sérica (aproximadamente 0,001 % de HSA, concentración final en el ensayo), y/o en una concentración alta de albúmina sérica (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo).
- 55 166. El derivado de cualquiera de las modalidades 161-165, en donde se usan membranas aisladas que contienen el receptor de GLP-1 humano.
- 60 167. El derivado de la modalidad 166, en donde las membranas se preparan a partir de células que expresan el receptor de GLP-1 humano.
168. El derivado de la modalidad 167, en donde las células son células BHK.
- 65 169. El derivado de la modalidad 168, en donde las células BHK tienen a BHKTS13 como una línea celular parental.
170. El derivado de la modalidad 169, en donde las células son células BHK del clon FCW467-12A.



## ES 2 741 507 T3

171. El derivado de cualquiera de las modalidades 161-170, en donde la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>) se determina como se describe en el Ejemplo 30.
172. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-171, para el cual la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>) en presencia de albúmina baja (aproximadamente 0,001 % de HSA, concentración final en el ensayo) es
- inferior a 12 nM, preferentemente, inferior a 6,0 nM, con mayor preferencia, inferior a 3,0 nM, aún con mayor preferencia, inferior a 1,5 nM, aún con mayor preferencia, inferior a 1,0 nM, o con la máxima preferencia, inferior a 0,50 nM;
  - inferior a 0,20 nM, preferentemente, inferior a 0,18 nM, aún con mayor preferencia, inferior a 0,16 nM, o con la máxima preferencia, inferior a 0,15 nM; o
  - inferior a 0,14 nM, preferentemente, inferior a 0,13 nM, o con mayor preferencia, inferior a 0,12 nM.
173. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-172, para el cual la afinidad de unión al receptor de GLP-1 (IC<sub>50</sub>) en presencia de albúmina alta (2,0 % de HSA, concentración final en el ensayo) es
- inferior a 1000 nM, preferentemente, inferior a 500 nM, con mayor preferencia, inferior a 300 nM;
  - inferior a 200 nM, preferentemente, inferior a 100 nM, con mayor preferencia, inferior a 80 nM; o
  - inferior a 70 nM, preferentemente, inferior a 40 nM, o con mayor preferencia, inferior a 30 nM.
174. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-173, que tiene un perfil de acción más prolongado que la liraglutida y/o la semaglutida.
175. El derivado de la modalidad 174, en donde el perfil de acción prolongado se refiere a la vida media terminal in vivo en una especie animal relevante, tal como ratones db/db, rata, cerdo y perro, preferentemente, minicerdo y/o perro Beagle; en donde el derivado se administra i) s.c., y/o, ii) i.v.; preferentemente, ii) i.v.
176. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-175, en donde la vida media terminal (t<sub>1/2</sub>) después de la administración i.v. en minicerdos es
- al menos 12 horas, preferentemente, al menos 18 horas, con mayor preferencia, al menos 24 horas, aún con mayor preferencia, al menos 30 horas, o con la máxima preferencia, al menos 36 horas;
  - al menos 50 horas, preferentemente, al menos 55 horas, con mayor preferencia, al menos 60 horas, aún con mayor preferencia, al menos 65 horas, o con la máxima preferencia, al menos 70 horas; o
  - al menos 74 horas, preferentemente, al menos 80 horas, con mayor preferencia, al menos 85 horas, aún con mayor preferencia, al menos 90 horas, aún con mayor preferencia, al menos 95 horas, o con la máxima preferencia, al menos 100 horas.
177. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-176, en donde la vida media terminal (t<sub>1/2</sub>) después de la administración i.v. en minicerdos es
- al menos a la par con la de la semaglutida;
  - al menos 25 % mayor que la de la semaglutida;
  - al menos 50 % mayor que la de la semaglutida; o
  - al menos 80 % mayor que la de la semaglutida.
178. El derivado de cualquiera de las modalidades 175-177, en donde los minicerdos son hembras, preferentemente, obtenidas de Ellegaard Göttingen Minipigs.
179. El derivado de cualquiera de las modalidades 175-178, en donde los minicerdos tienen aproximadamente 5 meses de edad, y, preferentemente, pesan aproximadamente 10 kg.
180. El derivado de cualquiera de las modalidades 175-180, en donde los minicerdos se alojan en corrales con lecho de paja, de cuatro a seis juntos en cada corral y se alimentan una o dos veces al día, preferentemente, con dieta Altromin 9023 para minicerdos.
181. El derivado de cualquiera de las modalidades 175-180, en donde el derivado se dosifica, i.v., después de un período de aclimatación de 1 semana.
182. El derivado de cualquiera de las modalidades 175-181, en donde el derivado de GLP-1 se disuelve en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 70 mM, tween 80 al 0,05 %, pH 7,4 hasta una concentración adecuada, tal como 20 nmol/ml.
183. El derivado de cualquiera de las modalidades 175-182, en donde las inyecciones intravenosas del derivado se dan en un volumen que corresponde a, por ejemplo, 2 nmol/kg.
184. El derivado de cualquiera de las modalidades 175-183, en donde la vida media terminal (t<sub>1/2</sub>) se determina en estudios farmacocinéticos in vivo en minicerdos, por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 31.

## ES 2 741 507 T3

185. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-184, en donde la vida media terminal ( $t_{1/2}$ ) después de la administración i.v. a perros Beagle es
- 5 a) al menos 10 horas, preferentemente, al menos 20 horas, con mayor preferencia, al menos 30 horas, aún con mayor preferencia, al menos 40 horas, o con la máxima preferencia, al menos 50 horas; o
- b) al menos 60 horas, preferentemente, al menos 65 horas, con mayor preferencia, al menos 70 horas, aún con mayor preferencia, al menos 75 horas, aún con mayor preferencia, al menos 80 horas, o con la máxima preferencia, al menos 85 horas.
186. El derivado de cualquiera de las modalidades 1-185, en donde la vida media terminal ( $t_{1/2}$ ) después de la administración i.v. a perros Beagle es
- 10 a) al menos a la par con la de la semaglutida;
- b) al menos 10 % mayor que la de la semaglutida;
- c) al menos 25 % mayor que la de la semaglutida; o
- 15 d) al menos 40 % mayor que la de la semaglutida.
187. El derivado de cualquiera de las modalidades 185-186, en donde los perros Beagle son machos y hembras (50:50), preferentemente, obtenidos de Harland.
188. El derivado de cualquiera de las modalidades 185-187, en donde los perros Beagle tienen de 21 a 30 meses de edad y pesan aproximadamente 10-12 kg al inicio de los estudios.
189. El derivado de cualquiera de las modalidades 185-188, en donde los perros Beagle se alojan en corrales (12 horas de luz : 12 horas de oscuridad), preferentemente, con lecho de gránulos a base de madera blanda, dos juntos en cada corral, y se alimentan una vez al día, preferentemente, con la dieta SPECIFIC™ Struvite Management.
- 25 189. El derivado de cualquiera de las modalidades 185-188, en donde el derivado se dosifica, i.v., después de un período de aclimatación de 4 semanas.
190. El derivado de cualquiera de las modalidades 185-189, en donde el derivado de GLP-1 se disuelve en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 70 mM, 70 ppm de Polisorbato 20, pH 7,4 hasta una concentración adecuada, tal como 20 nmol/ml.
- 30 191. El derivado de cualquiera de las modalidades 185-190, en donde las inyecciones intravenosas del derivado se dan en un volumen que corresponde a, por ejemplo, 2 nmol/kg.
- 35 192. El derivado de cualquiera de las modalidades 185-191, en donde la vida media terminal ( $t_{1/2}$ ) se determina en estudios farmacocinéticos in vivo en perros Beagle, por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 32.
193. Un péptido GLP-1 que comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y sin otros residuos de Lys, o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.
- 40 194. El péptido de la modalidad 193, que tiene un máximo de siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), preferentemente, un máximo de seis cambios de aminoácidos, con mayor preferencia, un máximo de cinco cambios de aminoácidos.
- 45 195. El péptido de cualquiera de las modalidades 193-194, que comprende uno o más de los siguientes cambios de aminoácidos adicionales: Aib8, Glu22, Arg26, y/o (Arg34 o Gln34).
- 50 196. El péptido de cualquiera de las modalidades 193-195, que comprende los siguientes cambios de aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1): (i) Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (ii) Aib8, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; o (iii) Aib8, Glu22, Arg26, Gln34, Lys36 y Lys37.
- 55 197. El derivado de cualquiera de las modalidades 193-196, que tiene los siguientes cambios de aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1):
- (i) Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (ii) Aib8, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; o (iii) Aib8, Glu22, Arg26, Gln34, Lys36 y Lys37.
- 60 198. El péptido de cualquiera de las modalidades 193-197, que es la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4.
199. El péptido de cualquiera de las modalidades 193-198, en donde la comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se hace por escritura e inspección visual.
- 65

200. El péptido de cualquiera de las modalidades 193-199, en donde la comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) se hace mediante el uso de un programa estándar de alineación de proteínas o péptidos.

201. El péptido de la modalidad 200, en donde el programa de alineación es una alineación de Needleman-Wunsch.

202. El péptido de cualquiera de las modalidades 193-201, en donde se usan la matriz de puntuación predeterminada y la matriz de identidad predeterminada.

203. El péptido de cualquiera de las modalidades 193-202, en donde la matriz de puntuación es BLOSUM62.

204. El péptido de cualquiera de las modalidades 193-203, en donde la penalización por el primer residuo en un hueco es -10 (menos diez).

205. El péptido de cualquiera de las modalidades 193-204, en donde las penalizaciones por residuos adicionales en un hueco es -0,5 (menos cero coma cinco).

206. Un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-192, o un péptido de acuerdo con cualquiera de las modalidades 193-205, para su uso como un medicamento.

207. Un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-192, o un péptido de acuerdo con cualquiera de las modalidades 193-205, para su uso en el tratamiento y/o prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos de la alimentación, 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 prevenir la progresión de la enfermedad diabética.

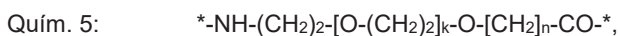
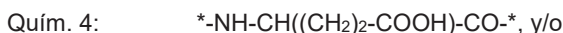
208. El uso de un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-192, o un péptido de acuerdo con cualquiera de las modalidades 193-205, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos de la alimentación, 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 prevenir la progresión de la enfermedad diabética.

209. Un método para tratar o prevenir todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos de la alimentación, 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 prevenir la progresión de la enfermedad diabética, mediante la administración de una cantidad activa farmacéuticamente de un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-192, o un péptido de acuerdo con cualquiera de las modalidades 193-205.

La invención se refiere, además, a un derivado de un péptido GLP-1, cuyo péptido comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y un máximo de siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), cuyo derivado comprende un primer y un segundo prolongador unidos a dichos primer y segundo residuos de Lys, respectivamente, a través de un primer y un segundo enlazador, respectivamente, en donde el primer y el segundo prolongador se seleccionan de:



en donde y es un número entero en el intervalo de 9-11, y x es 12; y el primer y el segundo enlazador comprenden al menos uno de:



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, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este;

así como también, cualquiera de las modalidades anteriores 2-209, adjuntas a la presente como modalidades dependientes, con los cambios necesarios y/o por analogía.

Las siguientes son modalidades de la invención particulares adicionales:

i) Un derivado de un péptido GLP-1, cuyo péptido comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y un máximo de siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1); cuyo derivado comprende dos prolongadores unidos a dichos primer y segundo residuos de Lys, respectivamente, cada uno a través de un enlazador; en donde el prolongador se selecciona de:

Quím. 1:  $\text{HOOC-C}_6\text{H}_4\text{-O-(CH}_2\text{)}_y\text{-CO}^*$ , y

Quím. 2:  $\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_x\text{-CO}^*$ ,

en donde y es un número entero en el intervalo de 9-11, y x es 12; y

el enlazador comprende al menos uno de:

Quím. 3:  $^*\text{-NH-CH(COOH)-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO}^*$ ,

Quím. 4:  $^*\text{-NH-CH((CH}_2\text{)}_2\text{-COOH)-CO}^*$ , y/o

Quím. 5:  $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-[O-(CH}_2\text{)}_2\text{]}_k\text{-O-[CH}_2\text{]}_n\text{-CO}^*$ ,

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, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.

ii). El derivado de la modalidad i), en donde el Quím. 5 se representa por Quím. 5b:  $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-CH}_2\text{-CO}^*$ , y el enlazador consiste en dos elementos Quím. 3, y dos elementos Quím. 5b ( $2 \times \text{Quím.3} - 2 \times \text{Quím.5b}$ ), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo  $^*\text{-NH}$  al extremo  $\text{CO}^*$  del prolongador, y en su extremo  $\text{CO}^*$  al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

iii). El derivado de la modalidad i), en donde el Quím. 5 se representa por Quím. 5b:  $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-CH}_2\text{-CO}^*$ , y el enlazador consiste en un elemento Quím. 3, y dos elementos Quím. 5b ( $\text{Quím.3} - 2 \times \text{Quím.5b}$ ), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo  $^*\text{-NH}$  al extremo  $\text{CO}^*$  del prolongador, y en su extremo  $\text{CO}^*$  al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

iv). El derivado de la modalidad i), en donde el Quím. 5 se representa por Quím. 5b:  $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-CH}_2\text{-CO}^*$ , y el enlazador consiste en un elemento Quím. 3, y tres elementos Quím. 5b ( $\text{Quím.3} - 3 \times \text{Quím.5b}$ ), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectados en su extremo  $^*\text{-NH}$  al extremo  $\text{CO}^*$  del prolongador, y en su extremo  $\text{CO}^*$  al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

v). El derivado de la modalidad i), en donde el Quím. 5 se representa por Quím. 5b:  $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-CH}_2\text{-CO}^*$ , y el enlazador consiste en dos elementos Quím. 4, y un elemento Quím. 5b ( $2 \times \text{Quím.4} - \text{Quím.5b}$ ), interconectados a través de enlaces amida y en la secuencia indicada, conectado en su extremo  $^*\text{-NH}$  al extremo  $\text{CO}^*$  del prolongador, y en su extremo  $\text{CO}^*$  al grupo épsilon amino del primer o del segundo residuo de Lys del péptido GLP-1.

vi). El derivado de cualquiera de las modalidades i)-v), en donde en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1) el péptido comprende los cambios de aminoácidos de Lys36 y Lys37, y uno o más de los siguientes cambios de aminoácidos adicionales: Aib8, Glu22, Arg26, y/o (Arg34 o Gln34).

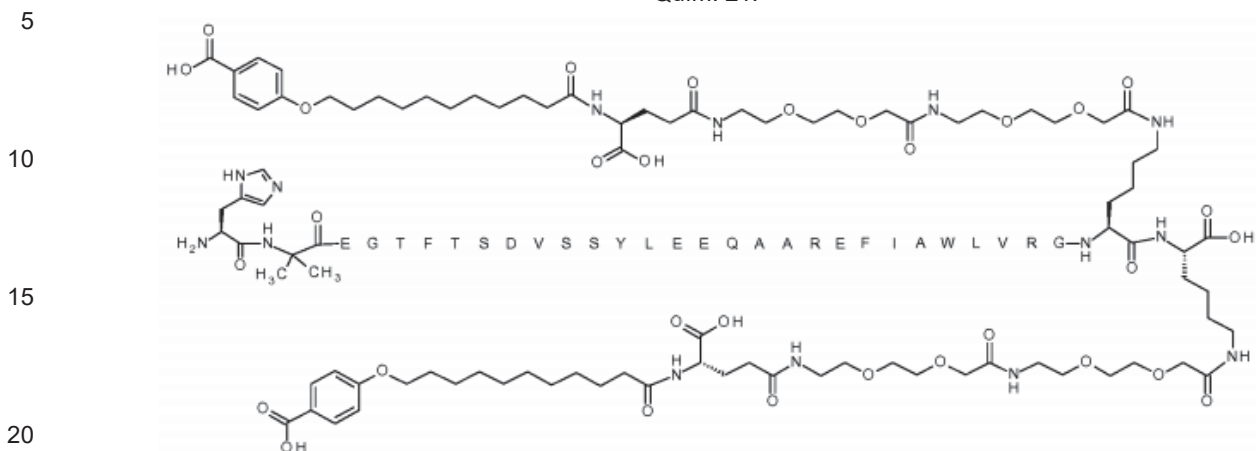
vii). El derivado de cualquiera de las modalidades i)-vi), en donde el péptido comprende los siguientes cambios de aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1): (i) Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (ii) Aib8, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; o (iii) Aib8, Glu22, Arg26, Gln34, Lys36 y Lys37.

viii). El derivado de cualquiera de las modalidades i)-vii), en donde el péptido es la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4.

ix). Un compuesto seleccionado de los siguientes:  $\text{N}\{\text{Épsilon-36}\}\text{-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]$ ,  $\text{N}\{\text{Épsilon-37}\}\text{-[2-[2-[2-[2-[2-$

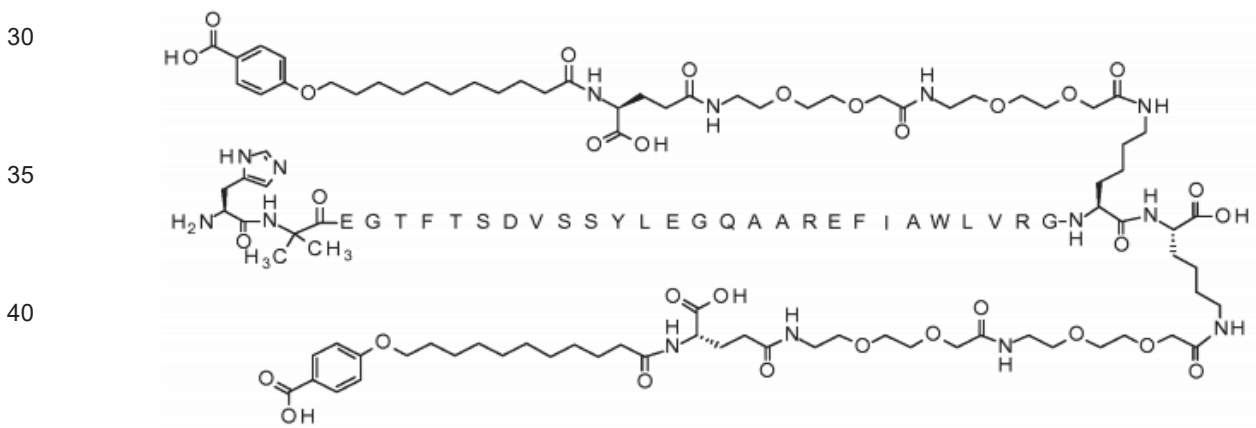
[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

Quím. 21:



25 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

Quím. 22:



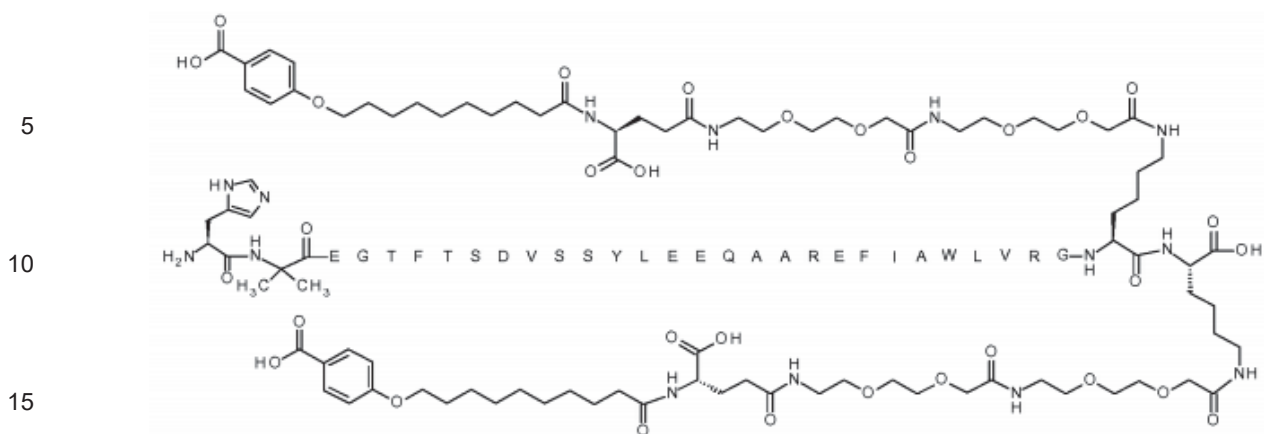
50 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

Quím. 23:

55

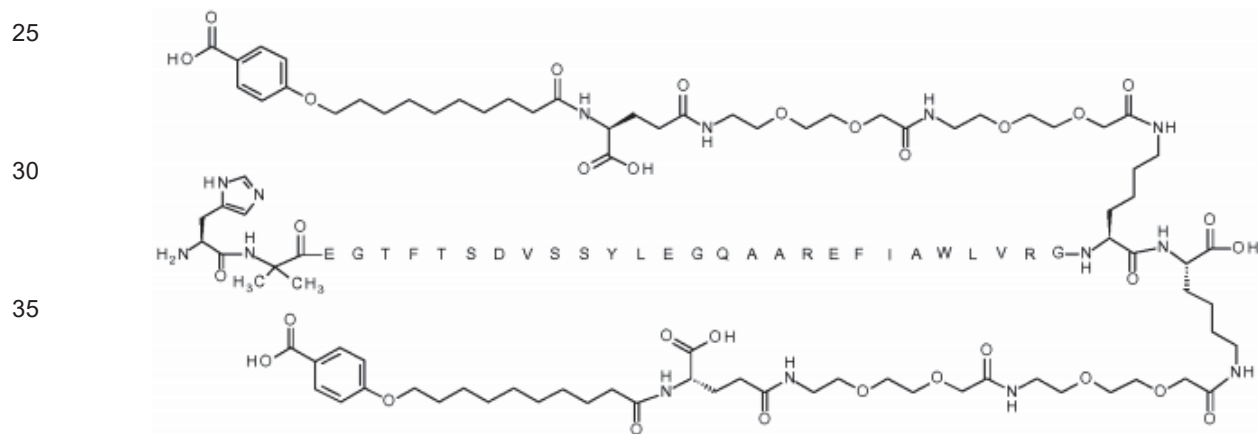
60

65



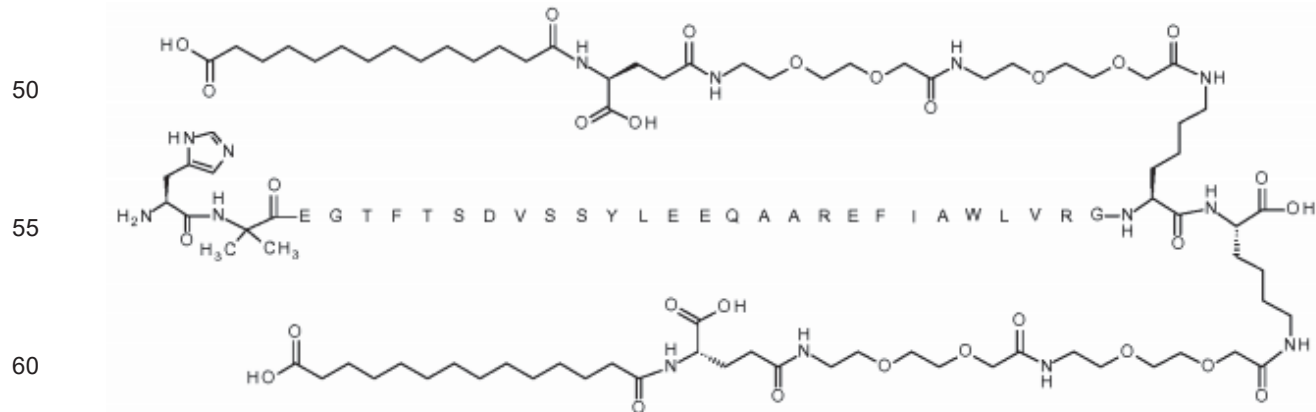
N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S]-4-carboxy-4-[10-(4-carboxyphenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S]-4-carboxy-4-[10-(4-carboxyphenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

Quím. 24:



N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S]-4-carboxy-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S]-4-carboxy-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

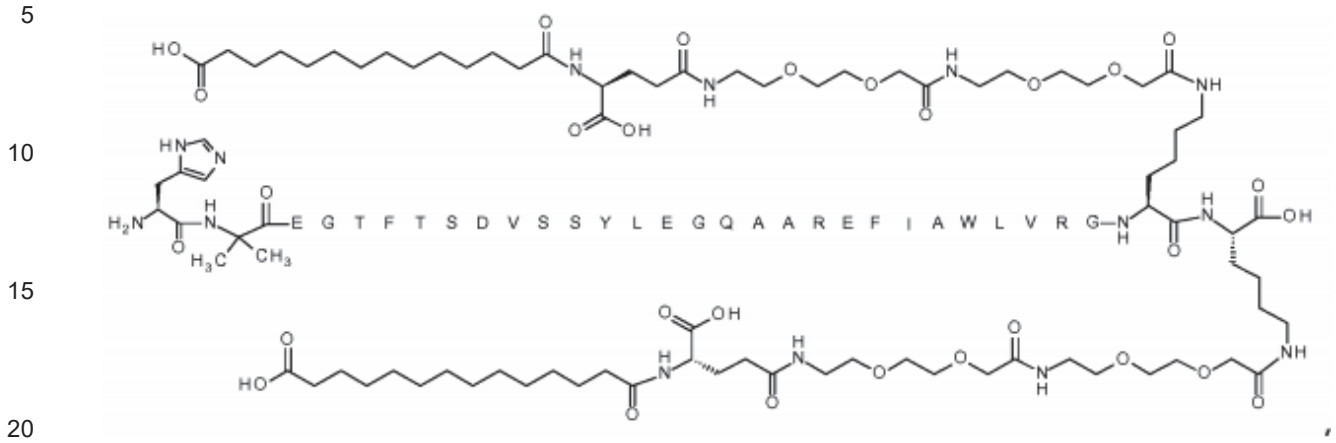
Quím. 25:



N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S]-4-carboxy-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S]-4-carboxy-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

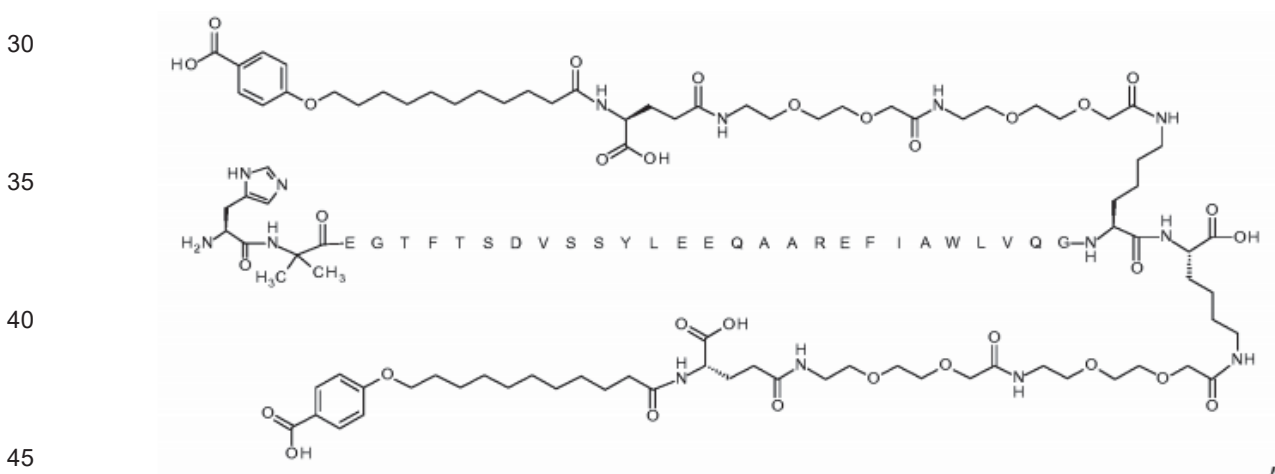
[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-  
[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

Quím. 26:



N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[11-(4-  
carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-  
[[[(4S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-  
[Aib8, Glu22,Arg26, Gln34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

Quím. 27:



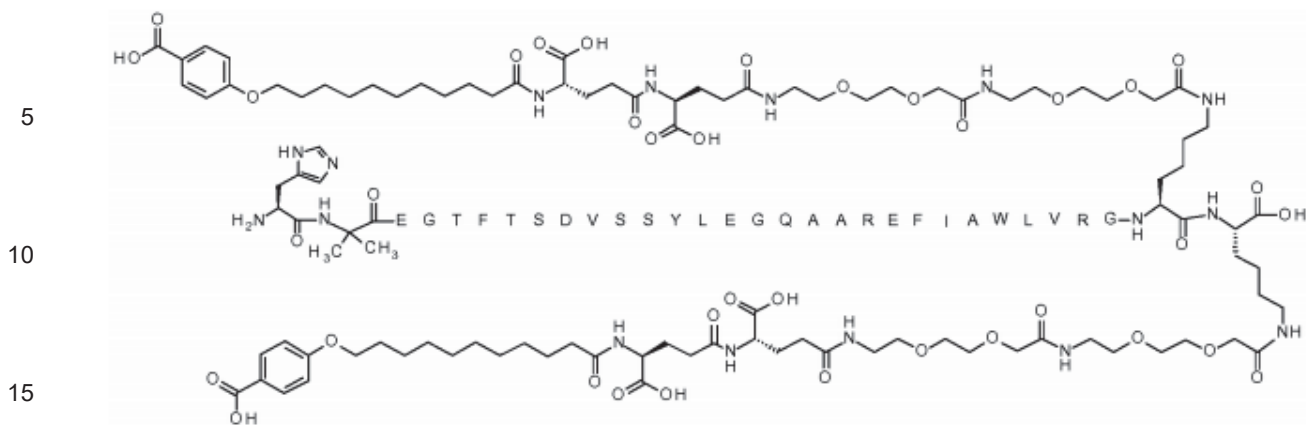
N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[11-(4-  
carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-  
37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[11-(4-  
carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-  
[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

Quím. 28:

55

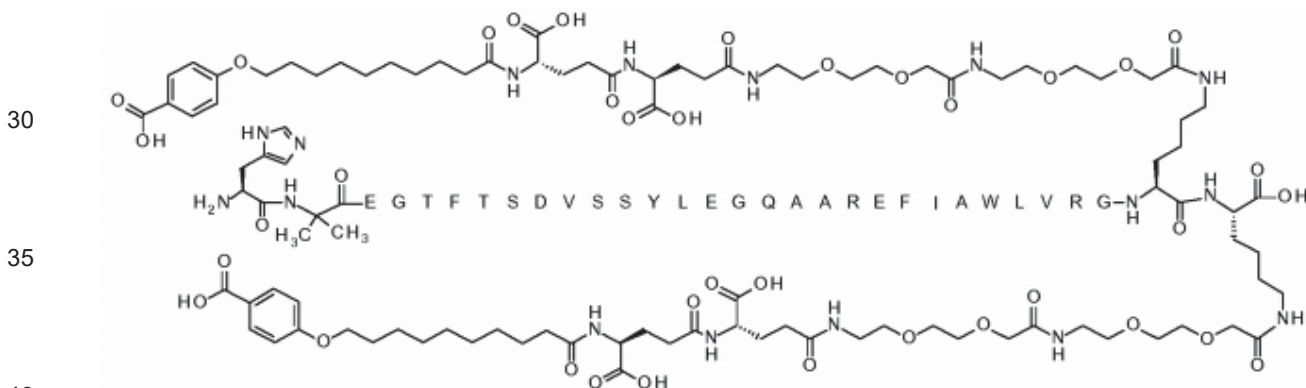
60

65



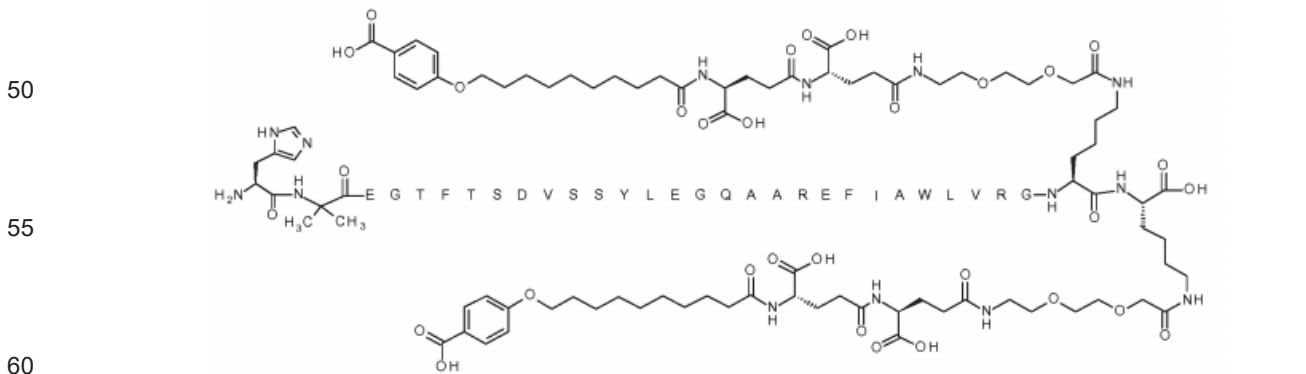
20 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido.

25 Quím. 29:



45 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

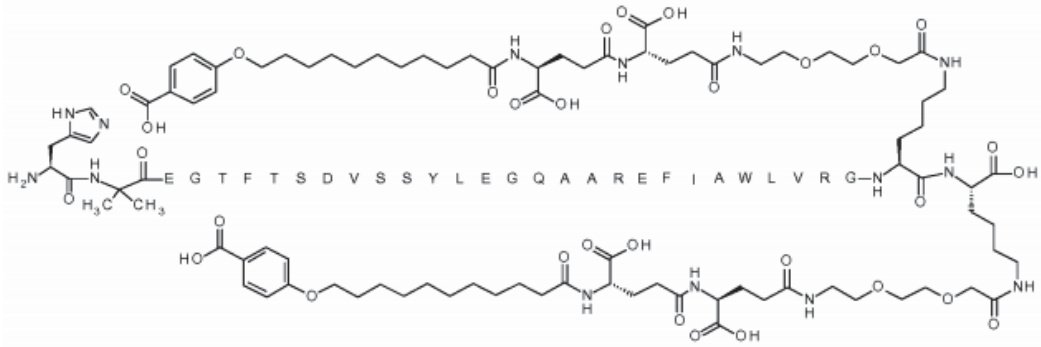
50 Quím. 30:



65 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,



5



10

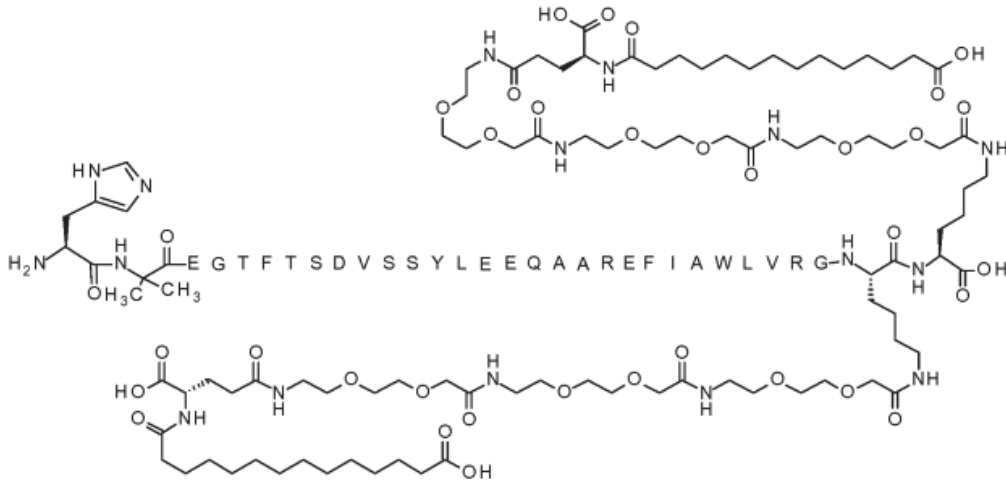
15

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

20

Quím. 32:

25



30

35

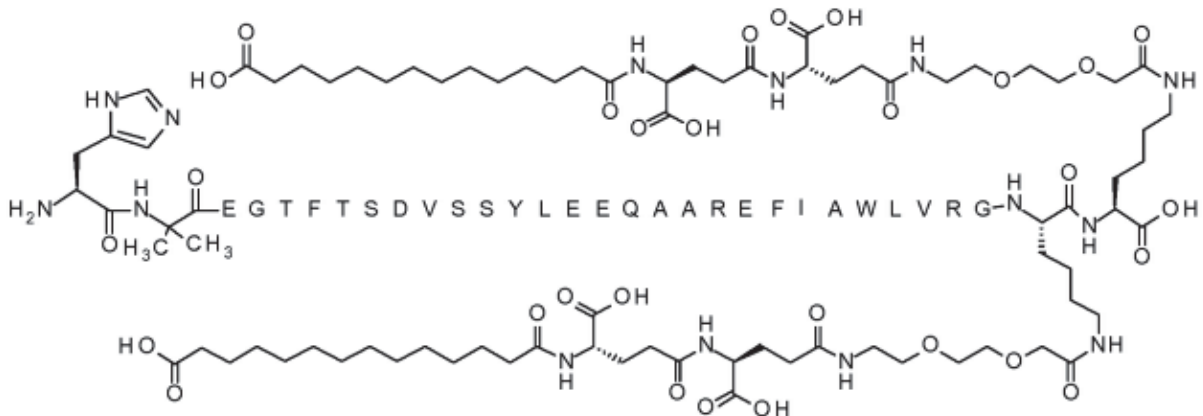
40

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[(4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[(4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

45

Quím. 33:

50



55

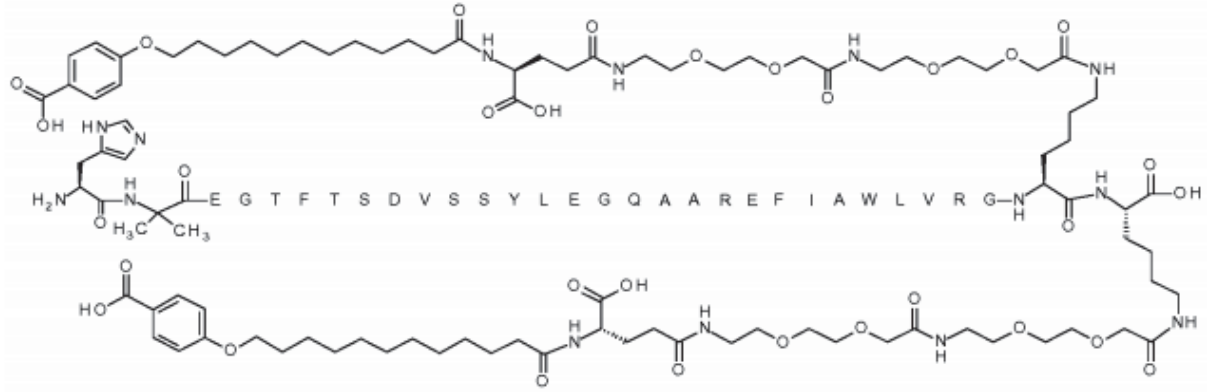
60

65

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-

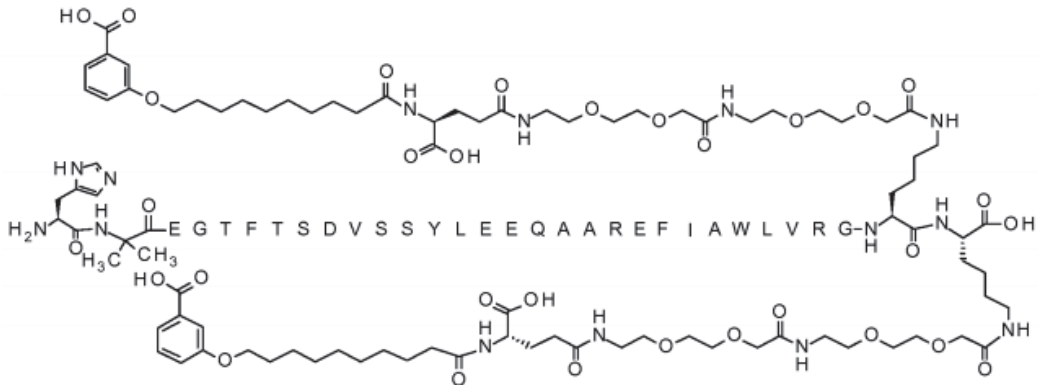
[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

Quím. 34:



N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

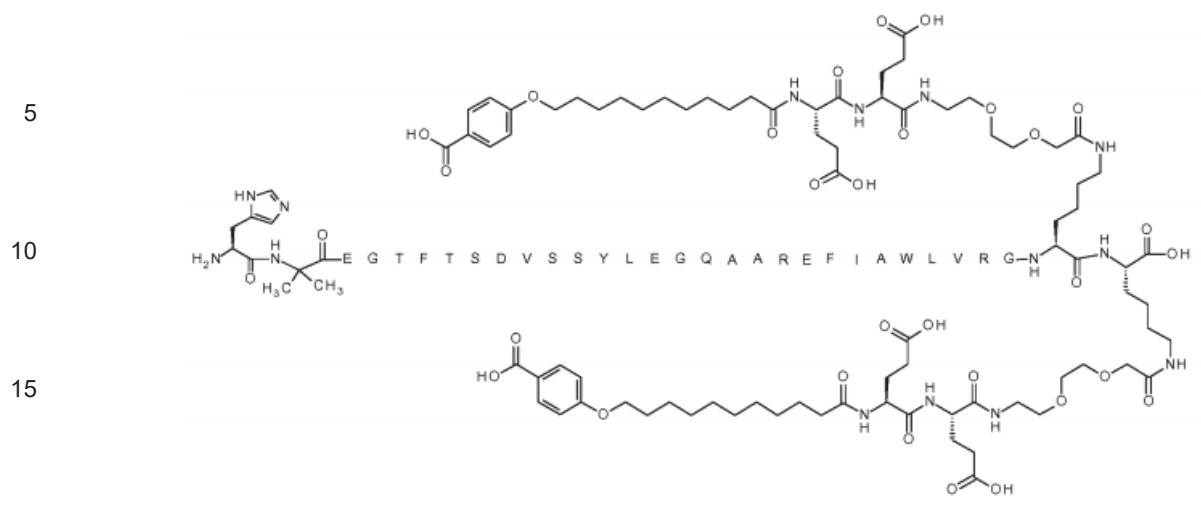
Quím. 35:



N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[[2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[[2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

y

Quím. 36:



x). Un péptido GLP-1 que comprende un primer residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y sin otros residuos de Lys, o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.

xi). El péptido de la modalidad x), que tiene un máximo de siete cambios de aminoácidos en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1).

xii). El péptido de cualquiera de las modalidades x)-xi), que comprende los siguientes cambios de aminoácidos, en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1): (i) Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; (ii) Aib8, Arg26, Arg34, Lys36 y Lys37; o (iii) Aib8, Glu22, Arg26, Gln34, Lys36 y Lys37.

xiv). El péptido de cualquiera de las modalidades x)-xii), que es la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 4.

xiv). Un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades i)-ix), o un péptido de acuerdo con cualquiera de las modalidades x)-xiii) para su uso como un medicamento.

xv). Un derivado de acuerdo con cualquiera de las modalidades i)-ix), o un péptido de acuerdo con cualquiera de las modalidades x)-xiii), para su uso en el tratamiento y/o prevención de todas las formas de diabetes y enfermedades relacionadas, tales como trastornos de la alimentación, 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 prevenir la progresión de la enfermedad diabética.

## EJEMPLOS

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.

### Abreviaturas

Las siguientes abreviaturas se usan en lo siguiente, en orden alfabético:+

Aib:	ácido	α-aminoisobutírico
API:		Ingrediente farmacéutico activo
AUC:		Área bajo la curva
BG:		Glucosa en sangre
BHK		Riñón de hámster recién nacido
BW:		Peso Corporal
Bom:		benciloximetilo
Boc:		t-butiloxicarbonilo

	BSA:	Albúmina sérica bovina
	Bzl:	bencilo
	CAS:	Servicio de Resúmenes Químicos
	Cl:	2-clorotritilo
5	colidina:	2,4,6-trimetilpiridina
	DCM:	diclorometano
	Dde:	1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilideno)etilo
	DIC:	diisopropilcarbodiimida
	DIPEA:	diisopropiletilamina
10	DMAP:	4-dimetilaminopiridina
	DMEM:	Medio de Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM)
	EDTA:	ácido etilendiaminotetraacético
	EGTA:	ácido etilenglicoltetraacético
	FCS:	Suero de Ternera Fetal
15	Fmoc:	9-fluorenilmetiloxycarbonilo
	HATU:	(O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio hexafluorofosfato)
	HBTU:	(2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3 tetrametiluronio hexafluorofosfato)
	HEPES:	ácido 4-(2-hidroxi-etil)-1-piperazinetanosulfónico
	HFIP:	1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol o hexafluoroisopropanol
20	HOAt:	1-hidroxi-7-azabenzotriazol
	HOBt:	1-hidroxibenzotriazol
	HPLC:	Cromatografía Líquida de alto rendimiento
	HSA:	Albúmina sérica humana
	IBMX:	3-isobutil-1-metilxantina
25	Imp:	Ácido imidazopropiónico
	i.v.	vía intravenosa
	ivDde:	1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilideno)-3-metilbutilo
	IVGTT:	Prueba de Tolerancia a Glucosa Intravenosa
	LCMS:	Cromatografía Líquida Espectrometría de Masas
30	LYD:	Landrace Yorkshire Duroc
	MALDI-MS:	Ver MALDI-TOF MS
	MALDI-TOF MS:	Espectrometría de masas de desorción/ionización mediante láser asistida por matriz - tiempo de vuelo
	MeOH:	metanol
35	Mmt:	4-metoxitritilo
	Mtt:	4-metiltritilo
	NMP:	N-metil pirrolidona
	OBn:	Éster de bencilo
	OBz:	éster de benzoilo
40	Ado:	ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico
	OPfp:	pentafluorofenoxi
	OPnp:	para-nitrofenoxi
	OSu:	Ésteres de O-succinimidilo (ésteres de hidroxisuccinimida)
	OSuc:	2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilo
45	OtBu:	éster de terc-butilo
	Oxyrna Pure®:	Éster etílico de ácido ciano-hidroxiimino-acético
	Pbf:	2,2,4,6,7-pentametildihydrobenzofuran-5-sulfonilo
	PBS:	Solución salina tamponada con fosfato
	PD:	Farmacodinámica
50	Pen/Estrep:	Penicilina/Estreptomicina
	PK:	Farmacocinética
	RP:	Fase inversa
	RP-HPLC:	Cromatografía Líquida de alto rendimiento de fase inversa
	RT:	Temperatura ambiente
55	Rt:	Tiempo de retención
	s.c.:	Vía subcutánea
	SD:	Desviación estándar
	SEC-HPLC:	Cromatografía Líquida de Alta Resolución de Exclusión de Tamaño
	SEM:	Error estándar de la media
60	SPA:	Ensayo de Proximidad por Centelleo
	SPPS:	Síntesis de péptidos en fase sólida
	tBu:	terc-butilo
	TFA:	ácido trifluoroacético
	TIS:	triisopropilsilano
65	TLC:	Cromatografía de Capa Delgada
	Tos:	tosilato (o para-toluenosulfonilo)

Tris:	tris(hidroxiometil)aminometano o 2-amino-2-hidroxiometil -propano-1,3-diol
Trt:	trifenilmetilo (tritilo)
Trx:	ácido tranexámico
5 UPLC:	Cromatografía líquida de ultra rendimiento

## Métodos de preparación

### A. Métodos Generales

#### 10 A1. Métodos de preparación

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 se presenta 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. Donde 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, Boc-His(Boc)-OH, o Boc-His(Trt)-OH para los péptidos con His en el N-terminal). En el caso 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.

#### 35 1. Síntesis de la cadena principal peptídica protegida unida a la resina

##### Método:SPPS\_P

La SPPS\_P se realizó en un sintetizador de péptidos en fase sólida Prelude de Protein Technologies (Tucson, AZ 85714, EE.UU.) a una escala de 250 µmol mediante el uso de un exceso de seis veces de Fmoc-aminoácidos (300 mM en NMP con HOAt u Oxyma Pure® 300 mM) con relación a la carga de la resina, por ejemplo, carga baja 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 aminoácido/(HOAt u Oxyma Pure®)/DIC/colidina (3:3:3:4) 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, lo que incluye, pero no se limita a, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Aib-OH o Boc-His(Trt)-OH se "acoplaron doblemente", lo que significa que después del primer acoplamiento (por ejemplo, 60 min), la resina se drena y se añaden más reactivos (aminoácido, (HOAt u Oxyma Pure®), DIC, y colidina), y la mezcla se deja reaccionar de nuevo (por ejemplo, 60 min).

##### Método:SPPS\_L

La SPPS\_L se realizó en un sintetizador de péptidos Liberty basado en microondas de CEM Corp. (Matthews, NC 28106, EE.UU.) 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 u Oxyma Pure® 300 mM) con relación a la carga de la resina, por ejemplo carga baja de Fmoc-Lys(Mtt)-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 esta vez durante 2 minutos a 75 °C. El acoplamiento se realizó mediante el uso de aminoácido/(HOAt u Oxyma Pure®)/DIC (1:1:1) en NMP. Los tiempos y las temperaturas de acoplamiento fueron generalmente de 5 minutos a hasta 75 °C. Los tiempos de acoplamiento más largos se usaron para reacciones a mayor escala, por ejemplo, 10 min. Los aminoácidos histidina se acoplaron doblemente a 50 °C, o se acoplaron cuatro veces si el aminoácido anterior estaba impedido estéricamente (por ejemplo, Aib). Los aminoácidos arginina se acoplaron a RT durante 25 minutos y después se calentaron hasta 75 °C durante 5 min. Algunos aminoácidos, tales como, pero sin limitarse a Aib, se "acoplaron doblemente", lo que significa que después del primer acoplamiento (por ejemplo, 5 min a 75 °C), la resina se drena y se añaden más reactivos (aminoácidos, (HOAt u Oxyma Pure®) y DIC), y la mezcla se calienta de nuevo (por ejemplo, 5 min a 75 °C). Se realizaron lavados con NMP (5 x 10 ml) entre las etapas de desprotección y acoplamiento.

## 2. Síntesis de cadenas laterales

*Monoésteres de diácidos*

5 El reflujo durante toda la noche de los diácidos C8, C10, C12, C14, C16 y C18 con anhídrido de Boc DMAP *t*-butanol en tolueno proporciona 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.

## 10 3. Unión de las cadenas laterales a la cadena principal peptídica protegida unida a la resina

15 Cuando se presenta 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, en dependencia de la ruta para la unión del prolongador y el enlazador. La desprotección de Dde o ivDde se realizó con hidracina 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 como 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 (7 ml x 5). La porción de prolongación y/o el enlazador pueden unirse al péptido ya sea mediante la acilación del péptido unido a la resina o mediante la acilación en solución del péptido no protegido. En el caso de la unión de la porción de prolongación y/o el enlazador a la resina peptidil protegida la unión puede ser modular mediante el uso de SPPS y bloques de construcción adecuadamente protegidos.

25 *Método:SC\_P*

30 Si el grupo de protección de N- $\epsilon$ -lisina fue Mtt, el grupo Mtt se eliminó con HFIP puro (3 x 15 min) seguido por lavado con DCM y la acilación realizada en un sintetizador de péptidos Prelude ((Fmoc-AA 10 eq., DIC 10 eq. y HOAt 10 eq., colidina 10 eq. 30 min y piperidina al 25 % en NMP para eliminar el grupo Fmoc). El Fmoc-Glu-OtBu se acopló doblemente durante 4 horas. El residuo terminal se unió mediante el uso de condiciones similares.

*Método:SC\_L*

35 El grupo de protección de N- $\epsilon$ -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.

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

*Método:CP\_M1*

45 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  $\mu$ M, 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.

## 50 A2. Métodos Generales para la Detección y Caracterización

## 1. Métodos de LC-MS

*Método:LCMS\_4*

55 La 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  
B: Ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo. El análisis se realizó a RT mediante la inyección de un volumen apropiado de la muestra (preferentemente, 2-10  $\mu$ l) 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  $\mu$ m, 2,1 mm x 50 mm. Gradiente: 5 % - 95 % de acetonitrilo lineal durante 4,0 min (alternativamente, 8,0 min) a 0,4 ml/min. Detección: 214 nm (salida analógica de TUV (detector de UV ajustable)) modo de ionización MS: API-ES  
Barrido: 100-2000 amu (alternativamente, 500-2000 amu), etapa 0,1 amu.

## 65 2. Métodos de UPLC

Método:B4\_1

El análisis RP se llevó a cabo mediante el uso de un sistema Waters UPLC ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se recolectaron mediante el uso de una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1,7 µm, 2,1 mm x 150 mm, 40 °C. El sistema UPLC se conectó a dos recipientes de eluyente que contenían: A: 99,95 % H<sub>2</sub>O, 0,05 % TFA; B: 99,95 % CH<sub>3</sub>CN, 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 0,40 ml/min.

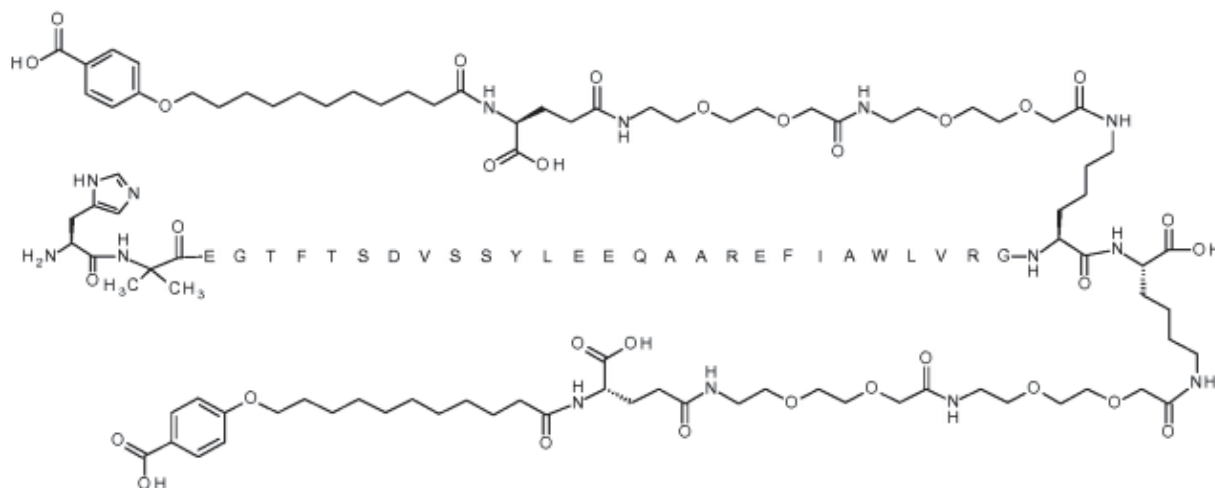
B. Síntesis de compuestos de la invención

Ejemplo 1

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 21:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,2 min, m/z: m/4= 1248, m/3=1663

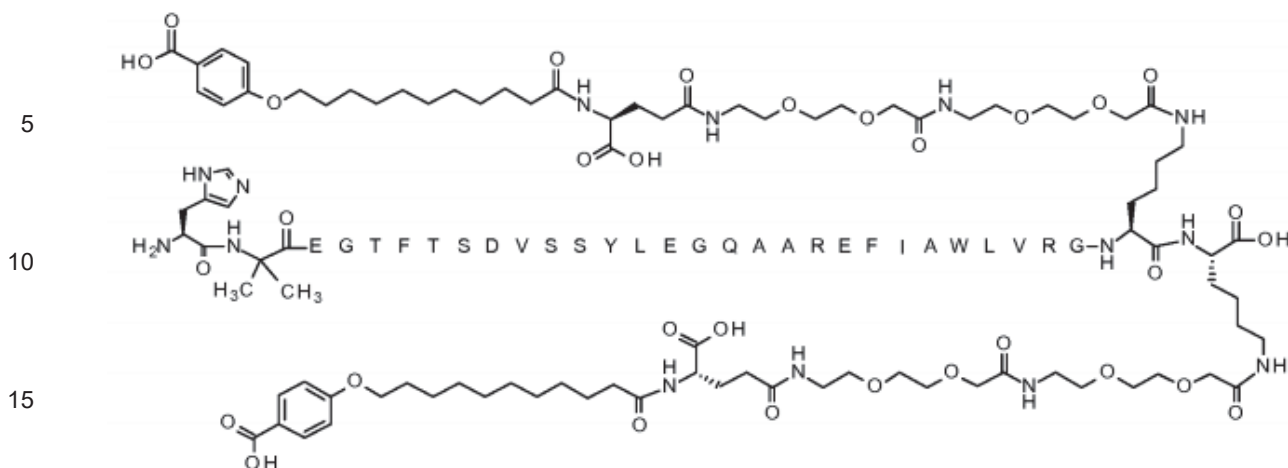
UPLC\_B4\_1: Rt = 7,2 min

Ejemplo 2

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 22:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_L; CP\_M1

20 LCMS\_4: Rt = 2,2 min m/z: m/4= 1230, m/3=1639

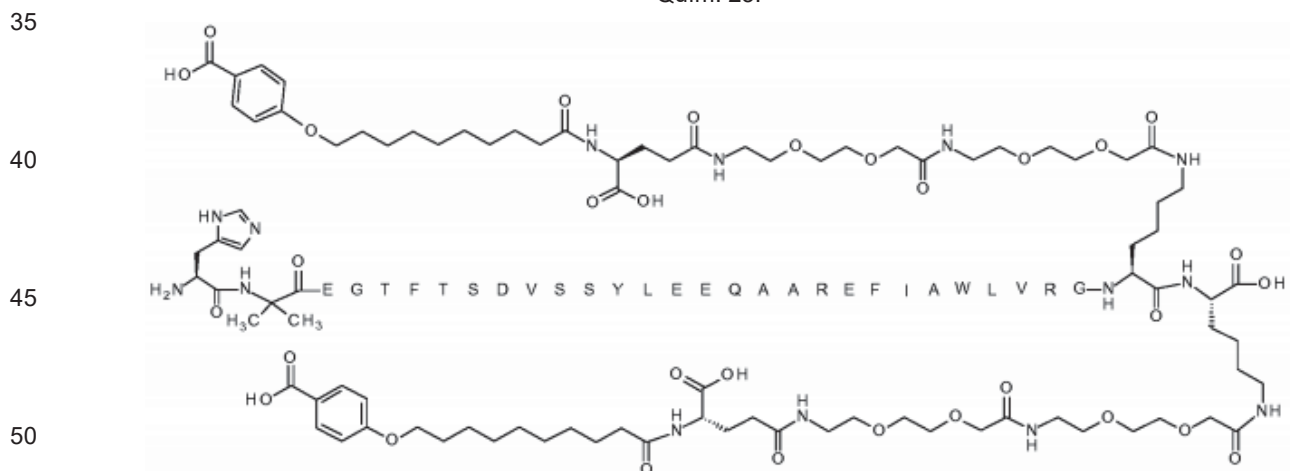
UPLC\_B4\_1: Rt = 8,9 min

25 Ejemplo 3

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

30 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 23:



Método de preparación: SPPS\_L; SC\_L; CP\_M1

55 LCMS\_4: Rt = 2,2 min, m/z: m/4= 1241, m/3=1654

UPLC\_B4\_1: Rt = 8,5 min

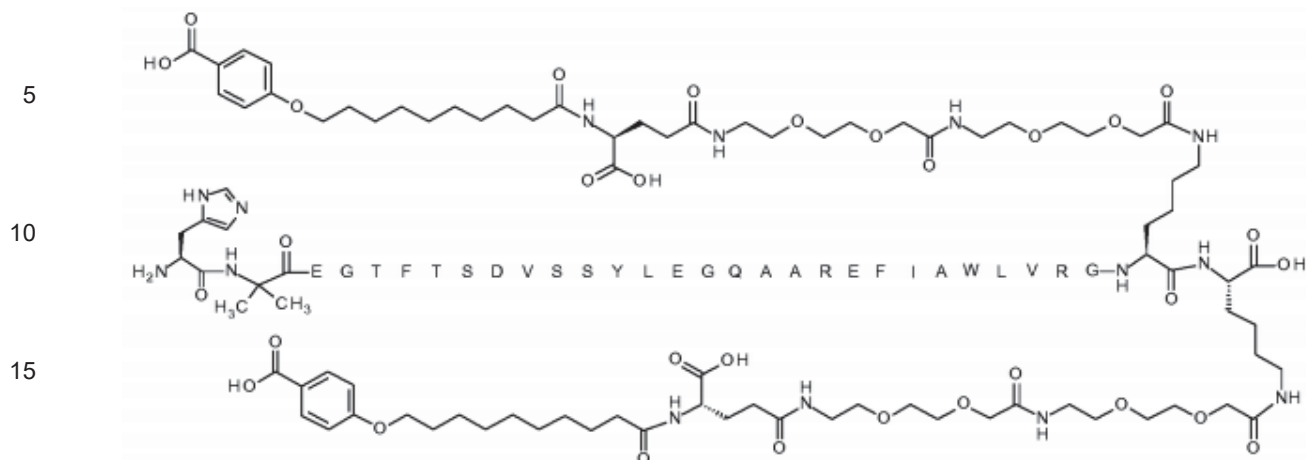
60 Ejemplo 4

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

65 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido



Quím. 24:



20 Método de preparación: SPPS\_P; SC\_P; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,3 min m/z: m/4= 1223, m/3=1630

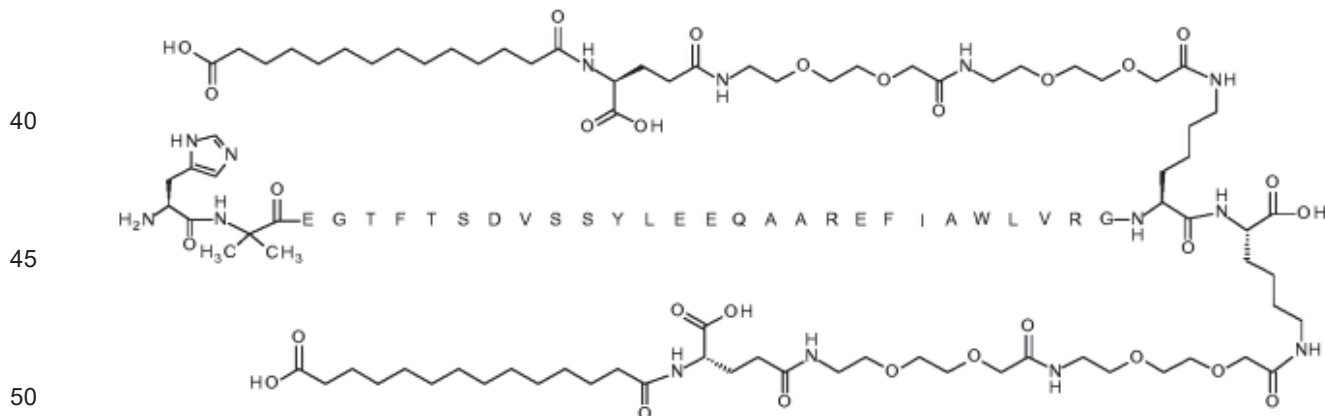
UPLC\_B4\_1: Rt = 8,56 min

25 Ejemplo 5

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

30 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

35 Quím. 25:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_P; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,3 min m/z: m/4= 1216, m/3=1621

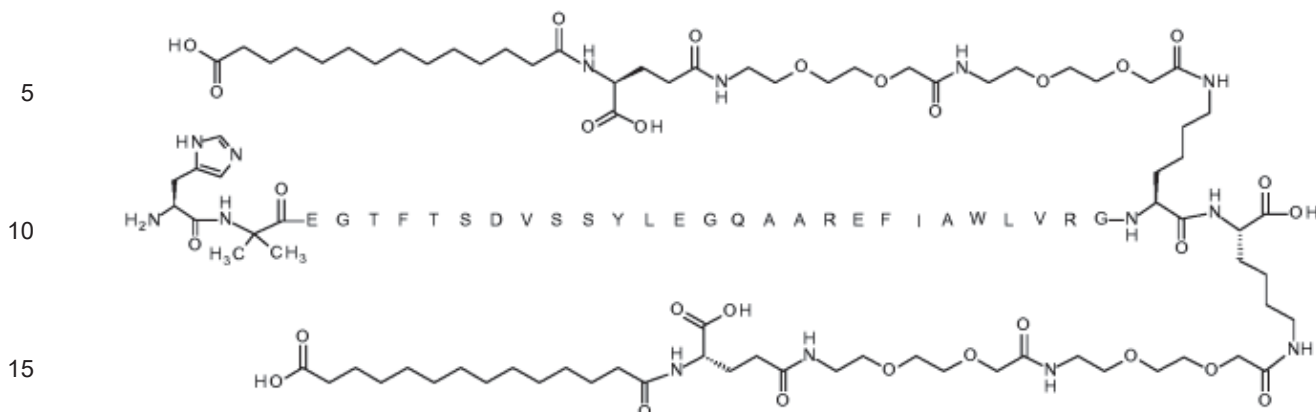
UPLC\_B4\_1: Rt = 8,56 min

55 Ejemplo 6

60 Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

65 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 26:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_P; CP\_M1

20 LCMS\_4: Rt = 2,3 min m/z: m/4= 1198, m/3=1597

UPLC\_B4\_1: Rt = 8,54 min

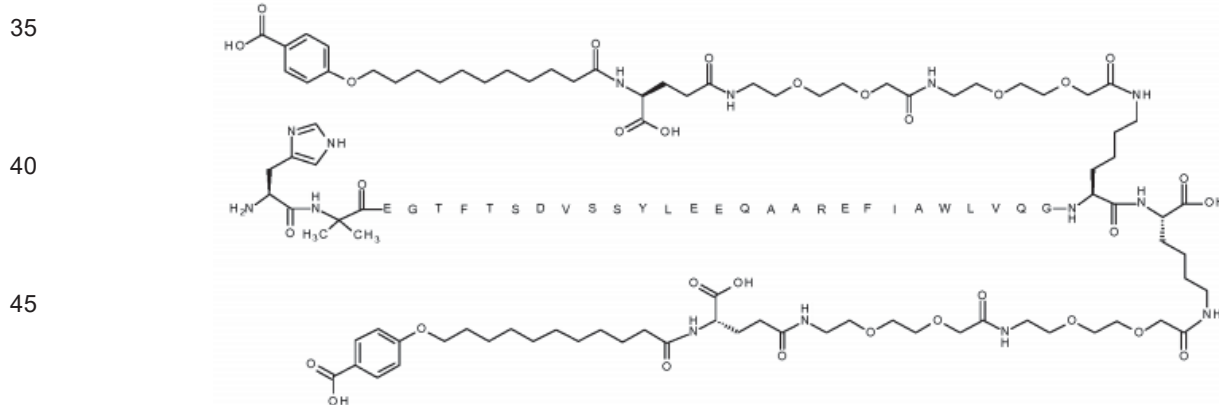
Ejemplo 7

25

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 4:

30 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Gln34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 27:



50 Método de preparación: SPPS\_P; SC\_P; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,3 min m/z: m/4= 1241, m/3=1654

UPLC\_B4\_1: Rt = 9,3 min

55

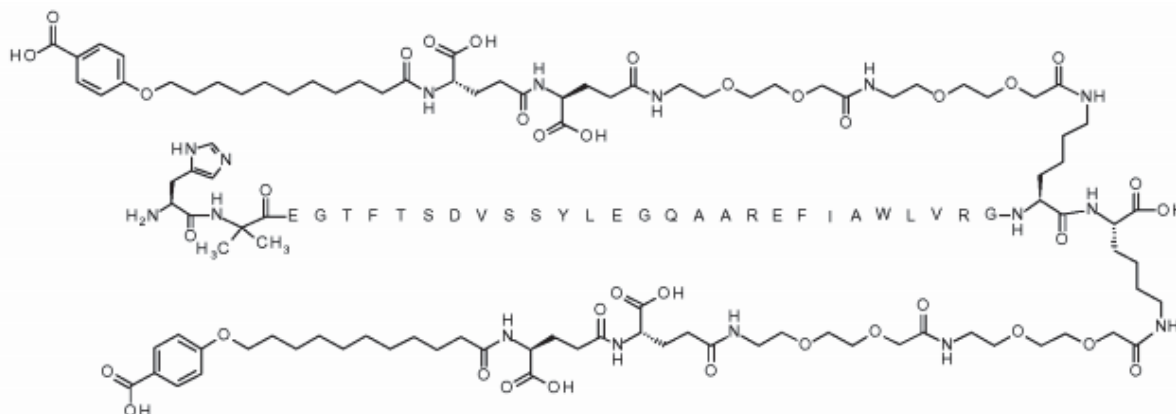
Ejemplo 8

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

60 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

65

Quím. 28:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,2 min m/z: m/4= 1294, m/3=1726

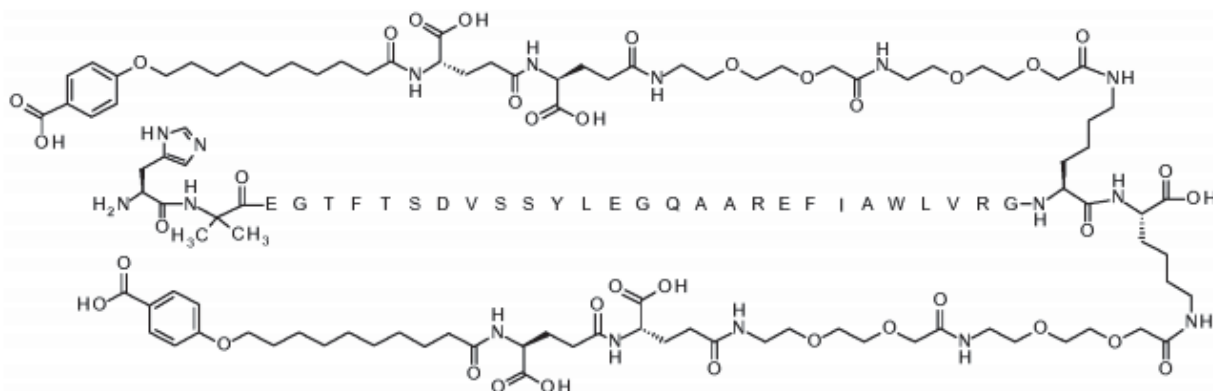
UPLC\_B4\_1: Rt = 8,58 min

Ejemplo 9

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 29:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,1 min m/z: m/4= 1287, m/3=1716

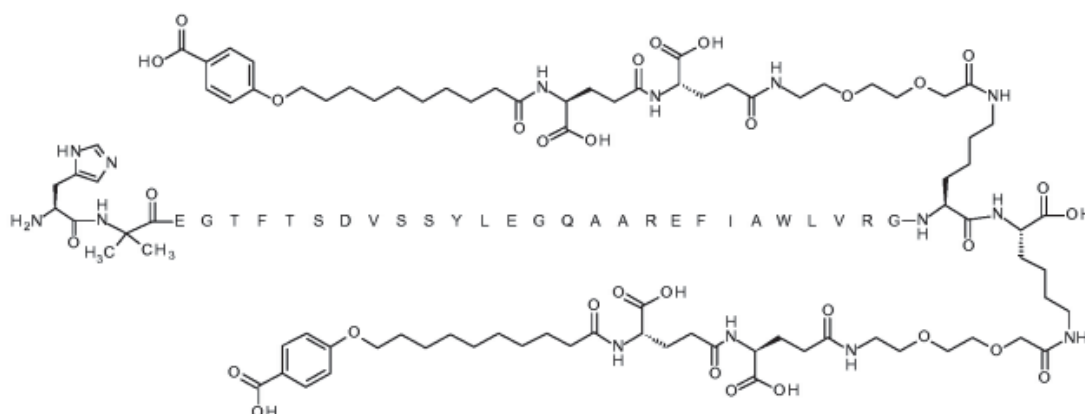
UPLC\_B4\_1: Rt = 8,25 min

Ejemplo 10

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 30:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,2 min m/z: m/4= 1215, m/3=1619

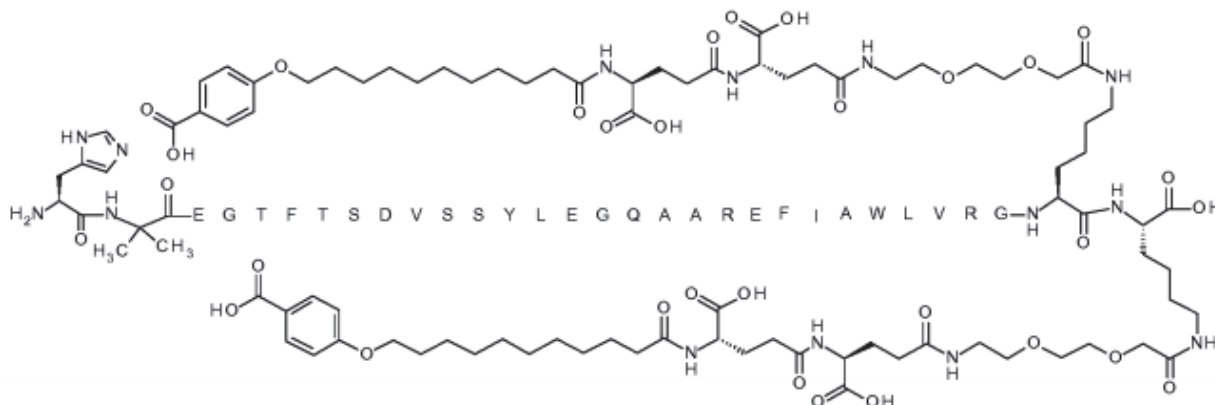
UPLC\_B4\_1: Rt = 8,45 min

Ejemplo 11

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 31:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,2 min m/z: m/4= 1222, m/3=1629

UPLC\_B4\_1: Rt = 8,76 min

Ejemplo 12

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

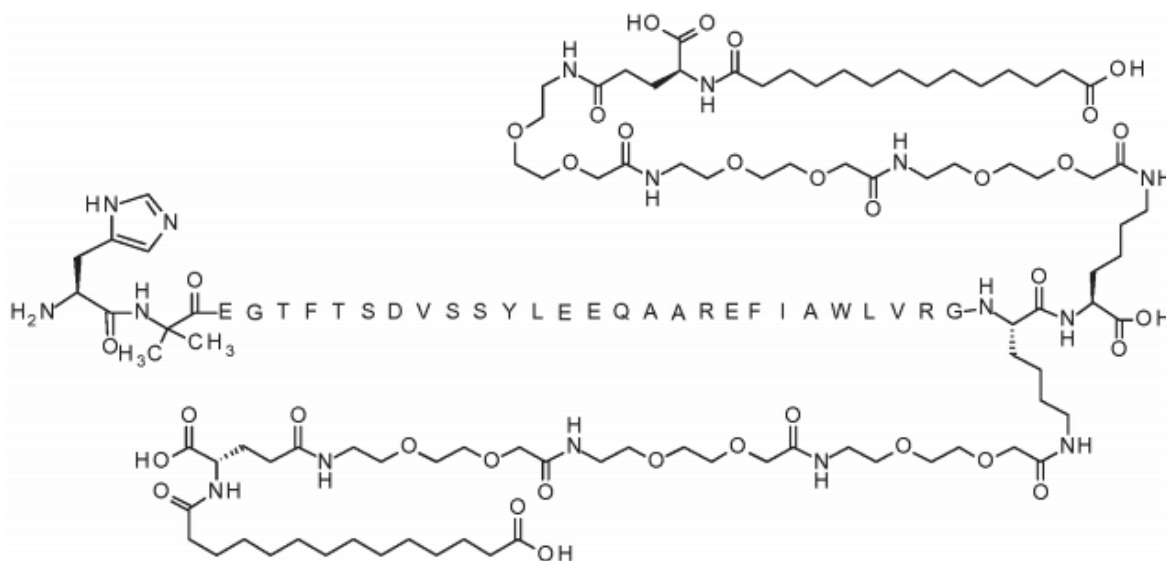
Quím. 32:

5

10

15

20



Método de preparación: SPPS\_L; SC\_L; CP\_M1

25 LCMS\_4: Rt = 2,1 min m/z: m/4= 1288, m/3=1718

UPLC\_B4\_1: Rt = 8,53 min

Ejemplo 13

30

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

35

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

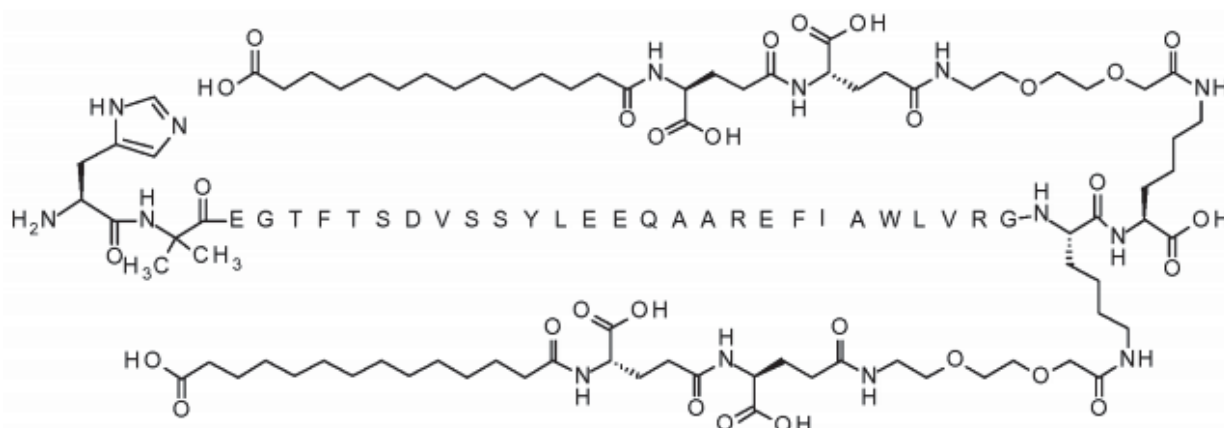
Quím. 33:

40

45

50

55



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_P; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,1 min m/z: m/4= 1208, m/3=1610

60 UPLC\_B4\_1: Rt = 8,56 min

Ejemplo 14

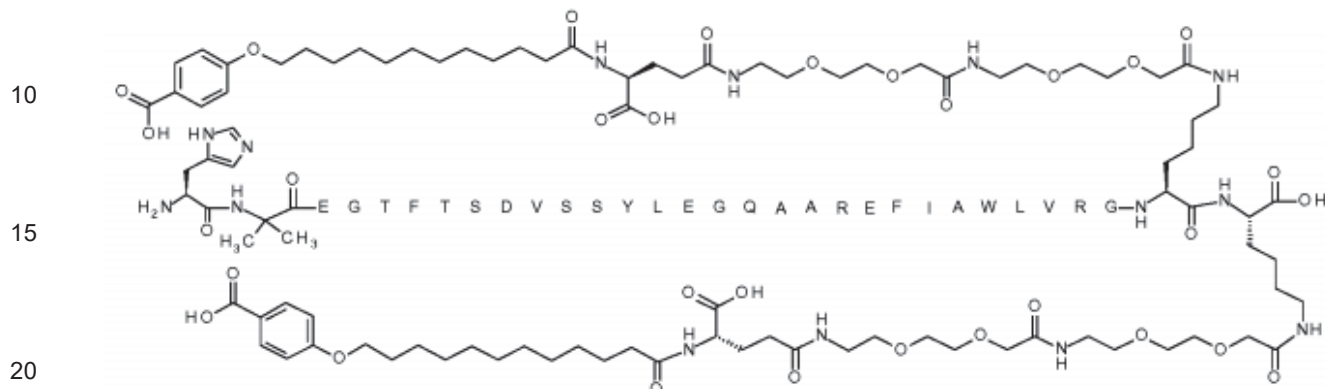
Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

65

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

5

Quím. 34:



10

15

20

Método de preparación: SPPS\_P; SC\_L; CP\_M1

25

LCMS\_4: Rt = 2,4 min m/z: m/4= 1237, m/3=1648

UPLC\_B4\_1: Rt = 9,2 min

30 Ejemplo 15

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

35

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

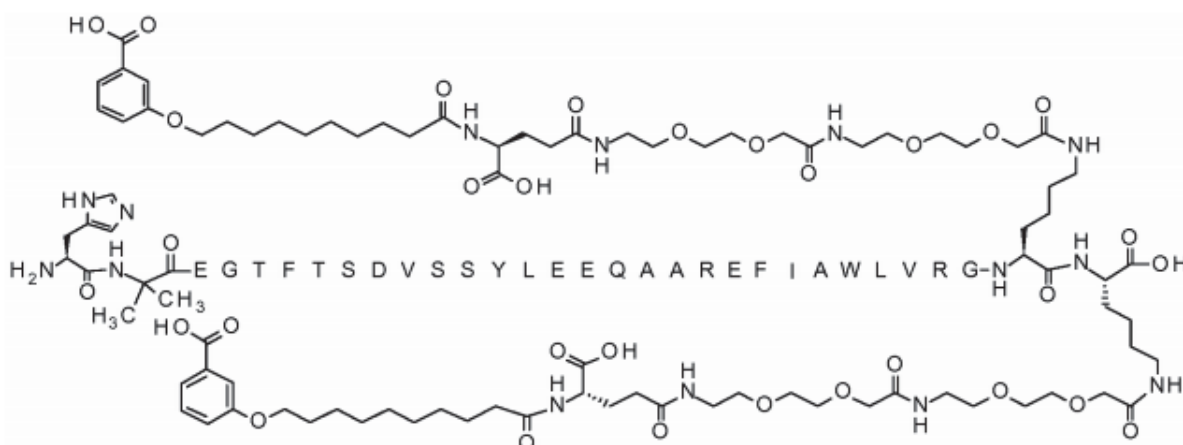
Quím. 35:

40

45

50

55



Método de preparación: SPPS\_L; SC\_L; CP\_M1

60

LCMS\_4: Rt = 2,3 min m/z: m/4= 1240, m/3=1654

UPLC\_B4\_1: Rt = 8,9 min

Ejemplo 16

65

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

5

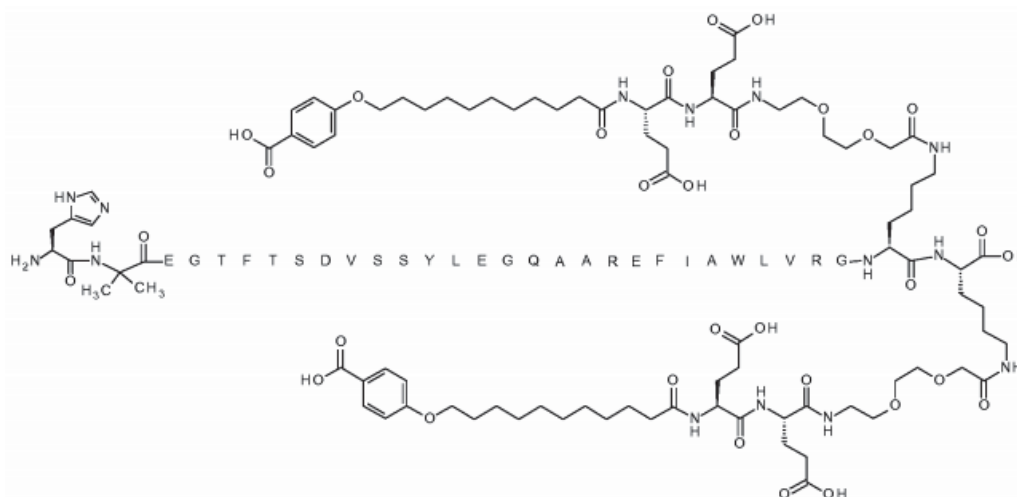
Quím. 36:

10

15

20

25



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,2 min m/z: m/4= 1222, m/3=1629

30 UPLC\_B4\_1: Rt = 8,71 min

Ejemplo 17

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 5:

35

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Gly8, Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

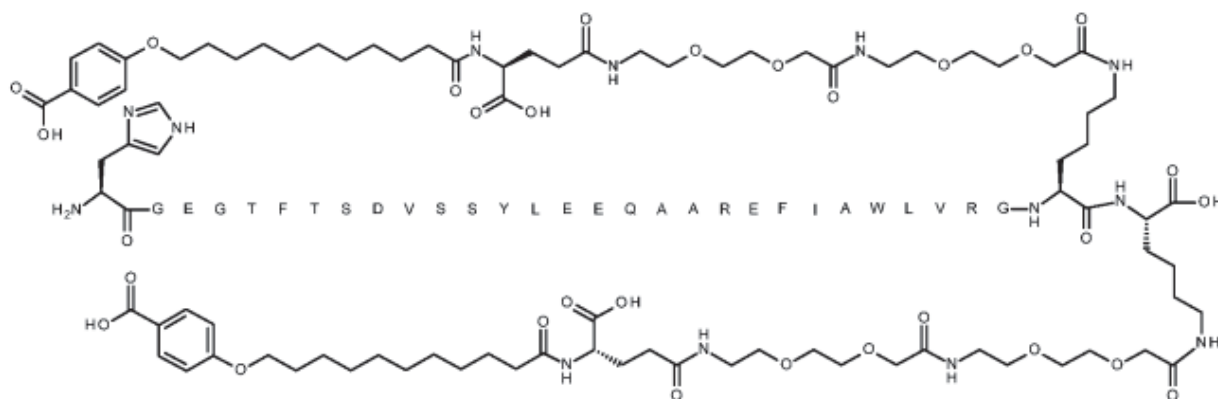
40

Quím. 37:

45

50

55



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_P; CP\_M1

60 LCMS\_4: Rt = 2,4 min m/z: m/4= 1241, m/3=1655

UPLC\_B4\_1: Rt = 8,6 min

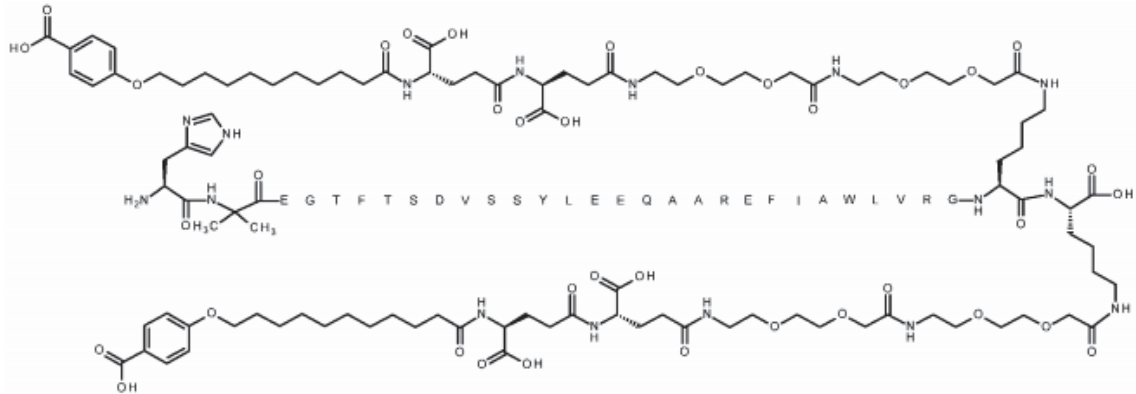
Ejemplo 18

65

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 38:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_P; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,4 min m/z: m/4= 1312, m/3=1749

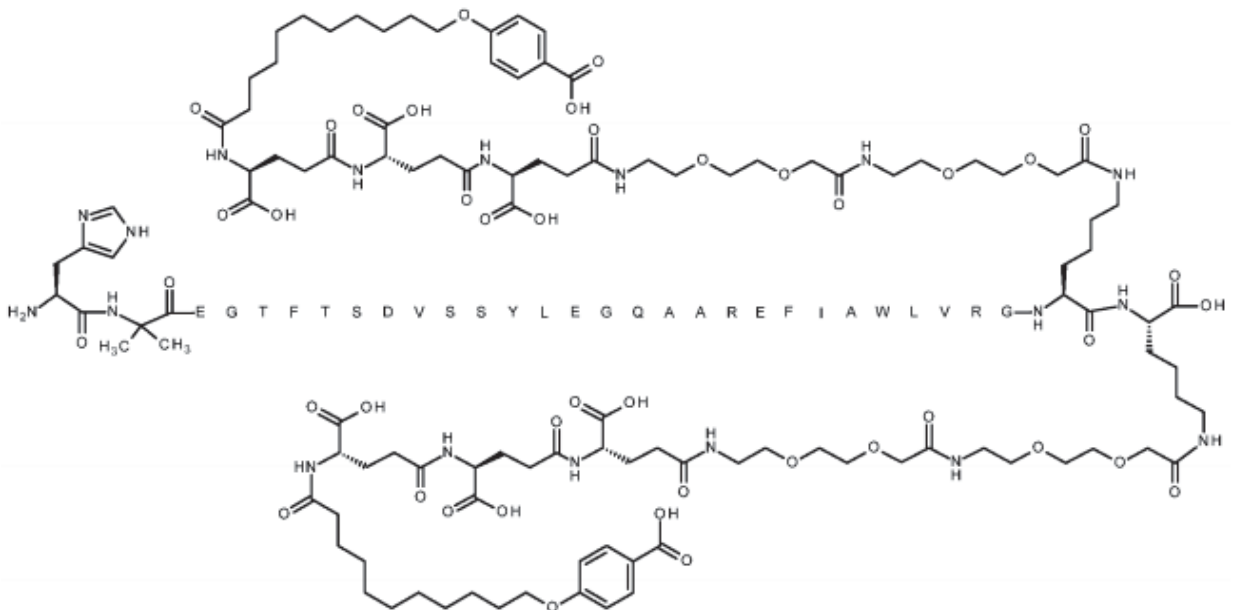
UPLC\_B4\_1: Rt = 8,7 min

Ejemplo 19

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-[[4(S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 39:



Método de preparación: SPPS\_L; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,3 min m/z: m/4= 1359, m/3=1811



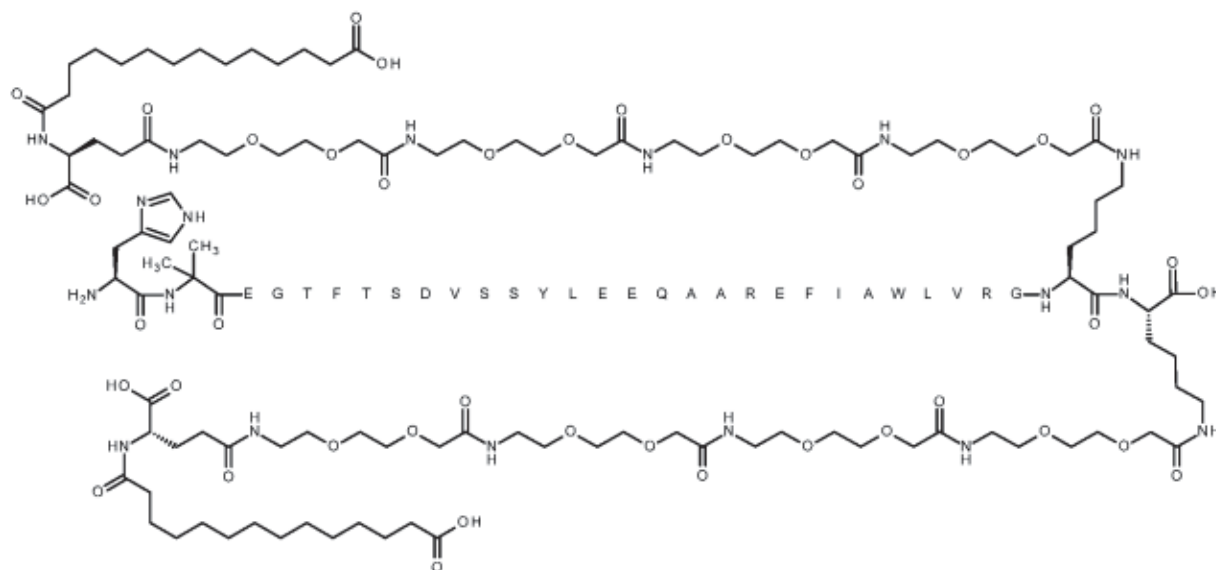
UPLC\_B4\_1: Rt = 8,4 min

Ejemplo 20

5 Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil],  
 N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 40:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_P; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,2 min m/z: m/4= 1361, m/3=1814

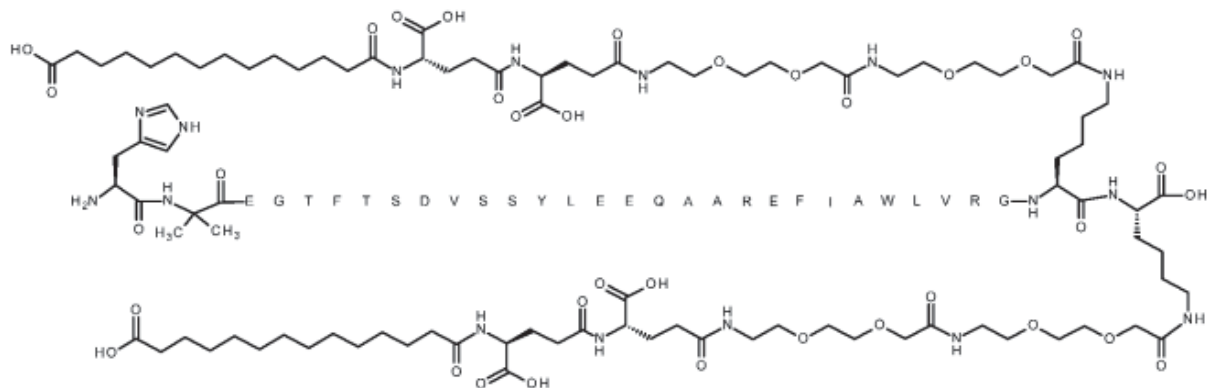
40 UPLC\_B4\_1: Rt = 8,2 min

Ejemplo 21

45 Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 41:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_P; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,3 min m/z: m/4= 1280, m/3=1707

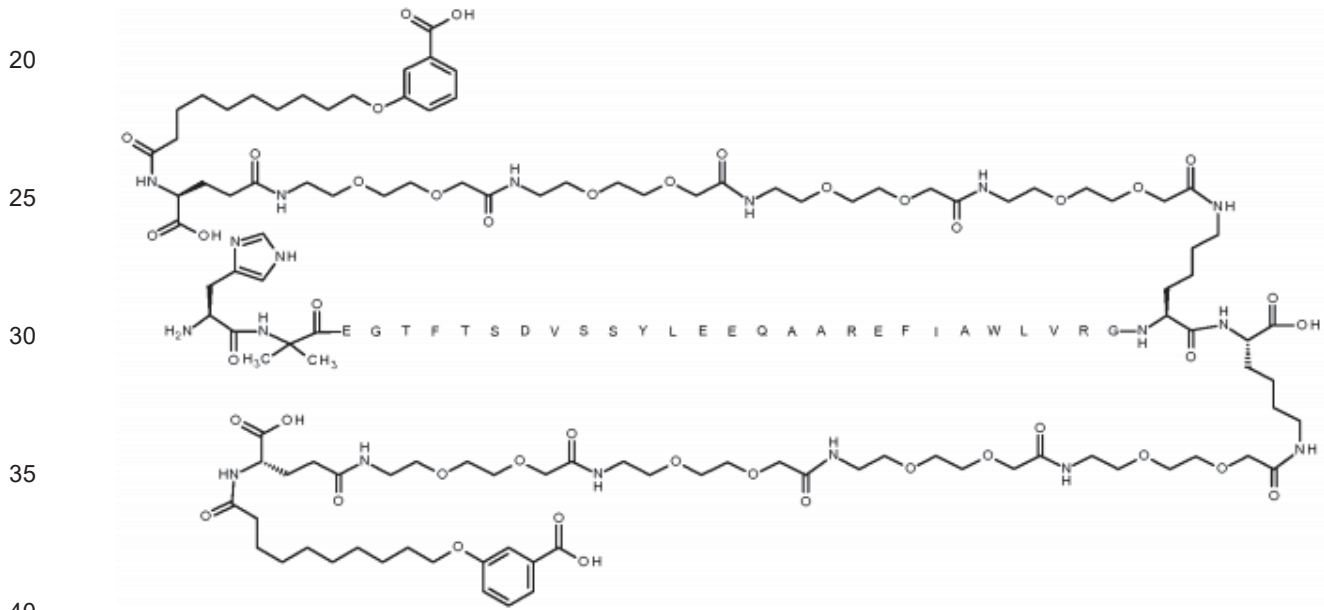
5 UPLC\_B4\_1: Rt = 8,4 min

Ejemplo 22

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

10 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil],  
15 N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 42:



Método de preparación: SPPS\_P; SC\_P; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,1 min m/z: m/4= 1386, m/3=1848

45 UPLC\_B4\_1: Rt = 8,2 min

Ejemplo 23

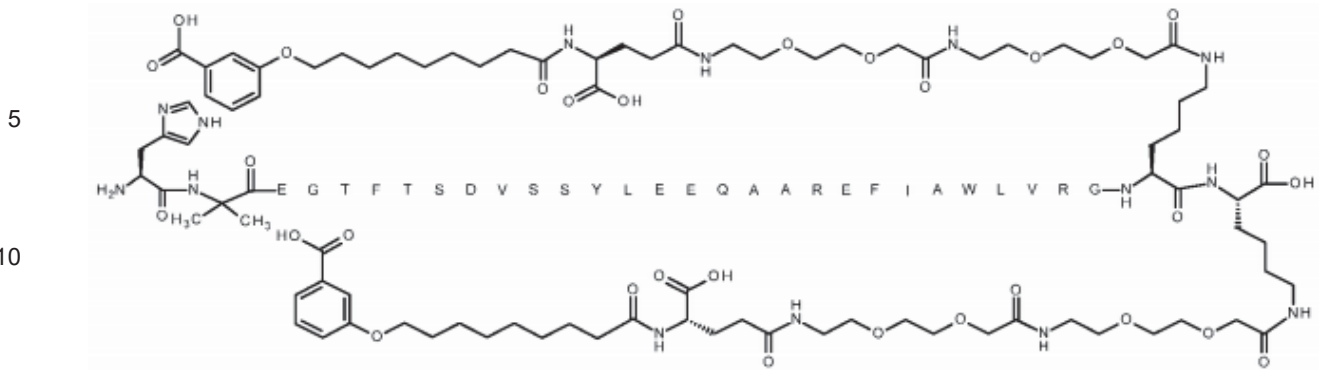
Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

50 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[9-(3-carboxifenoxi)nonanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[9-(3-carboxifenoxi)nonanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-  
55 [Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 43:

60

65



Método de preparación: SPPS\_L; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,1 min m/z: m/5 = 988, m/4=1234

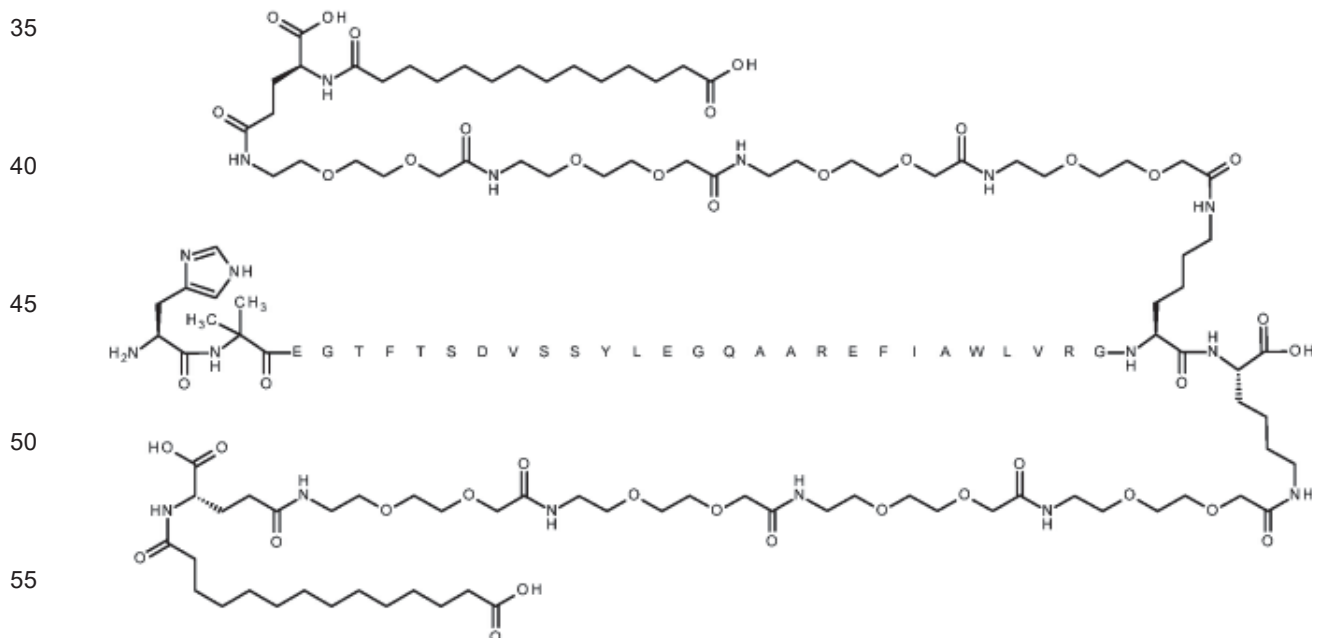
UPLC\_B4\_1: Rt = 8,0 min

Ejemplo 24

25 Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil],  
N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 44:



Método de preparación: SPPS\_L; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,1 min m/z: m/5= 1075, m/4=1343

UPLC\_B4\_1: Rt = 8,0 min

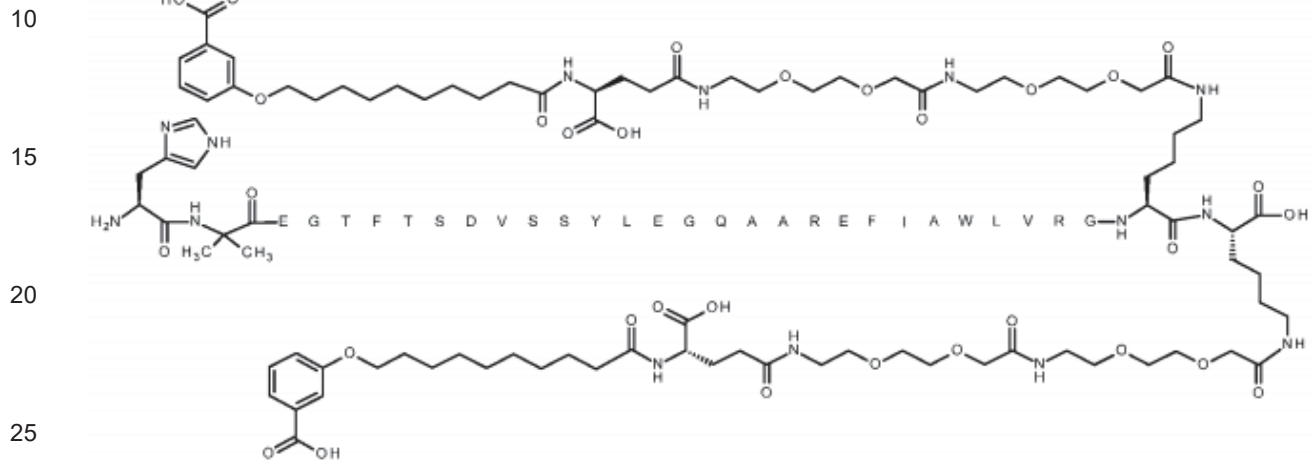
65 Ejemplo 25

## ES 2 741 507 T3

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 3:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 45:



Método de preparación: SPPS\_L; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,2 min m/z: m/5= 979, m/4= 1223

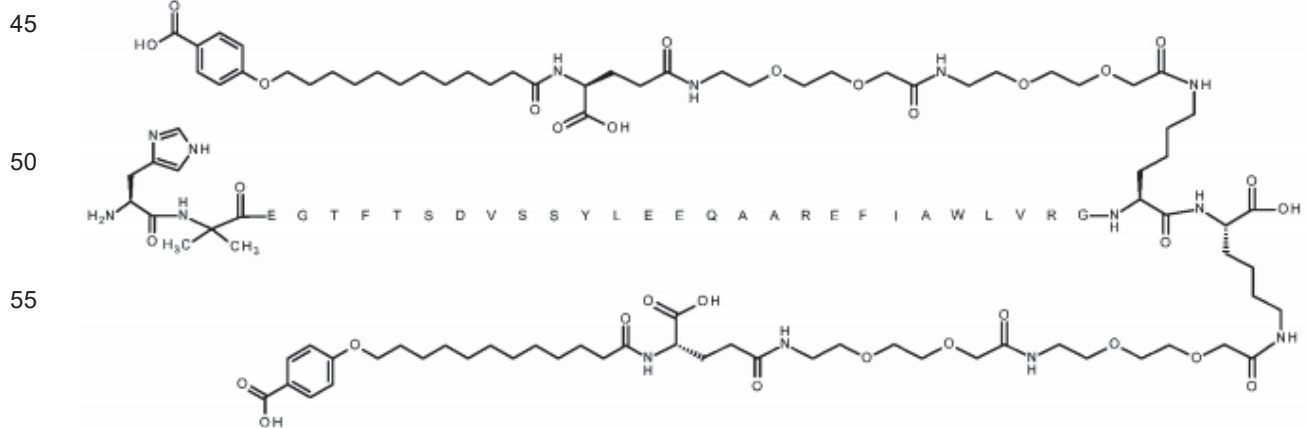
UPLC\_B4\_1: Rt = 8,4 min

Ejemplo 26

Este compuesto es un derivado del análogo de GLP-1 de la SEQ ID NO: 2:

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido

Quím. 46:



Método de preparación: SPPS\_L; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,3 min m/z: m/3=1673, m/4= 1255

UPLC\_B4\_1: Rt = 9,0 min



Método de preparación: SPPS\_L; SC\_L; CP\_M1

LCMS\_4: Rt = 2,1 min m/z: m/5 = 1121, m/4= 1401

5 UPLC\_B4\_1: Rt = 8,3 min

Métodos farmacológicos

Ejemplo 29: Potencia in vitro

10 El propósito de este ejemplo es probar la actividad, o potencia, de los derivados de GLP-1 in vitro. La potencia in vitro es la medida de la activación del receptor de GLP-1 humano en un ensayo de células completas.

15 Las potencias de los derivados de GLP-1 de los Ejemplos 1-28 se determinaron como se describe más abajo.

Principio

20 La potencia in vitro se determinó mediante la medición de la respuesta del receptor de GLP-1 humano en un ensayo de gen reportero. El ensayo se realizó en una línea celular BHK transfectada establemente que expresa el receptor de GLP-1 humano y contiene el ADN para el elemento de respuesta al AMPc (CRE) acoplado a un promotor y el gen para luciferasa de luciérnaga (CRE luciferasa). Cuando el receptor de GLP-1 humano se activa esto da como resultado la producción de AMPc, que a su vez da como resultado la expresión de la proteína luciferasa. Cuando se termina la incubación del ensayo, se añade el sustrato de luciferasa (luciferina) y la enzima convierte la luciferina en oxiluciferina para producir bioluminiscencia. La luminiscencia se mide como la lectura para el ensayo.

25 Para probar la unión de los derivados a la albúmina, el ensayo se realizó en ausencia de albúmina sérica así como también en presencia de una concentración considerablemente mayor de albúmina sérica (concentración final en el ensayo de 1,0 %). Un aumento de la potencia in vitro, valor de EC<sub>50</sub>, en presencia de albúmina sérica indicaría una afinidad a la albúmina sérica y representa un método para predecir un perfil farmacocinético prolongado de la sustancia de prueba en modelos animales.

30 Cultivo celular y preparación

35 Las células usadas en este ensayo (clon FCW467-12A/KZ10-1) fueron células BHK con BHKTS13 como una línea celular parental. Las células se derivaron de un clon (FCW467-12A) que expresa el receptor de GLP-1 humano y se establecieron por transfección adicional con CRE luciferasa para obtener el clon actual.

40 Las células se cultivaron en CO<sub>2</sub> al 5 % en medio de cultivo celular. Se dividieron en alícuotas y se almacenaron en nitrógeno líquido. Antes de cada ensayo se toma una alícuota y se lava dos veces en PBS antes de suspenderse en la concentración deseada en el tampón de ensayo específico. Se realizó una suspensión para placas de 96 pocillos para obtener una concentración final de 5x10<sup>3</sup> células/pocillo.

Materiales

45 Se usaron los siguientes compuestos químicos en el ensayo: Pluronic F-68 (10 %) (Gibco 2404), albúmina sérica humana (HSA) (Sigma A9511), ovoalbúmina (Sigma A5503), DMEM sin rojo de fenol (Gibco 11880-028), Hepes 1 M (Gibco 15630), Glutamax 100x (Gibco 35050) y steadylite plus (PerkinElmer 6016757).

Tampones

50 El medio de cultivo celular consistió en medio DMEM con FBS al 10 % (suero fetal bovino; Invitrogen 16140-071), G418 1 mg/ml (Invitrogen 15140-122), MTX 240 nM (metotrexato; Sigma M9929) y pen/estrep al 1 % (penicilina/estreptomicina; Invitrogen 15140-122).

55 El medio de ensayo consistió en DMEM sin rojo de fenol, Hepes 10 mM y Glutamax 1x. El tampón de ensayo al 1 % consistió en 2 % de ovoalbúmina, 0,2 % de Pluronic F-68 y 2 % de HSA en medio de ensayo. El tampón de ensayo al 0 % consistió en 2 % de ovoalbúmina y 0,2 % de Pluronic F-68 en medio de ensayo.

Procedimiento

60 1) Las reservas de células se descongelaron en un baño de agua a 37 °C.

2) Las células se lavaron tres veces en PBS.

65 3) Las células se contaron y se ajustaron a 5x10<sup>3</sup> células/50 µl (1x10<sup>5</sup> células/ml) en medio de ensayo. Se transfirió una alícuota de 50 µl de células a cada pocillo en la placa de ensayo.

## ES 2 741 507 T3

4) Las soluciones madre de los compuestos de prueba y de los compuestos de referencia se diluyeron hasta una concentración de 0,2  $\mu\text{M}$  en tampón de ensayo al 0 % para el ensayo de CRE luciferasa con 0 % de HSA y tampón de ensayo al 1 % para el ensayo de CRE luciferasa con 1 % de HSA. Los compuestos se diluyeron 10 veces para obtener las siguientes concentraciones:  $2 \times 10^{-7}$  M,  $2 \times 10^{-8}$  M;  $2 \times 10^{-9}$  M,  $2 \times 10^{-10}$  M,  $2 \times 10^{-11}$  M,  $2 \times 10^{-12}$  M,  $2 \times 10^{-13}$  M, y  $2 \times 10^{-14}$  M.

5) Se transfirió una alícuota de 50  $\mu\text{l}$  del compuesto o blanco de la placa de dilución a la placa de ensayo. Los compuestos se probaron en las siguientes concentraciones finales:  $1 \times 10^{-7}$  M,  $1 \times 10^{-8}$  M;  $1 \times 10^{-9}$  M,  $1 \times 10^{-10}$  M,  $1 \times 10^{-11}$  M,  $1 \times 10^{-12}$  M,  $1 \times 10^{-13}$  M, y  $1 \times 10^{-14}$  M.

6) La placa de ensayo se incubó durante 3 h en una incubadora con  $\text{CO}_2$  al 5 % a 37 °C.

7) La placa de ensayo se retiró de la incubadora y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 15 min.

8) Se añadió una alícuota de 100  $\mu\text{l}$  de reactivo steadylite plus a cada pocillo de la placa de ensayo (el reactivo era sensible a la luz).

9) Cada placa de ensayo se cubrió con papel de aluminio para protegerla de la luz y se agitó durante 30 min a temperatura ambiente.

10) Cada placa de ensayo se leyó en un instrumento Packard TopCount NXT.

### Cálculos y resultados

Los datos obtenidos del instrumento TopCount se transfirieron al programa informático GraphPad Prism. El programa informático realiza una regresión no lineal ( $\log(\text{agonista})$  frente a la respuesta). Los valores de  $\text{EC}_{50}$  que se calcularon mediante el programa informático y se informaron en  $\mu\text{M}$  se muestran en la Tabla 1 más abajo.

Se midió un mínimo de dos réplicas para cada muestra en placas de ensayo separadas. Los valores informados son promedios de los duplicados. Para algunos ejemplos se ejecutó más de un ensayo y, en este caso, los datos informados son los promedios de los duplicados promediados.

Tabla 1: Potencia in vitro

Compuesto de Ejemplo núm.	$\text{EC}_{50}/\mu\text{M}$ (0 % de HSA)	$\text{EC}_{50}/\mu\text{M}$ (1 % de HSA)
1	1,2	136
2	3,1	122
3	1,2	28
4	1,9	21
5	1,1	22
6	1,8	15
7	1,5	143
8	1,5	37
9	2,2	16
10	1,7	33
11	1,5	80
12	1,2	10
13	1,3	18
14	2,3	60
15	6,1	44
16	1,6	104
17	14	199
18	0,8	29
19	2,1	31
20	2,7	5,8
21	5,6	13
22	1,8	7,7
23	7,7	15
24	8,1	8,6
25	19	64
26	1,5	124
27	13	105
28	12	25
semaglutida	8,3	265

Todos los derivados de la invención tuvieron una buena potencia in vitro que corresponde a una EC<sub>50</sub> al 0 % de HSA inferior a 20 pM, y una EC<sub>50</sub> al 1,0 % de HSA inferior a 265 pM.

#### Ejemplo 30: Unión al receptor de GLP-1

El propósito de este ejemplo es probar la actividad de unión al receptor de los derivados de GLP-1 in vitro. La unión al receptor es una medida de la afinidad de un derivado por el receptor de GLP-1 humano.

#### Principio

La unión al receptor de los derivados de GLP-1 de los Ejemplos 1-28 al receptor de GLP-1 humano se midió en un ensayo de unión competitiva. En este tipo de ensayo, un ligando marcado (en este caso <sup>125</sup>I-GLP-1) se une al receptor. Cada derivado se añade en una serie de concentraciones a membranas aisladas que contienen el receptor de GLP-1 humano y se monitorea el desplazamiento del ligando marcado. La unión al receptor se informa como la concentración en la cual la mitad del ligando marcado se desplaza del receptor, el valor de IC<sub>50</sub>. Para probar la unión de los derivados a la albúmina, el ensayo se realiza en una concentración muy baja de albúmina sérica (concentración final en el ensayo máx. de 0,001 %, así como también en presencia de una concentración considerablemente mayor de albúmina sérica (concentración final en el ensayo de 2,0 %). Un aumento del valor de IC<sub>50</sub> en presencia de albúmina sérica indica una afinidad por la albúmina sérica y representa un método para predecir un perfil farmacocinético prolongado de la sustancia de prueba en modelos animales.

#### Materiales

Se usaron los siguientes compuestos químicos en el ensayo: Albúmina sérica humana (HSA) (Sigma A1653), DMEM sin rojo de fenol (Gibco 11880-028), Pen/estrep (Invitrogen 15140-122), G418 (Invitrogen 10131-027), Hepes 1 M (Gibco 15630), EDTA (Invitrogen 15575-038), PBS (Invitrogen 14190-094), suero fetal bovino (Invitrogen 16140-071), EGTA, MgCl<sub>2</sub> (Merck 1.05832.1000), Tween 20 (Amresco 0850C335), partículas SPA (perlas de SPA con aglutinina de germen de trigo (WGA), Perkin Elmer RPNQ0001), [<sup>125</sup>I]-GLP-1]-(7-36)NH<sub>2</sub> (producido internamente), OptiPlate™-96 (Packard 6005290).

El tampón 1 consistió en Na-HEPES 20 mM más EDTA 10 mM y el pH se ajustó a 7,4. El tampón 2 consistió en Na-HEPES 20 mM más EDTA 0,1 mM y el pH se ajustó a 7,4. El tampón de ensayo consistió en HEPES 50 mM suplementado con EGTA 5 mM, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, Tween 20 al 0,005 % y el pH se ajustó a 7,4. Una solución madre de albúmina al 8 % consistió en HSA disuelta al 8 % (p/v) en tampón de ensayo. Una solución madre de albúmina al 0,02 % consistió en HSA disuelta al 0,02 % (p/v) en tampón de ensayo.

#### Cultivo celular y preparación de las membranas

Las células usadas en este ensayo (clon FCW467-12A) fueron células BHK con BHKTS13 como una línea celular parental. Las células expresan el receptor de GLP-1 humano.

Las células se cultivaron en CO<sub>2</sub> al 5 % en DMEM, 10 % de suero fetal bovino, 1 % de Pen/Estrep (Penicilina/Estreptomina) y 1,0 mg/ml del marcador de selección G418. Para elaborar una preparación de membrana las células se cultivaron hasta aproximadamente el 80 % de confluencia. Las células se lavaron dos veces en solución salina tamponada con fosfato y se cosecharon. Las células se sedimentaron mediante el uso de una breve centrifugación y el sedimento celular se mantuvo en hielo. El sedimento celular se homogenizó con un instrumento de dispersión ULTRA-THURAX™ durante 20-30 segundos en una cantidad adecuada de tampón 1 (por ejemplo, 10 ml). El homogenato se centrifugó durante 15 minutos. El sedimento se resuspendió (homogeneizó) en 10 ml de tampón 2 y se centrifugó. Esta etapa se repitió una vez más. El sedimento resultante se resuspendió en el tampón 2 y se determinó la concentración de proteínas. Las membranas se dividieron en alícuotas y se almacenaron a menos 80°C.

#### Procedimiento

1. Para el ensayo de unión al receptor en presencia de HSA baja (0,001 %) se añadieron 50 µl del tampón de ensayo a cada pocillo de una placa de ensayo. El ensayo continuó con la etapa 3.

2. Para el ensayo de unión del receptor en presencia de HSA alta (2,0 %) se añadieron 50 µl de solución madre de albúmina al 8 % a cada pocillo de una placa de ensayo. El ensayo continuó con la etapa 3.

3. Los compuestos de prueba se diluyeron en serie para obtener las siguientes concentraciones: 8x10<sup>-7</sup> M, 8x10<sup>-8</sup> M, 8x10<sup>-9</sup> M, 8x10<sup>-10</sup> M, 8x10<sup>-11</sup> M, 8x10<sup>-12</sup> M y 8x10<sup>-13</sup> M. Se añadieron veinticinco µl a los pocillos apropiados en la placa de ensayo.

4. Las alícuotas de membrana celular se descongelaron y diluyeron hasta su concentración de trabajo. Se añadieron cincuenta µl a cada pocillo en la placa de ensayo.

5. Las perlas de SPA con WGA se suspendieron en tampón de ensayo a 20 mg/ml. La suspensión se diluyó



hasta 10 mg/ml en tampón de ensayo justo antes de la adición a la placa de ensayo. Se añadieron cincuenta µl a cada pocillo en la placa de ensayo.

6. La incubación se inició mediante la adición de 25 µl de solución de [<sup>125</sup>I]-GLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub> 480 pM a cada pocillo de la placa de ensayo. Se reservó una alícuota de 25 µl para medir los conteos totales/pocillo.

7. La placa de ensayo se incubó durante 2 h a 30 °C.

8. La placa de ensayo se centrifugó durante 10 min.

9. La placa de ensayo se leyó en un instrumento Packard TopCount NXT.

#### Cálculos

Los datos obtenidos del instrumento TopCount se transfirieron al programa informático GraphPad Prism. El programa informático promedió los valores para las réplicas y realizó una regresión no lineal. Los valores de IC<sub>50</sub> se calcularon por el programa informático y se informaron en nM.

#### Resultados

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 2: Unión al receptor de GLP-1

Compuesto de Ejemplo núm.	IC <sub>50</sub> /nM (HSA baja)	IC <sub>50</sub> /nM (HSA alta)
1	0,21	135
2	0,27	37
3	0,19	77
4	0,34	34
5	0,20	144
6	0,46	17
7	0,47	233
8	0,28	63
9	0,64	118
10	0,34	72
11	0,23	214
12	0,20	70
13	0,47	201
14	0,43	24
15	0,38	126
16	0,46	147
17	0,90	536
18	0,19	35
19	1,1	54
20	0,81	35
21	0,42	89
22	0,64	45
23	0,29	193
24	2,0	41
25	0,56	394
26	0,29	360
27	0,66	478
28	1,1	173
semaglutida	0,59	411

Todos los derivados de la invención tenían una IC<sub>50</sub> (albúmina baja) inferior a 2,1 nM. Con respecto a la IC<sub>50</sub> (albúmina alta), todos los derivados tenían una IC<sub>50</sub> (albúmina alta) inferior a 540 nM.

#### Ejemplo 31: Estudio farmacocinético en minicerdos

El propósito de este estudio es determinar la prolongación in vivo de los derivados de GLP-1 después de la administración i.v. a minicerdos, es decir, la prolongación de su tiempo en el cuerpo y de esta manera su tiempo de acción. Esto se hizo en estudios farmacocinéticos (PK), donde se determinó la vida media terminal del derivado en

cuestión. Por vida media terminal se entiende generalmente el período de tiempo que se tarda en reducir a la mitad una determinada concentración plasmática, medida después de la fase de distribución inicial.

Los derivados de los Ejemplos 1, 2, 3, 5, 7, 8, 12, 13, 14, 15 y 16 se sometieron al estudio de PK (ver más abajo).

En los estudios se usaron minicerdos Göttingen hembras obtenidos de Ellegaard Göttingen Minipigs (Dalmore, Dinamarca) de aproximadamente 5 meses de edad y peso aproximado de 10 kg. Los minicerdos se alojaron en corrales con lecho de paja, de cuatro a seis juntos en cada corral y se alimentaron de manera restringida una o dos veces al día con dieta para minicerdos Altromin 9023 (Chr. Petersen A/S, DK-4100 Ringsted). Los cerdos se usaron para los estudios farmacocinéticos repetidos con un período de reposo farmacológico adecuado entre las dosificaciones sucesivas de los derivados de GLP-1. Se permitió un período de aclimatación de 1 semana, tiempo durante el cual los minicerdos se entrenaron para que se apoyaran sobre la espalda para la extracción de muestras de sangre y en las eslingas para la administración i.v de las dosis. Toda la manipulación, administración de la dosis y extracción de muestras de sangre de los animales se realizó por personal capacitado y experto.

Los derivados de GLP-1 se disolvieron en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 70 mM, tween 80 al 0,05 %, pH 7,4 hasta una concentración de aproximadamente 20 nmol/ml. Las inyecciones intravenosas (el volumen correspondiente a usualmente 2 nmol/kg, por ejemplo, 0,1 ml/kg) de los compuestos se administraron como inyecciones intravenosas a través de un catéter intravenoso periférico insertado en una vena de la oreja, mientras los animales se colocaron sin anestesia en una eslinga. El volumen de dosis fue de 0,1 ml/kg, y se tomaron muestras de sangre en puntos temporales predefinidos por hasta 13 días después de la administración de la dosis (las muestras se tomaron con una jeringa de una vena yugular). Las muestras de sangre (por ejemplo 0,8 ml) se recolectaron en tampón de EDTA (8 mM) y después se centrifugaron a 4 °C y 2000 G durante 10 minutos.

Muestreo y análisis:

El plasma se pipeteó en tubos Micronic 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 tal como LOCI o LC-MS. Los perfiles individuales de concentración plasmática-tiempo se analizaron mediante un modelo no compartimental en WinNonlin v. 5.0 o Phoenix v. 6.2 o 6.3 (Pharsight Inc., Mountain View, CA, EE.UU.), u otro programa informático relevante para el análisis farmacocinético, y se determinaron las vidas medias terminales resultantes.

Resultados

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 3: Estudios in vivo en minicerdos Göttingen después de la administración intravenosa

Compuesto de Ejemplo núm.	PK iv en minicerdos, t <sub>1/2</sub> (horas)*
1	103
2	74
3	71
5	99
7	107
8	88
12	80
13	98
14	90
15	144
16	80

\* la vida media terminal (t<sub>1/2</sub>) es la media armónica, n=3

Los resultados muestran una impresionante vida media de hasta 144 horas. Para la comparación, la vida media promedio de la semaglutida en minicerdos después de la administración intravenosa es de 55 horas (promedio de dos estudios separados, n=12).

Ejemplo 32: Estudios farmacocinéticos en perros Beagle

Los estudios farmacocinéticos (PK) en perros Beagle se llevaron a cabo para determinar a) la prolongación de los derivados de GLP-1 después de la administración i.v., y b) la biodisponibilidad de los derivados de GLP-1 después de la administración p.o.

Por prolongación se entiende la prolongación del tiempo en el cuerpo y de esta manera el tiempo de acción de los derivados de GLP-1. Esto se hizo en estudios farmacocinéticos (PK), donde se determinó la vida media terminal del

derivado en cuestión. Por vida media terminal se entiende generalmente el período de tiempo que se tarda en reducir a la mitad una determinada concentración plasmática, medida después de la fase de distribución inicial.

Los derivados de GLP-1 de los Ejemplos 1, 2, 8 y 15 se sometieron a estudios de PK como se describe más abajo.

Para los estudios con los derivados de GLP-1 de los Ejemplos 1 y 2 se usaron perros Beagle hembras y machos (50:50), de 21 a 30 meses de edad y pesaron aproximadamente 10-12 kg al inicio de los estudios. Los perros se alojaron en corrales (12 horas de luz : 12 horas de oscuridad) con lecho de gránulos a base de madera blanda, dos juntos en cada corral y se alimentaron de manera restringida una vez al día con dieta SPECIFIC™ Struvite Management (Dechra Veterinary Products, Reino Unido). El ejercicio se permitió diariamente, siempre que fue posible. Los perros se usaron para estudios farmacocinéticos repetidos con un período de reposo farmacológico adecuado entre las dosificaciones sucesivas de los derivados de GLP-1. Se permitió un período de aclimatación de 4 semanas, tiempo durante el cual los perros se entrenaron. Toda la manipulación, administración de la dosis y extracción de muestras de sangre de los animales se realizó por personal capacitado y experto. Los perros se mantuvieron en ayuna durante toda la noche antes de la administración de la dosis y de 0 a 4 h después de la administración de la dosis, pero tuvieron acceso a voluntad al agua durante todo el período.

Para los estudios con los compuestos de los Ejemplos 8 y 15 y para estudios adicionales con el compuesto del Ejemplo 2 (para la determinación de la biodisponibilidad p.o.) los perros Beagle tenían de 1 a 5 años de edad y pesaron aproximadamente 10-12 kg al inicio de los estudios. Los perros se alojaron en grupos sociales (12 horas de luz : 12 horas de oscuridad), y se alimentaron de manera individual y restringida una vez al día con Royal Canin Medium Adult dog (Royal Canin Products, marca China, o Brogaarden A/S, Dinamarca). Se permitió el ejercicio y socialización en grupos, siempre que fue posible. Los perros se usaron para estudios farmacocinéticos repetidos con un período de reposo farmacológico adecuado entre las dosificaciones sucesivas de los derivados de GLP-1. Se proporcionó un período de aclimatación apropiado antes de iniciar el primer estudio farmacocinético. Toda la manipulación, administración de la dosis y extracción de muestras de sangre de los animales se realizó por personal capacitado y experto. Antes de los estudios, los perros se mantuvieron en ayuno durante toda la noche y de 0 a 4 horas después de la administración de la dosis. Además, se limitó el agua a los perros 1 hora antes de la administración de la dosis hasta 4 horas después de la administración de la dosis, pero de cualquier otra manera tuvieron acceso a voluntad al agua durante todo el período.

Administración peroral (p.o.) de los comprimidos

Los comprimidos de GLP-1 usados para los estudios p.o. fueron comprimidos con cubierta entérica que contenían un núcleo de caprato de sodio con aproximadamente 10 mg del derivado de GLP-1, preparado y compuesto como se describe en el Ejemplo 33.

Los comprimidos que contenían el derivado de GLP-1 se administraron de la manera siguiente: La secreción de ácido gástrico se indujo por administración subcutánea en el cuello de pentagastrina a una dosis de aproximadamente 4 µg/kg de peso corporal (120 µg/ml) 20 minutos antes de la administración oral del comprimido.

El comprimido se colocó en la parte posterior de la boca del perro para evitar la masticación. Después, se cerró la boca y se proporcionaron 10 ml de agua del grifo mediante una jeringa para facilitar la ingestión del comprimido.

Administración intravenosa

En los estudios i.v., los derivados de GLP-1, disueltos en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 70 mM, 70 ppm de Polisorbato 20, pH 7,4 hasta una concentración de aproximadamente 20 nmol/ml, se administraron a los perros mediante inyecciones intravenosas (el volumen corresponde a usualmente 2 nmol/kg, por ejemplo, 0,1 ml/kg) en la vena cefálica o la safena. El volumen de dosis fue de 0,1 ml/kg.

Muestra de sangre

Se tomaron muestras de sangre en puntos temporales predefinidos por hasta 10-12 días después de la administración de la dosis para englobar adecuadamente el perfil total de concentración plasmática-tiempo del derivado de GLP-1.

Para cada punto temporal de extracción de muestra de sangre se recolectaron aproximadamente 0,8 ml de sangre total en un tubo de 1,5 ml recubierto con EDTA, y el tubo se volteó suavemente para permitir la mezcla de la muestra con el anticoagulante. Las muestras de sangre (por ejemplo 0,8 ml) se recolectaron en tampón de EDTA (8 mM) y después se centrifugaron a 4 °C y 2000 G durante 10 minutos. El plasma se pipeteó en tubos Micronic en hielo seco y se mantuvo a -20 °C hasta el análisis.

Se tomaron muestras de sangre según fue apropiado, por ejemplo, a) de la vena yugular mediante el uso de una aguja estándar 21G y una jeringa, o b) de un catéter intravenoso periférico en la vena cefálica en la parte delantera de la pierna durante las primeras 2 horas y después con jeringa de la vena yugular durante el resto de los puntos temporales (se dejaron drenar del catéter intravenoso periférico las primeras gotas para evitar la solución salina de heparina del

catéter intravenoso periférico en la muestra).

Análisis

5 La concentración en plasma del derivado de GLP-1 respectivo se analizó mediante el uso de ELISA o un ensayo basado en anticuerpos similar tal como LOCI, o LC-MS. Los perfiles de concentración plasmática-tiempo individuales se analizaron mediante un modelo no compartimental en WinNonlin v. 5.0 o Phoenix v. 6.2 o 6.3 (Pharsight Inc., Mountain View, CA, EE.UU.), u otro programa informático relevante para el análisis PK.

10 Las vidas medias terminales resultantes se determinaron en base a los estudios i.v.

La biodisponibilidad absoluta (F) se calculó como sigue:

15 El área bajo la curva de concentración en plasma frente al tiempo (AUC, [tiempo x concentración]) se calculó (mediante el programa Pharsight) después de la administración oral y la administración intravenosa, típicamente hasta 240-288 horas después de la administración de la dosis, o hasta la última concentración medida.

20 Después, se calculó la biodisponibilidad absoluta (F) basado en los valores de AUC corregidos para la dosis, específicamente como  $AUC/D_{po}$  dividido por  $AUC/D_{iv}$ , donde  $D_{po}$  es la dosis oral esperada por kg, calculada en base a la cantidad dosificada (un comprimido típico contiene aproximadamente 10 mg del derivado de GLP-1), y  $D_{iv}$  es la dosis por kg administrada por vía intravenosa.

Resultados

25 Se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 4: Evaluación farmacocinética in vivo en perros Beagle después de la administración intravenosa

Derivado de GLP-1 del Ejemplo núm.	PK iv en perros Beagle, t <sub>1/2</sub> (horas)*
1	85
2	77**
8	119
15	111

35 \* la vida media terminal (t<sub>1/2</sub>) es la media armónica, n=4  
 \*\* promedio de dos estudios separados

40 Los resultados muestran una impresionante vida media de hasta 119 horas. Para la comparación, la vida media promedio de la semaglutida en perros Beagle después de la administración intravenosa es de 55 horas (promedio de siete estudios separados, n=30).

Tabla 5: Evaluación farmacocinética in vivo en perros Beagle después de la administración oral

Comprimido con derivado de GLP- del Ejemplo núm.	Biodisponibilidad p.o. en perros Beagle (%)
1	2,4
2	3,4

50 Las biodisponibilidades informadas en la Tabla 5 son significativamente mayores que las que se observan para la semaglutida en los estudios en perros Beagle con las mismas composiciones de comprimido (iguales excepto para el ingrediente farmacéutico activo).

Ejemplo 33: Preparación y composición de comprimidos de GLP-1 orales

55 Este ejemplo describe la fabricación de comprimidos de los derivados de GLP-1 de los Ejemplos 1 y 2.

60 El comprimido del Ejemplo 1 comprende un núcleo del comprimido, un subrecubrimiento Pharmacoat, y un recubrimiento entérico FS30D:L30D-55 80:20, y se preparó mediante el uso de los métodos 1, 2c, y 3b descritos más abajo. El comprimido contiene 10 mg del ingrediente farmacéutico activo del Ejemplo 1. La composición final del Ejemplo 1 se muestra en la Tabla 6 más abajo. El peso del núcleo del comprimido fue de 710 mg, y el peso del comprimido con cubierta entérica con subrecubrimiento fue de 771,1 mg.

65 El comprimido del Ejemplo 2 comprende un núcleo del comprimido, un subrecubrimiento Opadry Clear, y un recubrimiento entérico FS30D:L30D-55 80:20, y se preparó mediante el uso de los métodos 1, 2a y 3b descritos más abajo. El comprimido contiene 10 mg del ingrediente farmacéutico activo del Ejemplo 2. La composición final del

Ejemplo 2 se muestra en la Tabla 7 más abajo. El peso del núcleo del comprimido fue de 710 mg, el peso del comprimido con cubierta entérica con subrecubrimiento fue de 771,1 mg.

#### Materiales

5 Se usaron Eudragit® FS 30 D, Eudragit® L 30 D-55, Plasacryl™ T20 como se venden por Evonik Industries, Essen, Alemania en 2014. Se usaron Opadry® Clear 03K19229, y Opadry® White 03F180011 como se venden por Colorcon, PA, EE.UU, 2014. Se usó Pharmacoat® 603 como se vende por Shin-Etsu Ltd., Tokio, Japón, en 2014.

#### 10 Preparación del núcleo del comprimido (Método 1)

El material del núcleo del comprimido con la siguiente composición:

- 15 a) derivado de GLP-1 1,41 % p/p,  
b) caprato de sodio 77,46 % p/p,  
c) sorbitol 20,63 % p/p, y  
d) ácido esteárico 0,50 % p/p

se fabricó de la siguiente manera:

20 Se pesó la cantidad correcta de GLP-1. El polvo de sorbitol se tamizó mediante el uso de una malla de tamaño de 0,5 mm seguido por el pesaje de la cantidad correcta de sorbitol.

25 El GLP-1 y el sorbitol se mezclaron en un contenedor pequeño. Una cantidad de sorbitol equivalente a la cantidad de GLP-1 se añadió al contenedor y se mezcló a mano. Después, se añadió el doble de la cantidad de sorbitol con relación a la adición anterior y se mezcló a mano hasta que el GLP-1 y todo el sorbitol se mezclaron bien. Esta etapa se siguió por la mezcla mecánica en un mezclador Turbula para completar la mezcla para obtener una mezcla homogénea que consistió en GLP-1 y sorbitol.

30 Después, se añadió caprato de sodio (en forma de granulado) a la mezcla que consistía en GLP-1 y sorbitol de acuerdo con el principio de volúmenes iguales. Un granulado de caprato de sodio puede prepararse mediante granulación. Esto se realizó en dos etapas y se concluyó con una etapa de mezcla mecánica en un mezclador Turbula que dio como resultado una mezcla que consistió en GLP-1, sorbitol y caprato de sodio.

35 Finalmente, se tamizó el ácido esteárico mediante el uso de una malla de tamaño de 0,3 mm seguido por el pesaje de la cantidad correcta de ácido esteárico, y la adición de este a la mezcla que consistía en GLP-1, sorbitol, y caprato de sodio y se mezcló mecánicamente para dar como resultado el granulado final.

40 Después, el granulado final se comprimió en una prensa de comprimidos para formar comprimidos de una masa de 710 mg, a menos que se indique de cualquier otra manera en la presente descripción, mediante un proceso de compresión estándar, por ejemplo, mediante el uso de una prensa de comprimido Fette 1021. Los comprimidos se produjeron a un nivel técnico que permitió un procesamiento adicional tal como, por ejemplo, recubrimiento.

Añadir subrecubrimiento al núcleo del comprimido

#### 45 *Método 2a – Opadry® Clear 03K19229*

50 Un núcleo del comprimido preparado por el Método 1 se recubrió con un subrecubrimiento que comprende Opadry® Clear 03K19229. La suspensión de recubrimiento se preparó mediante a) adición de 6 g de material de recubrimiento Opadry® Clear 03K19229 (polvo de polímero) en 94 g de agua desmineralizada en una mezcla intensa mediante el uso de un agitador magnético estándar, seguido por b) agitación a baja intensidad durante 45 minutos, y finalmente c) tamizar la suspensión para eliminar grumos. El recubrimiento de los núcleos de los comprimidos se realizó en una bandeja de recubrimiento con el tamaño de bandeja de 8,5", con una boquilla de pulverización Schlick de aire de patrón convencional con un orificio de 1,0 mm, una presión de aire de patrón y atomizado de 0,55 bar, una temperatura de aire de entrada de 40 °C y un flujo de aire de 100 kg/hora. Después de la adición de la cantidad requerida de suspensión de recubrimiento (1,4 % p/p de peso seco del polvo de polímero, ver Tabla 7) distribuida uniformemente en los núcleos de los comprimidos, la pulverización se detuvo y los comprimidos se secaron por hasta 30 minutos dentro de la bandeja.

#### 60 *Método 2c – Pharmacoat® 603*

65 Un núcleo del comprimido preparado por el Método 1 se recubrió con un subrecubrimiento que comprendía Pharmacoat® 603. La suspensión de recubrimiento se preparó mediante a) humectación de 10 g de Pharmacoat® 603 con 90 g de agua en ebullición mientras se agitó con una cuchara b) disolución de 2 g de triacetina en 112 g de agua desmineralizada y adición a la suspensión de hipromelosa de Pharmacoat® 603, seguido por c) agitación a intensidad baja durante hasta 45 min. Después, d) adición de 0,9 g de talco de la suspensión, y finalmente e) homogenización de la suspensión durante al menos 15 min. El recubrimiento de los núcleos de los comprimidos se

realizó mediante el uso del mismo equipo y condiciones como se describió para el Método 2a. Después de la adición de la cantidad requerida de suspensión de recubrimiento (1,4 % p/p en peso seco del material de recubrimiento hipromelosa de Pharmacoat®, ver la Tabla 6) distribuida uniformemente en los comprimidos, la pulverización se detuvo y los comprimidos se secaron por hasta 30 minutos dentro de la bandeja.

5 Adición de recubrimiento entérico (Método 3b – combinación de Eudragit® FS30 D y Eudragit® L 30 D-55)

Se aplicó un recubrimiento de copolímero aniónico sobre un núcleo del comprimido recubierto con un subrecubrimiento preparado de acuerdo con el Método 1 y Método 2a, de acuerdo con el siguiente método:

10 Se mezcló 17,4 g de PlasAcryl™T20 con 20,0 g de agua desmineralizada durante 5 min mientras se agitaba. Se mezcló 1,7 g de trietilcitrate con 44,9 g de agua desmineralizada durante 5 min y después se añadió a PlasAcryl™T20. Se colocaron 92,8 g de una dispersión acuosa del material de recubrimiento Eudragit® FS 30 D en un vaso de precipitado en un aparato de agitación adecuado. Se añadieron la suspensión de PlasAcryl™ T20 y 23,2 g del material de recubrimiento L30D-55 a la suspensión de FS30D mientras se agitaba por al menos 10 min antes de la filtración a través de un filtro de malla de 0,24 mm para eliminar los grumos resultantes en la suspensión de recubrimiento. Las cantidades de Eudragit® FS 30 D y Eudragit® L 30 D-55 descritas aquí resultan en una relación de 80:20 entre Eudragit® FS 30 D y Eudragit® L 30 D-55.

20 El recubrimiento con la suspensión de recubrimiento se realizó en una bandeja de recubrimiento con tamaño de bandeja de 8,5", con una boquilla de pulverización Schlick de aire de patrón convencional con un orificio de 1,0 mm, una presión de aire de patrón y atomizado de 0,5-0,7 bar, temperatura de aire de entrada de 37 °C, flujo de aire de 100 kg/hora. Después de la adición de la cantidad requerida de suspensión de recubrimiento (6,4 % p/p en peso seco de la combinación de los materiales de recubrimiento Eudragit® FS 30 D y Eudragit® L 30 D-55, ver la Tabla 7) distribuida uniformemente en los comprimidos, la pulverización se detuvo y los comprimidos se secaron por hasta 30 minutos dentro de la bandeja.

Tabla 6: Composición del comprimido del Ejemplo 1

Componente del comprimido	Cantidad por comprimido (mg)	Concentración en el núcleo del comprimido (% p/p)	Concentración en el comprimido recubierto final (% p/p)	Ubicación en el comprimido	Función
Derivado de GLP-1 del Ejemplo 1 (API)	10	1,4	1,3	Núcleo del comprimido	Agonista de GLP-1
Caprato de sodio	550	77,5	71,3	Núcleo del comprimido	Potenciador de la permeación
Parteck SI 150 (Sorbitol)	146,4	20,6	19,0	Núcleo del comprimido	Relleno
Ácido Esteárico	3,6	0,5	0,5	Núcleo del comprimido	Lubricante
Pharmacoat	10,7	N/A	1,4	Entre el núcleo del comprimido y el recubrimiento entérico	Subrecubrimiento
FS30D:L30D-55 80:20	50,4	N/A	6,5	Alrededor del subrecubrimiento	Recubrimiento entérico

Tabla 7: Composición del comprimido del Ejemplo 2

Componente del comprimido	Cantidad por comprimido (mg)	Concentración en el núcleo del comprimido (% p/p)	Concentración en el comprimido recubierto final (% p/p)	Ubicación en el comprimido	Función
Derivado de GLP-1 del Ejemplo 2 (API)	10	1,4	1,3	Núcleo del comprimido	Agonista de GLP-1
Caprato de sodio	550	77,5	71,3	Núcleo del comprimido	Potenciador de la permeación
Parteck SI 150 (Sorbitol)	146,4	20,6	19,0	Núcleo del comprimido	Relleno

	Ácido Esteárico	3,6	0,5	0,5	Núcleo del comprimido	Lubricante
5	Opadry Clear	10,7	N/A	1,4	Entre el núcleo del comprimido y el recubrimiento entérico	Subrecubrimiento
10	FS30D: L30D-55 80:20	50,4	N/A	6,45	Alrededor del subrecubrimiento	Recubrimiento entérico

Ejemplo 34: Estudio farmacodinámico (PD) en cerdos

El propósito de este experimento es investigar el efecto de los derivados de GLP-1 sobre la ingestión de alimentos en cerdos. Esto se realizó en un estudio farmacodinámico (PD) como se describe más abajo, en el cual la ingestión de alimentos se midió de 1 a 4 días después de la administración de una dosis única del derivado de GLP-1, en comparación con un grupo control tratado con vehículo.

Se usaron cerdos hembras Landrace Yorkshire Duroc (LYD) o el híbrido Large White, de aproximadamente 3 meses de edad, que pesaron aproximadamente 30-35 kg (n=3-4 por grupo). Los animales se alojaron en un grupo durante aproximadamente 1 semana durante su aclimatación a las instalaciones de los animales. Durante el periodo experimental los animales se colocaron en corrales individuales al menos 2 días antes de la administración de la dosis y durante todo el experimento para la medición individual de la ingestión de alimentos.

Los animales se alimentaron a voluntad con forraje para cerdos (Svinefoder Danish Top o dieta HRC Sow and Weaner) en todos los momentos tanto durante la aclimatación como durante el periodo experimental. La ingestión de alimentos se monitoreó en línea mediante el registro del peso del forraje cada 15 minutos mediante el uso del sistema Mpigwin (Ellegaard Systems, Faaborg, Dinamarca). Alternativamente, se ofreció forraje cada día en la mañana y se garantizó la disponibilidad durante todo el periodo de 24 horas. En la mañana siguiente cualquier forraje no comido se retiró, se pesó (manualmente), y se reemplazó con forraje fresco.

Los derivados de GLP-1 se disolvieron en un tampón fosfato (fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 70 mM, tween 80 al 0,05 %, pH 7,4) a concentraciones de aproximadamente 120 nmol/ml que corresponden a dosis de 3 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 ingestión de alimentos se midió durante 2-4 días después de la administración de la dosis. El último día de cada estudio, 2 o 4 días después de la administración de la dosis, se tomó una muestra de sangre del corazón de los animales anestesiados para medir la exposición en plasma del derivado de GLP-1. A continuación, los animales se sacrificaron con una sobredosis intracardiaca 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 o LC-MS.

La ingestión de alimentos se calculó en intervalos de 24 horas (0-24 h, 24-48 h, 48-72 h y 72-96 h). En la Tabla 8 más abajo se indica la ingestión de alimentos promedio resultante como el porcentaje de la ingestión de alimentos promedio del grupo vehículo en el mismo intervalo de tiempo.

Tabla 8: Efecto sobre la ingestión de alimentos en cerdos

Derivado de GLP-1 del Ejemplo núm.	PD en cerdos, ingestión de alimentos (% del vehículo) por horas (x-y)			
	0-24	24-48	48-72	72-96
1	26	53	-	-
2	54	66 <sup>NS</sup>	-	-
5	58	75 <sup>NS</sup>	-	-
7	84 <sup>NS</sup>	85 <sup>NS</sup>	-	-
8	76 <sup>NS</sup>	83 <sup>NS</sup>	-	-
12	15	38	-	-
13	54	86 <sup>NS</sup>	-	-
15	57	62	75 <sup>NS</sup>	90 <sup>NS</sup>
16	82 <sup>NS</sup>	84 <sup>NS</sup>	-	-
20	10	18	65	81 <sup>NS</sup>

Los datos muestran que una inyección s.c. única de los derivados de GLP-1 probados en los cerdos provocó una reducción de la ingestión de alimentos por hasta 2-4 días después de la inyección. Sin embargo, para los resultados marcados con "NS" la reducción no fue diferente significativamente en comparación con el grupo vehículo, en las condiciones de prueba presentes. Los derivados de los Ejemplos 12 y 20 mostraron la mayor reducción en la ingestión de alimentos (días 1 y 2).

Listado de secuencias

<110> Novo Nordisk A/S  
 <120> Compuestos de GLP-1 acilados doblemente  
 <130> 130049WO01  
 5 <160> 6  
 <170> Novo Nordisk A/S PatSeq 1.0.5.5  
 <210> 1  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 10 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <223> GLP-1(7-37) humano natural  
 <400> 1

15 <210> 2

**His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly**  
 20 **1 5 10 15**  
**Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly**  
**20 25 30**

<211> 31  
 <212> PRT  
 25 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Análogo de GLP-1  
 <220>  
 <221> Mod\_Res  
 30 <222> (2)..(2)  
 <223> /mod\_res= "Aib (ácido 2-aminoisobutírico)"  
 <400> 2

35 <210> 3

**His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu**  
 40 **1 5 10 15**  
**Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Lys Lys**  
**20 25 30**

<211> 31  
 <212> PRT  
 45 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Análogo de GLP-1  
 <220>  
 <221> Mod\_Res  
 50 <222> (2)..(2)  
 <223> /mod\_res= "Aib (ácido 2-aminoisobutírico)"  
 <400> 3

**His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly**  
 55 **1 5 10 15**  
**Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Lys Lys**  
**20 25 30**

<210> 4  
 60 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Análogo de GLP-1  
 65 <220>  
 <221> Mod\_Res



ES 2 741 507 T3

<222> (2)..(2)  
 <223> /mod\_res= "Aib (ácido 2-aminoisobutírico)"  
 <400> 4

5 <210> 5  
 <211> 31

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 10 Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Gln Gly Lys Lys  
 20 25 30

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15 <220>  
 <223> Análogo de GLP-1  
 <400> 5

20 <210> 6

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 25 Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Lys Lys  
 20 25 30

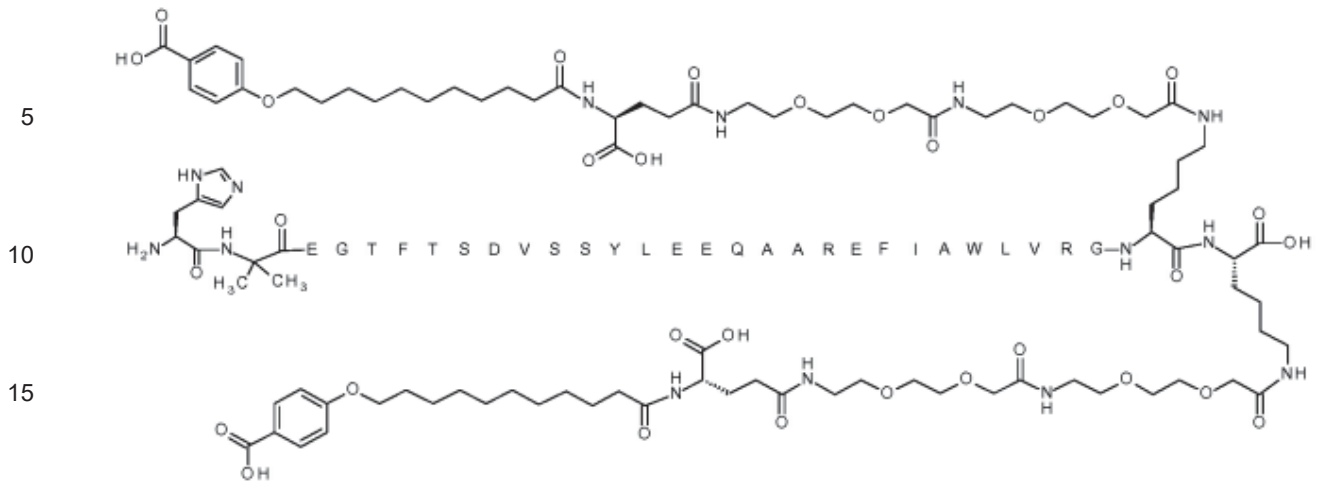
<211> 31  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 30 <223> Análogo de GLP-1  
 <220>

<221> Mod\_Res  
 <222> (2)..(2)  
 <223> /mod\_res= "Aib (ácido 2-aminoisobutírico)"  
 35 <400> 6

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 40 Gln Ala Ala Arg Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Arg Gly Lys Lys  
 20 25 30

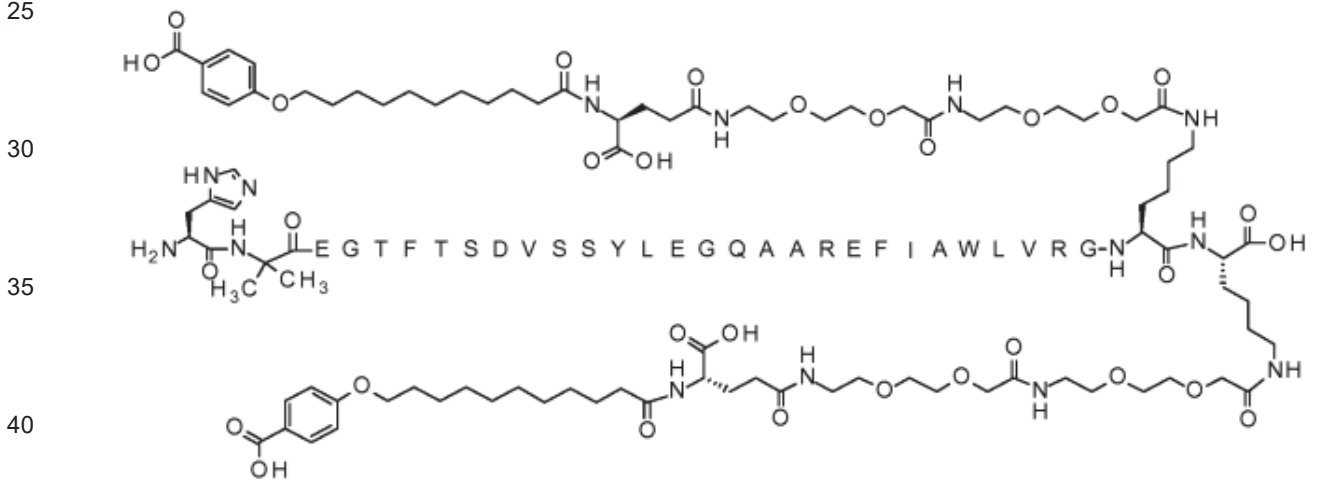
## REIVINDICACIONES

1. Un derivado de un péptido GLP-1,  
 cuyo péptido se incorpora en el derivado y comprende un primer residuo de Lys en una posición que  
 corresponde a la posición 36 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), un segundo residuo de Lys en una posición que  
 corresponde a la posición 37 de GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), y un máximo de siete cambios de aminoácidos  
 en comparación con GLP-1(7-37) (SEQ ID NO: 1), que incluye los dos cambios de aminoácidos en Lys36 y  
 Lys37;  
 cuyo derivado comprende dos prolongadores unidos a dichos primer y segundo residuos de Lys,  
 respectivamente, cada uno a través de un enlazador; en donde  
 el prolongador se selecciona de:
- Quím. 1:  $\text{HOOC-C}_6\text{H}_4\text{-O-(CH}_2\text{)}_y\text{-CO-}^*$ , y
- Quím. 2:  $\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_x\text{-CO-}^*$ ,
- en donde y es un número entero en el intervalo de 8-11, y x es 12; y  
 el enlazador comprende al menos uno de:
- Quím. 3:  $^*\text{-NH-CH(COOH)-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-}^*$ ,
- Quím. 4:  $^*\text{-NH-CH((CH}_2\text{)}_2\text{-COOH)-CO-}^*$ , y/o
- Quím. 5:  $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-[O-(CH}_2\text{)}_2\text{]}_k\text{-O-[CH}_2\text{]}_n\text{-CO-}^*$ ,
- 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, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.
2. El derivado de conformidad con la reivindicación 1, en donde el enlazador comprende el Quím. 5.
3. El derivado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde  $k=n=1$ .
4. El derivado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el Quím. 5 se incluye una,  
 dos, tres, o cuatro veces.
5. El derivado de conformidad con cualquiera de las modalidades 1-4, en donde el enlazador comprende el Quím.  
 3 o el Quím. 4.
6. El derivado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el péptido GLP-1 comprende  
 un compuesto de GLP-1 de Fórmula I:  
 $\text{Xaa}_7\text{-Xaa}_8\text{-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa}_{16}\text{-Ser-Xaa}_{18}\text{-Xaa}_{19}\text{-Xaa}_{20}\text{-Glu-Xaa}_{22}\text{-Xaa}_{23}\text{-Ala-Xaa}_{25}\text{-Xaa}_{26}\text{-}$   
 $\text{Xaa}_{27}\text{-Phe-Ile-Xaa}_{30}\text{-Xaa}_{31}\text{-Leu-Xaa}_{33}\text{-Xaa}_{34}\text{-Xaa}_{35}\text{-Lys}_{36}\text{-Lys}_{37}$ , en donde  
 $\text{Xaa}_7$  es L-histidina, ácido (S)-2-hidroxi-3-(1H-imidazol-4-il)-propiónico, D-histidina, desamino-histidina (desH),  
 $\text{N}^\alpha$ -acetil-histidina,  $\text{N}^\alpha$ -formil-histidina;  
 $\text{Xaa}_8$  es Ala, Gly, Ser, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico;  
 $\text{Xaa}_{16}$  es Val o Leu;  
 $\text{Xaa}_{18}$  es Ser o Arg;  
 $\text{Xaa}_{19}$  es Tyr o Gln;  
 $\text{Xaa}_{20}$  es Leu o Met;  
 $\text{Xaa}_{22}$  es Gly o Glu;  
 $\text{Xaa}_{23}$  es Gln, Glu o Arg;  
 $\text{Xaa}_{25}$  es Ala o Val;  
 $\text{Xaa}_{26}$  es Arg o Lys;  
 $\text{Xaa}_{27}$  es Glu o Leu;  
 $\text{Xaa}_{30}$  es Ala o Glu;  
 $\text{Xaa}_{31}$  es Trp o His;  
 $\text{Xaa}_{33}$  es Val o Arg;  
 $\text{Xaa}_{34}$  es Arg, Lys, His, Asn o Gln; y  
 $\text{Xaa}_{35}$  es Gly o Aib.
7. Un derivado de GLP-1 seleccionado de los siguientes:  
 $\text{N}\{\text{Épsilon-36}\}\text{-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-}$   
 $\text{carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil}$ ,  $\text{N}\{\text{Épsilon-37}\}\text{-[2-[2-}$   
 $\text{[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-}$   
 $\text{carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil}\text{-}$   
 $\text{[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido}$ ,



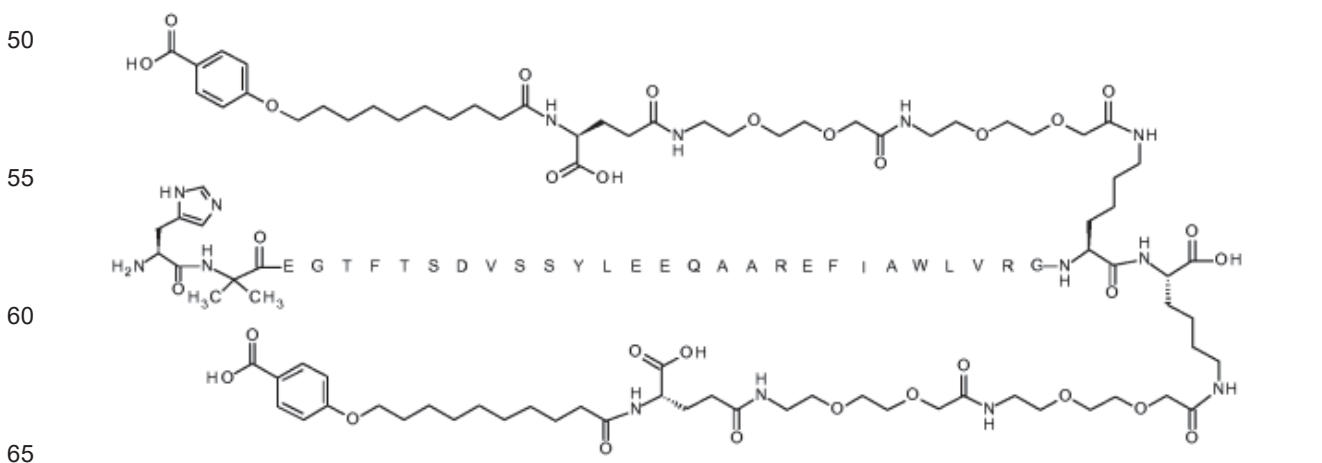
20 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

25



45 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

50



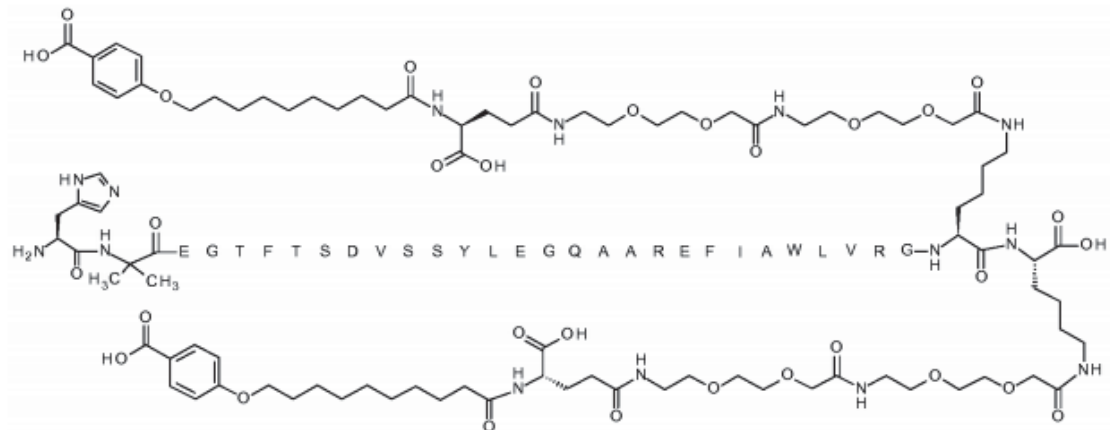
N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-carboxifenoxy)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

5

10

15

20



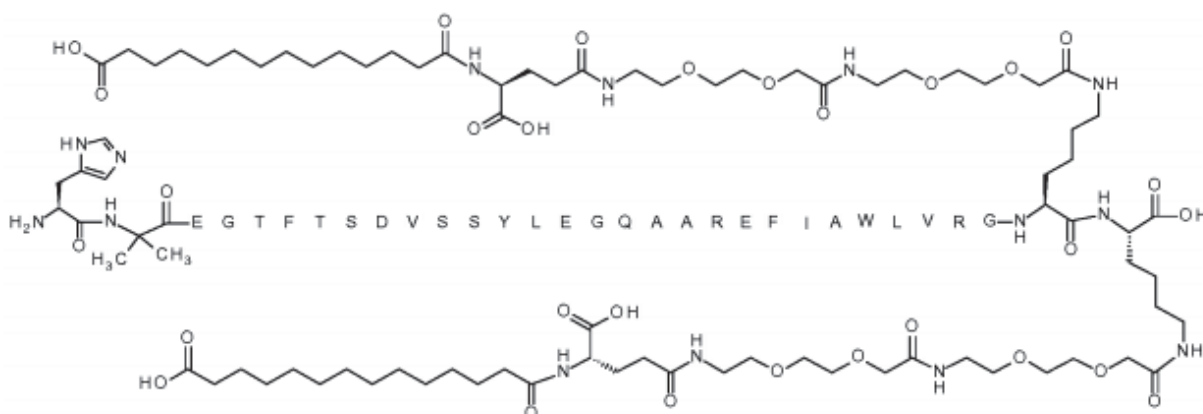
N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

25

30

35

40



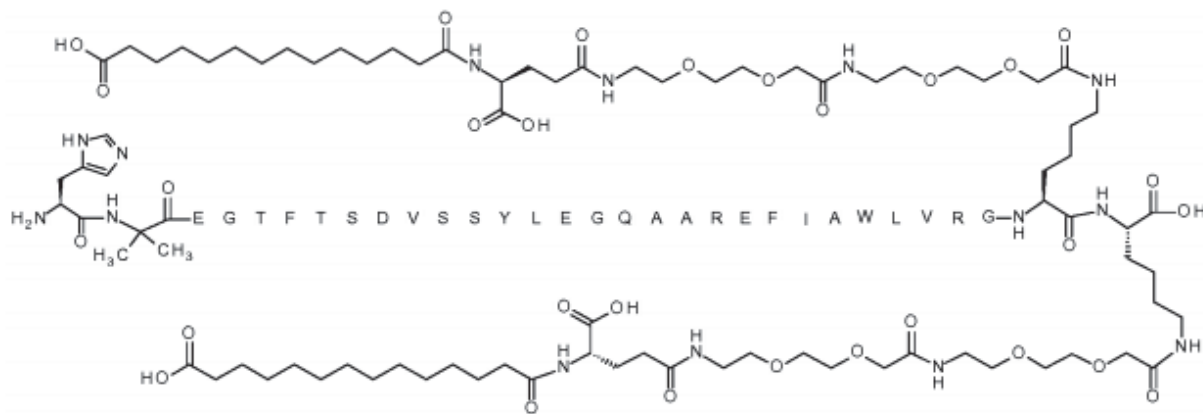
N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

45

50

55

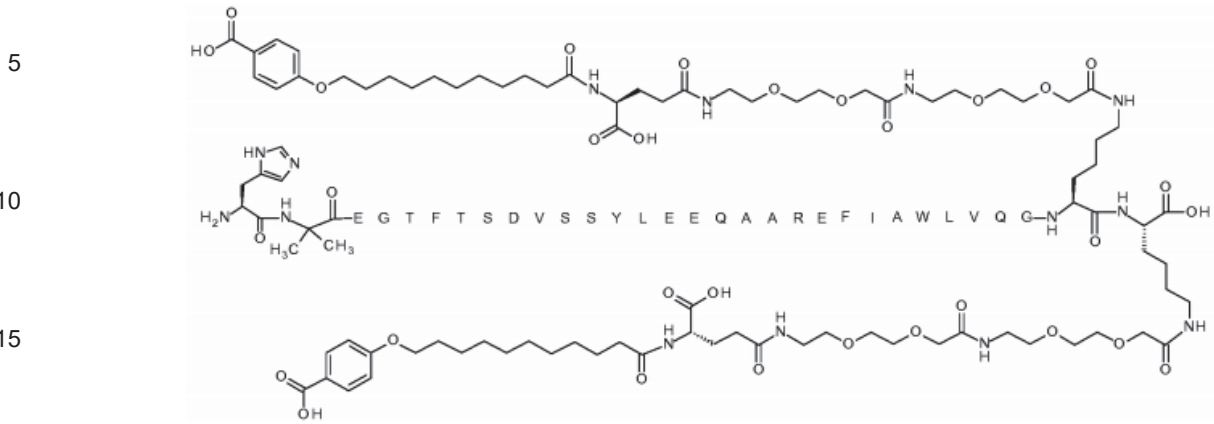
60



N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxy)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-

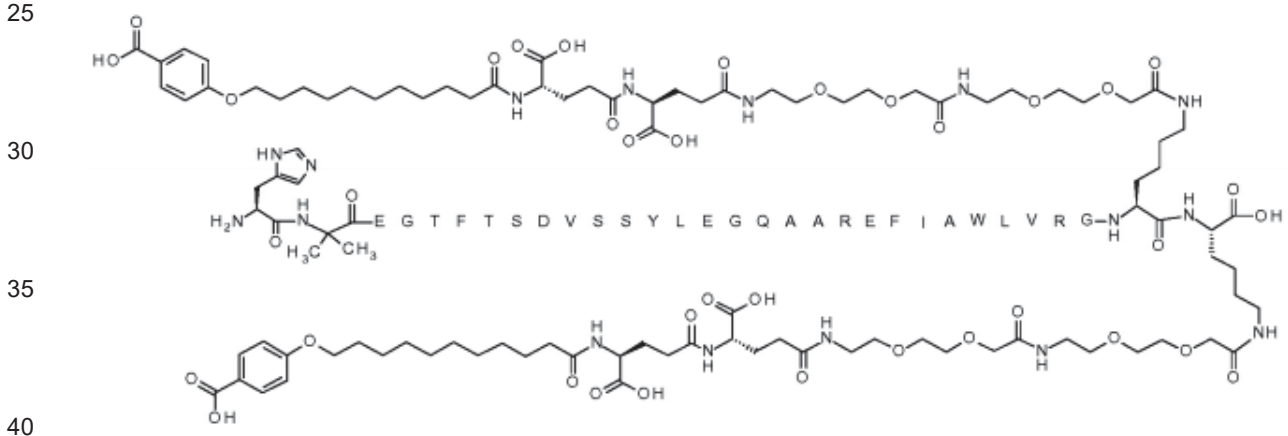
65

carboxifenoxi]undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-  
[Aib8, Glu22, Arg26, Gln34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,



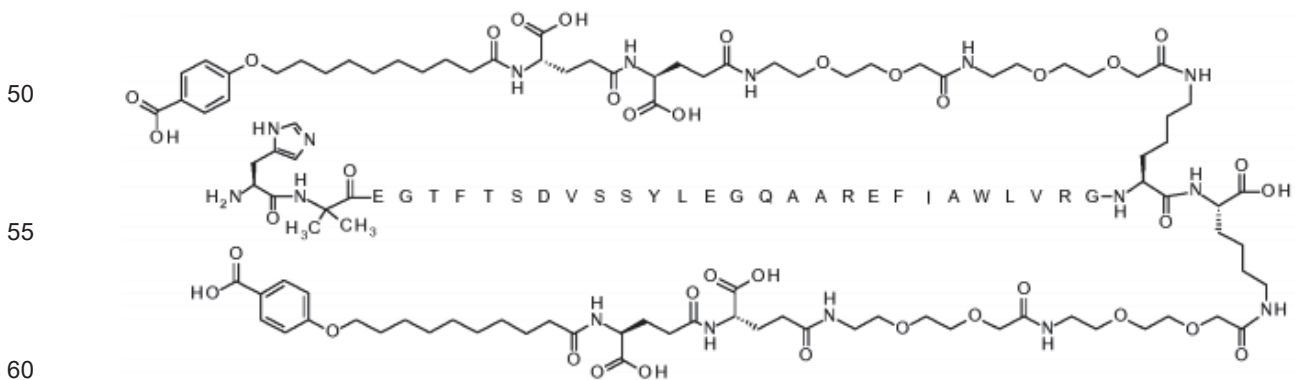
20

N(Épsilon-36)-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-  
carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil],  
N(Épsilon-37)-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-  
carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-  
[Aib8, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,



45

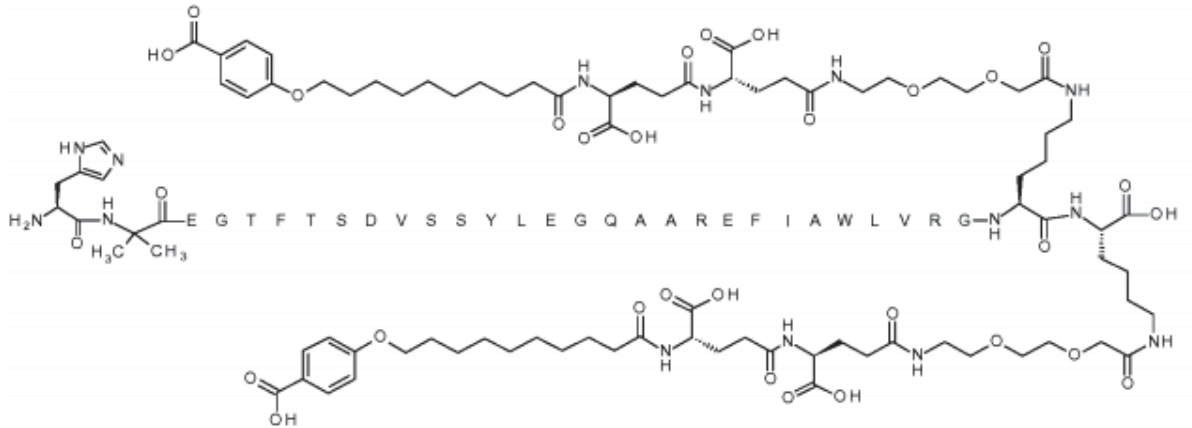
N(Épsilon-36)-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-  
carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil],  
N(Épsilon-37)-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-  
carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-  
[Aib8, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido.



65

N(Épsilon-36)-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-  
carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N(Épsilon-37)-[2-[2-[2-[[4S]-4-  
carboxi-4-[[4S]-4-carboxi-4-[10-(4-  
carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-  
[Aib8, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

5



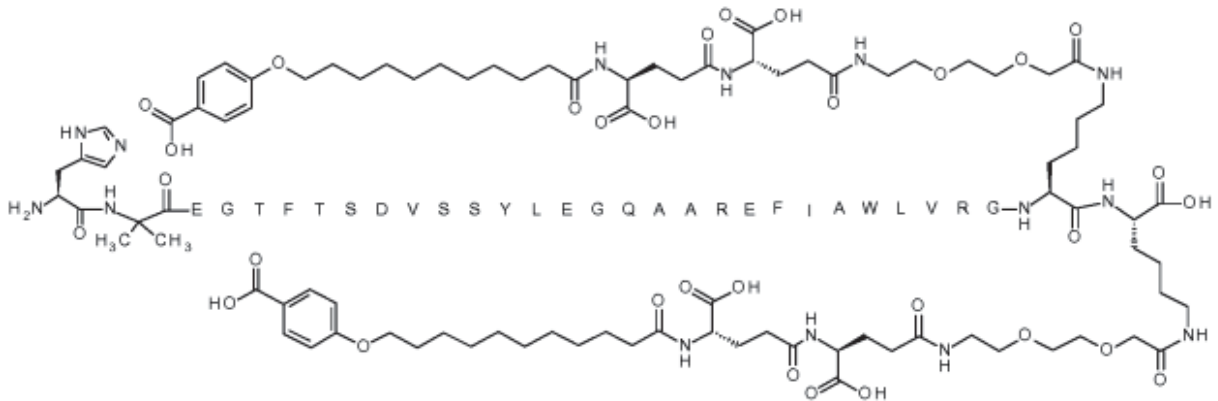
10

15

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxy)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxy)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

20

25



30

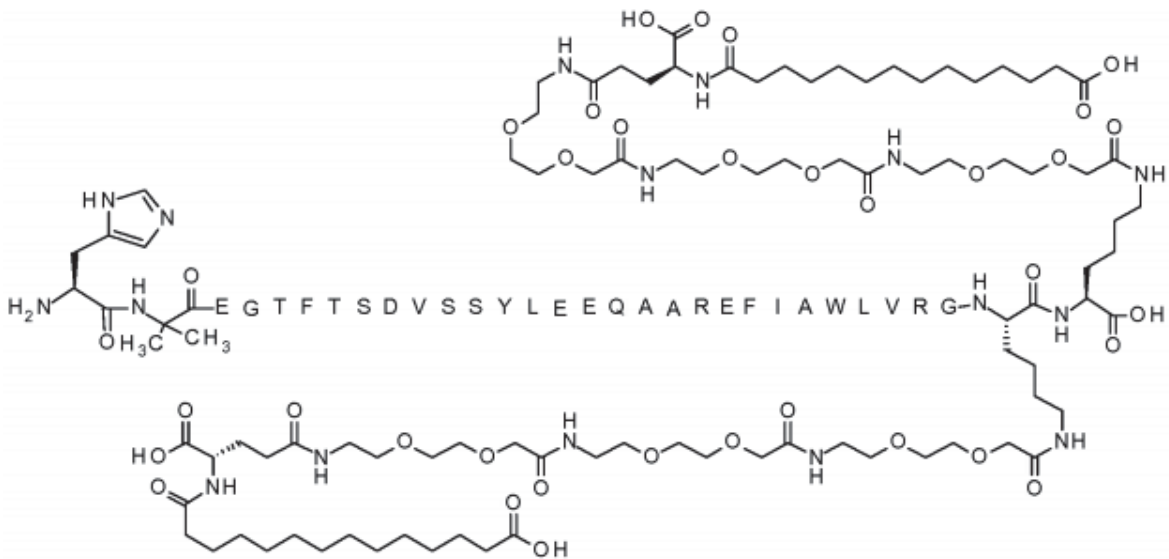
35

40

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

45

50

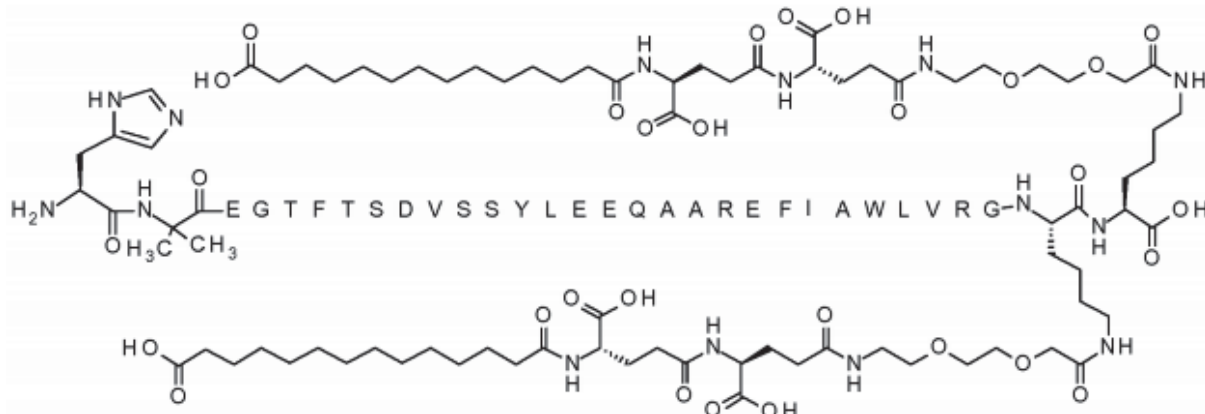


55

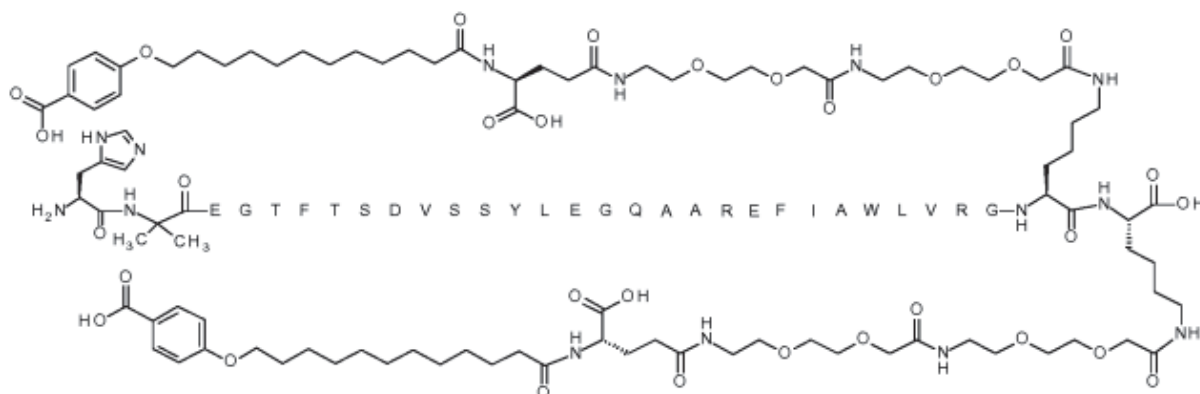
60

65

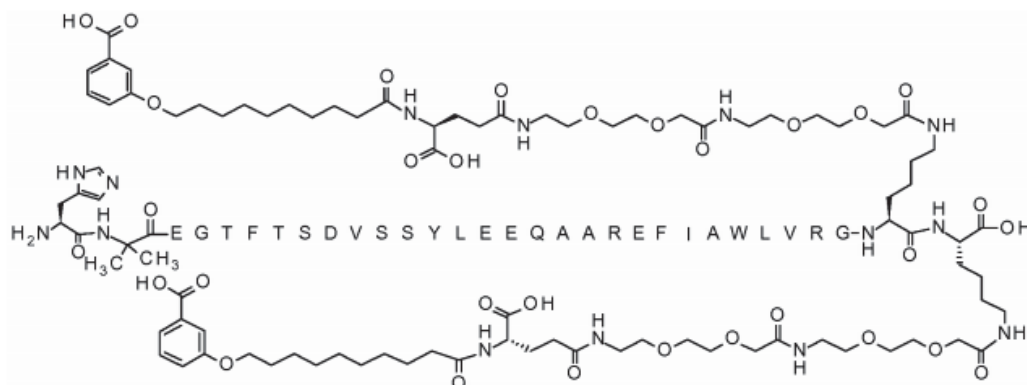
N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[[[4S]-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,



N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,



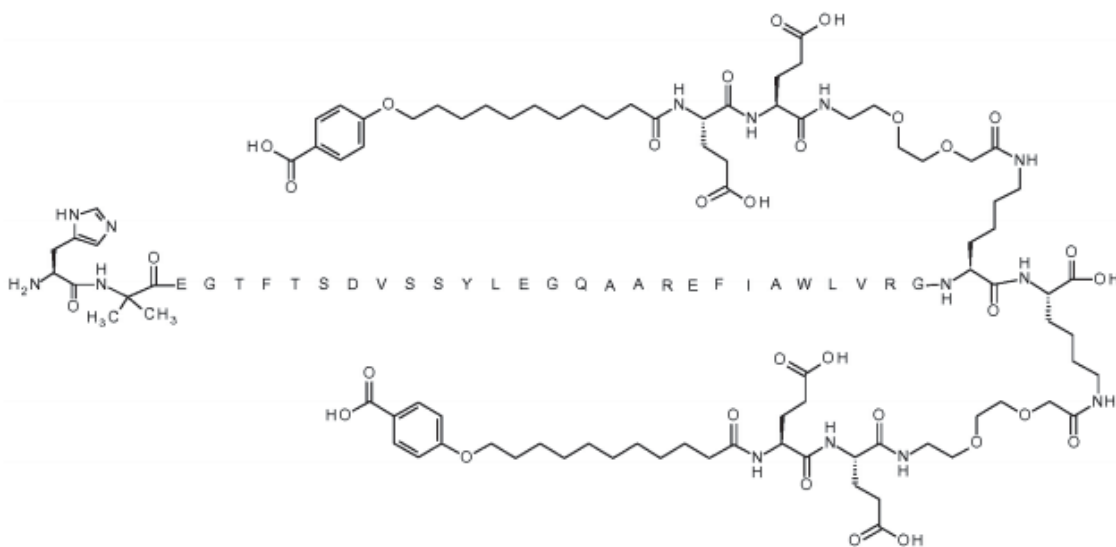
N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,



N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[[2S]-4-carboxi-2-[[[2S]-4-carboxi-2-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[[2S]-4-carboxi-2-[[[2S]-4-carboxi-2-[11-(4-

carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-  
[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

5



10

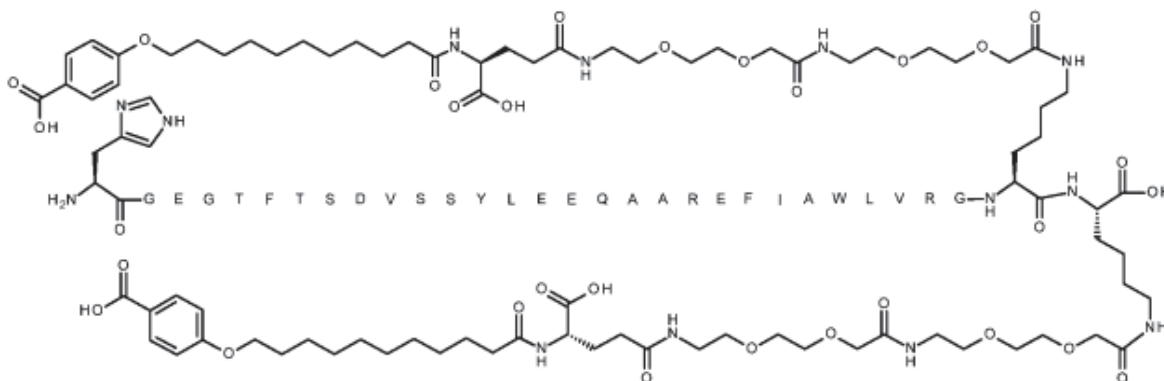
15

20

25

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Gly8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

30



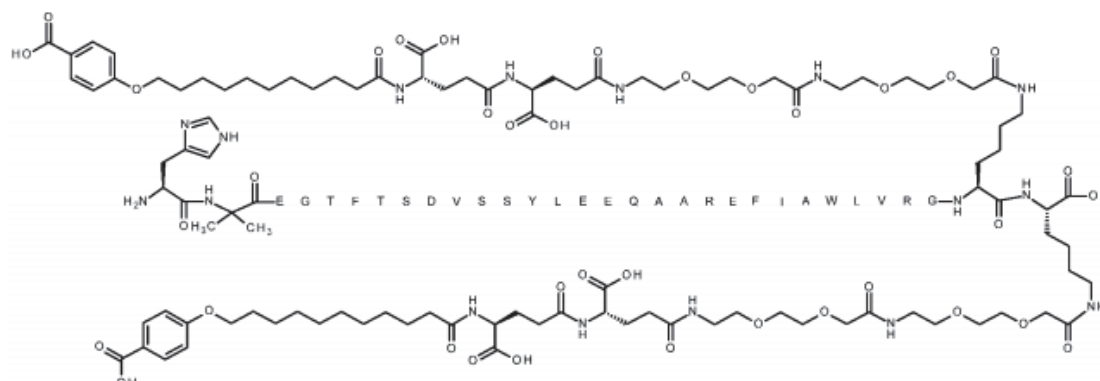
35

40

45

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[[4S]-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

50



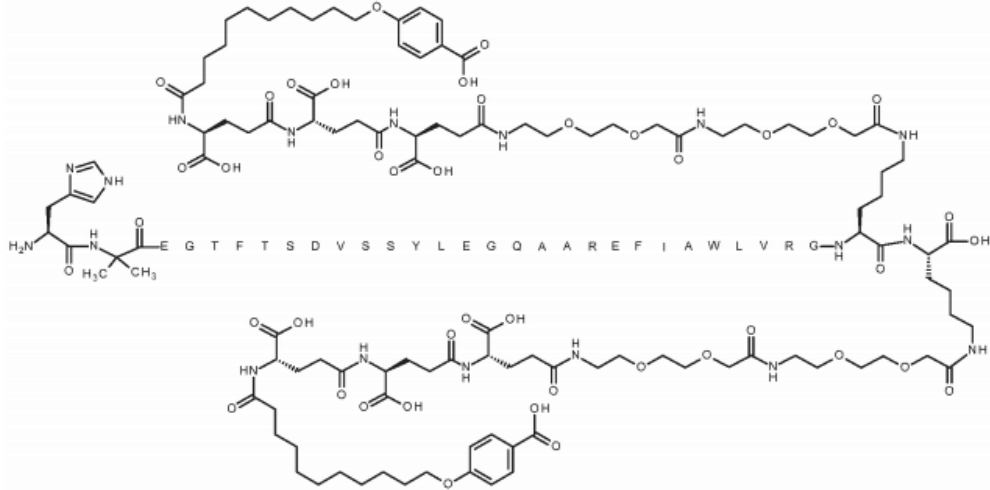
55

60

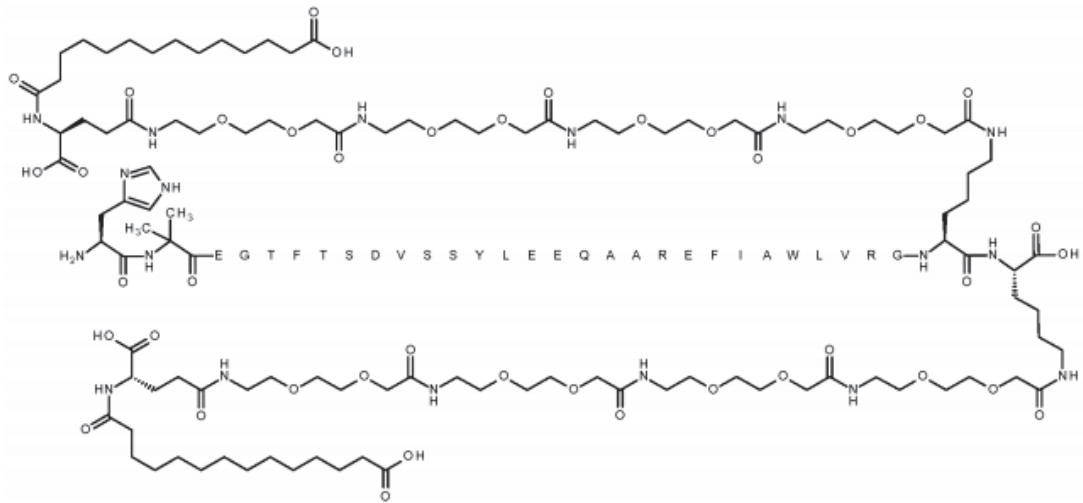
65



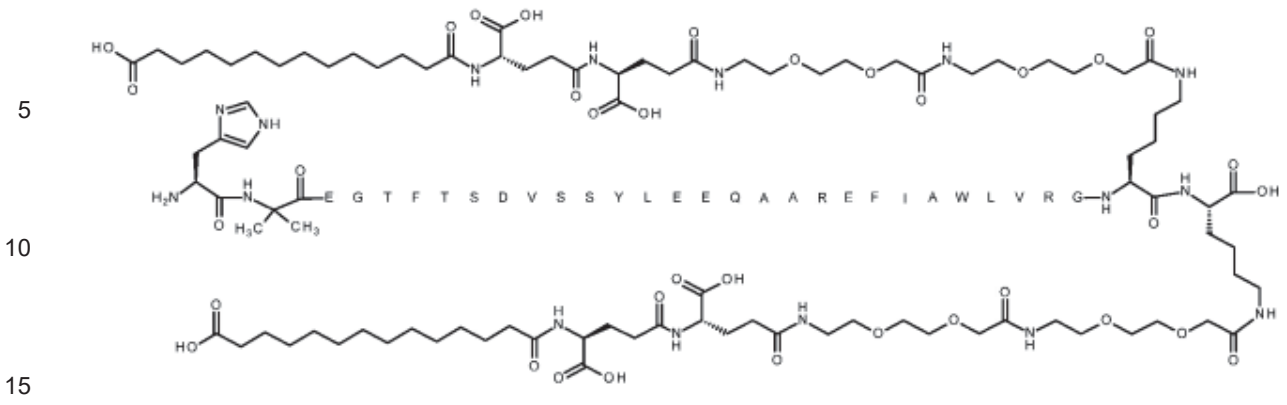
N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[11-(4-carboxifenoxi)undecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,



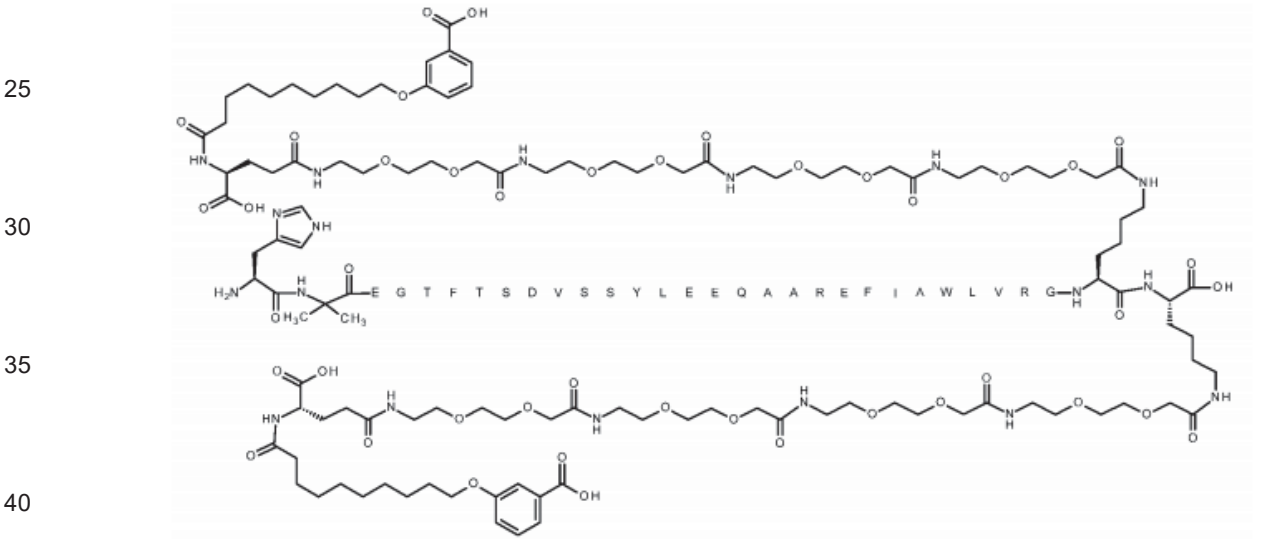
N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,



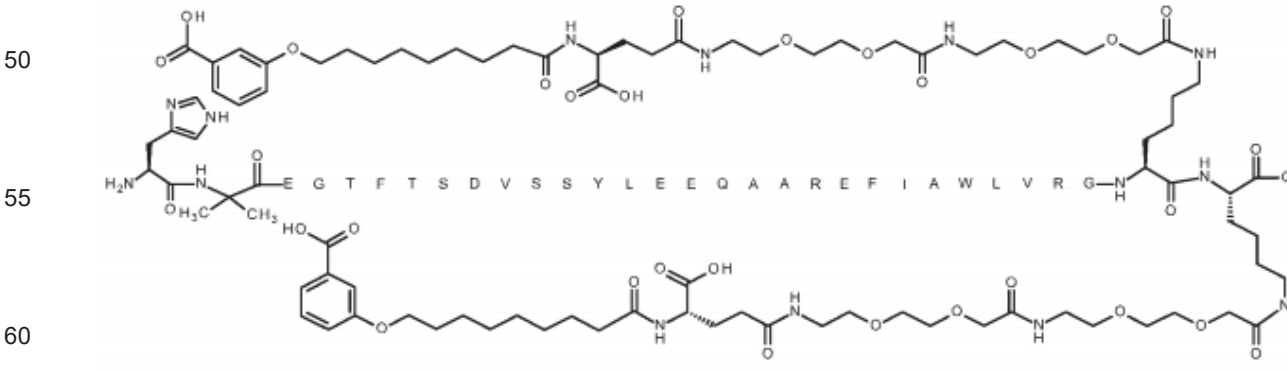
N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,



N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

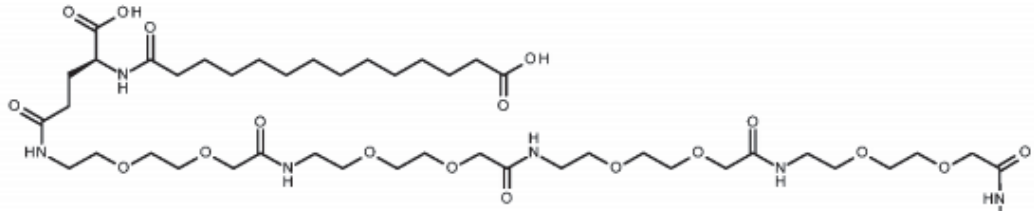


N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[9-(3-carboxifenoxi)nonanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,



N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-(13-carboxitridecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8, Glu22, Arg26, Arg34, Lys36, Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

5

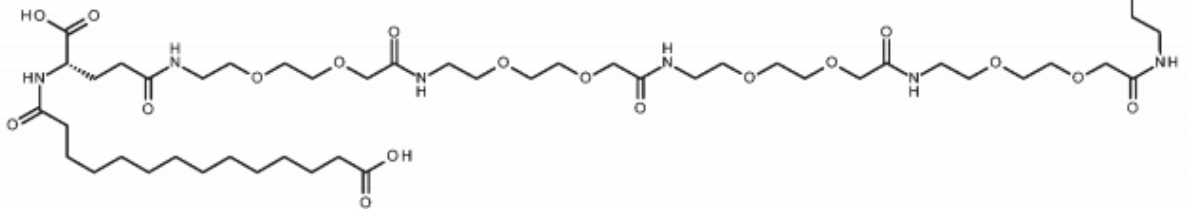


10



15

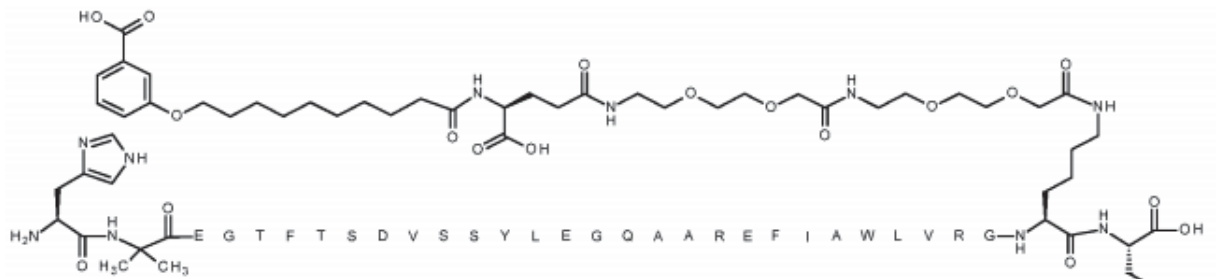
20



25

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

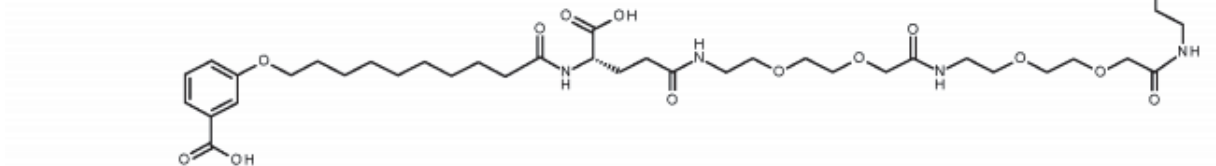
30



35

40

45



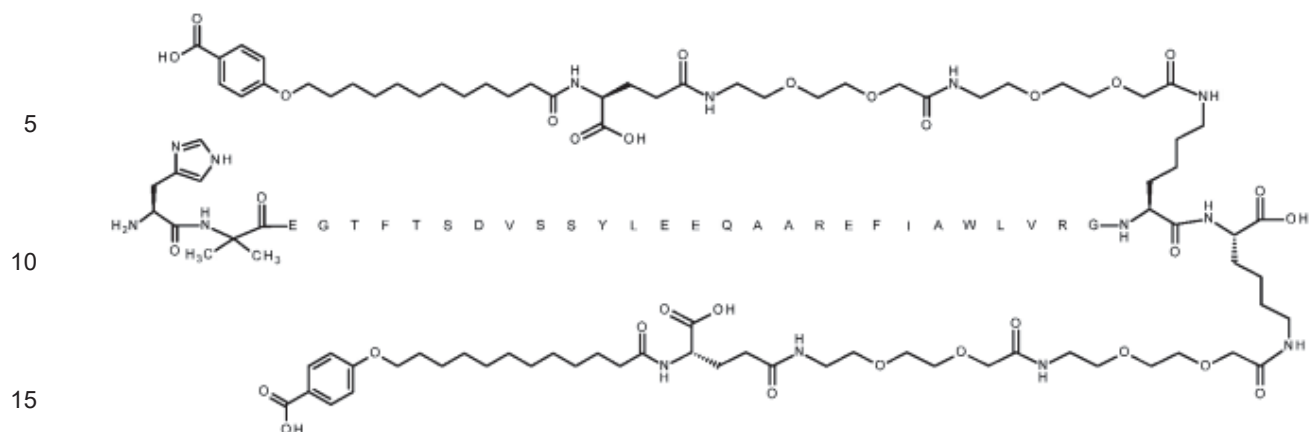
50

N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S]-4-carboxi-4-[12-(4-carboxifenoxi)dodecanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib8,Glu22,Arg26,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido,

55

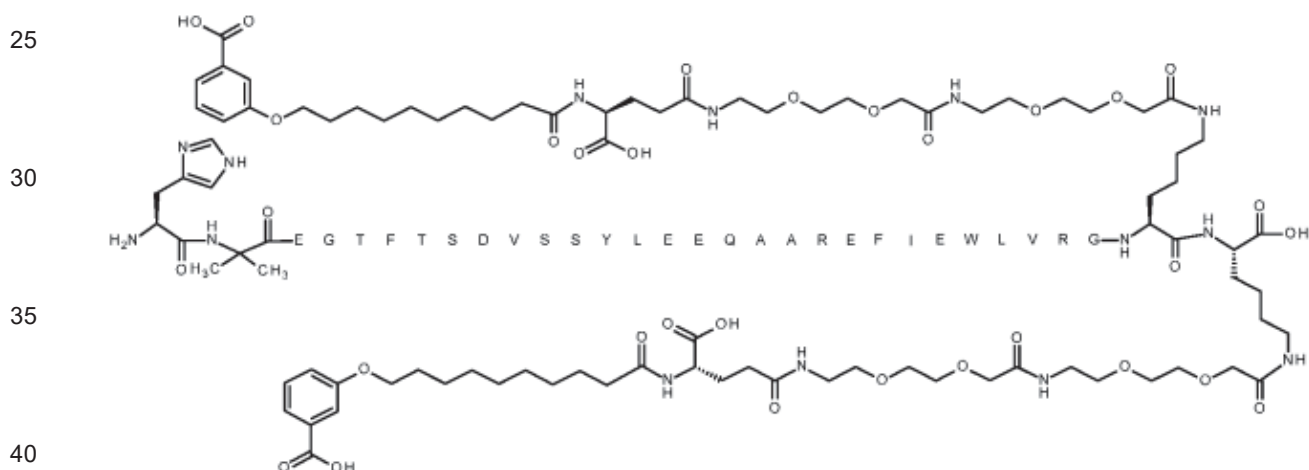
60

65



20 N{Épsilon-36}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil], N{Épsilon-37}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[10-(3-carboxifenoxi)decanoilamino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-

25 [Aib8,Glu22,Arg26,Glu30,Arg34,Lys36,Lys37]-GLP-1-(7-37)-péptido, y



o una sal, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.

8. Un péptido GLP-1 como se definió en la reivindicación 1 y de Fórmula I:
- 45 Xaa7-Xaa8-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa16-Ser-Xaa18-Xaa19-Xaa20-Glu-Xaa22-Xaa23-Ala-Xaa25-Xaa26-Xaa27-Phe-Ile-Xaa30-Xaa31-Leu-Xaa33-Xaa34-Xaa35-Lys36-Lys37, en donde
- Xaa7 es L-histidina, ácido (S)-2-hidroxi-3-(1H-imidazol-4-il)-propiónico, D-histidina, desamino-histidina (desH), N<sup>α</sup>-acetil-histidina, N<sup>α</sup>-formil-histidina;
- 50 Xaa8 es Ala, Gly, Ser, Aib, ácido (1-aminociclopropil) carboxílico, ácido (1-aminociclobutil) carboxílico;
- Xaa16 es Val o Leu;
- Xaa18 es Ser o Arg;
- Xaa19 es Tyr o Gln;
- Xaa20 es Leu o Met;
- Xaa22 es Gly o Glu;
- 55 Xaa23 es Gln, Glu o Arg;
- Xaa25 es Ala o Val;
- Xaa26 es Arg o Lys;
- Xaa27 es Glu o Leu;
- Xaa30 es Ala o Glu;
- 60 Xaa31 es Trp o His;
- Xaa33 es Val o Arg;
- Xaa34 es Arg, Lys, His, Asn o Gln; y
- Xaa35 es Gly o Aib;
- o una sal, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.

9. Un péptido GLP-1 como se definió en la reivindicación 1 y de Fórmula I:

Xaa<sub>7</sub>-Xaa<sub>8</sub>-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Xaa<sub>16</sub>-Ser-Xaa<sub>18</sub>-Xaa<sub>19</sub>-Xaa<sub>20</sub>-Glu-Xaa<sub>22</sub>-Xaa<sub>23</sub>-Ala-Xaa<sub>25</sub>-Xaa<sub>26</sub>-Xaa<sub>27</sub>-Phe-Ile-Xaa<sub>30</sub>-Xaa<sub>31</sub>-Leu-Xaa<sub>33</sub>-Xaa<sub>34</sub>-Xaa<sub>35</sub>-Lys<sub>36</sub>-Lys<sub>37</sub>, en donde

- 5 Xaa<sub>7</sub> está ausente;  
 Xaa<sub>8</sub> está ausente;  
 Xaa<sub>16</sub> es Val o Leu;  
 Xaa<sub>18</sub> es Ser o Arg;  
 Xaa<sub>19</sub> es Tyr o Gln;  
 Xaa<sub>20</sub> es Leu o Met;  
 Xaa<sub>22</sub> es Gly o Glu;  
 10 Xaa<sub>23</sub> es Gln, Glu o Arg;  
 Xaa<sub>25</sub> es Ala o Val;  
 Xaa<sub>26</sub> es Arg o Lys;  
 Xaa<sub>27</sub> es Glu o Leu;  
 Xaa<sub>30</sub> es Ala o Glu;  
 15 Xaa<sub>31</sub> es Trp o His;  
 Xaa<sub>33</sub> es Val o Arg;  
 Xaa<sub>34</sub> es Arg, Lys, His, Asn o Gln; y  
 Xaa<sub>35</sub> es Gly o Aib;  
 20 o una sal, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.
10. Un derivado de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-7 o un péptido de conformidad con la reivindicación 8, para su uso como un medicamento.
- 25 11. El derivado o el péptido de conformidad con la reivindicación 10, para su uso en el tratamiento y/o prevención de todas las formas de diabetes, trastornos de la alimentación, 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 prevenir la progresión de la enfermedad diabética.