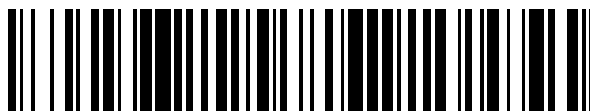


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 048**

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: **22.04.2014 PCT/EP2014/058084**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.10.2014 WO14170496**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.04.2014 E 14719715 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2019 EP 2986313**

54 Título: **Coagonistas de receptores de GLP-1/glucagón prolongados y estables para uso médico**

30 Prioridad:

18.04.2013 EP 13164272

23.04.2013 US 201361814969 P

11.12.2013 EP 13196656

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

15.04.2020

73 Titular/es:

NOVO NORDISK A/S (100.0%)

Novo Allé

2880 Bagsværd, DK

72 Inventor/es:

SENSFUSS, ULRICH;

KRUSE, THOMAS y

LAU, JESPER F.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 754 048 T3

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

DESCRIPCIÓN

Coagonistas de receptores de GLP-1/glucagón prolongados y estables para uso médico

5 Campo técnico

La invención se refiere a novedosos coagonistas de receptores de GLP-1/glucagón prolongados y estables, a su uso en terapia, a métodos de tratamiento que comprenden la administración de estos a pacientes, y al uso de estos en la fabricación de medicamentos.

10 Listado de secuencias

El Listado de Secuencias, de 3.390 bytes, se creó el 17 de abril de 2013 y se incorpora en la presente descripción como referencia.

15 Antecedentes de la invención

El aumento en la incidencia de la obesidad ha alcanzado proporciones epidémicas en el mundo occidental y además, más recientemente, en los países en desarrollo. La obesidad se asocia con comorbilidades significativas tales como enfermedades cardiovasculares y diabetes Tipo 2. En la actualidad, el único tratamiento que elimina la obesidad con elevada eficacia es la cirugía bariátrica, pero este tratamiento es costoso y riesgoso. La intervención farmacológica es generalmente menos eficaz y se asocia con efectos secundarios. Por lo tanto, existe una necesidad obvia de una intervención farmacológica más eficaz con menos efectos secundarios y una administración conveniente.

25 Numerosas hormonas peptídicas gastrointestinales se involucran presuntamente en la regulación de la ingestión de alimentos, ya sea anorexigénicas (por ejemplo, CCK, GLP-1, PYY, secretina) u orexigénicas (por ejemplo, ghrelina) [Moran TH: Gut peptides in the control of food intake; *Int. J. Obes. (Lond)*. 2009 33 S7-10]. Recientemente, se demostró que la oxintomodulina, un producto a partir del gen proglucagón en las células L intestinales, induce la saciedad y reduce el peso corporal tanto en roedores como en seres humanos [Cohen MA y otros: Oxyntomodulin suppresses appetite and reduces food intake in humans; *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003 88 4696-4701; Dakin CL y otros: Oxyntomodulin inhibits food intake in the rat; *Endocrinology* 2001 142 4244-4250]. La oxintomodulina es un agonista dual que activa tanto los receptores de GLP-1 como del glucagón, si bien con potencia reducida en comparación con el GLP-1 y el glucagón, respectivamente. Se especuló previamente que el efecto anorexigénico de la oxintomodulina se mediaba por el receptor de GLP-1, aunque numerosos estudios más antiguos indicaron la implicación del glucagón pancreático en el control del peso corporal. Dos artículos recientes muestran presuntamente al glucagón como un objetivo atractivo y demostraron el poder de un direccionamiento simultáneo a los receptores de GLP-1/glucagón mediante la construcción de agonistas duales y la comparación del efecto de disminución del peso en modelos de gen anulado [Pocai y otros; Glucagon-Like Peptide 1/Glucagon Receptor Dual Agonism Reverses Obesity in Mice; *Diabetes*, 2009, 58, 2258-2266; Day y otros; A new GLP-1 co-agonist eliminates obesity in rodents; *Nat. Chem. Biol.*, 2009, 5, 749-757].

45 Un efecto fisiológico del glucagón es aumentar los niveles de glucosa en sangre en condiciones hipoglucémicas mediante la estimulación de la glucogenólisis y la gluconeogénesis. Sin embargo, el efecto agudo del glucagón en los niveles de glucosa en sangre parece ser modesto cuando el glucagón se infunde a niveles cercanos al fisiológico [Sherwin RS y otros: Hyperglucagonemia and blood glucose regulation in normal, obese and diabetic subjects; *N. Engl. J. Med.* 1976, 294, 455-461]. Además, se ha demostrado que la activación del receptor de glucagón aumenta el gasto de energía y disminuye la ingestión de alimentos tanto en roedores como en seres humanos [Habegger KM y otros: The metabolic actions of glucagon revisited; *Nat. Rev. Endocrinol.* 2010 6 689-697] y estos efectos son robustos y sostenidos en roedores. El riesgo del aumento de los niveles de glucosa en sangre debido al agonismo del glucagón puede contrarrestarse por los niveles apropiados del agonismo del GLP-1. Un coagonista de los receptores de GLP-1/gluc con un efecto balanceado sobre los dos receptores puede dar lugar a una pérdida de peso mejorada en comparación con un agonista puro de GLP-1 sin comprometer la tolerancia a la glucosa. Sin embargo, existen varios obstáculos en el desarrollo de dicho coagonista hacia un producto farmacéutico, relacionados con la vida media, la estabilidad, la solubilidad y la actividad del receptor. Por ejemplo, si se usa glucagón como un punto de partida para dicho coagonista, debe establecerse la actividad del receptor de GLP-1 sin destruir la actividad en el receptor de glucagón. Además, dado que el glucagón es insoluble inherentemente a pH neutro, es química y físicamente inestable y su vida media *in vivo* es de solo unos pocos minutos.

60 Se conocen en la técnica varias solicitudes de patente que describen diferentes coagonistas de los receptores de GLP-1/glucagón, por ejemplo, los documentos WO 2008/101017, WO 2010/070255, WO 2012/150503 y WO 2012/169798.

65 En resumen, existen varios obstáculos en el desarrollo de dicho coagonista hacia productos farmacéuticos, en particular:

(i) Actividad del receptor - La potencia de los receptores de glucagón y de GLP-1 y/o la relación de afinidad de unión del coagonista deben equilibrarse para favorecer una reducción robusta del peso corporal, sin comprometer el equilibrio de la glucosa;

5 (ii) Un perfil de acción prolongado, es decir, una vida media *in vivo* que permita la administración de la dosis, por ejemplo, una vez al día o una vez a la semana; y

(iii) Solubilidad aceptable, estabilidad química y física.

10 Cuando se usa glucagón como un punto de partida para dicho coagonista, debe establecerse la actividad y/o afinidad del receptor de GLP-1 sin destruir la actividad del glucagón. El glucagón natural es inherentemente insoluble a pH neutro, es química y físicamente inestable y su vida media *in vivo* es de solo unos pocos minutos.

Breve descripción de la invención

15 La invención se refiere a novedosos coagonistas estables y prolongados de los receptores de GLP-1/glucagón (también denominados como "péptidos" o "derivados" en la presente descripción, en particular denominados como "derivados de glucagón" en la presente descripción), al uso de dichos péptidos en la terapia, a métodos de tratamiento que comprenden la administración de dichos péptidos a los pacientes, y al uso de dichos péptidos en la fabricación de medicamentos para su uso en medicina, lo que incluye el tratamiento de la diabetes, la obesidad y enfermedades y afecciones relacionadas.

20 En una primera modalidad, la invención se refiere a un derivado de glucagón que comprende la secuencia de aminoácidos de Fórmula I (que corresponde a la SEQ ID NO:4 y la SEQ ID NO:5):

25 His-X₂-X₃-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X₁₀-Ser-X₁₂-Tyr-Leu-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-Ala-X₂₀-X₂₁-Phe-Val-X₂₄-Trp-Leu-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀ [I],

en donde,

30 X₂ representa Aib, Acb o Acpr;

X₃ representa Gln o His;

X₁₀ representa Leu;

X₁₂ representa Lys o Arg;

X₁₅ representa Asp o Glu;

35 X₁₆ representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys;

X₁₇ representa Arg o Lys;

X₁₈ representa Arg, Ala o Lys;

X₂₀ representa Gln, Arg, Glu, Aib o Lys;

X₂₁ representa Asp, Glu, Ser, o Lys;

40 X₂₄ representa Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys;

X₂₇ representa Met, Leu o Val;

X₂₈ representa Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys;

X₂₉ representa Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys;

X₃₀ representa Lys, o X₃₀ está ausente;

45 cuya secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una o más de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30; y

50 en donde dicho derivado de glucagón comprende un sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, en donde una de dichas porciones cargadas negativamente es distal de dicha porción lipófila, y en donde dicho sustituyente se une en la posición épsilon de un residuo de lisina en una de las posiciones de aminoácidos 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 o 30; y en donde dicho derivado de glucagón es una amida C-terminal; o una sal aceptable farmacéuticamente o profármaco de esta.

55 En una modalidad, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un derivado de glucagón de acuerdo con la invención y opcionalmente uno o más excipientes aceptables farmacéuticamente.

60 En una modalidad, la invención se refiere a un producto intermedio en forma de un péptido de glucagón que comprende una amida C-terminal y una cualquiera de las modificaciones a) a ppp), como se define en la presente descripción, en comparación con el glucagón (SEQ ID NO: 1), o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.

En una modalidad, la invención se refiere a un derivado de glucagón de la invención, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en medicina.

65 La invención puede resolver otros problemas que resultarán evidentes a partir de la descripción de las modalidades ilustrativas.

Descripción detallada de la invención

La invención proporciona novedosos derivados de glucagón que son coagonistas de los receptores de GLP-1/glucagón con una novedosa mutación de aminoácidos, que en combinación con otras mutaciones y un sustituyente con porciones cargadas negativamente, proporcionan derivados de glucagón que activan tanto los receptores de GLP-1 como los de glucagón. Los inventores han encontrado que, por ejemplo, la introducción de una leucina en la posición 10, en análogos con un sustituyente con al menos tres cargas negativas además de otras sustituciones, da lugar a coagonistas de los receptores de GLP-1/glucagón con estabilidad física mejorada, es decir, los análogos muestran fibrilación retardada o nula en el ensayo usado para evaluar la estabilidad física y se mejoró en general la recuperación de los péptidos. Además, los inventores han encontrado sorprendentemente que los derivados de glucagón de la invención tienden a reducir la unión al receptor de glucagón y al mismo tiempo mejoran a menudo la unión al receptor de GLP-1. Por lo tanto, la(s) mutación(es) novedosa(s) puede(n) usarse como una herramienta para ajustar la relación entre la afinidad del glucagón y del GLP-1 lo cual es fundamental para obtener el efecto deseado sobre el peso corporal y mantener los niveles de glucosa en sangre.

Los inventores han encontrado que los compuestos de la invención tienen solubilidad acuosa adecuada a pH neutro o pH ligeramente básico y con una estabilidad química mejorada, es decir, se reduce la degradación química de los análogos. Los inventores han encontrado que los compuestos de la invención tienen propiedades farmacocinéticas mejoradas, es decir, tienen una vida media prolongada *in vivo*. Además, los compuestos de la invención inducen una reducción significativa en el peso corporal después de la administración s.c.

Los derivados de glucagón de la invención pueden caracterizarse en particular como un derivado de glucagón que comprende la secuencia de aminoácidos de Fórmula I (que corresponde a la SEQ ID NO:4 y la SEQ ID NO:5):

His-X₂-X₃-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X₁₀-Ser-X₁₂-Tyr-Leu-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-Ala-X₂₀-X₂₁-Phe-Val-X₂₄-Trp-Leu-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀ [I]

en donde

X₂ representa Aib, Acb o Acpr;

X₃ representa Gln o His;

X₁₀ representa Leu;

X₁₂ representa Lys o Arg;

X₁₅ representa Asp o Glu;

X₁₆ representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys;

X₁₇ representa Arg o Lys;

X₁₈ representa Arg, Ala o Lys;

X₂₀ representa Gln, Arg, Glu, Aib o Lys;

X₂₁ representa Asp, Glu, Ser o Lys;

X₂₄ representa Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys;

X₂₇ representa Met, Leu o Val;

X₂₈ representa Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys;

X₂₉ representa Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys;

X₃₀ representa Lys, o X₃₀ está ausente;

cuya secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una o más de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30; y en donde dicho derivado de glucagón comprende un sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, en donde una de dichas porciones cargadas negativamente es distal de una porción lipófila, se une a la posición épsilon de un residuo de lisina en una de las posiciones de aminoácidos 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 o 30; y en donde dicho derivado de glucagón es una amida C-terminal, o una sal aceptable farmacéuticamente o profármaco de esta.

En una modalidad, el derivado de glucagón comprende la secuencia de aminoácidos de Fórmula I (que corresponde a la SEQ ID NO:2 y la SEQ ID NO:3):

His-X₂-X₃-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X₁₀-Ser-X₁₂-Tyr-Leu-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-Ala-X₂₀-X₂₁-Phe-Val-X₂₄-Trp-Leu-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀ [I]

en donde

X₂ representa Aib, Acb o Acpr;

X₃ representa Gln o His;

X₁₀ representa Leu, Ile o Val;

X₁₂ representa Lys o Arg;

X₁₅ representa Asp o Glu;

X₁₆ representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys;

X₁₇ representa Arg o Lys;

X₁₈ representa Arg, Ala o Lys;
 X₂₀ representa Gln, Arg, Glu, Aib o Lys;
 X₂₁ representa Asp, Glu o Lys;
 X₂₄ representa Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys;
 5 X₂₇ representa Met, Leu o Val;
 X₂₈ representa Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys;
 X₂₉ representa Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys;
 X₃₀ representa Lys, o X₃₀ está ausente;

10 cuya secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una o más de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30; y en donde dicho derivado de glucagón comprende un sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, en donde una de dichas porciones cargadas negativamente es distal de una porción lipófila, se une a la posición épsilon de un residuo de lisina en una de las posiciones de aminoácidos 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 o 30; y en donde dicho derivado de glucagón es una amida C-terminal, o una sal aceptable farmacéuticamente o profármaco de esta.

En una modalidad, la invención se refiere a péptidos derivados de glucagón, en donde dichos péptidos derivados de glucagón son coagonistas de los receptores de GLP-1 y de glucagón.

20 Péptido de glucagón

El péptido de los derivados de glucagón de la invención puede describirse por referencia a i) el número de los residuos de aminoácidos en el glucagón humano (SEQ ID NO: 1) que corresponde al residuo de aminoácido que se modifica (es decir, la posición correspondiente en el glucagón (SEQ ID NO: 1)), y a ii) la propia modificación. Con respecto a la numeración de las posiciones en los compuestos de glucagón: para los propósitos presentes cualquier sustitución, delección y/o adición de aminoácidos se indica con relación a las secuencias del glucagón humano natural (1-29) (SEQ ID NO:1). Las posiciones de aminoácidos 1-29 del glucagón humano son en la presente descripción las mismas que las posiciones de aminoácidos X₁ a X₂₉. La secuencia (1-29) del glucagón humano es His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr (SEQ ID NO:1). Glucagón(1-30) significa glucagón humano con una extensión de un aminoácido en el C-terminal, glucagón(1-31) significa glucagón humano con una extensión de dos aminoácidos en el C-terminal y glucagón(1-32) significa glucagón humano con una extensión de tres aminoácidos en el C-terminal.

En otras palabras, el péptido del derivado de glucagón es un péptido de glucagón que tiene una serie de modificaciones de residuos de aminoácidos en comparación con el glucagón humano (SEQ ID NO: 1). Estos cambios pueden representar, independientemente, una o más sustituciones, adiciones y/o delecciones de aminoácidos. Por ejemplo, "[Aib₂,Leu₁₀,Lys₁₆,Arg₂₀,Leu₂₇,Ser₂₈]-Glucagón amida" designa el glucagón (SEQ ID NO: 1), en donde el aminoácido en la posición 2 se ha sustituido con Aib, el aminoácido en la posición 10 se ha sustituido con Leu, el aminoácido en la posición 16 se ha sustituido con Lys, el aminoácido en la posición 20 se ha sustituido con Arg, el aminoácido en la posición 27 se ha sustituido con Leu, el aminoácido en la posición 28 se ha sustituido con Ser, y el ácido carboxílico C-terminal se ha reemplazado con una amida C-terminal.

Los análogos "que comprenden" determinados cambios especificados pueden comprender otros cambios, en comparación con la SEQ ID NO: 1. En una modalidad particular, el análogo "tiene" los cambios especificados.

En una modalidad, los términos "péptido" y "análogo" (lo que incluye, por ejemplo, "péptido de glucagón", "análogo de péptido" y "análogo de glucagón") se usan indistintamente en la presente descripción y se refieren a la secuencia de aminoácidos del derivado de glucagón de la invención.

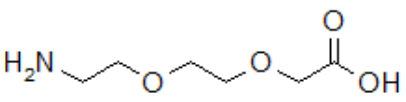
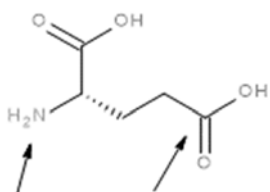
Las expresiones "posición" o "posición correspondiente" pueden usarse para caracterizar el sitio de cambio en una secuencia de aminoácidos en referencia al glucagón (SEQ ID NO: 1). La posición, así como también el número de cambios, se deducen fácilmente, por ejemplo, mediante simple escritura e inspección visual.

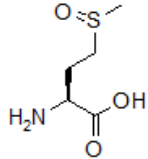
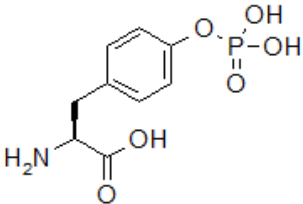
El término "análogo de glucagón", como se usa en la presente descripción, se refiere a la secuencia de glucagón en donde uno o más residuos de aminoácidos del péptido natural se han sustituido por otros residuos de aminoácidos y/o en donde se han eliminado uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia de glucagón y/o en donde se han añadido uno o más residuos de aminoácidos al péptido. Dicha adición o delección de residuos de aminoácidos puede tener lugar en el N-terminal del péptido y/o en el C-terminal del péptido. Se usa un sistema simple para describir los análogos. Las fórmulas de análogos de péptidos y derivados de estos se dibujan mediante el uso de abreviaturas estándar de una sola letra o tres letras para aminoácidos usadas de acuerdo con la nomenclatura IUPAC-IUB. El término "análogo", como se usa en la presente descripción con referencia a un polipéptido, significa un péptido modificado en donde uno o más residuos de aminoácidos del péptido se han sustituido por otros residuos de aminoácidos y/o en donde se han eliminado uno o más residuos de aminoácidos del péptido y/o en donde se han añadido uno o más residuos de aminoácidos al péptido. Dicha adición o delección de residuos de aminoácidos puede tener lugar en el N-terminal del péptido y/o en el C-terminal del péptido.

Los términos “polipéptido” y “péptido”, como se usan en la presente descripción, significan un compuesto formado por al menos cinco aminoácidos constituyentes conectados por enlaces peptídicos. Los aminoácidos constituyentes pueden ser del grupo de los aminoácidos codificados por el código genético y pueden ser aminoácidos naturales que no se codifican por el código genético, así como también aminoácidos sintéticos. Los aminoácidos naturales que no se codifican por el código genético son, por ejemplo, hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato, ornitina, fosfoserina, D-alanina y D-glutamina. Los aminoácidos sintéticos comprenden los aminoácidos fabricados mediante síntesis química, es decir, los D-isómeros de los aminoácidos codificados por el código genético tales como D-alanina y D-leucina, Aib (ácido α -aminoisobutírico), Acb (ácido 1-aminociclobutanocarboxílico), Acpr (ácido 1-aminociclopropanocarboxílico), Abu (ácido α -aminobutírico), Tle (terc-butilglicina), β -alanina, ácido 3-aminometil benzoico, y ácido antranílico.

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. En una modalidad, los análogos de péptidos y los derivados de estos se dibujan mediante el uso de códigos estándar de una letra o tres letras de acuerdo con la nomenclatura IUPAC-IUB. En el presente contexto, se aplican las reglas comunes para la nomenclatura peptídica basada en el código de aminoácidos de una o tres letras. Brevemente, la porción central de la estructura de aminoácido se representa por el código de tres letras (por ejemplo, Ala, Lys) o el código de una letra (por ejemplo, A, K) y se asume la configuración L, a menos que la configuración D se indique específicamente por “D-” seguido por el código de tres letras (por ejemplo, D-Ala, D-Lys). Un sustituyente en el grupo amino reemplaza un átomo de hidrógeno y su nombre se coloca antes del código de tres letras, mientras que un sustituyente en el C-terminal reemplaza el grupo hidroxilo carboxílico y su nombre aparece después del código de tres letras. Por ejemplo, “acetil-Gly-Gly-NH₂” representa CH₃-C(=O)-NH-CH₂-C(=O)-NH-CH₂-C(=O)-NH₂. A menos que se indique de cualquier otra manera, los aminoácidos se conectan a sus grupos vecinos por enlaces amida formados en el átomo N-2 (α -nitrógeno) y el átomo de carbono C-1 (C=O).

Las abreviaturas de aminoácidos usadas en el presente contexto tienen los significados siguientes:

Aminoácido	Descripción
Acb	Ácido 1-aminociclobutanocarboxílico
Acpr	Ácido 1-aminociclopropanocarboxílico
Ado	
Aib	Ácido 2-aminoisobutírico
Ala	Alanina
Asn	Asparagina
Asp	Ácido aspártico
Arg	Arginina
Cit	Citrulina
Cys	Cisteína
Gln	Glutamina
Glu	Ácido glutámico
γ -Glu	Y el enantiómero  el grupo alfa-nitrógeno y el gamma-carboxi forman los enlaces amida a los dos residuos vecinos
Gly	Glicina
His	Histidina
Hyp	4-hidroxiprolina
Ile	Isoleucina
Leu	Leucina
Lys	Lisina
Met	Metionina

5	Met(O)	
	Orn	Ornitina
10	Phe	Fenilalanina
	Pro	Prolina
	Ser	Serina
	Thr	Treonina
	Tyr	Tirosina
15	p(Tyr)	
20	Trp	Triptófano
	Val	Valina

25 Las abreviaturas de aminoácidos que comienzan con D- seguido de un código de tres letras, tal como D-Ser, D-His, etcétera, se refieren al enantiómero D del aminoácido correspondiente, por ejemplo, D-serina, D-histidina, etcétera.

30 El término "glucagón amida" significa glucagón en donde el ácido carboxílico C-terminal se ha reemplazado con una amida C-terminal.

35 El derivado de glucagón puede comprender una secuencia de aminoácidos de Fórmula I que tiene un total de hasta 15 diferencias en aminoácidos (también denominadas en la presente descripción como modificaciones) en comparación con el glucagón (SEQ ID NO: 1), por ejemplo, una o más adiciones, una o más deleciones y/o una o más sustituciones. En una modalidad, la secuencia de aminoácidos de Fórmula I comprende 3-15 modificaciones de residuos de aminoácidos, tales como sustituciones o adiciones, en comparación con el glucagón (SEQ ID NO: 1). En una modalidad, la secuencia de aminoácidos de Fórmula I comprende 4-15 o 5-15 modificaciones de residuos de aminoácidos, tales como sustituciones o adiciones, en comparación con el glucagón (SEQ ID NO: 1). En una modalidad, la secuencia de aminoácidos de Fórmula I comprende hasta 14, tal como hasta 13 o hasta 12, modificaciones de residuos de aminoácidos, tales como sustituciones o adiciones, en comparación con el glucagón (SEQ ID NO: 1). En una modalidad, la secuencia de aminoácidos de Fórmula I comprende hasta 11, tal como hasta 10 o hasta 9, modificaciones de residuos de aminoácidos, tales como sustituciones o adiciones, en comparación con el glucagón (SEQ ID NO: 1). En una modalidad, la secuencia de aminoácidos de Fórmula I comprende hasta 8, tal como hasta 7 o hasta 6, modificaciones de residuos de aminoácidos, tales como sustituciones o adiciones, en comparación con el glucagón (SEQ ID NO: 1).

En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde

50 X₂ representa Aib, Acb o Acpr;

X₃ representa Gln o His;

X₁₀ representa Leu;

X₁₂ representa Lys o Arg;

X₁₅ representa Asp o Glu;

X₁₆ representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib o Lys;

55 X₁₇ representa Arg o Lys;

X₁₈ representa Arg o Ala;

X₂₀ representa Gln, Arg, Glu o Lys;

X₂₁ representa Asp, Glu o Lys;

X₂₄ representa Gln, Ala, Arg o Lys;

60 X₂₇ representa Met, Leu o Val;

X₂₈ representa Asn, Ser o Lys;

X₂₉ representa Thr, Gly o Lys; y

X₃₀ representa Lys, o X₃₀ está ausente.

En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde

65 X₂ representa Aib, Acb o Acpr;

glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₁ representa Asp. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₁ representa Glu. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₁ representa Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₄ representa Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₄ representa Gln, Ala, Arg o Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₄ representa Gln. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₄ representa Ala. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₄ representa Arg. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₄ representa Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₇ representa Met, Leu o Val. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₇ representa Leu o Val. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₇ representa Met. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₇ representa Leu. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₇ representa Val. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₈ representa Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₈ representa Asn, Ser o Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₈ representa Asn. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₈ representa Ser. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₈ representa Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₉ representa Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₉ representa Thr, Gly o Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₉ representa Gly o Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₉ representa Thr. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₉ representa Gly. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂₉ representa Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₃₀ representa Lys, o en donde X₃₀ está ausente. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₃₀ representa Lys. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₃₀ está ausente. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₃₀ está ausente. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde X₂ representa Aib; X₂₀ representa Arg; y X₂₁ representa Glu.

En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos:

[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28];
 [Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28];
 [Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28];
 45 [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29];
 [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28];
 [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27];
 [Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29];
 50 [Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27];
 [Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29];
 [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 [Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29];
 55 [Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29];
 [Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29];
 [Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];
 [Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];
 60 [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];
 [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 65 [Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

- [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29];
 [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27];
 [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28];
 5 [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28];
 [Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28];
 [Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 10 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];
 [Acb2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];
 15 [Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28];
 20 [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28];
 [Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 25 [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28];
 [Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29];
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]; y
 30 [Aib2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos:
- [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28]; [Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28]; y
 35 Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28];
- 40 [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]; y [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos:
- [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27]; [Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29]; y
 45 [Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27];
- 50 [Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]; y [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29].
- En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos:
 [Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]; [Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29]; y
 55 [Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]; y [Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27].
 En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que
 60 comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos:
 [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]; [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; y
 [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se
 describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las
 siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 65 [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; y [Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28].
 En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que

comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29]; y [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28]; y [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]; [Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; y [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]; [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]; y [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]; y [Acb2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; y [Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; [Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28]; y [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]; y [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]; y [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]; y [Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29]; [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]; y [Aib2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]; [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; y [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28]. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, que comprende una secuencia de aminoácidos con las siguientes sustituciones de aminoácidos: [Aib2,Val10,Ala16,Leu27,Lys28].

En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, la secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una o más de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, la secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una, dos o tres de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, la secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una o dos de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, la secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en dos de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30; en particular en las posiciones 12 y 28. En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, la secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en la posición 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 o 30.

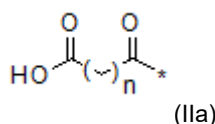
- En una modalidad, la secuencia de aminoácidos de Fórmula I consiste en la Fórmula I. En una modalidad, X₂ es Aib, Acb, o Acpr. En una modalidad, X₃ representa His. En una modalidad, X₁₀ representa Leu o Val. En una modalidad, X₁₂ representa Arg. En una modalidad, X₁₅ representa Glu. En una modalidad, X₁₆ representa Ala, Glu, Leu, Lys, Thr o Aib, tal como Ala, Glu o Leu, o tal como Lys, Thr o Aib. En una modalidad, X₁₇ representa Lys. En una modalidad, X₁₈ representa Ala. En una modalidad, X₂₀ representa Arg, Lys o Glu. En una modalidad, X₂₁ representa Lys, Glu o Ser. En una modalidad, X₂₄ representa Ala, Arg o Lys. En una modalidad, X₂₇ representa Leu o Val. En una modalidad, X₂₈ representa Lys o Ser. En una modalidad, X₂₉ representa Lys o Gly. En una modalidad, X₃₀ representa Lys o X₃₀ está ausente.
- 5 Derivado de glucagón
- La invención se refiere a derivados de glucagón. El término "derivado de glucagón", como se usa en la presente descripción, significa un glucagón modificado químicamente o un análogo de este, en donde al menos un sustituyente no está presente en el péptido sin modificar o en un análogo de este, es decir, cuando el glucagón se ha modificado covalentemente. Las modificaciones típicas son amidas, carbohidratos, grupos alquilo, grupos acilo, ésteres y similares. El término "derivado", como se usa en la presente descripción en relación con un péptido, significa un péptido modificado químicamente o un análogo de este, en donde al menos un sustituyente no está presente en el péptido sin modificar o en un análogo de este, es decir, un péptido que se ha modificado covalentemente. Las modificaciones típicas son amidas, carbohidratos, grupos alquilo, grupos acilo, ésteres y similares. En una modalidad, el término "derivado de glucagón", como se usa en la presente descripción, significa derivado de glucagón, compuesto de glucagón, compuesto de acuerdo con la invención, compuesto de la invención, compuesto de la Fórmula I, un análogo de glucagón, un derivado de glucagón o un derivado de análogo de glucagón de glucagón humano, glucagón humano(1-29), glucagón(1-30), glucagón(1-31), glucagón(1-32) así como también análogos, y péptidos de fusión de estos, que mantienen la actividad del glucagón.
- 15
- 20
- 25 En una modalidad, el derivado de glucagón comprende un sustituyente unido covalentemente al análogo de glucagón a través de la cadena lateral de una lisina. El término "sustituyente", como se usa en la presente descripción, significa una porción química o grupo que reemplaza un hidrógeno.
- 30 El término "distal", como se usa en la presente descripción, significa el más remoto (terminal) a partir del punto de unión.
- En una modalidad, el término "porción cargada negativamente", como se usa en la presente descripción, significa una porción química que puede cargarse negativamente, tal como, pero sin limitarse a, un ácido carboxílico (por ejemplo Glu, gamma-Glu, Asp o beta-Asp), ácido sulfónico o una porción de tetrazol. En una modalidad, el término "porción cargada negativamente", como se usa en la presente descripción, significa una porción química que puede cargarse negativamente tal como, pero sin limitarse a, un ácido carboxílico, ácido sulfónico o una porción de tetrazol. En una modalidad, el sustituyente tiene de tres a diez porciones cargadas negativamente. En una modalidad, el sustituyente tiene 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 porciones cargadas negativamente. En una modalidad, el sustituyente se carga negativamente a pH fisiológico. En una modalidad, la cantidad de "porciones cargadas negativamente" se determina a pH fisiológico (pH 7,4). En una modalidad, la "porción cargada negativamente" es un grupo ácido carboxílico.
- 35
- 40
- 45 El término "porción lipófila", como se usa en la presente descripción, significa una porción de hidrocarburos alifáticos o cíclicos con más de 6 y menos de 30 átomos de carbono, en donde dicha porción de hidrocarburos puede contener sustituyentes adicionales.
- El término "residuo de unión a albúmina", como se usa en la presente descripción, significa un residuo que se une no covalentemente a la albúmina sérica humana. El residuo de unión a albúmina unido al polipéptido terapéutico tiene típicamente una afinidad inferior a 10 μ M para la albúmina sérica humana y, preferentemente, inferior a 1 μ M. Se conoce una gama de residuos de unión a albúmina entre las porciones lipófilas lineales y ramificadas que contienen de 4-40 átomos de carbono.
- 50
- 55 El término "efecto prolongado" de los compuestos de la invención significa que se prolonga el período de tiempo en el que ejercen una actividad biológica.
- En el presente contexto, el término "agonista" pretende indicar una sustancia (ligando) que activa el tipo de receptor en cuestión.
- 60 En una modalidad, el símbolo "*" cuando se usa en la presente descripción en un dibujo de una estructura química, representa el punto de unión a la posición vecina en el derivado.
- En una modalidad, el derivado de glucagón de Fórmula I, como se describió en la presente descripción, en donde un sustituyente comprende una porción lipófila y tres o más porciones cargadas negativamente, en donde una de dichas porciones cargadas negativamente es distal de una porción lipófila, y en donde dicho sustituyente se une a la posición épsilon de una Lys en una de las siguientes posiciones de aminoácidos de dicho derivado de glucagón: 16,
- 65

17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30. En una modalidad, el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une a la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 16, 21, 24, 28, 29 o 30. En una modalidad, el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une a la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 16, 21, 24, 28, 29 o 30.

En una modalidad, el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une a la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 16, 24, 28, 29 o 30. En una modalidad, el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une a la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 24, 28, 29 o 30. En una modalidad, el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une a la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 28, 29 y 30. En una modalidad, el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une a la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 28.

En una modalidad, el sustituyente que comprende una porción lipófila y tres o más porciones cargadas negativamente es un sustituyente de Fórmula II: $Z^1-Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}$ - (II), en donde,

Z^1 -representa una estructura de Fórmula IIa;

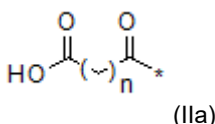


en donde n es 6-20; y el símbolo * representa el punto de unión al nitrógeno del grupo de unión vecino; y

$Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}$ - representa un grupo de unión, en donde cada uno de Z_2 a Z_{10} se representa individualmente por uno cualquiera de los siguientes residuos de aminoácidos: Glu, γ Glu, Gly, Ser, Ala, Thr o Ado; o uno o más de los residuos Z^2 a Z^{10} están ausentes; siempre y cuando, sin embargo, al menos dos de los residuos Z^2 a Z^{10} estén presentes; y

en donde $Z^1-Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}$ - contienen juntos al menos tres cargas negativas; y en donde dicho sustituyente se une a la posición épsilon de un residuo de Lys de acuerdo con la Fórmula I.

En una modalidad, el derivado de glucagón es de Fórmula I como se describió en la presente descripción, en donde Z^1 de la Fórmula II representa una estructura de acuerdo con la Fórmula IIa:



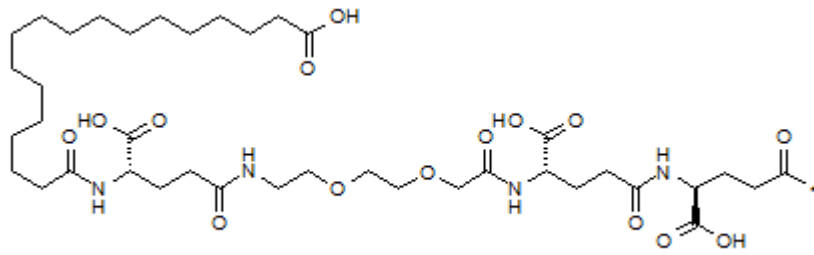
en donde n representa un número entero en el intervalo de 6 a 20; el símbolo * representa el punto de unión al nitrógeno del grupo vecino; y en donde $Z_2, Z_3, Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9, Z_{10}$ se representan individualmente por los siguientes aminoácidos: Glu, γ Glu, Gly, Ser, Ala, Thr y Ado; o uno o más de $Z_2, Z_3, Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9, Z_{10}$ puede estar ausente; siempre y cuando, sin embargo, al menos dos de los residuos Z_2 a Z_{10} están presentes; en donde $Z_1-Z_2-Z_3-Z_4-Z_5-Z_6-Z_7-Z_8-Z_9-Z_{10}$ contienen juntos al menos tres cargas negativas; y en donde dicho sustituyente se une a la posición épsilon de un residuo de Lys de acuerdo con la Fórmula I, en la presente descripción.

En una modalidad, n en Z^1 de la Fórmula IIa es (es decir, representa) 14, 16 o 18. En una modalidad, n en Z^1 de la Fórmula IIa es 14. En una modalidad, n en Z^1 de la Fórmula IIa es 16. En una modalidad, n en Z^1 de la Fórmula IIa es 18.

En una modalidad, $Z^2-Z^3-Z^4-Z^5-Z^6-Z^7-Z^8-Z^9-Z^{10}$ - representa un grupo de unión, en donde cada uno de Z_2 a Z_{10} se representan individualmente por uno cualquiera de los residuos de aminoácidos siguientes: Glu, γ Glu, Gly, Ser o Ado (tal como Glu, γ Glu, o Gly, o tal como Ser, o Ado); o uno o más de los residuos Z^2 a Z^{10} está ausente; siempre y cuando, sin embargo, al menos dos de los residuos Z^2 a Z^{10} están presentes.

En una modalidad, el sustituyente representa una estructura de acuerdo con una cualquiera de las nueve fórmulas siguientes (Quím.A - Quím.I), en donde * indica el punto de unión al átomo de nitrógeno de la posición épsilon de un residuo de Lys de la Fórmula I:

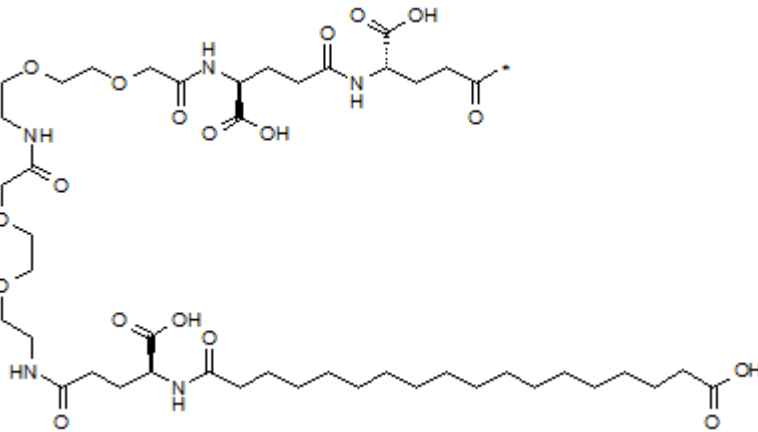
5



10

(Quím.A);

15



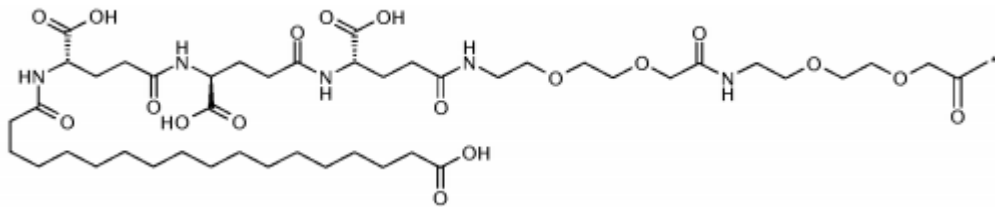
20

25

30

(Quím.B);

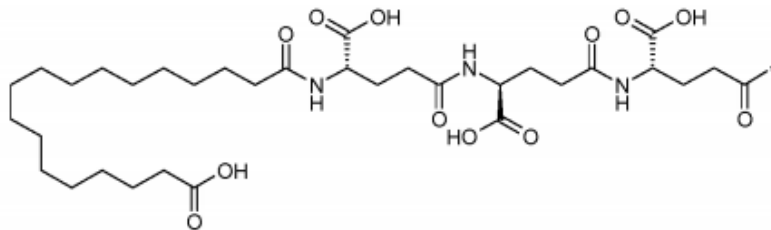
35



40

(Quím.C);

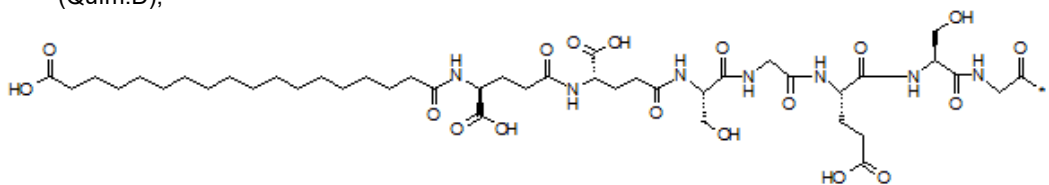
45



50

(Quím.D);

55

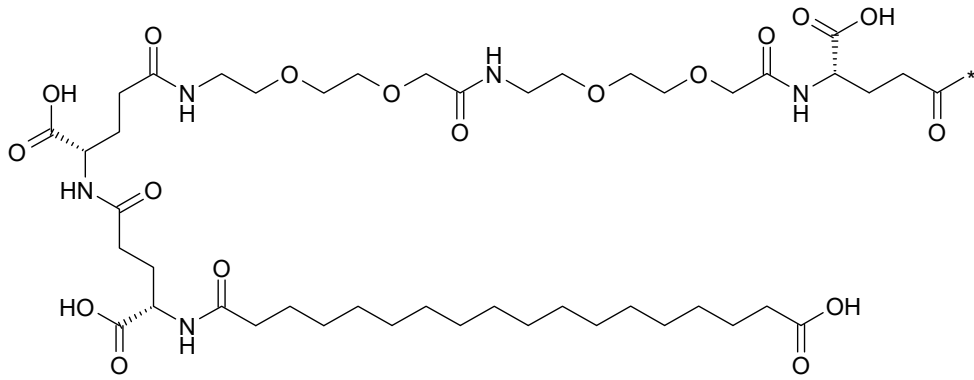


60

(Quím.E);

65

5

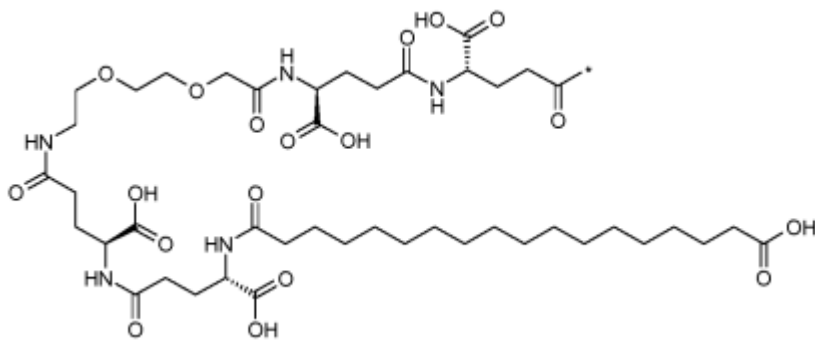


10

15

(Quím.F);

20

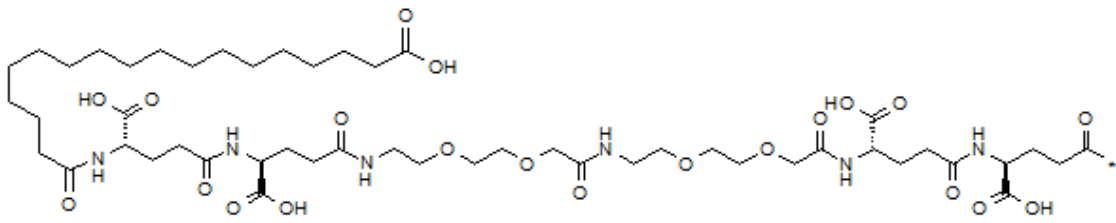


25

30

(Quím.G);

35

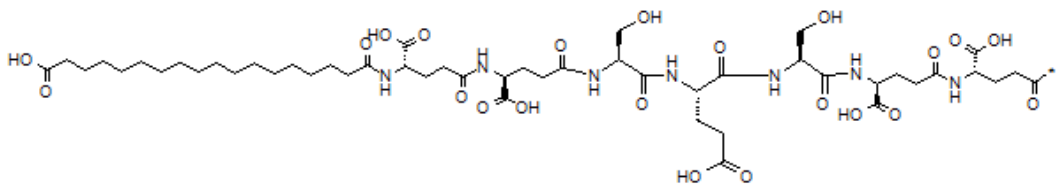


40

(Quím.H);

45

y



50

55

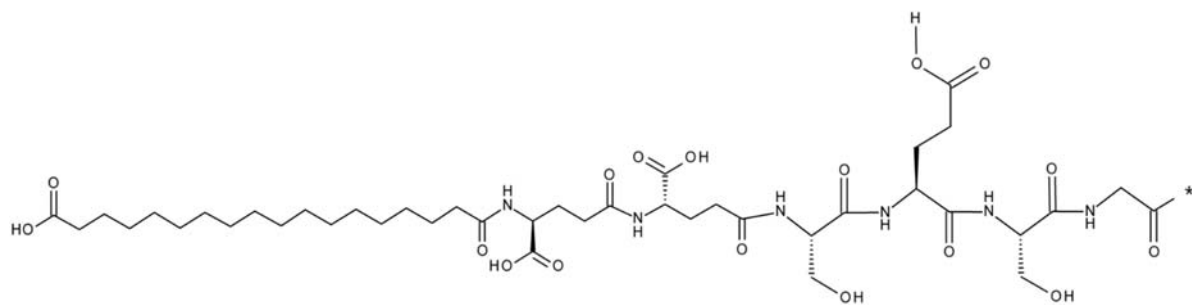
(Quím.I);

En una modalidad, el sustituyente representa una estructura de acuerdo con la fórmula Quím.J, en donde * indica el punto de unión al átomo de nitrógeno de la posición épsilon de un residuo de Lys de Fórmula I:

60

65

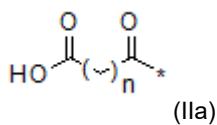
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



(Quím.J).

En una modalidad, el sustituyente representa una estructura de acuerdo con una cualquiera de las fórmulas Quím.A - Quím.I, como se describió en la presente descripción, en donde * indica el punto de unión al átomo de nitrógeno de la posición épsilon de un residuo de Lys de acuerdo con la Fórmula I. En una modalidad, el sustituyente representa una estructura de acuerdo con la fórmula Quím.J, como se describió en la presente descripción, en donde * indica el punto de unión al átomo de nitrógeno de la posición épsilon de un residuo de Lys de acuerdo con la Fórmula I. En una modalidad, el sustituyente representa una estructura de acuerdo con la Fórmula Quím.B, Quím.C, o Quím.H, descrita en la presente descripción, en donde * indica el punto de unión al átomo de nitrógeno de la posición épsilon de un residuo de Lys de acuerdo con la Fórmula I.

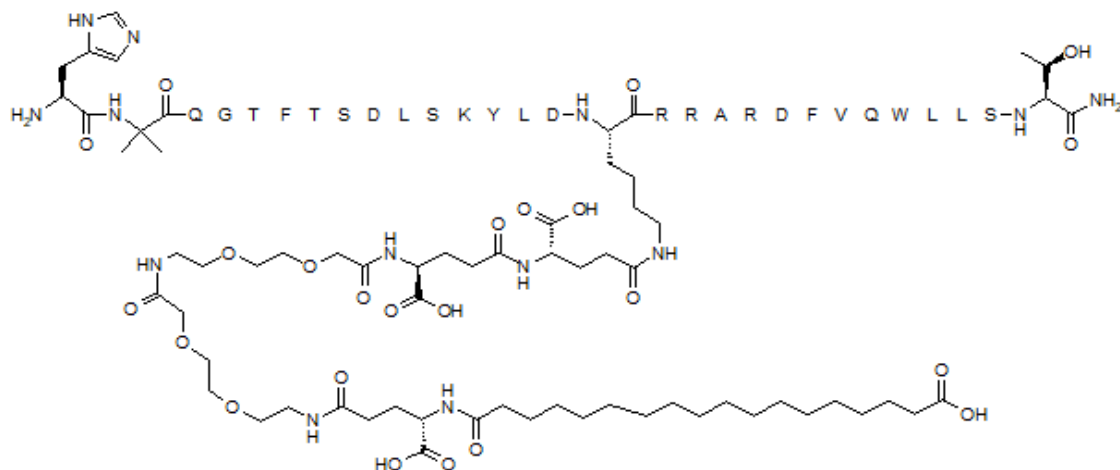
En una modalidad, Z₁ representa una estructura de acuerdo con la Fórmula IIa;



en donde n en la Fórmula IIa es 6-20, y el símbolo * representa el punto de unión al nitrógeno del grupo vecino y en donde Z₂, Z₃, Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈, Z₉, Z₁₀ se representan individualmente por los siguientes aminoácidos: Glu, γGlu, Gly, Ser, Ala, Thr, Ado o está ausente. En una modalidad, Z₂, Z₃, Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈, Z₉, Z₁₀ se representan individualmente por los aminoácidos siguientes: Glu, γGlu, Gly, Ser, Ado o está ausente.

En una modalidad, una de dichas porciones cargadas negativamente es distal de dicha porción lipófila. En una modalidad, el sustituyente se une no covalentemente a la albúmina.

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε16-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28]-Glucagón amida



En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε21}-(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28]-Glucagón amida

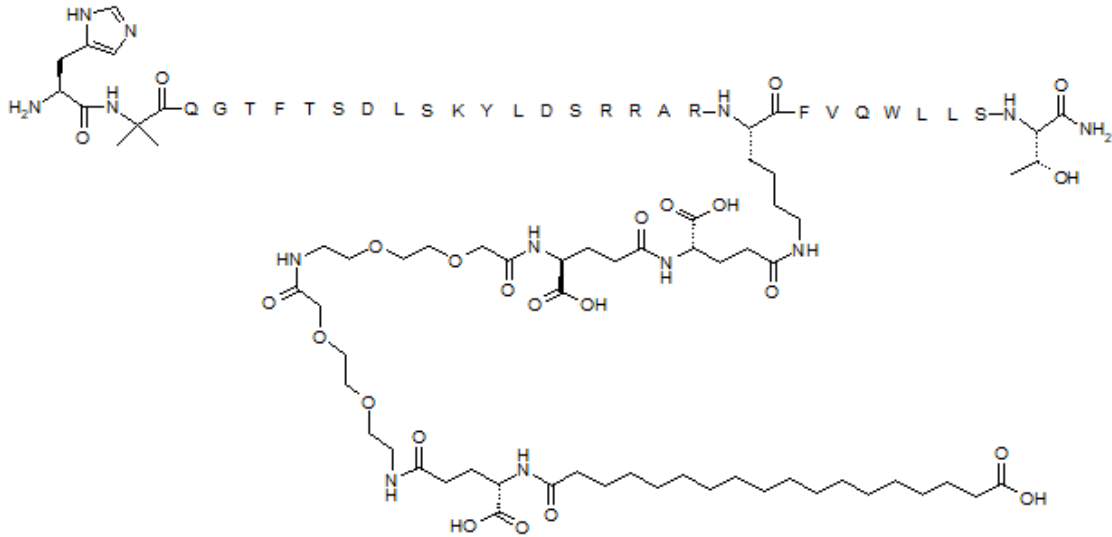
5

10

15

20

25

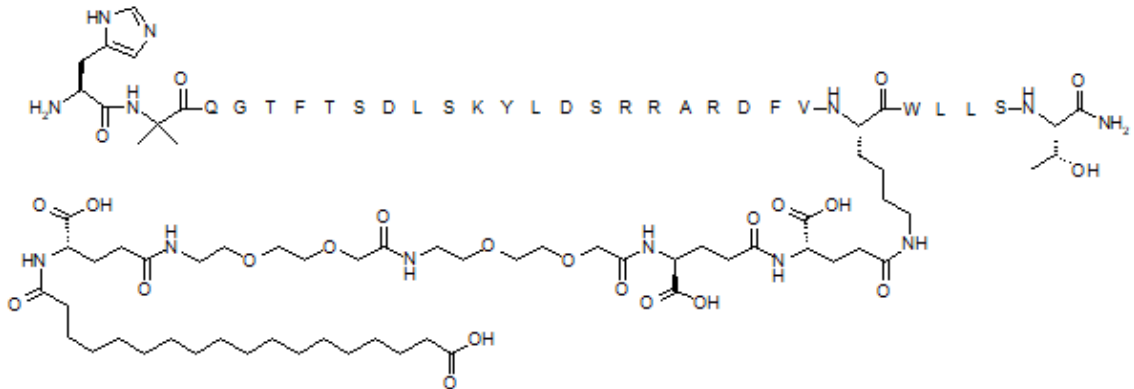


En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε24}-(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28]-Glucagón amida

35

40

45

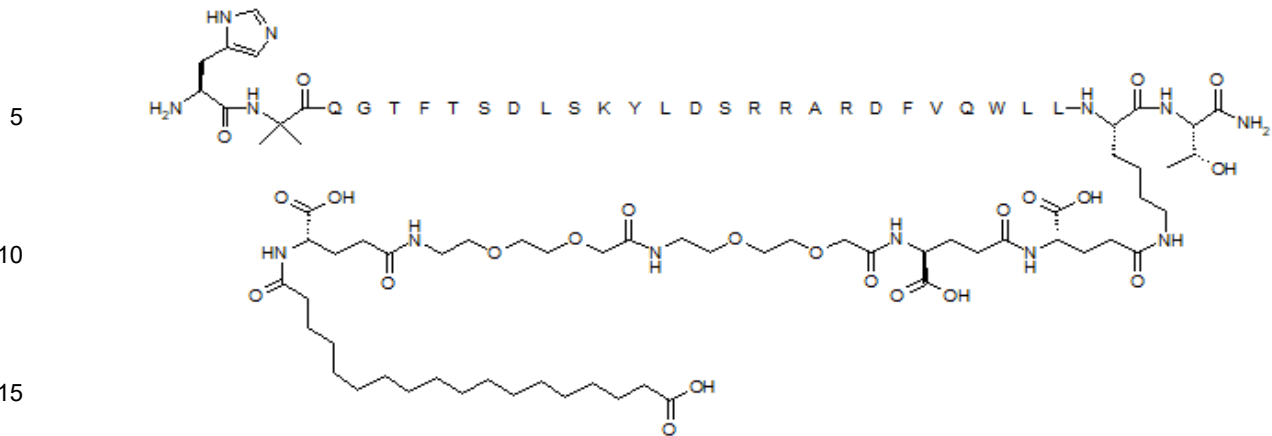


En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

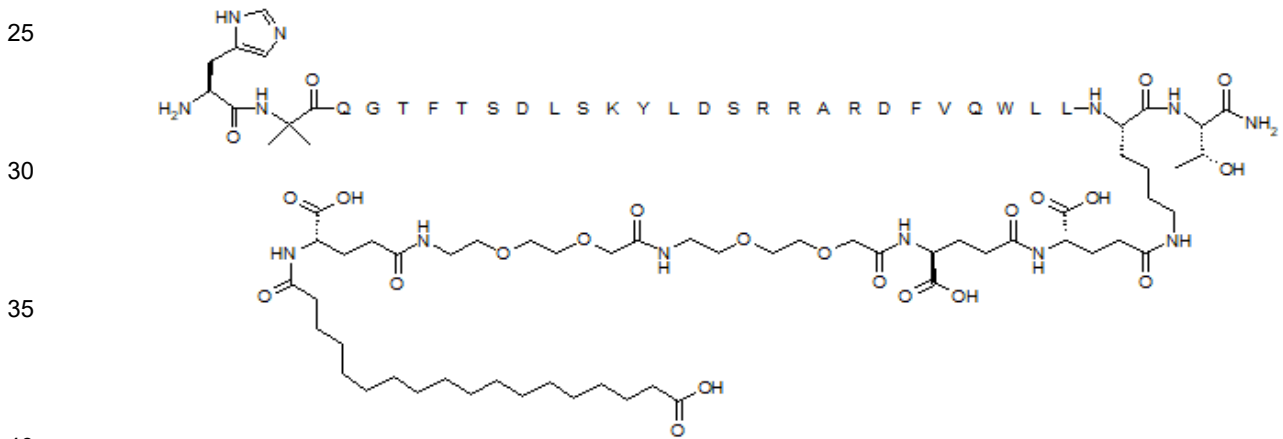
55

60

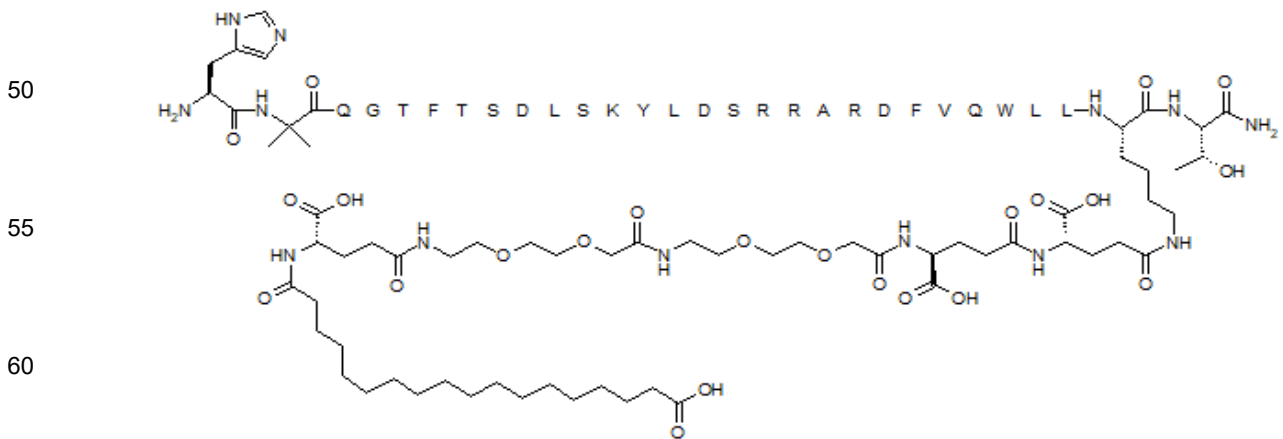
65



20 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

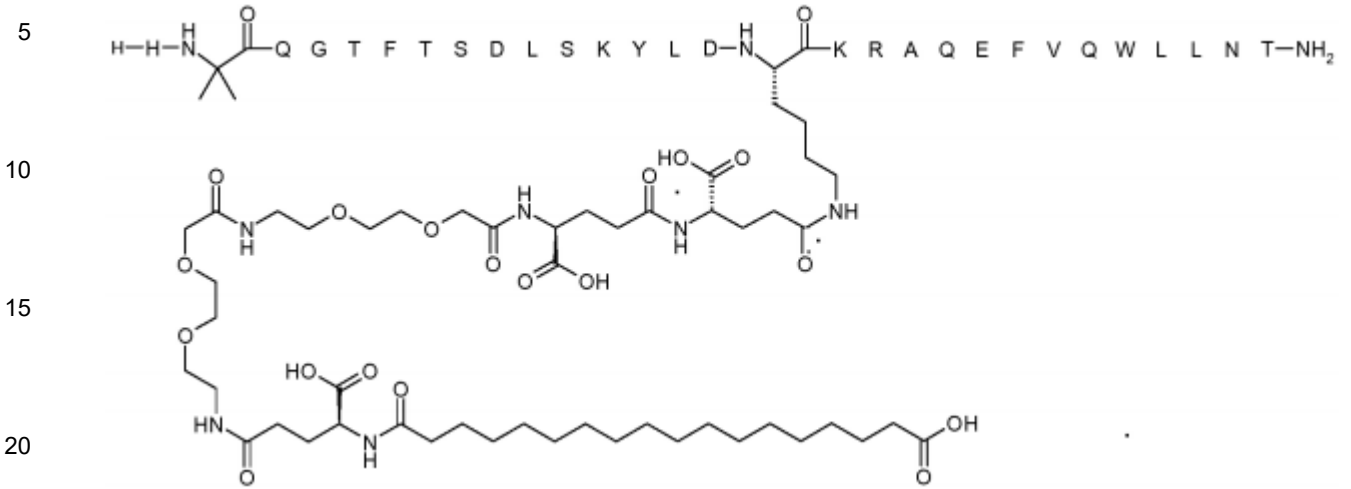


45 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^α-([Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28]-Glucagónil)-N{(Épsilon)}[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxi]heptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]L ys amida



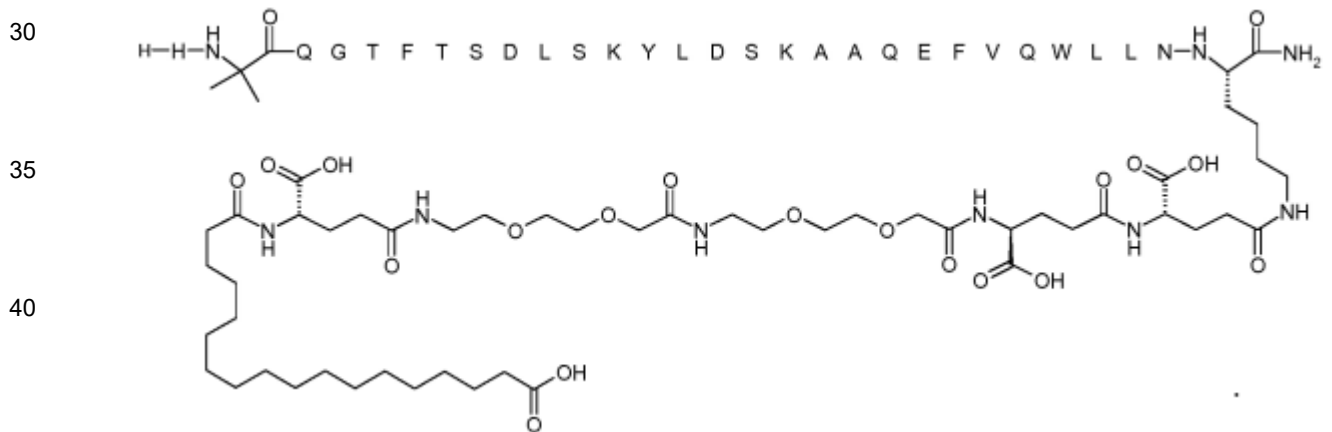
65 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-

carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27]-Glucagón amida



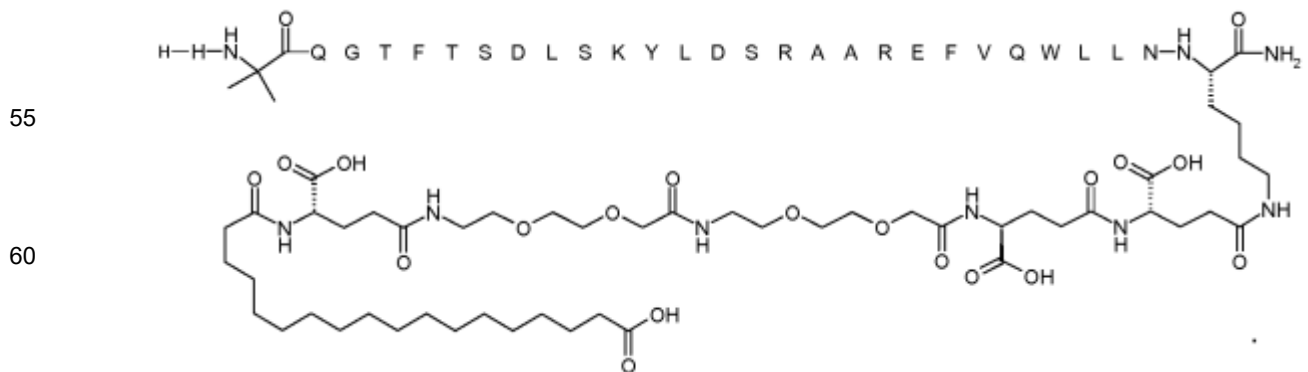
25

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε29-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida



50

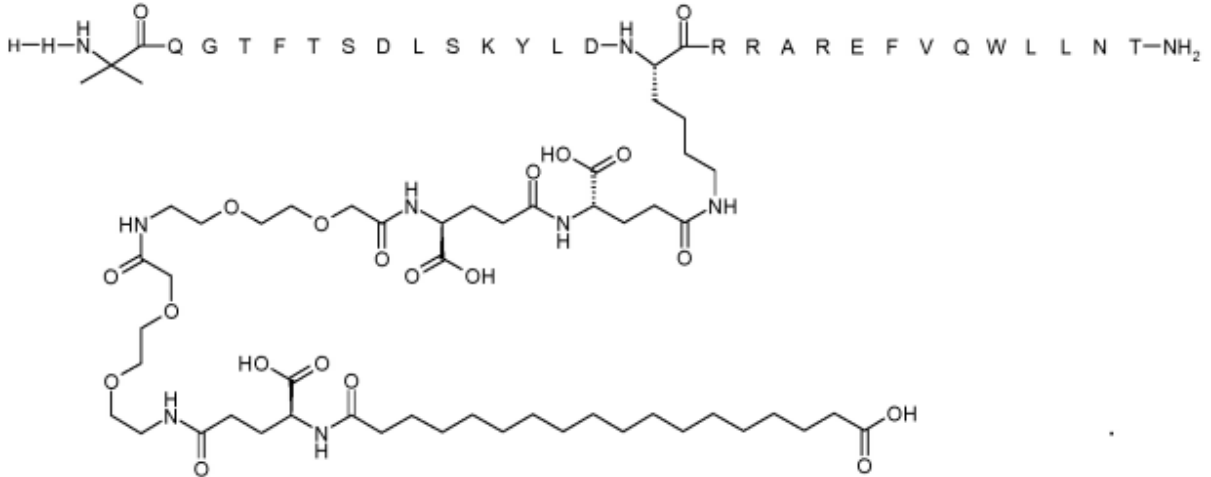
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε29-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida



ES 2 754 048 T3

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27]-Glucagón amida

5



10

15

20

25

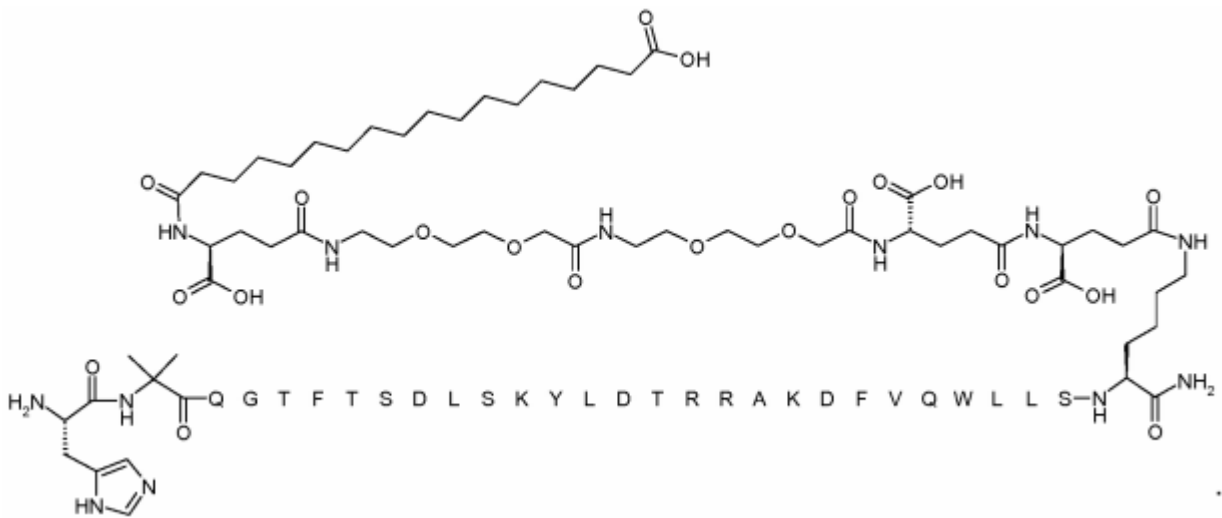
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

30

35

40

45



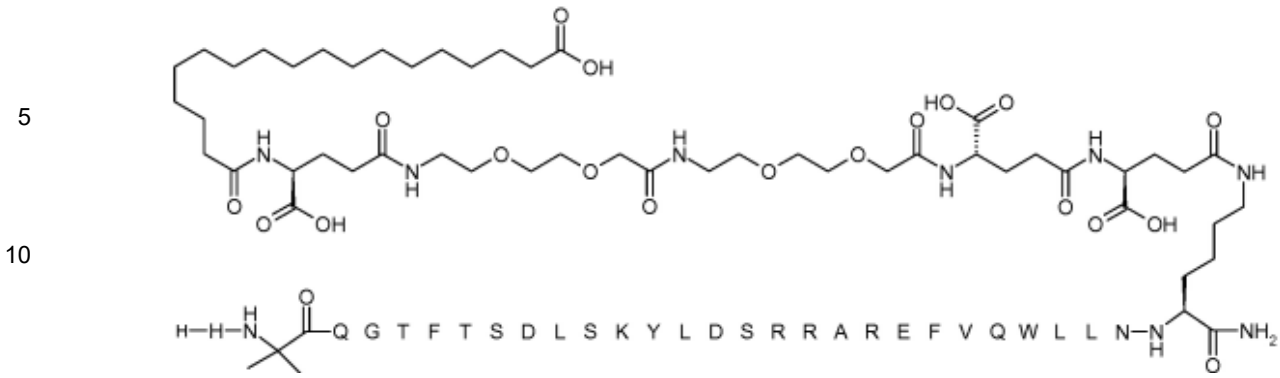
50

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

55

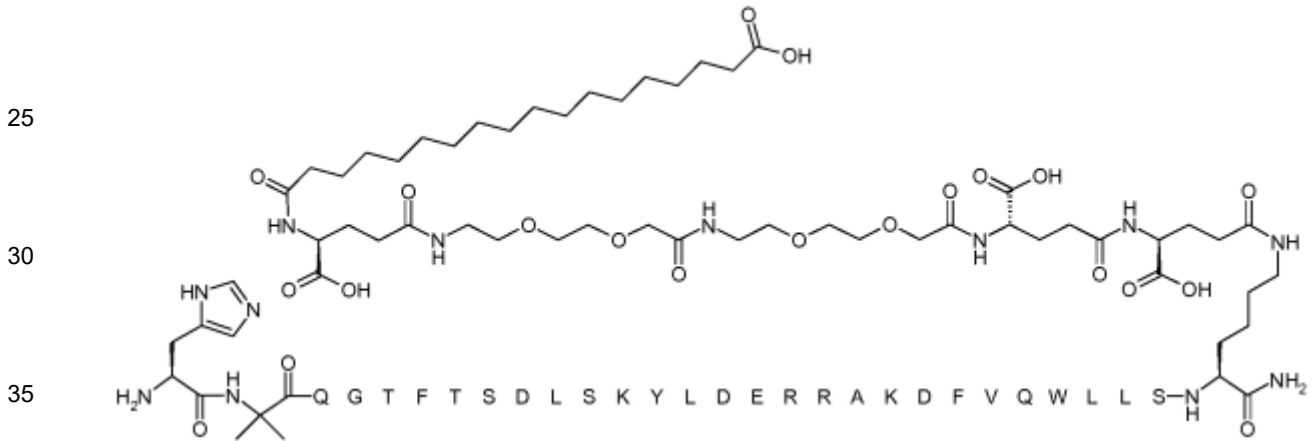
60

65



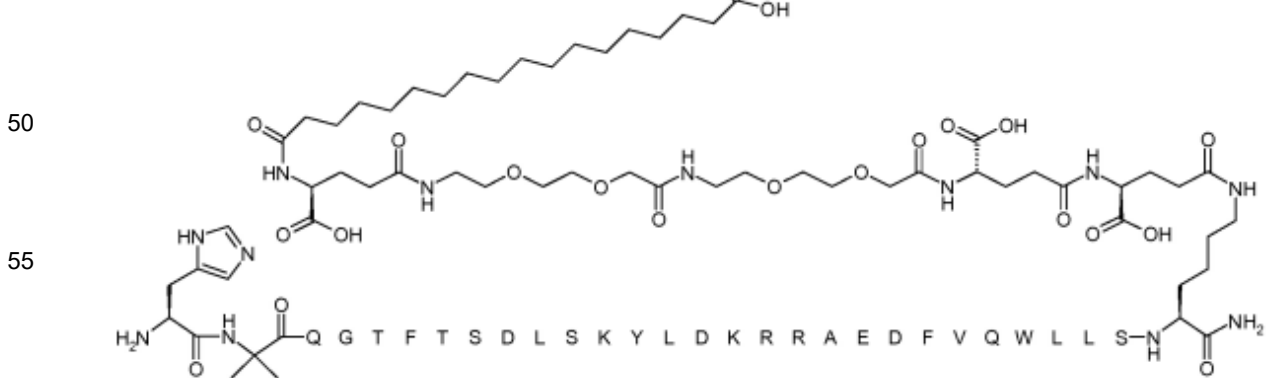
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

20



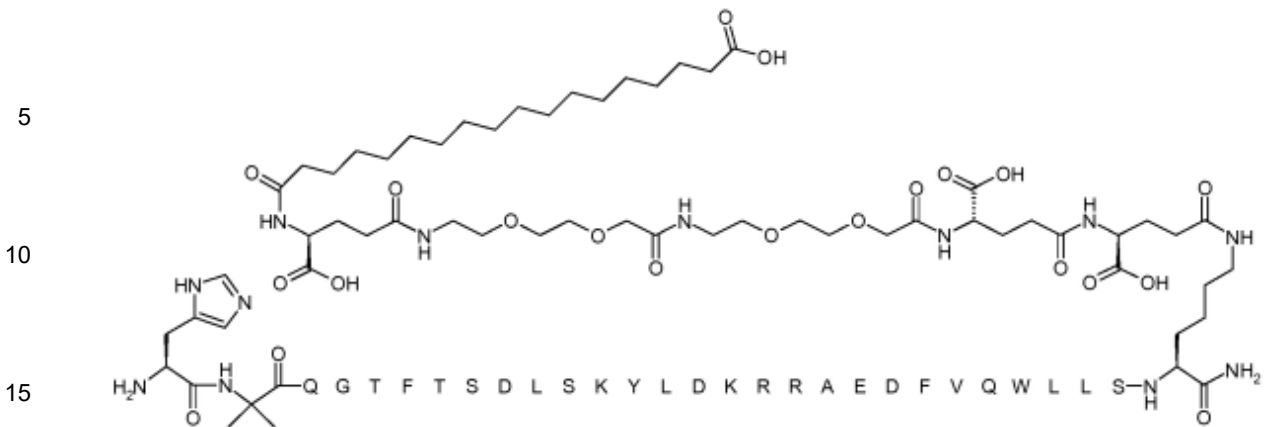
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

45

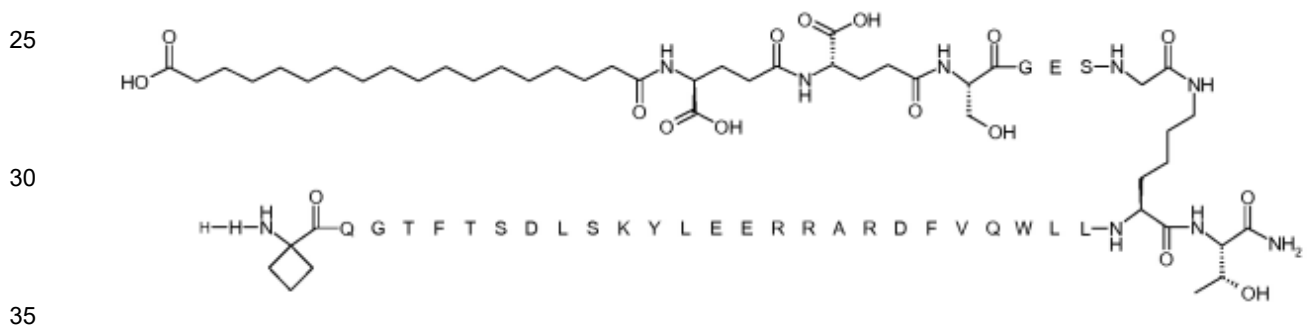


En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

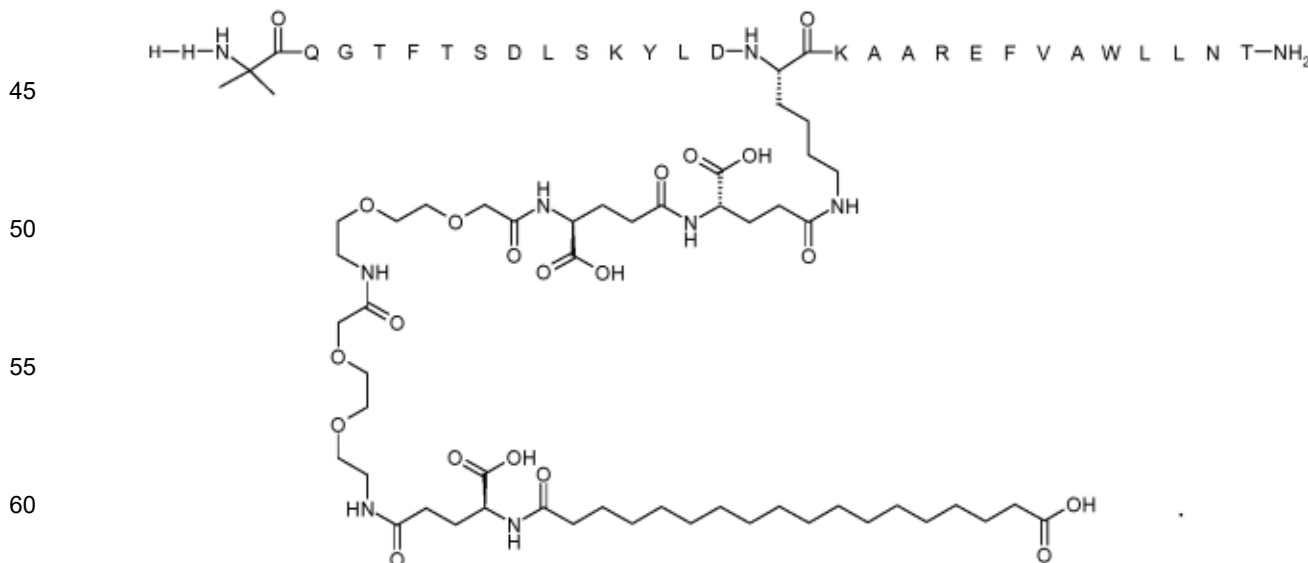
65



20 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

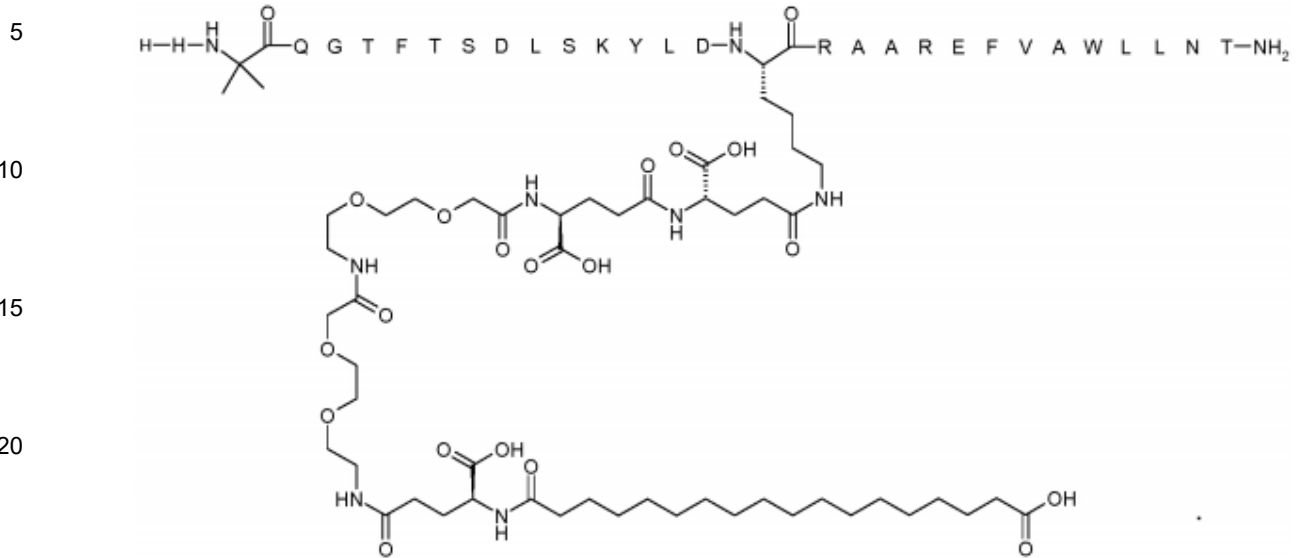


40 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[[2-[[2-[[2-[[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida

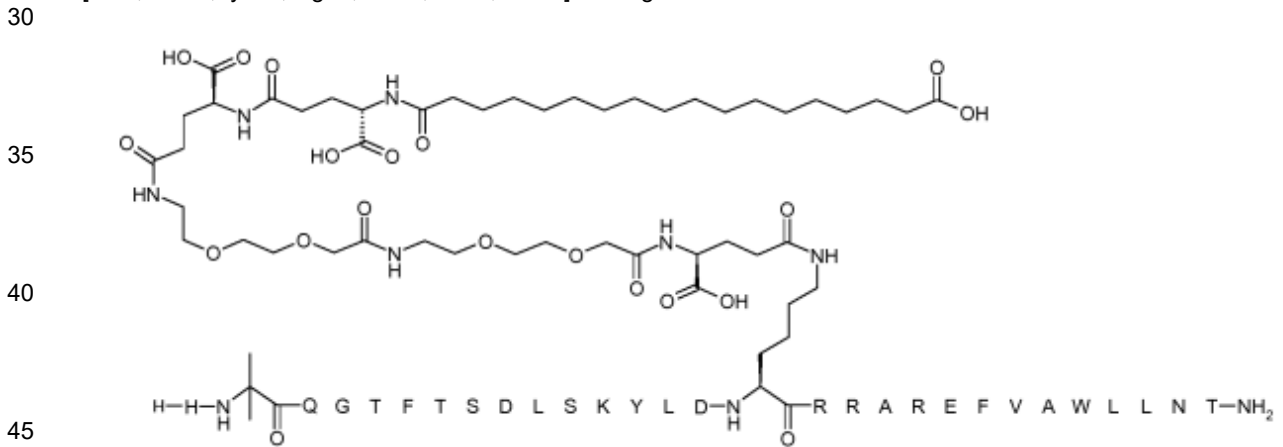


65 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[[2-[[2-[[2-[[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-

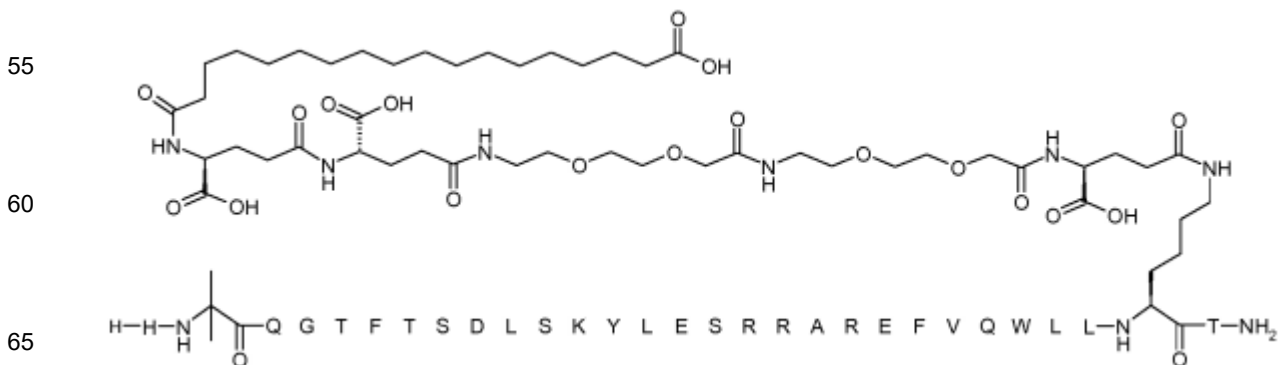
carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-
[Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida



En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida



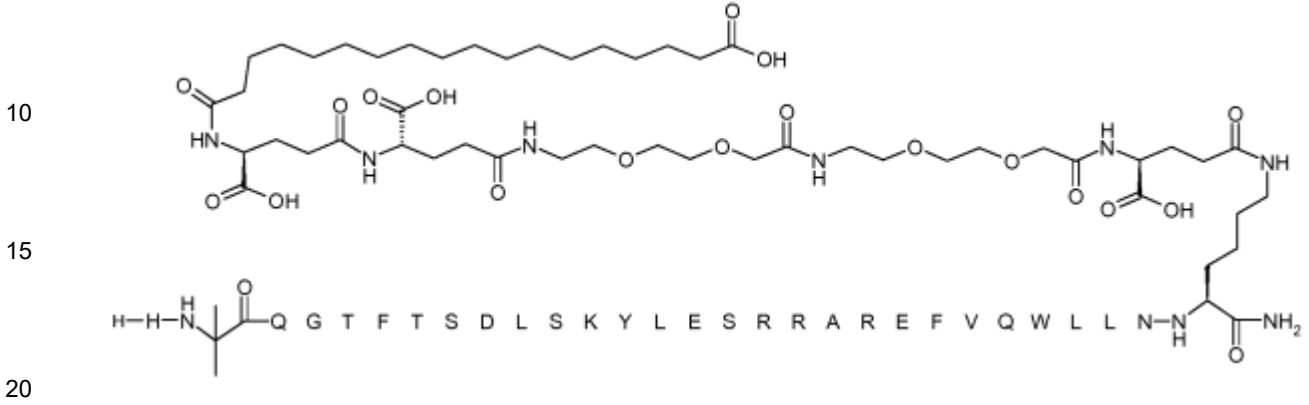
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



ES 2 754 048 T3

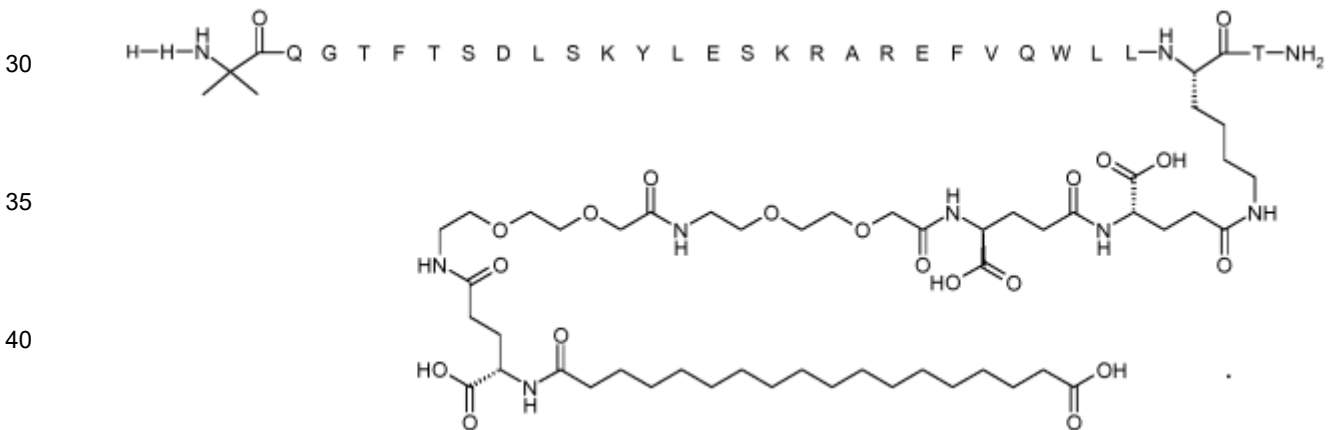
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

5



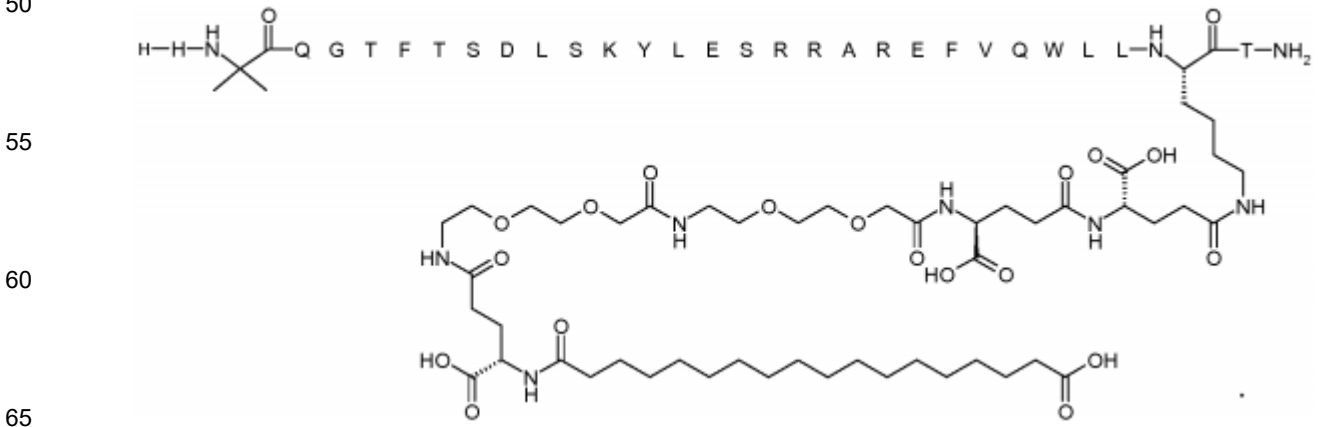
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

25



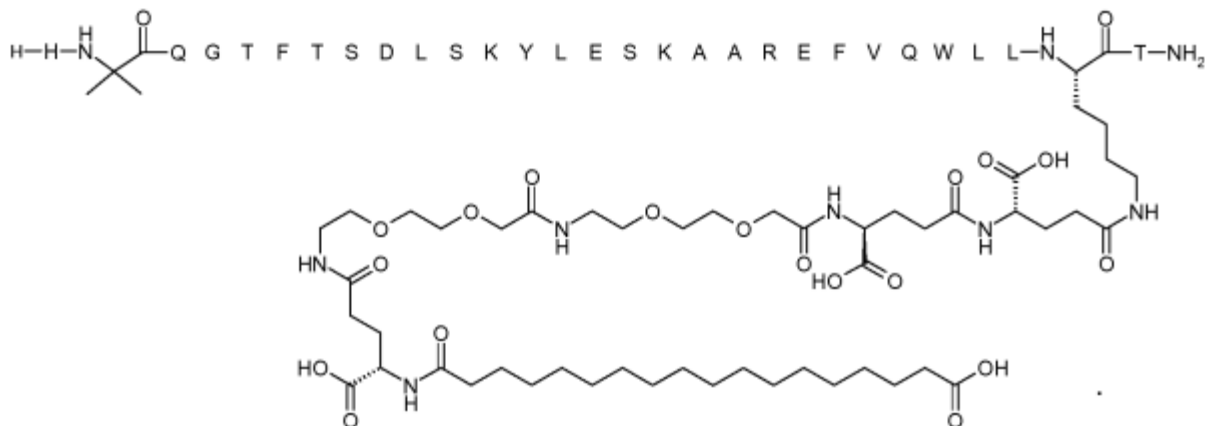
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

50



En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

5



10

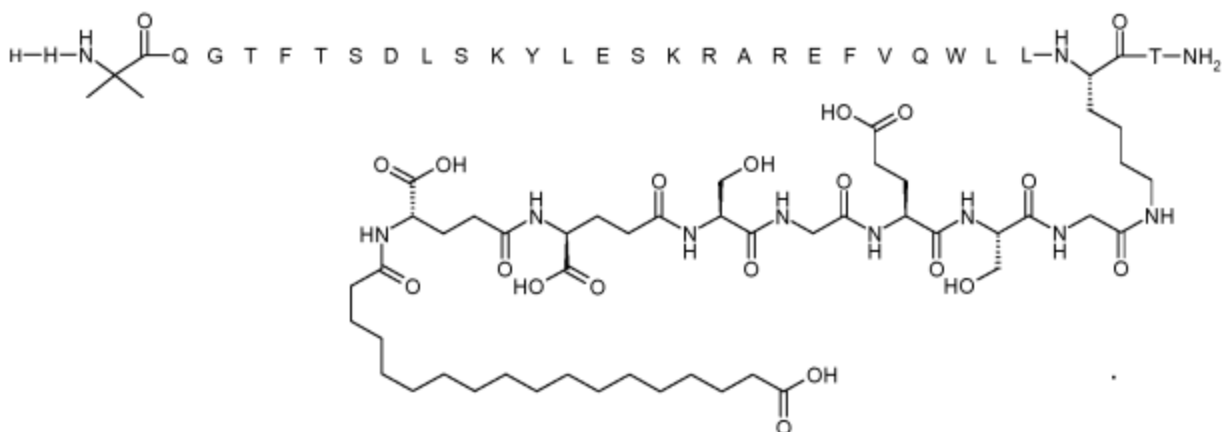
15

20

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

25

30



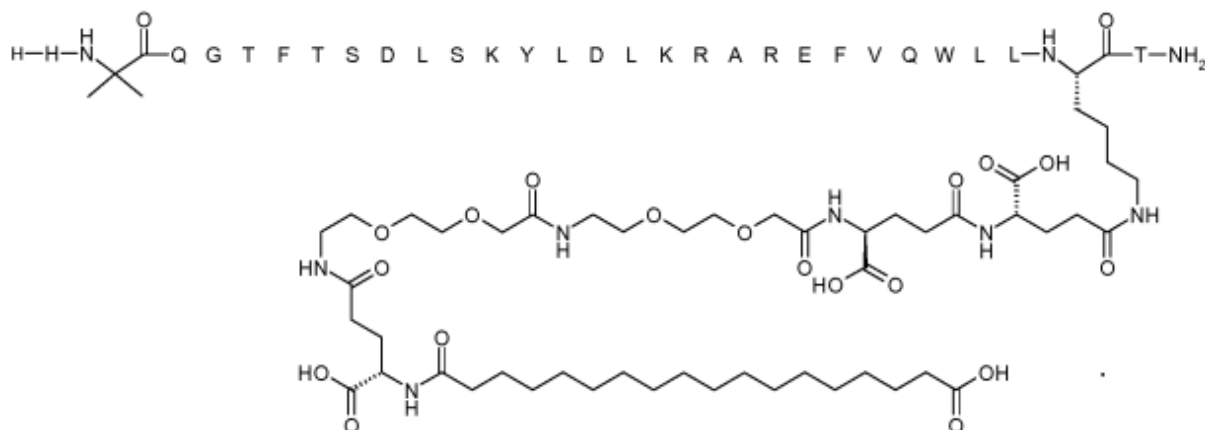
35

40

45

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

50



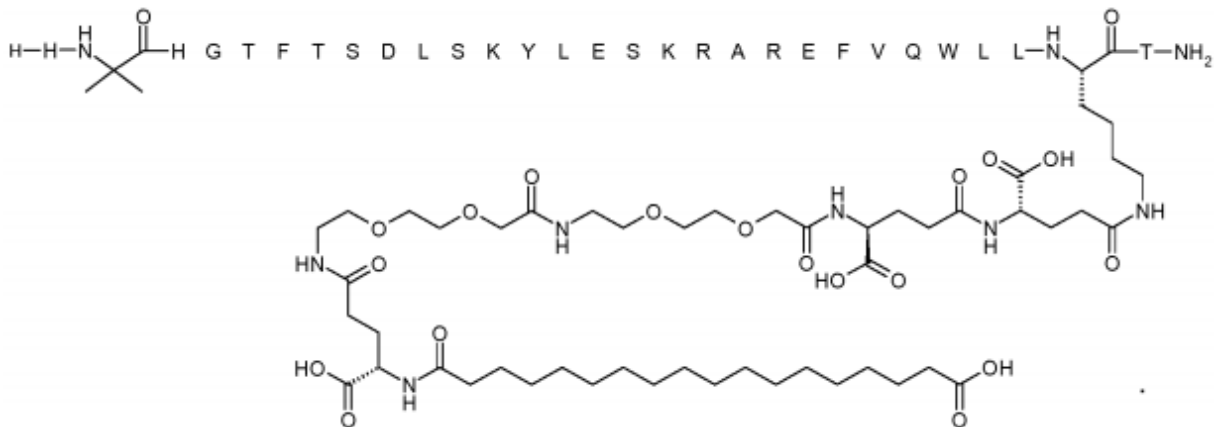
55

60

65

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

5



10

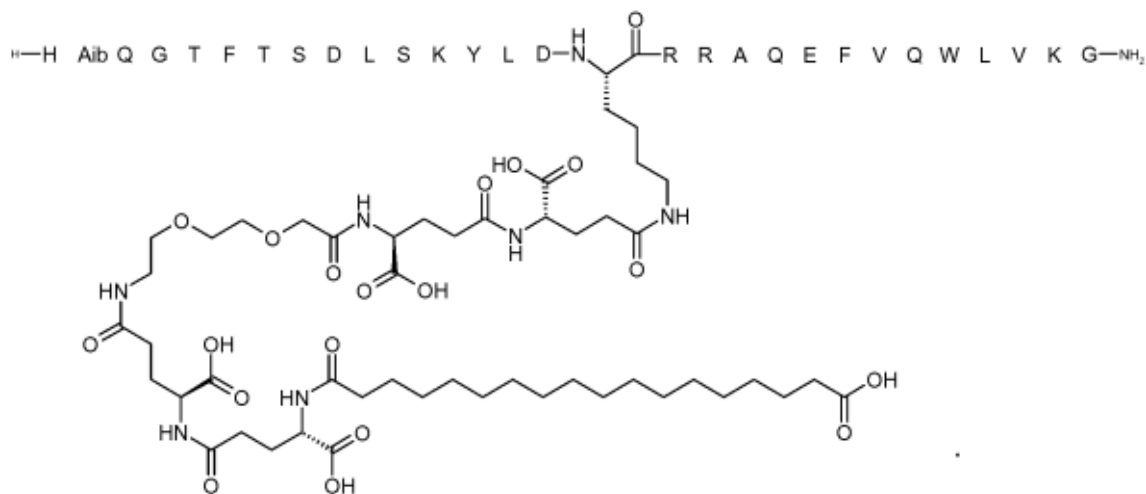
15

20

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29]-Glucagón amida

25

30



35

40

45

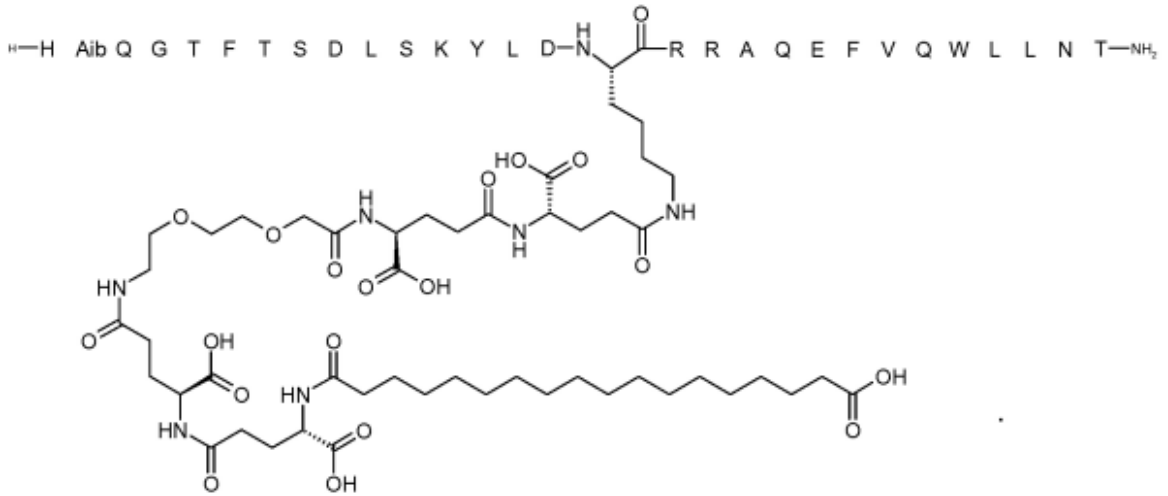
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27]-Glucagón amida

50

55

60

65



5

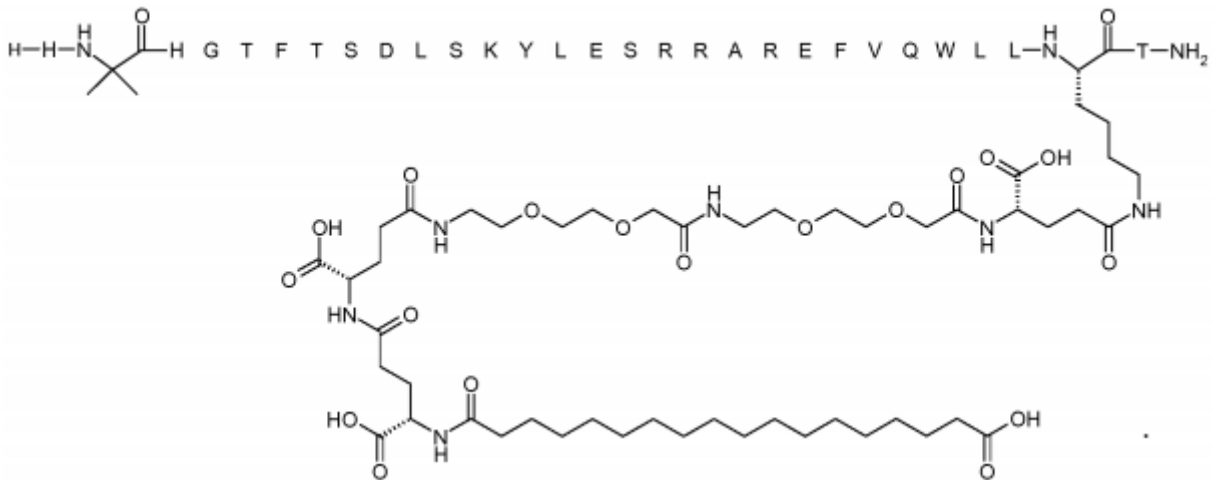
10

15

20

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

25



30

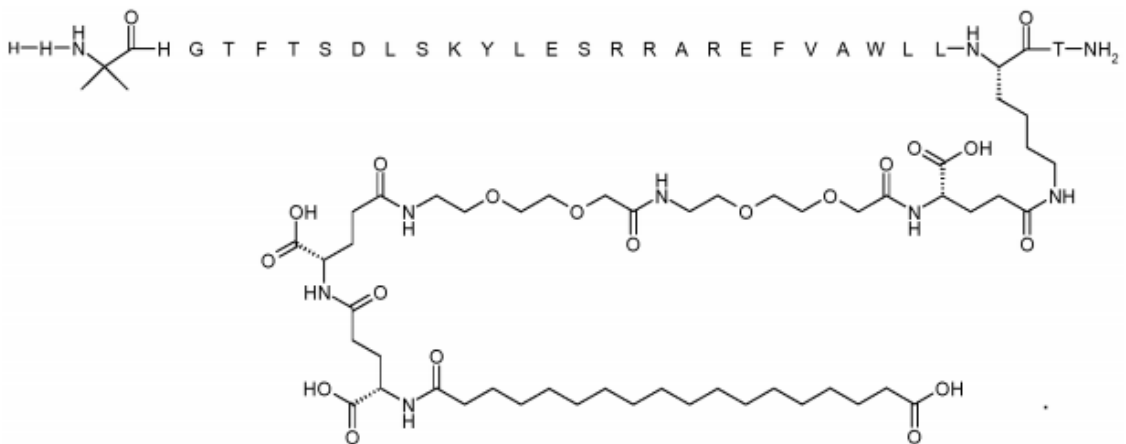
35

40

45

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

50



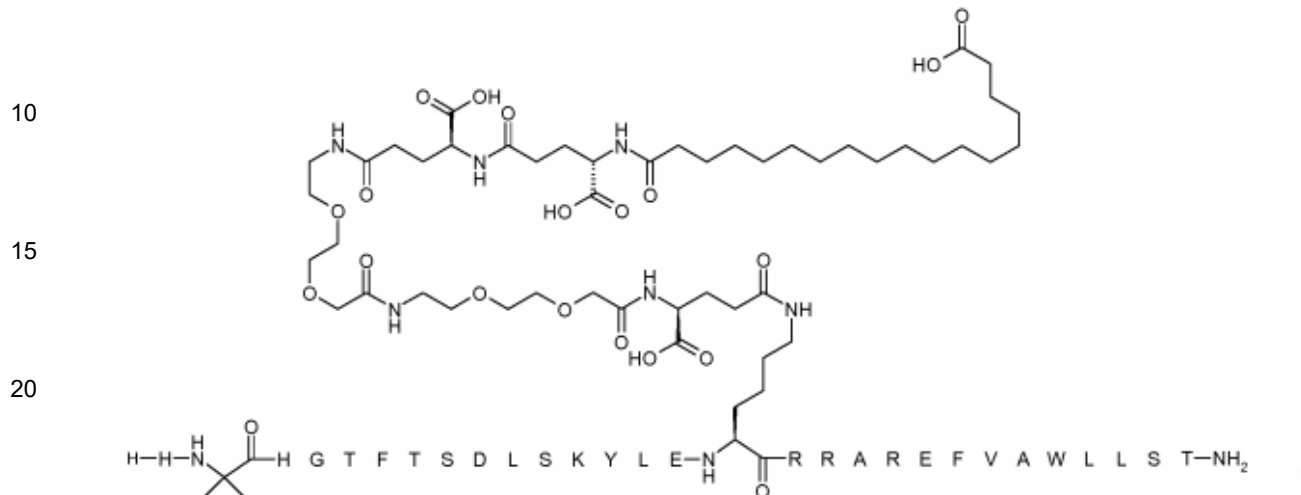
55

60

65

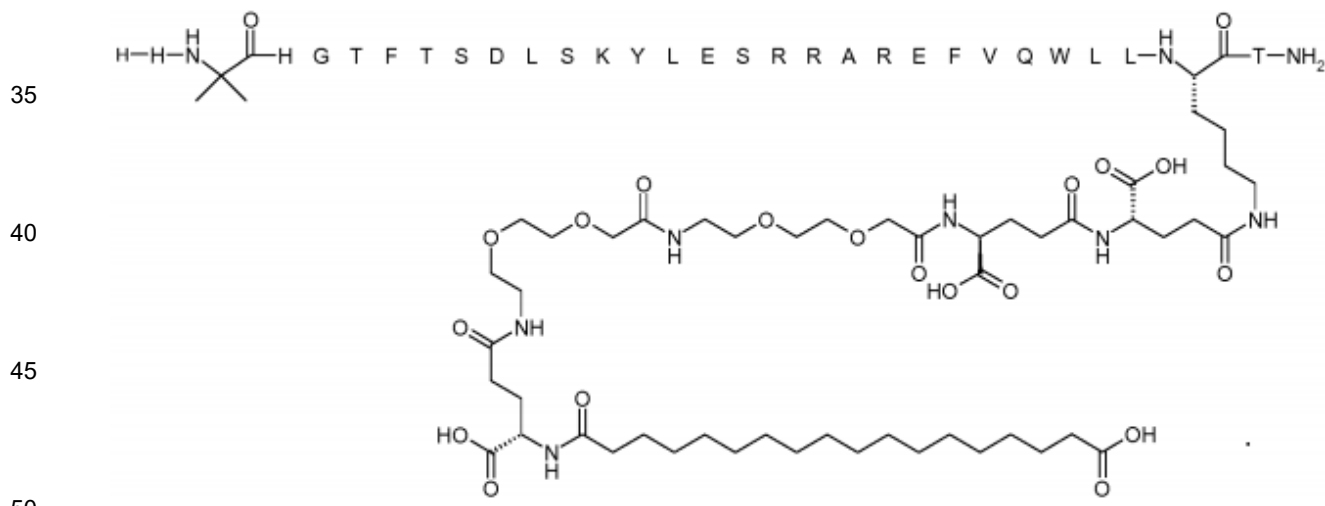
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28]-Glucagón amida

5



En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

30

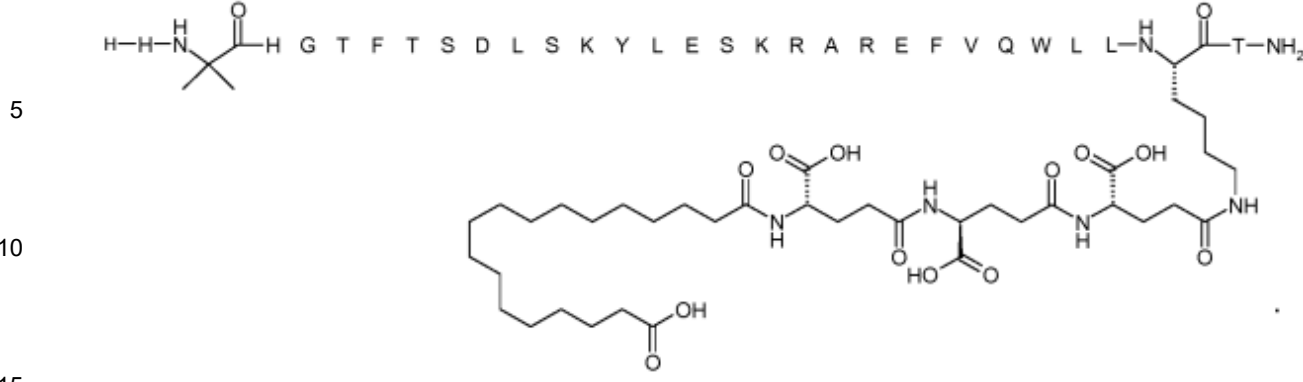


En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

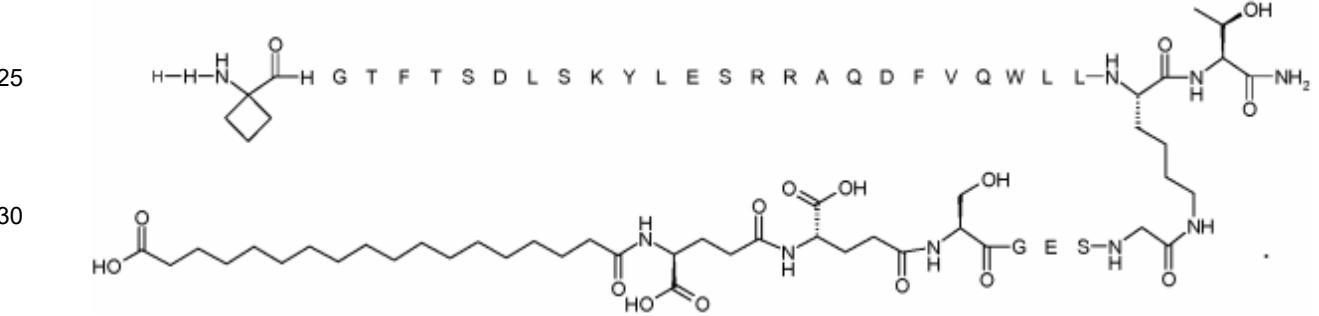
55

60

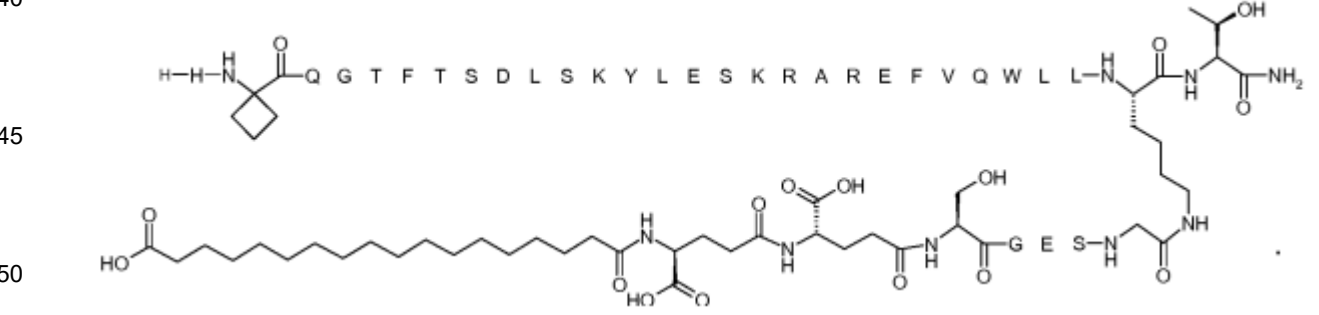
65



En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε²⁸-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



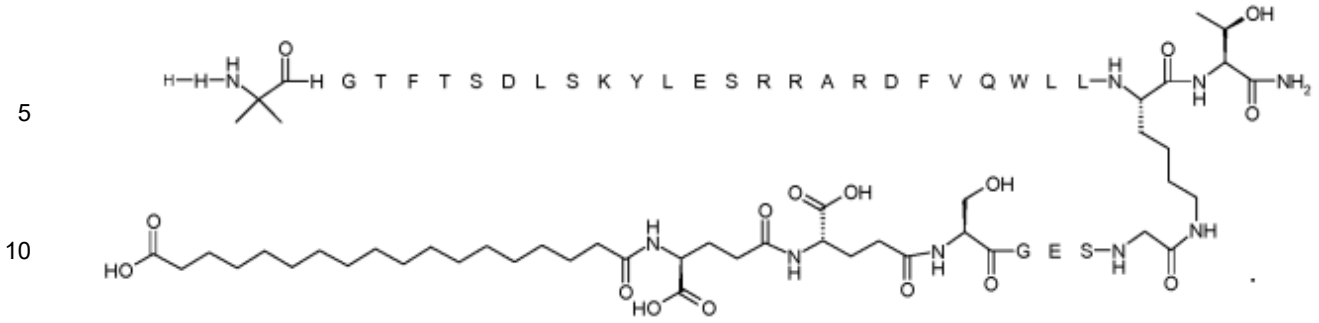
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε²⁸-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



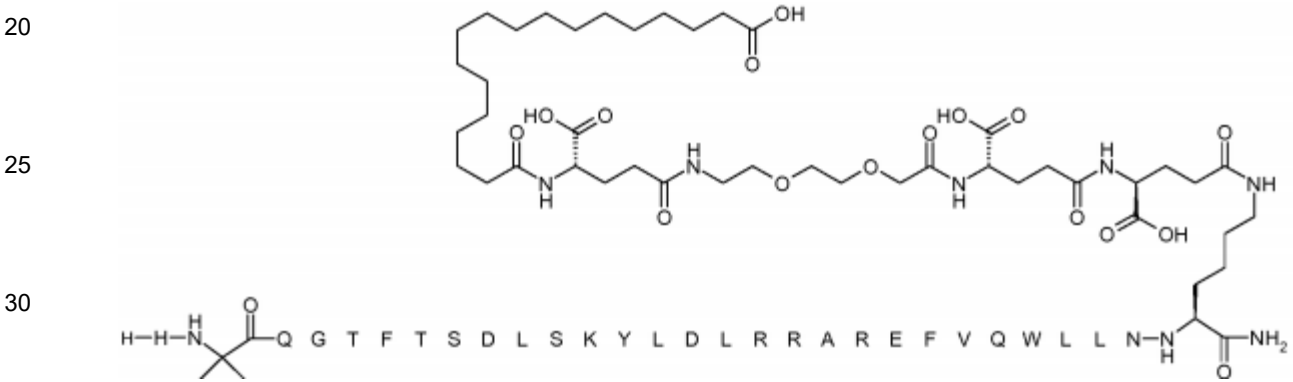
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε²⁸-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxi-propanoil]amino]acetil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

60

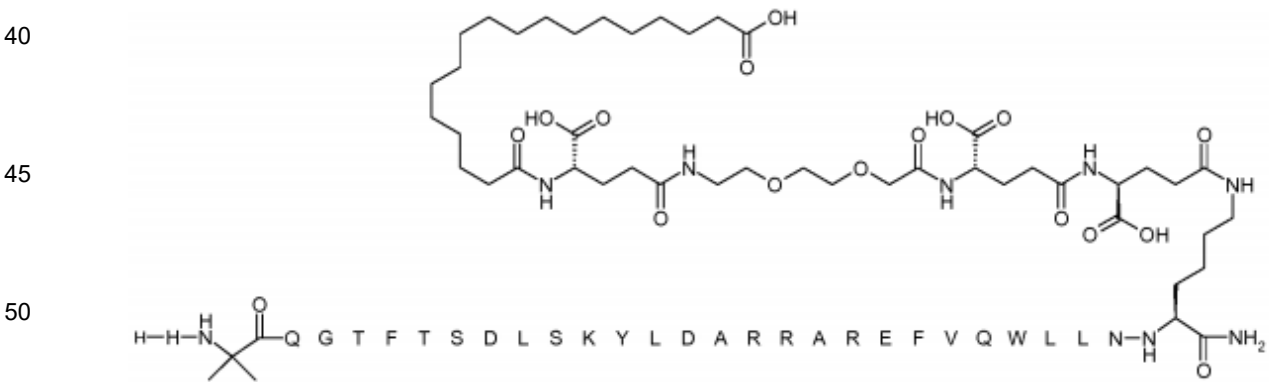
65



15 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida



35 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida



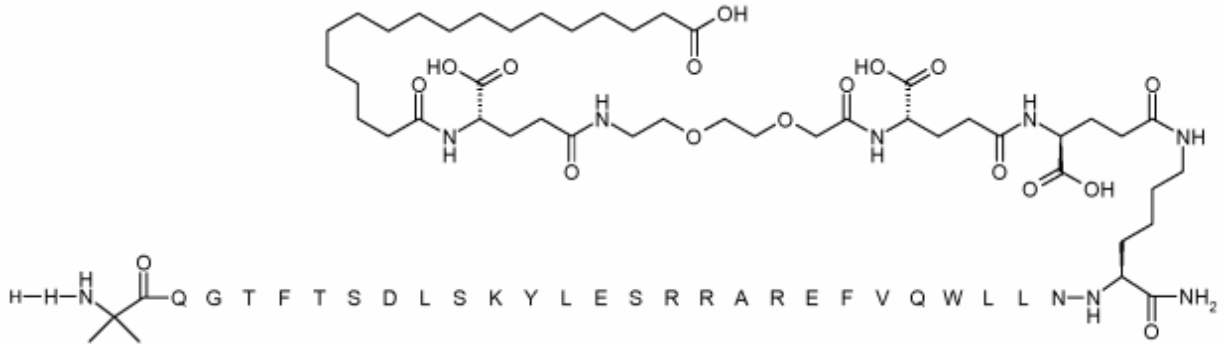
55 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

60

65

5

10



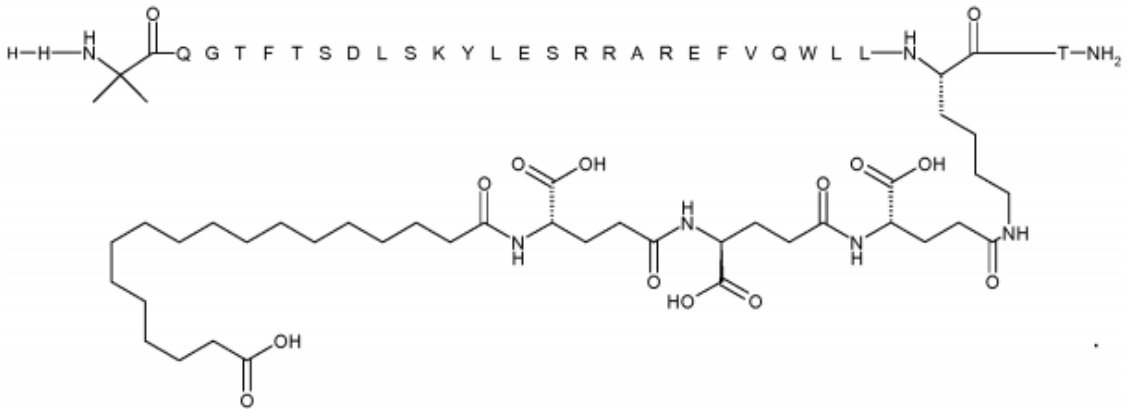
15 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

20

25

30

35

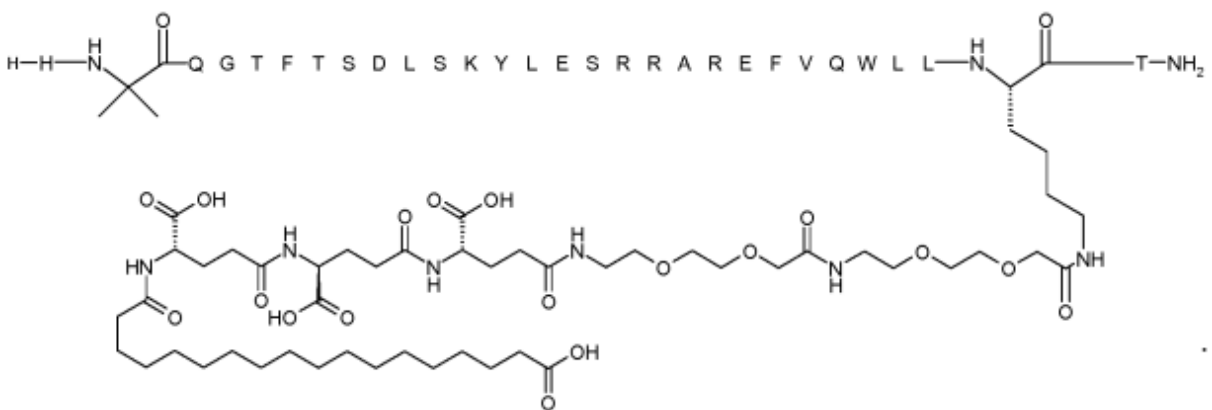


40 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

45

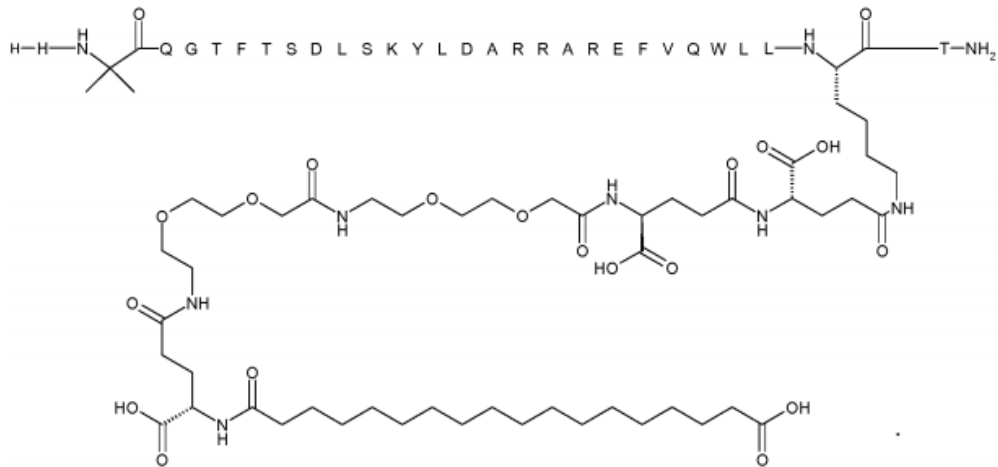
50

55

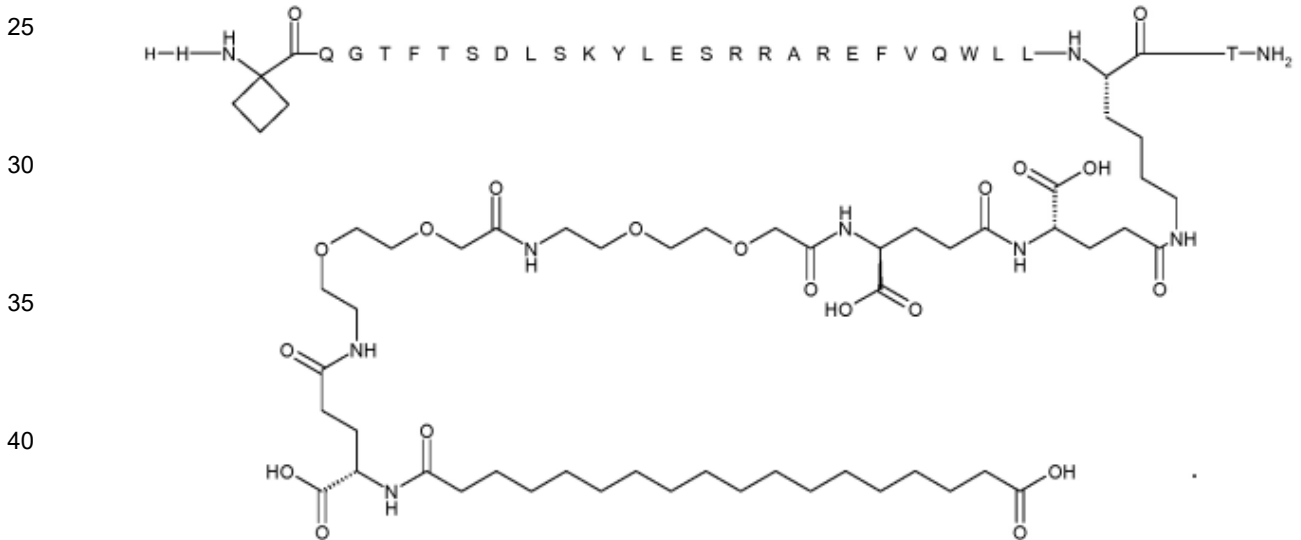


60 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

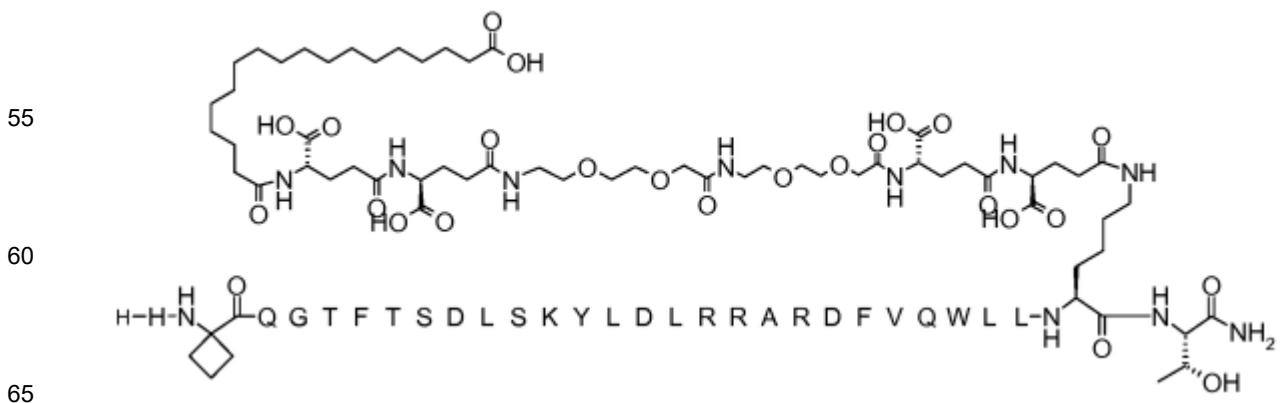
65



20 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Ac2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

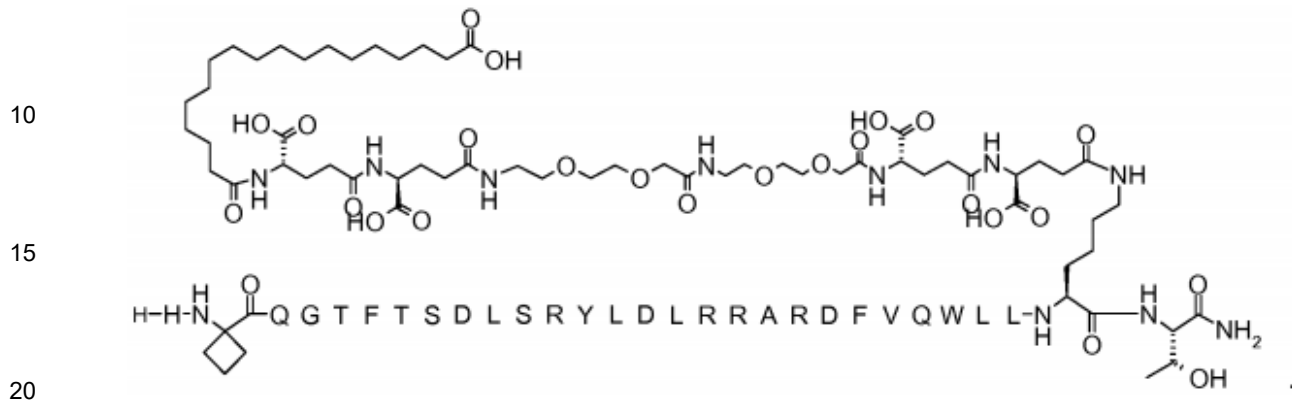


50 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Ac2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



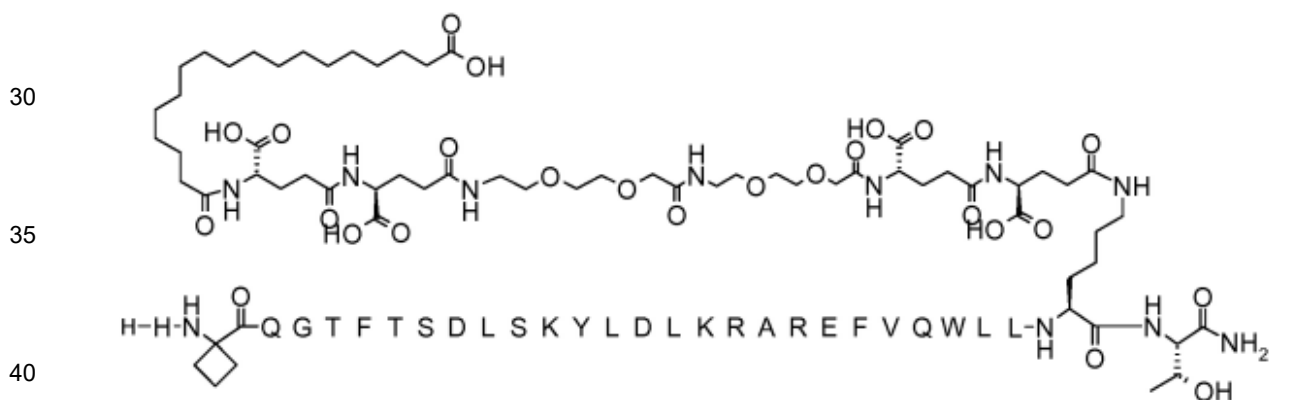
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

5



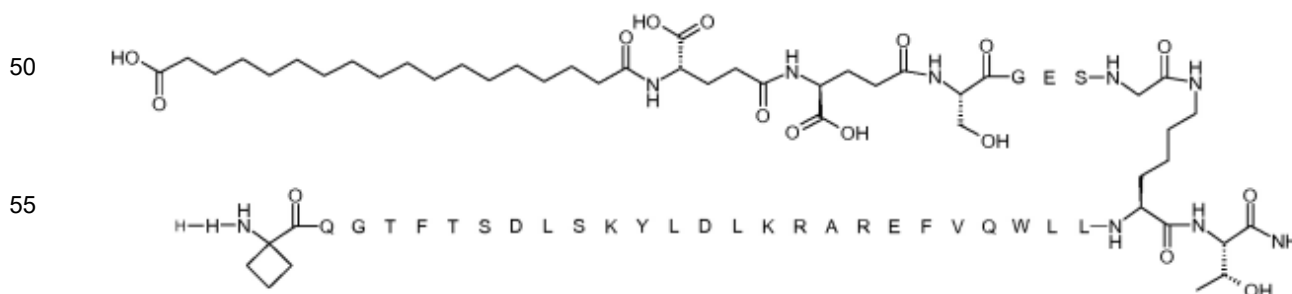
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

25



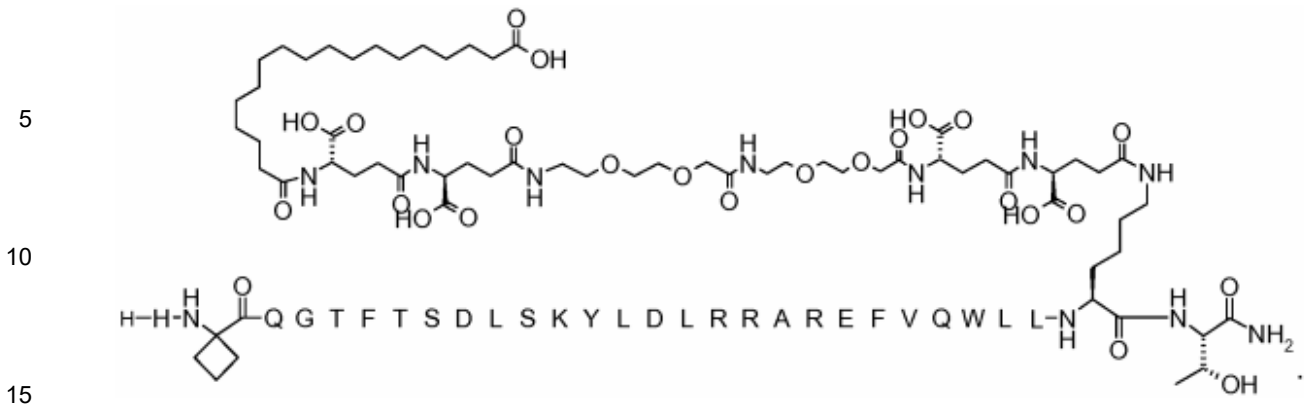
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

45



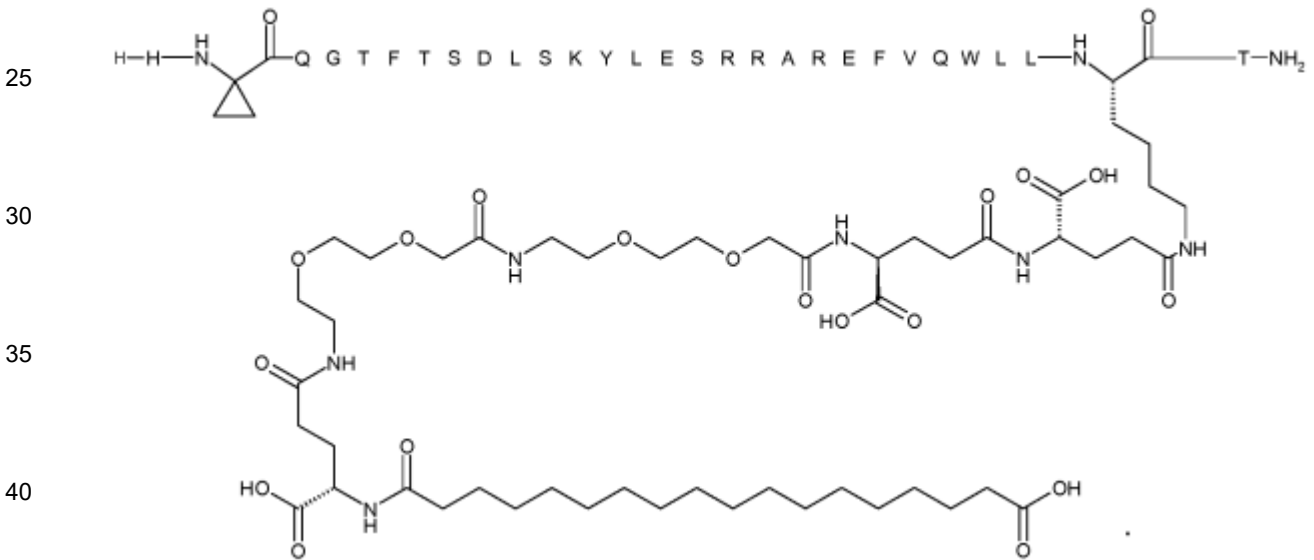
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65



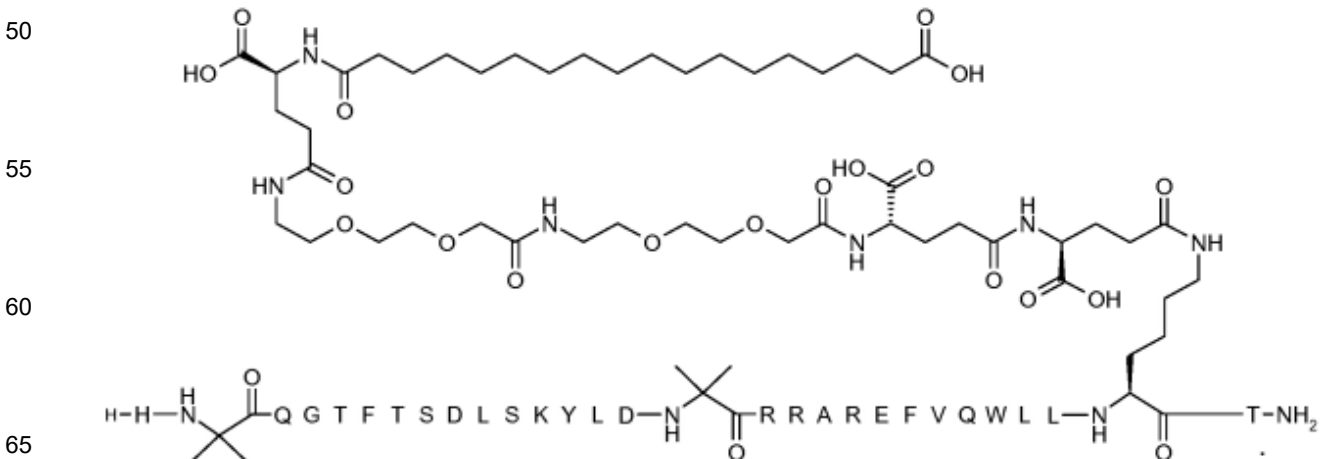
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

20



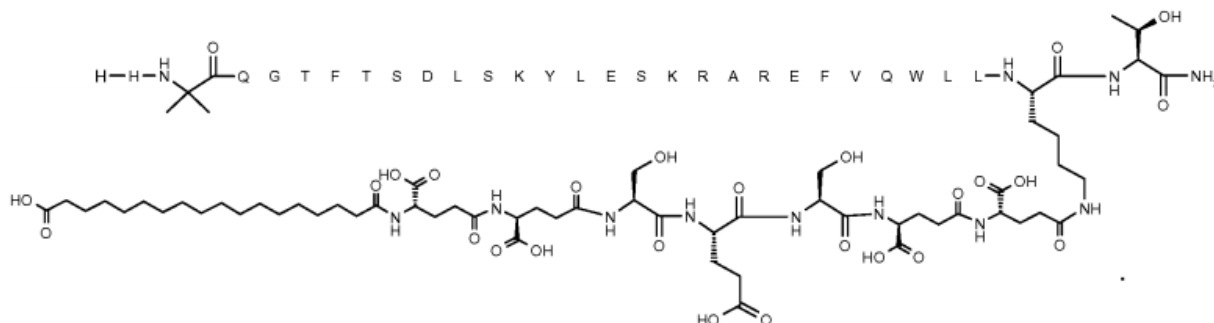
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

45



En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε28(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

5



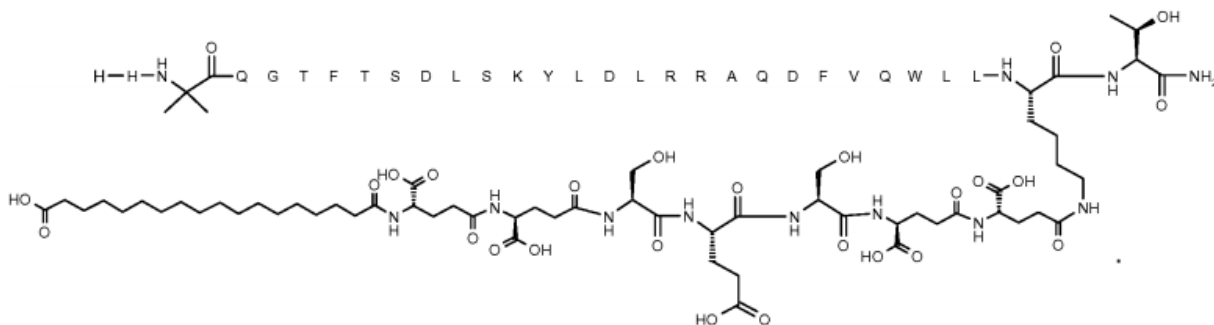
10

15

20

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

25



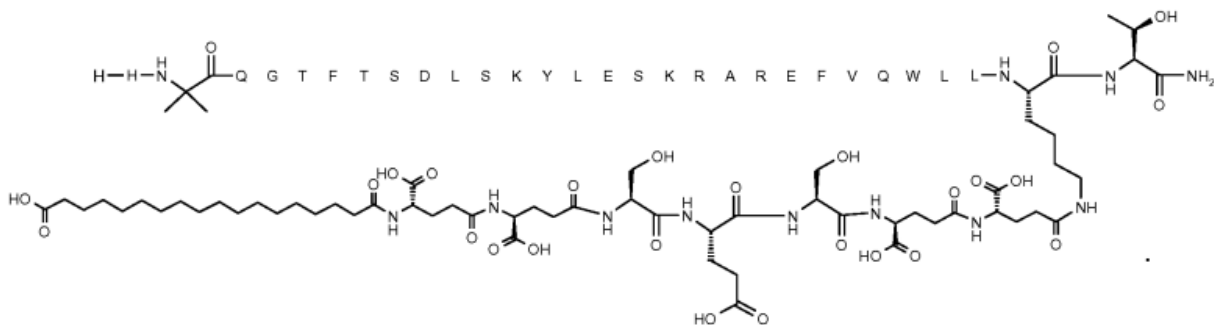
30

35

40

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

45



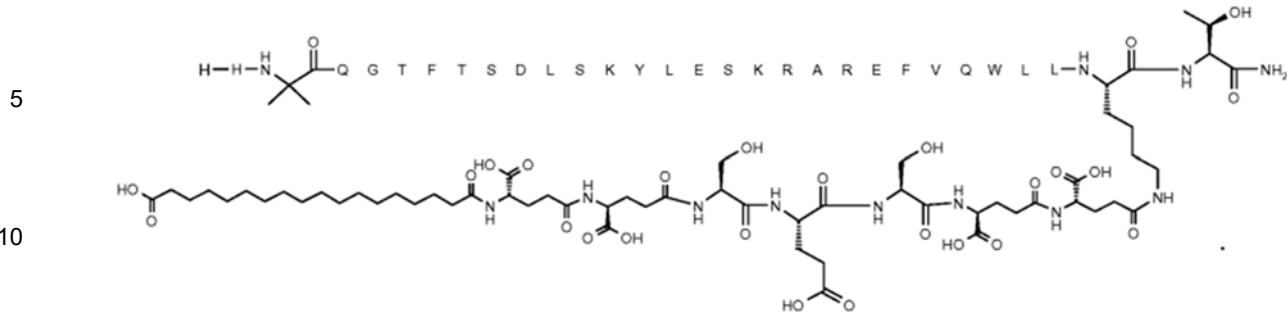
50

55

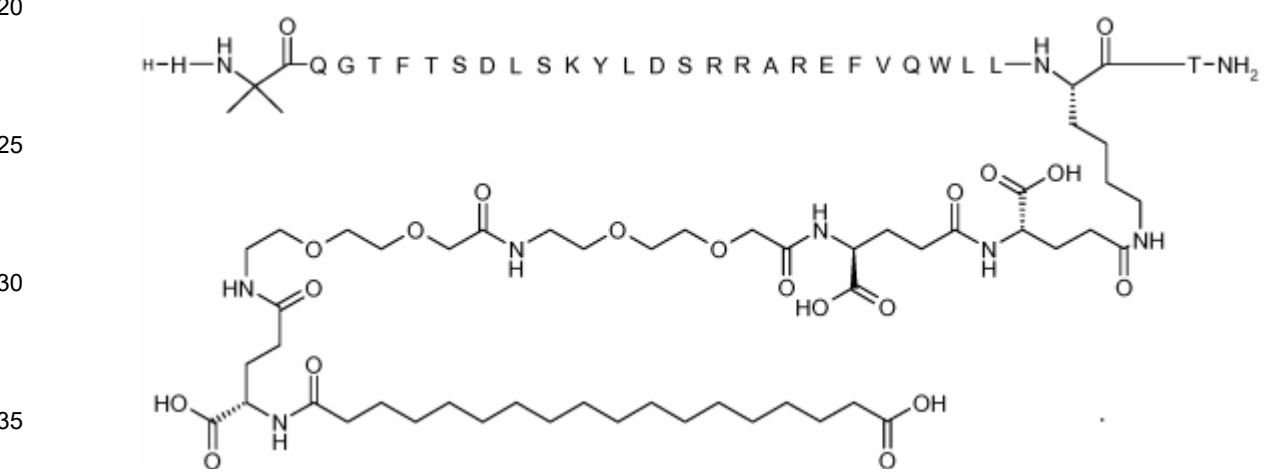
60

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε28-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]-acetil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

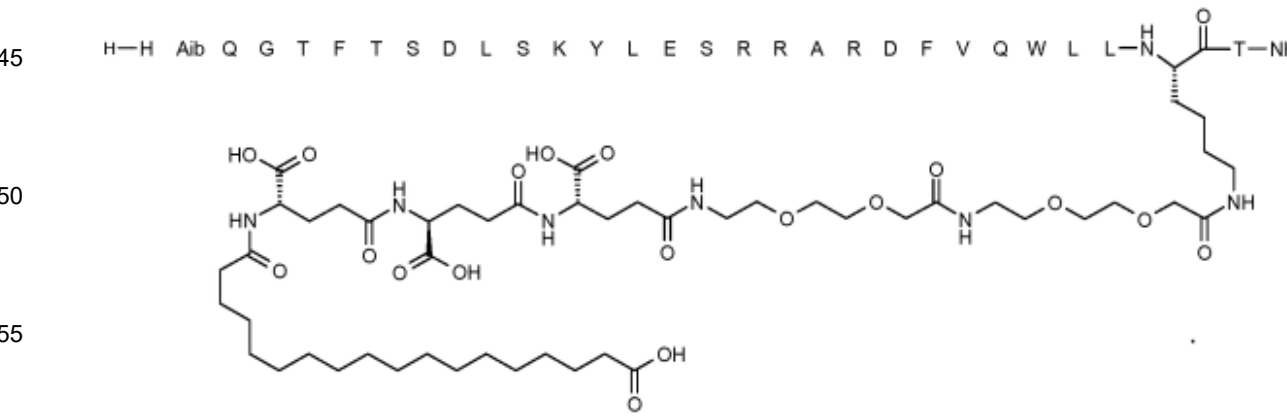
65



15 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

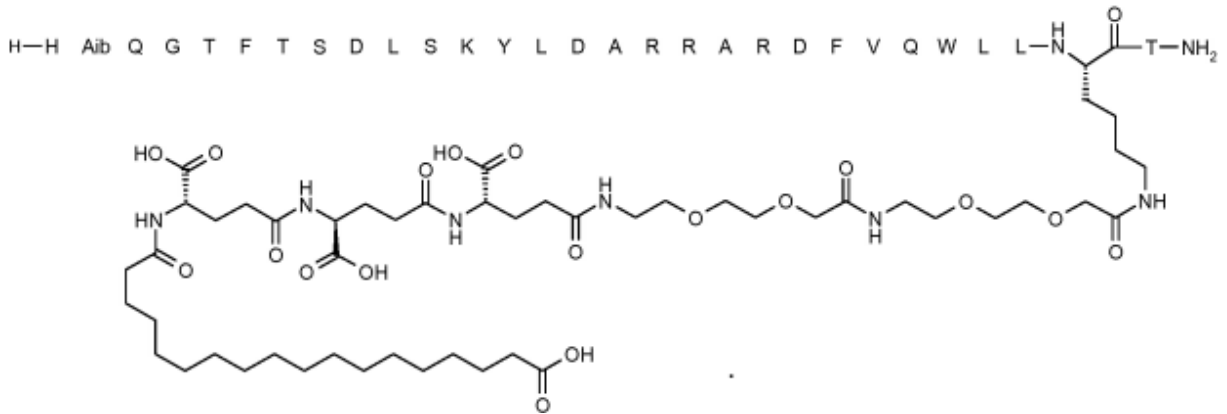


40 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



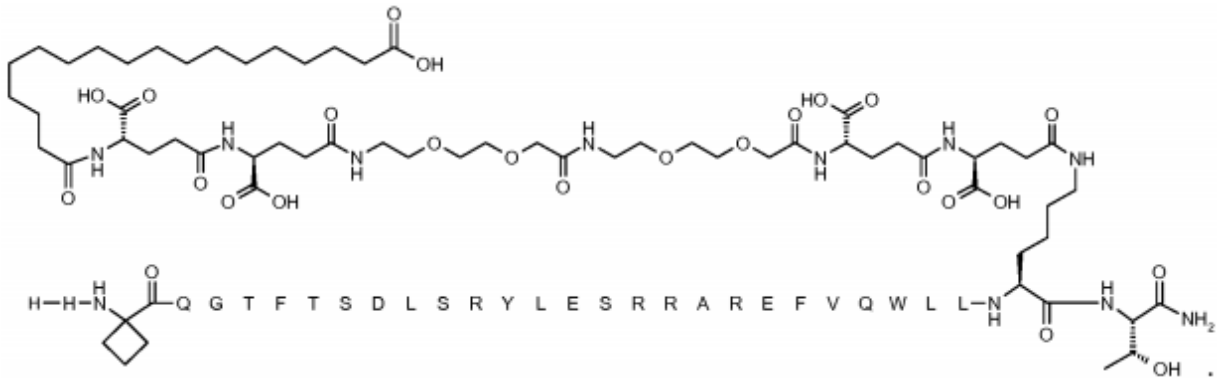
60 En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65



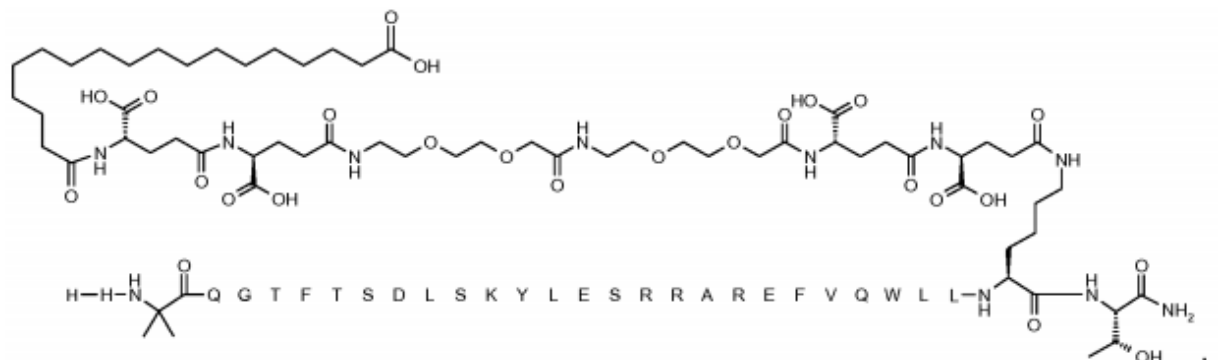
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

20



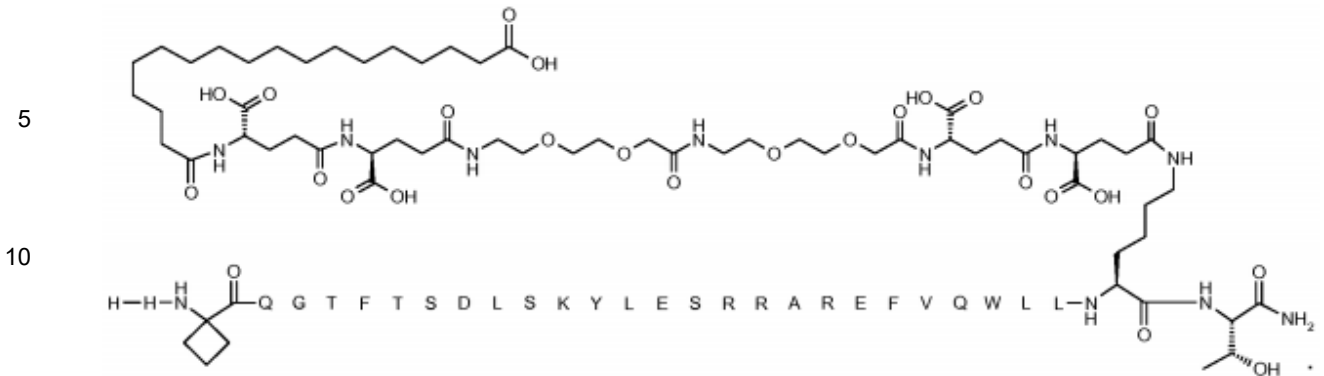
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

40

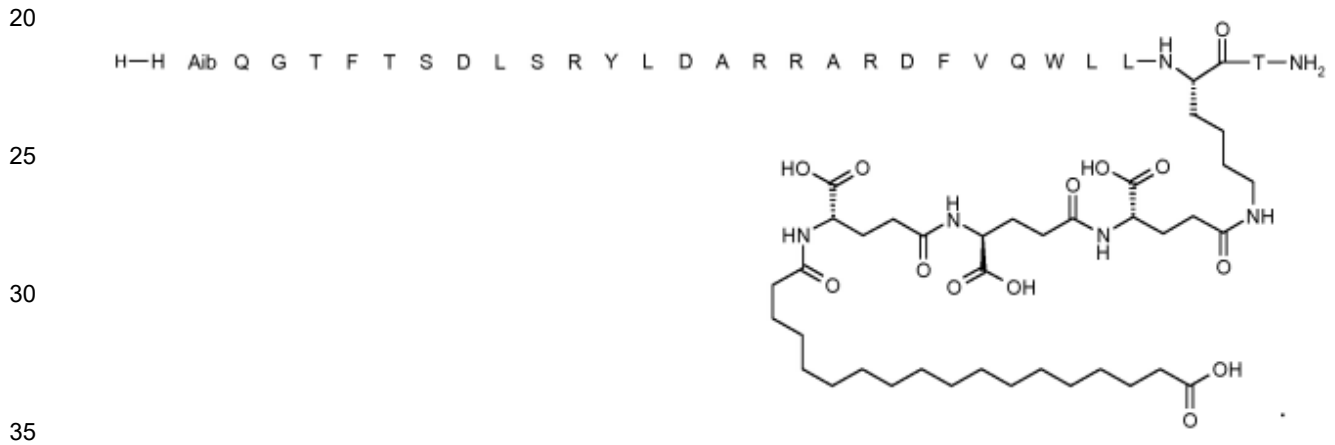


En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

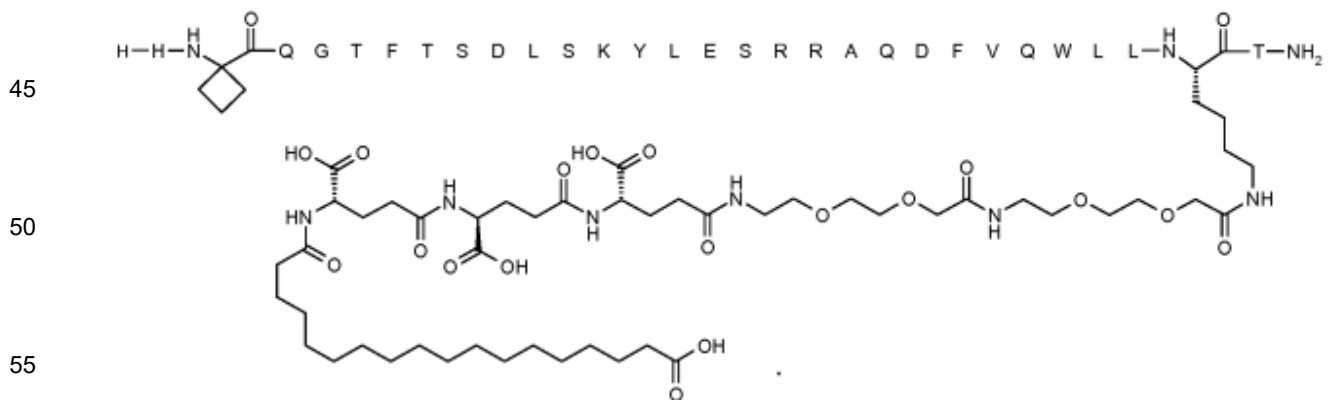
60



En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε²⁸-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

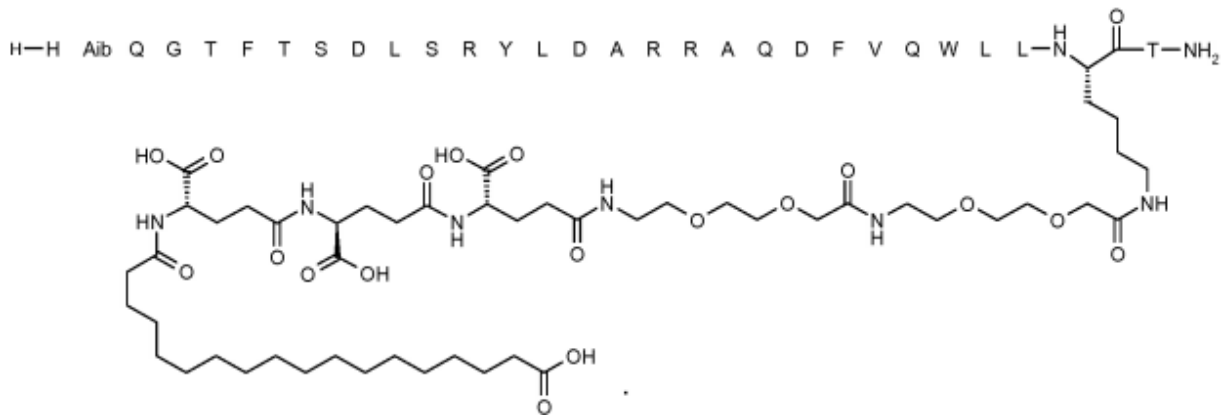


En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε²⁸-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



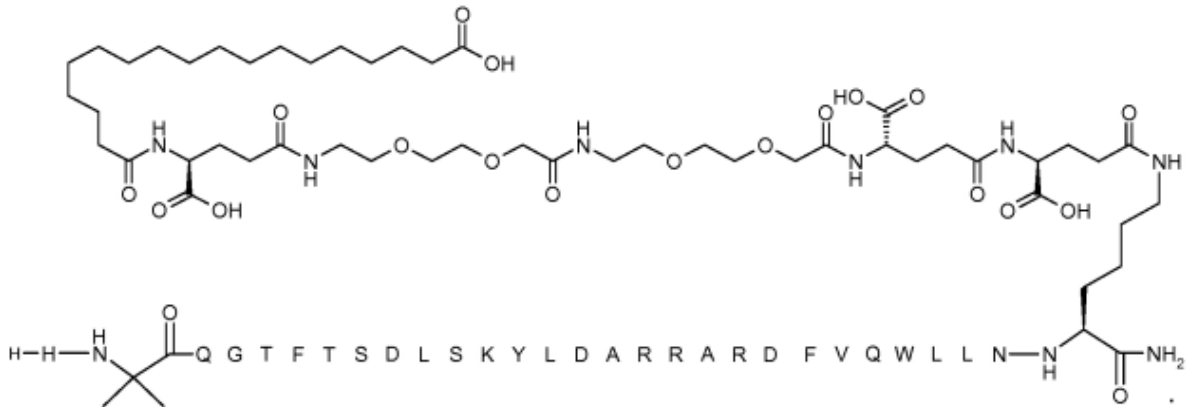
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε²⁸-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65



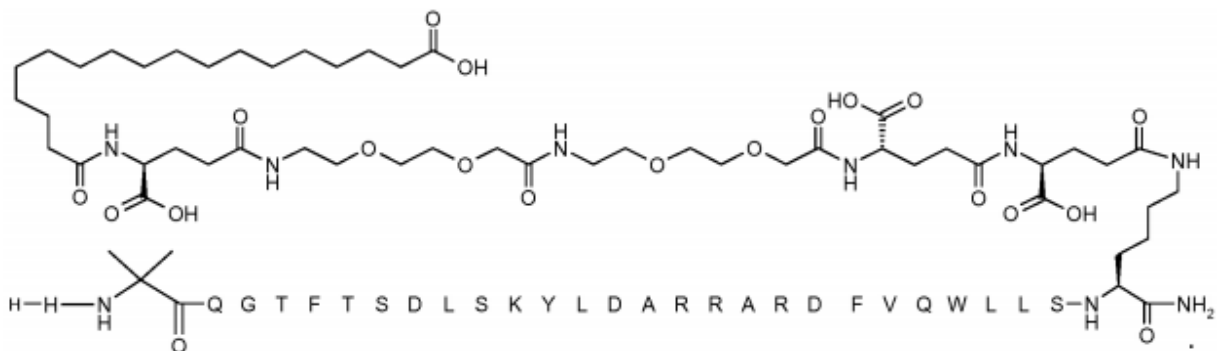
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

20



En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

40

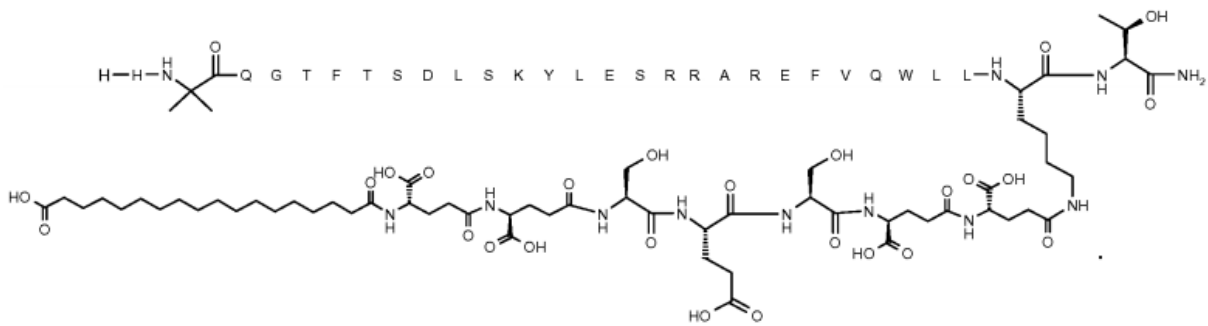


En una modalidad, el derivado de glucagón es N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

60

65

5

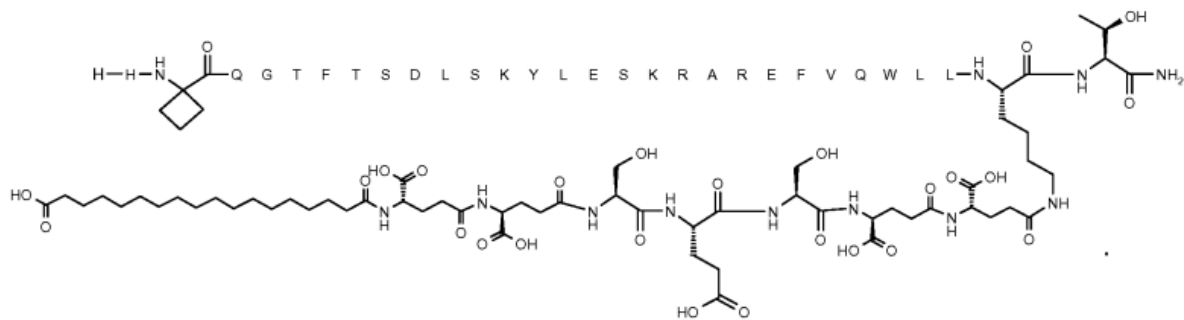


10

15

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

20



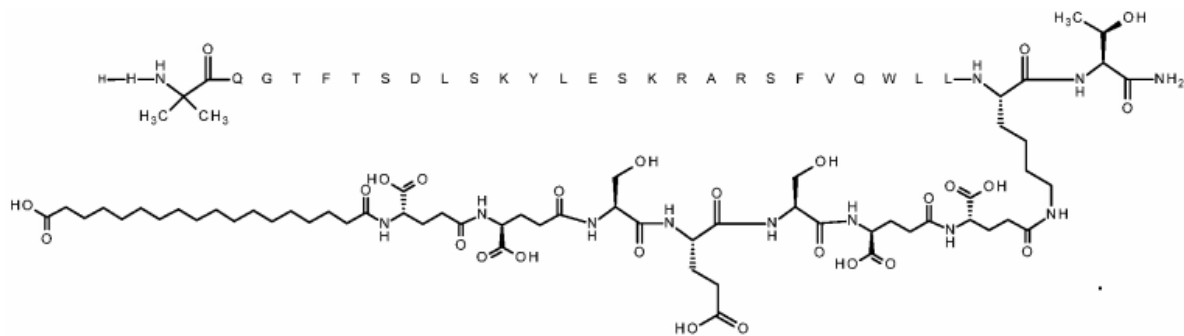
25

30

35

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

40



45

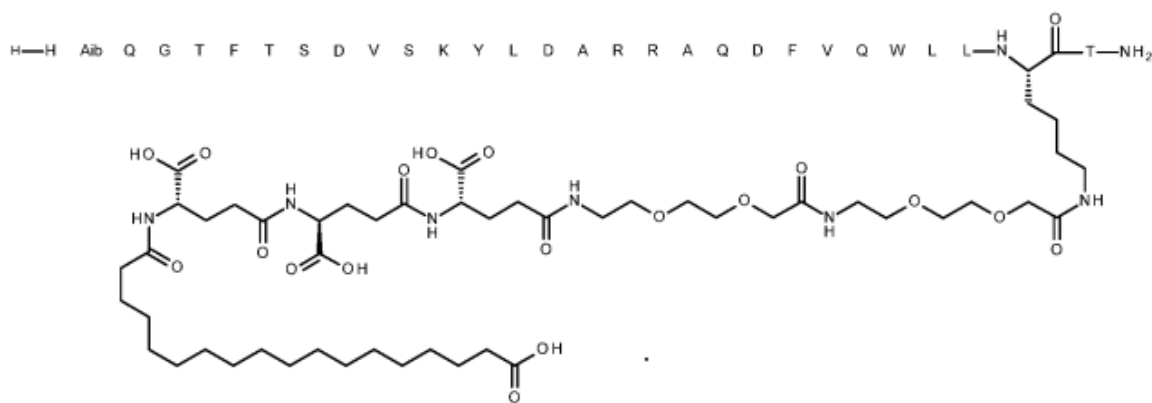
50

55

En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε28-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Ala16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

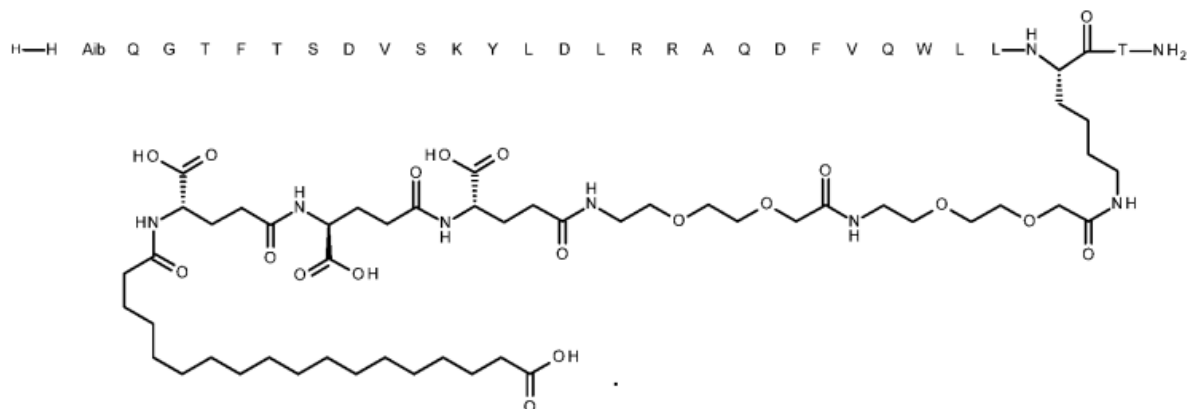
60

65



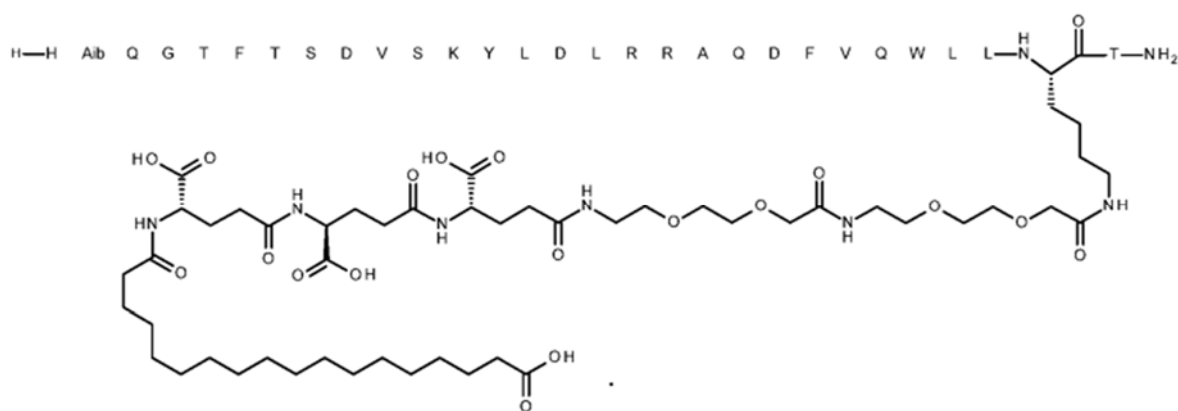
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε²⁸-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Leu16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

20



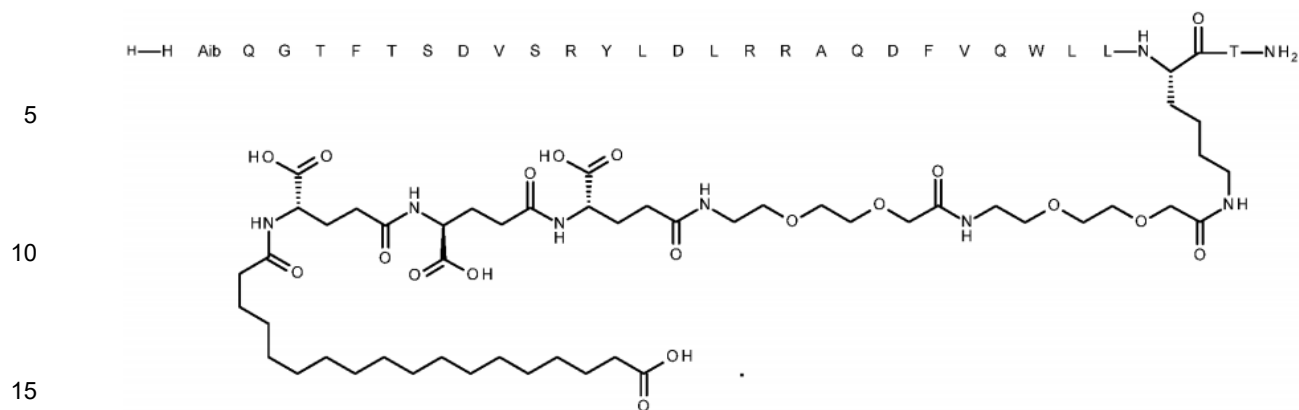
En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε²⁸-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

40



En una modalidad, el derivado de glucagón es N^ε²⁸-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Arg12,Leu16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65



Sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente

20 Los derivados, análogos y productos intermedios 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:



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

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

35 Los ejemplos no limitantes de los grupos aniónicos de los derivados o análogos 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 a menudo grupos carboxílicos libres en los residuos aminoácidos ácidos internos tales como Asp y Glu.

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

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

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.

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

55 La formación de amida puede involucrar 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.

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

65 El término "composición farmacéutica", como se usa en la presente descripción, se refiere a un producto que comprende un compuesto activo, por ejemplo, el derivado de glucagón de la invención, o una sal de este junto con excipientes farmacéuticos tales como tampón, conservante, y opcionalmente un modificador de tonicidad y/o un estabilizador. Por lo tanto, una composición farmacéutica se conoce también en la técnica como una formulación farmacéutica.

En el presente contexto, el término “sal aceptable farmacéuticamente” pretende indicar una sal que no es dañina para el paciente. Dichas sales incluyen sales por adición de ácidos aceptables farmacéuticamente, sales metálicas aceptables farmacéuticamente, sales de amonio y de amonio alquiladas. Las sales por adición de ácidos incluyen sales de ácidos inorgánicos así como también de ácidos orgánicos.

El término “excipiente”, como se usa en la presente descripción, significa los compuestos químicos que se añaden normalmente a composiciones farmacéuticas, por ejemplo, tampones, agentes de tonicidad, conservantes y similares.

Como se usa en la presente descripción, el término "cantidad eficaz terapéuticamente" de un compuesto, por ejemplo, el derivado de glucagón de la invención, se refiere a una cantidad suficiente para curar, aliviar, o detener parcialmente las manifestaciones clínicas de una enfermedad dada y/o sus complicaciones. Una cantidad adecuada para lograr esto se define como "cantidad eficaz terapéuticamente". Las cantidades eficaces para cada propósito dependerán de la gravedad de la enfermedad o lesión, así como también del peso y estado general del sujeto. Debe entenderse que la determinación de una dosificación apropiada puede lograrse mediante el uso de la experimentación rutinaria, mediante la construcción de una matriz de valores y la evaluación de diferentes puntos en la matriz, todo lo cual está dentro del nivel de experticia de un médico o veterinario entrenado.

Los términos “tratamiento”, “tratar” y otras variantes de estos, como se usan en la presente descripción, se refieren al manejo y cuidado de un paciente con el propósito de combatir una afección, tal como una enfermedad o un trastorno. Los términos pretenden incluir el espectro completo de tratamientos para una afección determinada de la que padece el paciente, tal como la administración del(de los) compuesto(s) activo(s) en cuestión para aliviar los síntomas o complicaciones de esta, para retardar la progresión de la enfermedad, trastorno o afección, para curar o eliminar la enfermedad, trastorno o afección, y/o para prevenir la afección, en donde prevención debe entenderse como el manejo y cuidado de un paciente con el propósito de combatir la enfermedad, afección o trastorno e incluye la administración del(de los) compuesto(s) activo(s) en cuestión para prevenir el inicio de los síntomas o complicaciones. El paciente a tratar es, preferentemente, un mamífero, en particular un ser humano, pero el tratamiento de otros animales, tales como perros, gatos, vacas, caballos, ovejas, cabras o cerdos, está dentro del alcance de la invención.

El término “diabetes” o “diabetes mellitus” incluye diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes gestacional (durante el embarazo) y otros estados que provocan hiperglucemia. El término se usa para un trastorno metabólico en el que el páncreas produce cantidades insuficientes de insulina, o en el que las células del cuerpo no responden adecuadamente a la insulina, lo que impide, por lo tanto, que las células absorban glucosa. Como resultado, la glucosa se acumula en la sangre.

La diabetes tipo 1, también llamada diabetes mellitus insulino dependiente (IDDM) y diabetes de comienzo juvenil, la provoca la destrucción de las células beta, lo que conduce usualmente a una deficiencia absoluta de insulina.

La diabetes tipo 2, también conocida como diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM) y diabetes de comienzo en el adulto, se asocia con la resistencia predominante a la insulina y, por lo tanto, con la deficiencia relativa de insulina y/o con un defecto predominantemente en la secreción de insulina con resistencia a la insulina.

El término “euglucemia”, como se usa en la presente descripción, significa una concentración normal de glucosa en sangre. Esto se denomina, además, normoglucemia.

El término “obesidad” implica un exceso de tejido adiposo. Cuando el consumo de energía supera el gasto de energía, el exceso de calorías se almacena en el tejido adiposo, y si este equilibrio positivo neto se prolonga, produce obesidad, es decir, existen dos componentes en el balance de peso, y una anomalía en uno de los lados (consumo o gasto) puede conducir a la obesidad. En este contexto, la obesidad se ve mejor como cualquier grado de exceso de tejido adiposo que imparte un riesgo de salud. La distinción entre individuos normales y obesos solo puede aproximarse, pero el riesgo de salud impartido por la obesidad es probablemente una continuidad del aumento del tejido adiposo. Sin embargo, en el contexto de la invención, los individuos con un índice de masa corporal (BMI = peso corporal en kilogramos dividido entre el cuadrado de la altura en metros) por encima de 25 deben considerarse obesos.

En el caso de la administración de un derivado de glucagón de la invención, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos o sustancias activas terapéuticamente adicionales como se describen anteriormente, para un propósito relacionado con el tratamiento o prevención de la obesidad o sobrepeso, es decir, relacionado con la reducción o la prevención del exceso de adiposidad, puede ser relevante emplear dicha administración en combinación con la intervención quirúrgica para el propósito de lograr la pérdida de peso o prevenir la ganancia de peso, por ejemplo, en combinación con la intervención quirúrgica bariátrica. Los ejemplos de técnicas quirúrgicas bariátricas usadas frecuentemente incluyen, pero no se limitan a, lo siguiente: gastroplastia vertical con bandas (también conocida como “grapado de estómago”), en donde una parte del estómago se grapa para crear una bolsa preestomacal más pequeña que sirve como un nuevo estómago; bandas gástricas, por ejemplo, mediante el uso de

un sistema de banda gástrica ajustable (tal como la *Banda Gástrica Ajustable Sueca* (SAGB), el *LAP-BAND™* o el *MIDBanda™*), en donde se crea una pequeña bolsa preestomacal que sirve como un nuevo estómago mediante el uso de una banda elastomérica (por ejemplo, silicona) que puede ajustarse en tamaño por el paciente; y la cirugía de derivación gástrica, por ejemplo, derivación “en Y de Roux”, en donde se crea una pequeña bolsa de estómago mediante el uso de un dispositivo grapador y se conecta al intestino delgado distal, donde la parte superior del intestino delgado se une nuevamente en una configuración en forma de Y.

La administración de un derivado de glucagón de la invención (opcionalmente en combinación con uno o más compuestos o sustancias activas terapéuticamente adicionales como se describió anteriormente) puede tener lugar durante un período antes de llevar a cabo la intervención quirúrgica bariátrica en cuestión y/o durante un período de tiempo posterior a esta. En muchos casos, puede preferirse comenzar la administración de un compuesto de la invención después que ha tenido lugar la intervención quirúrgica bariátrica.

Los compuestos de la invención y agentes contra la obesidad o contra la diabetes, como se define en la presente descripción, pueden administrarse simultánea o secuencialmente. Los factores pueden suministrarse en forma de dosificación única en donde la forma de dosificación única contiene ambos compuestos, o en forma de un kit de partes que comprende una preparación del compuesto de la invención como una primera forma de dosificación unitaria y una preparación del agente contra la obesidad o contra la diabetes como una segunda forma de dosificación unitaria. Cuando se menciona una primera o segunda o tercera, etcétera, dosis unitaria a lo largo de esta descripción esto no indica el orden de administración preferido, sino que se hace simplemente por propósitos de conveniencia.

Por administración de la dosis “simultánea” de una preparación de un compuesto de la invención y de una preparación de agentes contra la obesidad o contra la diabetes se entiende la administración de los compuestos en forma de dosificación única, o la administración de un primer agente seguido de la administración de un segundo agente con una separación temporal de no más de 15 minutos, preferentemente, 10, con mayor preferencia, 5, con mayor preferencia, 2 minutos. Cualquiera de los factores puede administrarse primero.

Por administración de la dosis “secuencial” se entiende la administración de un primer agente seguido de la administración de un segundo agente con una separación temporal de más de 15 minutos. Cualquiera de las dos formas de dosificación unitaria puede administrarse primero. Preferentemente, ambos productos se inyectan por medio del mismo acceso intravenoso.

Como ya se indicó, en todos los métodos o indicaciones terapéuticas descritas anteriormente, un compuesto de la invención puede administrarse solo. Sin embargo, también puede administrarse en combinación con uno o más agentes, sustancias o compuestos activos terapéuticamente adicionales, ya sea secuencialmente o de manera concomitante.

Una dosificación típica de un compuesto de la invención, cuando se emplea en un método de acuerdo con la invención, está en el intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día, preferentemente, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día, con mayor preferencia, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal por día, por ejemplo, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día o de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal por día administrado en una o más dosis, tal como de 1 a 3 dosis. La dosis exacta dependerá de la frecuencia y el modo de administración, el sexo, la edad, el peso y el estado general del sujeto que se trata, la naturaleza y la gravedad de la afección que se trata, cualesquiera enfermedades concomitantes a tratar y otros factores evidentes para los expertos en la técnica.

Los compuestos de la invención comprenden compuestos que se cree que son bien adecuados para la administración con intervalos más largos que, por ejemplo, una vez al día, por lo tanto, los compuestos formulados adecuadamente de la invención pueden ser adecuados para, por ejemplo, la administración dos veces por semana o una vez por semana mediante una vía de administración adecuada, tal como una de las vías descritas en la presente descripción.

Como se describió anteriormente, los compuestos de la invención pueden administrarse o aplicarse en combinación con uno o más compuestos o sustancias activas terapéuticamente adicionales, y pueden seleccionarse compuestos o sustancias adicionales adecuados, por ejemplo, de agentes contra la diabetes, agentes antihiperlipidémicos, agentes antiobesidad, agentes antihipertensivos y agentes para el tratamiento de complicaciones que resultan de, o asociadas con, la diabetes.

Preparación de Derivados de Péptidos de Glucagón

En una modalidad, la invención se refiere a un proceso para fabricar un derivado de glucagón de acuerdo con la invención. El derivado de la invención puede prepararse mediante el método descrito más abajo.

Métodos Generales de SPSS

Los derivados de aminoácidos protegidos con Fmoc a usarse pueden ser 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, Fmoc-Val-OH y Fmoc-Lys(Mtt)-OH suministrados por, por ejemplo, Anaspec, Bachem, Iris Biotech, o NovabioChem. Cuando no se especifica nada más, se usa la forma L natural de los aminoácidos. El aminoácido N-terminal se protege 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). La SPPS puede realizarse mediante el uso de química basada en Fmoc en un sintetizador de péptidos en fase sólida Prelude de Protein Technologies (Tucson, AZ 85714 EE.UU.). Una resina adecuada para la preparación de amidas peptídicas C-terminales es la resina H-Rink Amide-ChemMatrix (que carga, por ejemplo, 0,52 nmol/g) o la resina de poliestireno Rink Amide AM (Novabiochem, que carga, por ejemplo, 0,62 mmol/g) o similares. La eliminación de la protección con Fmoc se logra con piperidina al 20 % en NMP. Los acoplamientos peptídicos se realizan mediante el uso de DIC/HOAt/colidina o DIC/Oxima Pura/colidina sin activación previa. Las soluciones de aminoácido/HOAt o aminoácido/Oxima Pura (0,3 M/0,3 M en NMP a un exceso molar de 3-10 veces) se añadieron a la resina seguido por el mismo equivalente molar de DIC (3 M en NMP) seguido por colidina (3 M en NMP). Por ejemplo, pueden usarse las cantidades siguientes de solución de aminoácido/HOAt 0,3 M por acoplamiento para las siguientes reacciones en escala: Escala/ml, 0,05 mmol/1,5 ml, 0,10 mmol/3,0 ml, 0,25 mmol/7,5 ml. El grupo Mtt puede eliminarse mediante el lavado de la resina con HFIP/DCM (75:25) (2 x 2 min), lavado con DCM y suspensión de la resina en HFIP/DCM (75:25)(2 x 20 min) y lavado posterior en secuencia con Piperidina/NMP (20:80), DCM(1x), NMP(1x), DCM(1x), NMP(1x).

Unión del sustituyente

El sustituyente puede introducirse en un procedimiento por etapas mediante el sintetizador de péptidos Prelude como se describió anteriormente, mediante el uso de bloques de construcción protegidos adecuadamente, tales como los aminoácidos estándar descritos anteriormente, ácido Fmoc-8-amino-3,6-dioxaoctanoico y Fmoc-Glu-OtBu. La introducción de la porción de ácido graso puede lograrse mediante el uso de un bloque de construcción, tal como, pero sin limitarse a, mono-terc-butil-éster del ácido octadecanodioico. Después de cada etapa de acoplamiento, el intermediario peptídico sin reaccionar puede taponarse mediante el uso de anhídrido acético y exceso de colidina (> 10 eq.).

La introducción de un sustituyente sobre el nitrógeno-épsilon de una lisina se logra mediante el uso de una lisina protegida con Mtt (Fmoc-Lys(Mtt)-OH). El grupo MTT puede eliminarse mediante el uso de un procedimiento estándar tal como Alternativamente, el nitrógeno-épsilon de una lisina puede protegerse con un grupo ivDde (Fmoc-Lys(ivDde)-OH). La incorporación de porciones gamma-Glu en el sustituyente puede lograrse mediante el acoplamiento con el aminoácido Fmoc-Glu-OtBu.

La introducción de cada porción en el sustituyente puede lograrse mediante el uso de un tiempo de acoplamiento prolongado (1 x 6 horas) seguido de taponado con anhídrido acético o alternativamente ácido acético/DIC/HOAt/colidina.

Escisión de la resina

Después de la síntesis la resina se lava con DCM, y el péptido se escinde de la resina mediante un tratamiento de 2-3 horas con TFA/TIS/agua (95/2,5/2,5) seguido por precipitación con éter dietílico. El precipitado se lava con éter dietílico.

Purificación y cuantificación

El péptido crudo se disuelve en una mezcla adecuada de agua y MeCN, tal como agua/MeCN (4:1), y se purifica mediante HPLC preparativa de fase inversa (Waters Deltaprep 4000 o Gilson) en una columna que contiene gel de sílice C18. La elución se realiza con un gradiente creciente de MeCN en agua que contiene TFA al 0,1 %. Las fracciones relevantes se revisan mediante HPLC analítica o UPLC. Las fracciones que contienen el péptido objetivo puro se mezclan y se concentran a presión reducida. La solución resultante se analiza (HPLC, LCMS) y el producto (es decir, el derivado) se cuantifica mediante el uso de un detector de quimioluminiscencia específico para nitrógeno de HPLC (Antek 8060 HPLC-CLND) o mediante la medición de la absorción UV a 280 nm. El producto se dispensa en viales de vidrio. Los viales se taponan con prefiltros de fibra de vidrio Millipore. La liofilización proporciona el trifluoroacetato peptídico como un sólido blanco.

Propiedades funcionales

En una primera modalidad funcional, los péptidos de la invención son capaces de unirse tanto al receptor de GLP-1 como al receptor de glucagón con buena afinidad. En una segunda modalidad funcional, los péptidos de la invención son, preferentemente, agonistas de los receptores de GLP-1 y de glucagón como se refleja por su potencia sobre

ambos receptores. Además, en una tercera modalidad funcional, tienen propiedades farmacocinéticas mejoradas. Además, o alternativamente, en una cuarta modalidad funcional, tienen buenas propiedades biofísicas.

En una modalidad, la invención proporciona novedosos coagonistas de los receptores de GLP-1/glucagón con una potencia sobre el receptor y/o afinidad mejoradas sobre el receptor de GLP-1 o el receptor de glucagón o sobre ambos receptores mejorada. En otra modalidad, la invención proporciona novedosos coagonistas de los receptores de GLP-1/glucagón con estabilidad mejorada. En otra modalidad, la invención proporciona novedosos coagonistas de los receptores de GLP-1/glucagón con solubilidad mejorada. En otra modalidad, la invención proporciona novedosos coagonistas de los receptores de GLP-1/glucagón con vida media aumentada.

La potencia (es decir, activación del receptor) y la afinidad (es decir, la unión al receptor) sobre los receptores de glucagón y de GLP-1 pueden determinarse de acuerdo con los ensayos descritos en los Ejemplos 74-75 en la presente descripción.

La solubilidad de los compuestos de la invención a diferentes valores de pH puede medirse como se describe en la sección de Propiedades Funcionales en la presente descripción.

La estabilidad física de los compuestos de la invención puede medirse mediante el ensayo de fibrilación con Tioflavina (ThT) descrito en el Ejemplo 76 en la presente descripción.

La estabilidad química de los derivados o análogos de glucagón de la invención puede determinarse como se describe en el Ejemplo 79 en la presente descripción.

Además, los péptidos de la invención tienen una vida media *in vivo* prolongada. La vida media de los derivados o análogos de glucagón de la invención puede determinarse en un estudio farmacocinético en diversas especies, lo que incluye ratones (como se describe en el Ejemplo 78 en la presente descripción), ratas y minicerdos.

El efecto de los derivados de glucagón de la invención sobre la reducción del peso corporal puede determinarse en ratones DIO como se describe en el Ejemplo 77 en la presente descripción.

En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención es tan selectivo para el receptor de glucagón como para el receptor de GLP-1.

Coagonistas de los receptores de GLP-1/glucagón

En una modalidad, la invención proporciona novedosos coagonistas de receptores de GLP-1/glucagón estables y prolongados. Un coagonista de los receptores de GLP-1/glucagón puede definirse como un péptido que es capaz de activar tanto los receptores de GLP-1 como los de glucagón.

Los derivados de la invención muestran una EC_{50} inferior a 1 nM sobre el receptor de GLP-1 y una EC_{50} inferior a 10 nM sobre el receptor de glucagón, o inferior a 100 pM sobre el receptor de GLP-1 e inferior a 100 pM sobre el receptor de glucagón, o inferior a 50 pM sobre el receptor de GLP-1 e inferior a 100 pM sobre el receptor de glucagón, o inferior a 10 pM sobre el receptor de GLP-1 e inferior a 50 pM sobre el receptor de glucagón. Como se mencionó, las potencias del receptor pueden determinarse mediante el uso del ensayo descrito en el Ejemplo 74 en la presente descripción.

En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 100$ pM y una $EC_{50} < 1$ nM sobre el receptor de glucagón. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 50$ pM y una $EC_{50} < 1$ nM sobre el receptor de glucagón. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10$ pM y una $EC_{50} < 1$ nM sobre el receptor de glucagón. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 50$ pM y una $EC_{50} < 100$ pM sobre el receptor de glucagón. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10$ pM y una $EC_{50} < 100$ pM sobre el receptor de glucagón. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10$ pM y una $EC_{50} < 50$ pM sobre el receptor de glucagón. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 1$ pM y una $EC_{50} < 50$ pM sobre el receptor de glucagón. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10$ pM y una $EC_{50} < 10$ pM sobre el receptor de glucagón. En una modalidad, el derivado de glucagón es un coagonista de GLP-1/glucagón con una EC_{50} sobre el receptor de GLP-1 $< EC_{50}$ sobre el receptor de glucagón. En una modalidad, el derivado de glucagón es un coagonista de GLP-1/glucagón con una EC_{50} sobre el receptor de GLP-1 (por ejemplo, en pM) mayor que la EC_{50} sobre el receptor de glucagón (por ejemplo, en pM).

Agonista del receptor de glucagón

Un agonista del receptor puede definirse como un péptido que se une a un receptor e induce una respuesta típica del ligando natural. El término "agonista de glucagón", como se usa en la presente descripción, se refiere a cualquier

derivado de glucagón que se une a y activa total o parcialmente el receptor de glucagón humano. En una modalidad, el "agonista de glucagón" es cualquier derivado de glucagón que activa el receptor de glucagón, con una potencia (EC_{50}) inferior a 10 nM o inferior a 1 nM o 100 pM o inferior a 10 pM, como se mide mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 74 en la presente descripción.

En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 10$ nM. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 1$ nM. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 100$ pM. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 10$ pM. La potencia, es decir, EC_{50} , del derivado de glucagón sobre el receptor de glucagón puede determinarse mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 74 en la presente descripción.

Agonista del receptor de GLP-1

Un agonista del receptor puede definirse como un péptido que se une a un receptor e induce una respuesta típica del ligando natural. De esta forma, por ejemplo, un "agonista del receptor de GLP-1" o "péptido agonista del receptor de GLP-1" puede definirse como un compuesto que es capaz de unirse al receptor de GLP-1 y es capaz de activarlo.

Los péptidos coagonistas de la invención tienen actividad GLP-1. Este término se refiere a la capacidad de unirse al receptor de GLP-1 e iniciar una vía de transducción de señales que da como resultado la acción insulínica u otros efectos fisiológicos como se conoce en la técnica. Los derivados de la invención muestran una EC_{50} inferior a 1 nM o inferior a 100 pM o inferior a 50 pM o inferior a 10 pM mediante el uso del ensayo descrito en el Ejemplo 74 en la presente descripción.

En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1, con una $EC_{50} < 100$ pM. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1, con una $EC_{50} < 50$ pM. En una modalidad, el derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1, con una $EC_{50} < 10$ pM. La potencia, es decir, EC_{50} , del derivado de glucagón sobre el receptor de GLP-1 puede determinarse mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 74 en la presente descripción.

Actividad biológica - afinidad y potencia *in vitro*

En una modalidad, la afinidad se refiere a la afinidad de unión *in vitro*, es decir, rendimiento en un ensayo de afinidad de unión al receptor de GLP-1 y en un ensayo de afinidad de unión al receptor de glucagón, más en particular a la capacidad de unión al receptor de GLP-1 humano y al receptor de glucagón humano. La afinidad de unión del receptor de GLP-1 humano puede medirse en un ensayo de unión, por ejemplo, en una línea celular BHK transfectada establemente que expresa el receptor de GLP-1 humano. El GLP-1 marcado radioactivamente se une al receptor y puede desplazarse competitivamente por un compuesto. La unión del radioligando puede determinarse en presencia de perlas de ensayo de proximidad de centelleo (SPA) que se unen a las membranas celulares y cuando la radioactividad está cerca de la perla produce una luz que se mide y es una medida de la afinidad de unión *in vitro*. Un ejemplo no limitante de dicho ensayo se describe en el Ejemplo 75 en la presente descripción. La afinidad de unión del receptor de glucagón humano puede medirse en un ensayo de afinidad de unión, por ejemplo, en una línea celular BHK transfectada establemente que expresa el receptor de glucagón humano. El glucagón marcado radioactivamente se une al receptor y puede desplazarse competitivamente por un compuesto. La unión del radioligando puede determinarse en presencia de perlas de ensayo de proximidad de centelleo (SPA) que se unen a las membranas celulares y cuando la radioactividad está cerca de la perla produce una luz que se mide y es una medida de la afinidad de unión *in vitro*.

El término concentración inhibitoria semimáxima (IC_{50}) se refiere generalmente a la concentración del compuesto competidor que desplaza el 50 % de la unión específica de la unión del radioligando que corresponde a la mitad entre el valor basal y el máximo, en referencia a la curva de respuesta a dosis. La IC_{50} se usa como una medida de la afinidad de unión de un compuesto y representa la concentración donde se observa el 50 % de su unión máxima.

La unión *in vitro* de los péptidos de la invención puede determinarse como se describió anteriormente y determinarse la IC_{50} del derivado en cuestión. A menor valor de IC_{50} , mejor será la afinidad de unión.

La afinidad, es decir, la IC_{50} , del derivado de glucagón sobre el receptor de GLP-1 puede determinarse mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 75 en la presente descripción. En otra modalidad, el péptido de la invención tiene una afinidad de unión *in vitro* sobre el receptor de GLP-1 determinada mediante el uso del método del Ejemplo 75 en la presente descripción que corresponde a una IC_{50} a o inferior a 100 nM, con mayor preferencia, inferior a 10 nM, aún con mayor preferencia, inferior a 5 nM, o con la máxima preferencia, inferior a 1 nM.

La afinidad, es decir, la IC_{50} , del derivado de glucagón sobre el receptor de glucagón puede determinarse mediante el ensayo descrito en el Ejemplo 75 en la presente descripción. En otra modalidad, el péptido de la invención tiene

una afinidad de unión *in vitro* sobre el receptor de glucagón determinada mediante el uso del método del Ejemplo 75 en la presente descripción que corresponde a una IC₅₀ a o inferior a 100 nM, o inferior a 50 nM o inferior a 10 nM

En una modalidad, la potencia se refiere a la potencia *in vitro*, es decir, el rendimiento en un ensayo de receptor de GLP-1 y ensayo del receptor de glucagón funcional, más en particular a la capacidad de activar el receptor de GLP-1 humano y el receptor de glucagón humano. 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 contiene el ADN para el elemento de respuesta al AMPc (CRE) acoplado a un promotor y el gen para luciferasa de luciérnaga (luciferasa CRE). Cuando se produce AMPc como resultado de la activación del receptor de GLP-1, esto a su vez resulta en la expresión de la luciferasa. La expresión de 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 74 en la presente descripción. La respuesta del receptor de glucagón humano puede medirse en un ensayo de gen reportero, por ejemplo, en una línea celular BHK transfectada establemente que expresa el receptor de glucagón 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 se produce AMPc como resultado de la activación del receptor de glucagón, esto a su vez resulta en la expresión de la luciferasa. La expresión de 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 74 en la presente descripción.

El término concentración eficaz semimáxima (EC₅₀) se refiere generalmente a la concentración que induce la mitad de una respuesta entre el valor basal y el máximo, en referencia a la curva de respuesta a la dosis. La EC₅₀ se usa como una medida de la potencia de un compuesto y representa la concentración donde se observa el 50 % de su efecto máximo.

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

Actividad biológica - farmacología *in vivo*

En otra modalidad, los derivados o péptidos de la invención (o análogos de estos) son potentes *in vivo*, lo cual puede determinarse como se conoce en la técnica en cualquier modelo animal adecuado, así como también en ensayos clínicos.

El ratón con obesidad inducida por dieta (DIO) es un ejemplo de un modelo animal adecuado y el efecto sobre el peso corporal, la ingestión de alimentos y la tolerancia a la glucosa puede evaluarse durante la administración de la dosis subcrónica en este modelo. El efecto sobre el peso corporal y la glucosa en sangre puede determinarse en dichos ratones *in vivo*, por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 77 en la presente descripción. La ingestión de alimentos puede evaluarse al alojar individualmente animales y pesar el alimento consumido por día. Este modelo puede usarse, además, para evaluar los efectos sobre la tolerancia a la glucosa mediante la realización de una prueba de tolerancia a la glucosa oral o i.p. (OGTT o IPGTT). Estas pruebas se realizan mediante la administración de una carga de glucosa por vía oral o i.p. a animales sometidos a semiyuno y la medición posterior de la glucosa en sangre por hasta tres horas.

Perfil farmacocinético

De acuerdo con la tercera modalidad funcional, los péptidos de la invención tienen propiedades farmacocinéticas mejoradas tales como aumento de la vida media terminal.

Las propiedades farmacocinéticas de los péptidos 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.

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 péptidos de la invención.

En dichos estudios, los animales se administran típicamente con una única dosis del fármaco, ya sea por vía intravenosa (i.v.), subcutánea (s.c.), u oral (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 y se realiza el denominado análisis farmacocinético no compartimental de los datos.

- 5 Para la mayoría de los compuestos, la parte terminal de los perfiles de concentración plasmática frente al tiempo será lineal cuando se dibuje en una gráfica semilogarítmica, lo que refleja que después de la absorción inicial y la distribución, el fármaco se elimina del cuerpo a una tasa fraccional constante. La tasa (λ_z o λ_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 Gabrielson y Daniel Weiner: Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis. Concepts & Applications, 3ra Ed., Swedish Pharmaceutical Press, Estocolmo (2000)).
- 10 La eliminación puede determinarse después de la administración i.v. y se define como la dosis (D) dividida por el área bajo la curva (AUC) sobre el perfil de concentración plasmática frente al tiempo (Rowland, M y Tozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, 3ª edición, 1995 Williams Wilkins).
- 15 El cálculo de la vida media terminal y/o la eliminación es relevante para la evaluación de regímenes de administración de la dosis y es un parámetro importante en el desarrollo de fármacos, en la evaluación de nuevos compuestos farmacológicos.
- Perfil farmacocinético - vida media *in vivo* en ratas
- 20 De acuerdo con la tercera modalidad funcional, los péptidos de la invención tienen propiedades farmacocinéticas mejoradas en comparación con el hGLP-1 o el hglucagón. Preferentemente, los péptidos de la invención tienen propiedades farmacocinéticas adecuadas para la administración diaria o menos.
- 25 En una modalidad, las propiedades farmacocinéticas pueden determinarse como la vida media terminal ($T_{1/2}$) *in vivo* en ratas después de la administración i.v. y s.c. En modalidades adicionales, la vida media terminal es al menos 1 hora, preferentemente, al menos 3 horas, preferentemente, al menos 4 horas, aún con mayor preferencia, al menos 5 horas, o con la máxima preferencia, al menos 6 horas.
- Perfil farmacocinético - vida media *in vivo* en ratones
- 30 De acuerdo con la tercera modalidad funcional, los péptidos de la invención tienen propiedades farmacocinéticas mejoradas en comparación con el hGLP-1 o el hglucagón. Preferentemente, los péptidos de la invención tienen propiedades farmacocinéticas adecuadas para la administración diaria o menos.
- 35 En una modalidad, las propiedades farmacocinéticas pueden determinarse como la vida media terminal ($T_{1/2}$) *in vivo* en ratones después de la administración i.v. y s.c. En modalidades adicionales, la vida media terminal es al menos 1 hora, preferentemente, al menos 3 horas, preferentemente, al menos 4 horas, aún con mayor preferencia, al menos 5 horas, o con la máxima preferencia, al menos 6 horas. Un ensayo adecuado para determinar la vida media terminal en ratones después de la administración s.c. se describe en el Ejemplo 78 en la presente descripción.
- 40 Perfil farmacocinético - vida media *in vivo* en minicerdos
- 45 De acuerdo con la tercera modalidad funcional, los péptidos de la invención tienen propiedades farmacocinéticas mejoradas en comparación con el hGLP-1 (es decir, GLP-1 humano) o el hglucagón (es decir, glucagón humano) y son adecuados preferentemente para una administración diaria o una vez por semana. En una modalidad, las propiedades farmacocinéticas pueden determinarse como la vida media terminal ($T_{1/2}$) *in vivo* en minicerdos después de la administración i.v., por ejemplo, como se describe más abajo.
- 50 En unas modalidades, la vida media terminal en minicerdos es al menos 5 horas, preferentemente, al menos 10 horas, aún con mayor preferencia, al menos 15 horas, o con la máxima preferencia, al menos 20 horas.
- La vida media *in vivo* en minicerdos del derivado de glucagón puede determinarse de acuerdo con el siguiente método:
- 55 El propósito de este estudio es determinar las propiedades farmacocinéticas *in vivo* de los derivados de glucagón después de la administración i.v. a minicerdos. Esto se hizo en un estudio farmacocinético (PK), donde se determina, entre otros parámetros, la vida media terminal y la eliminación del derivado en cuestión. El aumento de la vida media terminal y la disminución de la eliminación significa que el compuesto de estudio se elimina de manera más lenta del cuerpo. Para los derivados o análogos de glucagón esto implica una duración extendida del efecto farmacológico.
- 60 En los estudios se usan minicerdos Göttingen hembras obtenidos de Ellegaard Göttingen Minipigs (Dalmore, Dinamarca), de aproximadamente 7-14 meses de edad y con un peso aproximado de 16-35 kg. Los minicerdos se alojan ya sea individualmente (cerdos con catéteres permanentes) o en un grupo, y se alimentan de forma restringida una o dos veces al día con dieta SDS para minicerdos (Special Diets Services, Essex, Reino Unido).
- 65 En algunos estudios, después de al menos 2 semanas de aclimatación, se implantan dos catéteres venosos centrales permanentes en la vena cava caudalis o cranialis en cada animal. A los animales se les permite una

recuperación de 1 semana después de la cirugía, y después se usan para estudios farmacocinéticos repetidos con un período de reposo farmacológico adecuado entre las administraciones de la dosis sucesivas de los derivados de glucagón. En otros estudios los animales se aclimatan durante 1 semana, después de lo cual se usan para estudios farmacocinéticos repetidos con un período de reposo farmacológico adecuado entre las administraciones de dosis sucesivas de los derivados de glucagón. En cada momento de administración de la dosis, a estos cerdos se les coloca un catéter intravenoso periférico en una vena de la oreja a través del cual se dosifican los derivados. El muestreo de sangre se realiza por venopunción en la v. jugularis o en la v. cava cranialis

Los animales se mantienen en ayuno durante aproximadamente 18 h o sin ayuno antes de la administración de la dosis y de 0 a 4 h después de la administración de la dosis, pero tienen acceso a voluntad al agua durante todo el período.

Los derivados de glucagón se disuelven usualmente en fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 145 mM, Tween 80 al 0,05 %, pH 7,4 a una concentración de usualmente de 20-60 nmol/ml. Se administran inyecciones intravenosas (el volumen que corresponde a usualmente 2-3 nmol/kg, por ejemplo, 0,1 ml/kg) de los compuestos a través de un catéter o a través del catéter intravenoso periférico, y se toman muestras de sangre en puntos temporales predefinidos hasta 13 días después de la administración de la dosis (preferentemente, a través del otro catéter o por venopunción). Las muestras de sangre (por ejemplo, 0,8 ml) se recolectan en tubos con tampón EDTA (8 mM) (a veces se añadió aprotinina 500 KIU/ml de sangre) y después se centrifugan a 4 °C y 1942 G durante 10 minutos. El plasma se pipetea en tubos Micronic en hielo seco, y se mantiene a -20 °C hasta analizarse para determinar la concentración en plasma del derivado de glucagón respectivo mediante el uso de un ensayo cuantitativo apropiado como ELISA o LC-MS.

En base a estas mediciones, se grafican los perfiles de concentración plasmática frente al tiempo para el compuesto del estudio, y se realiza el denominado análisis farmacocinético no compartimental de los datos en WinNonlin v. 5.0 o Phoenix v. 6.2 (Pharsight Inc., Mountain View, CA, EE.UU.) u otro programa informático relevante para el análisis de PK. 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 inicial y la distribución, el fármaco se elimina del cuerpo a una tasa fraccional constante. La tasa (λ_Z o λ_z) es igual a menos la pendiente de la parte terminal de la gráfica. A partir de esta tasa, puede calcularse, además, la vida media plasmática, 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)).

La eliminación se define como la dosis (D) dividida por el área bajo la curva (AUC) sobre el perfil de concentración plasmática frente al tiempo (Rowland, M y Tozer TN: Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, 3ra edición, 1995 Williams Wilkins).

Propiedades fisicoquímicas

De acuerdo con la cuarta modalidad, los péptidos de la invención tienen propiedades fisicoquímicas ventajosas. Estas propiedades incluyen, pero no se limitan a, la estabilidad física, la estabilidad química y/o la solubilidad. Estas y otras propiedades fisicoquímicas 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 glucagón natural (SEQ ID NO: 1). La autoasociación más pronunciada de las propiedades de autoasociación peptídicas de los péptidos puede ser al menos parcialmente responsable de la mejor estabilidad física y/o solubilidad.

Los ejemplos no limitantes de ensayos para investigar las propiedades biofísicas se describen en el Ejemplo 76 y el Ejemplo 79 en la presente descripción.

En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene más de 70 % de recuperación en el ensayo de fibrilación con ThT. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene más de 90 % de recuperación en el ensayo de fibrilación con ThT. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene aproximadamente 100 % de recuperación en el ensayo de fibrilación con ThT. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene más de 7 horas de tiempo de retraso en el ensayo de fibrilación con ThT. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene más de 20 horas de tiempo de retraso en el ensayo de fibrilación con ThT. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene 45 horas de tiempo de retraso o más en el ensayo de fibrilación con ThT. Un derivado de glucagón, como se describió en la presente descripción, en donde dicho ensayo de fibrilación con ThT es como se describe en el Ejemplo 76 en la presente descripción.

En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene menos de 14 % de degradación en el ensayo de estabilidad química. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene menos de 13 % de degradación en el ensayo de estabilidad química. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene menos de 12 % de degradación en el ensayo de estabilidad química. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene menos de 10 % de degradación en el ensayo de estabilidad química. En una modalidad, el

derivado de glucagón de la invención tiene menos de 9 % de degradación en el ensayo de estabilidad química. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene menos de 7 % de degradación en el ensayo de estabilidad química. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene menos de 5 % de degradación en el ensayo de estabilidad química. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene menos de 3 % de degradación en el ensayo de estabilidad química. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención tiene menos de 2 % de degradación en el ensayo de estabilidad química. En una modalidad, el ensayo de estabilidad química es como se describe en el Ejemplo 79 en la presente descripción.

Estabilidad

El término "estabilidad física" de la preparación del péptido agonista del receptor de GLP-1, como se usa en la presente descripción, se refiere a la tendencia de la proteína a formar agregados insolubles y/o biológicamente inactivos de la proteína como resultado de la exposición de la proteína al estrés termomecánico y/o la interacción con las interfaces y las superficies que son desestabilizantes, tales como las superficies e interfaces hidrófobas. La estabilidad física de las preparaciones acuosas de proteínas se evalúa por medio de inspección visual y/o mediciones de la turbidez después de exponer la preparación vertida en contenedores adecuados (por ejemplo, cartuchos o viales) a estrés mecánico/físico (por ejemplo, agitación) a temperaturas diferentes durante diversos periodos de tiempo. La inspección visual de las preparaciones se realiza en una luz nítida enfocada con un fondo oscuro. La turbidez de la composición se caracteriza mediante una calificación por puntuación visual del grado de turbidez, por ejemplo, en una escala de 0 a 3 (una preparación que no muestra turbidez corresponde a una puntuación visual de 0, y una preparación que muestra visualmente una turbidez a la luz del día corresponde a una puntuación visual de 3). Una preparación se clasifica como inestable físicamente con respecto a la agregación de proteínas, cuando muestra una turbidez visual a la luz del día. Alternativamente, la turbidez de la preparación puede evaluarse mediante mediciones simples de la turbidez bien conocidas por los expertos en la técnica. La estabilidad física de las composiciones acuosas de proteínas puede evaluarse, además, mediante el uso de un agente o sonda espectroscópica del estado conformacional de la proteína. La sonda es preferentemente una molécula pequeña que se une preferencialmente a un conformero no natural de la proteína. Un ejemplo de una sonda espectroscópica molecular pequeña de estructura proteica es la tioflavina T. La tioflavina T es un colorante fluorescente que se ha usado ampliamente para la detección de fibrillas de amiloides. En presencia de fibrillas, y tal vez también de otras configuraciones de proteínas, la Tioflavina T da lugar a un nuevo máximo de excitación a aproximadamente 450 nm y una emisión potenciada a aproximadamente 482 nm cuando se une a una forma de proteína fibrilar. La tioflavina T sin unir es esencialmente no fluorescente a esas longitudes de onda.

El término "estabilidad química" de la preparación de proteína, como se usa en la presente descripción, se refiere a cambios en la estructura covalente de la proteína que conducen a la formación de productos de degradación química con una posible menor potencia biológica y/o un aumento potencial de las propiedades inmunogénicas en comparación con la estructura de la proteína natural. Pueden formarse diversos productos de degradación química en dependencia del tipo y la naturaleza de la proteína natural y del entorno al que se expone la proteína. Cantidades crecientes de productos de degradación química se observan frecuentemente durante el almacenamiento y uso de la preparación de proteínas. La mayoría de las proteínas son propensas a la desamidación, un proceso en el que se hidroliza el grupo amida de la cadena lateral en los residuos glutaminilo o asparaginilo para formar un ácido carboxílico libre o residuos de asparaginilo para formar un derivado IsoAsp. Otras rutas de degradación involucran la formación de productos de alto peso molecular donde dos o más moléculas de proteína se unen covalentemente entre sí mediante transamidación y/o interacciones disulfuro que conducen a la formación de productos de degradación de dímeros, oligómeros y polímeros unidos covalentemente (*Stability of Protein Pharmaceuticals*, Ahern.T.J. & M.C., Plenum Press, Nueva York, 1992). La oxidación (de, por ejemplo, residuos de metionina) puede mencionarse como otra variante de la degradación química. La estabilidad química de la preparación de proteína puede evaluarse mediante la medición de la cantidad de productos de degradación química en diversos puntos temporales después de la exposición a condiciones ambientales diferentes (a menudo la formación de productos de degradación puede acelerarse, por ejemplo, mediante el aumento de la temperatura). La cantidad de cada producto de degradación individual se determina a menudo por separación de los productos de degradación en dependencia del tamaño de la molécula y/o la carga mediante el uso de diversas técnicas de cromatografía (por ejemplo, SEC-HPLC y/o RP-HPLC). Dado que los productos HMWP son potencialmente inmunogénicos y no biológicamente activos, los niveles bajos de HMWP son ventajosos.

El término "preparación estabilizada" se refiere a una preparación con estabilidad física aumentada, estabilidad química aumentada o estabilidad física y química aumentadas. En general, una preparación debe ser estable durante el uso y el almacenamiento (de conformidad con el uso y las condiciones de almacenamiento recomendadas) hasta que se alcance la fecha de vencimiento.

Solubilidad

En el presente contexto, si no se indica de cualquier otra manera, los términos "soluble", "solubilidad", "soluble en solución acuosa", "solubilidad acuosa", "soluble en agua", "soluble en-agua", "solubilidad en agua" y "solubilidad en-agua", se refieren a la solubilidad de un compuesto en agua o en una sal acuosa o solución tampón acuosa, por

ejemplo, una solución de fosfato 10 mM, o en una solución acuosa que contiene otros compuestos. La solubilidad puede evaluarse mediante el uso del siguiente ensayo.

Ensayo de solubilidad dependiente del pH

5 La solubilidad de péptidos y proteínas depende del pH de la solución. A menudo, una proteína o péptido precipita en o cerca de su punto isoelectrico (pI), en el cual su carga neta es cero. A un pH bajo (es decir, menor del pI) los péptidos y proteínas típicamente se cargan positivamente, a un pH mayor que el pI, se cargan negativamente.

10 Es ventajoso para un péptido terapéutico si es soluble en una concentración suficiente a un pH determinado, que es adecuado tanto para formular un producto farmacéutico estable como para administrar el producto farmacéutico al paciente, por ejemplo, mediante inyección subcutánea.

15 Las curvas de solubilidad frente a pH se miden como se describe: se prepara una formulación o solución de péptido en agua y las alícuotas se ajustan a valores de pH en el intervalo deseado mediante la adición de HCl y NaOH. Estas muestras se dejan equilibrar a temperatura ambiente durante 2 – 4 días. Después, las muestras se centrifugan. Se extrae una pequeña alícuota de cada muestra para el análisis de HPLC inversa para determinar la concentración de las proteínas en solución. El pH de cada muestra se mide después de la centrifugación, y se representa la concentración de cada proteína frente al pH medido.

20 Si bien determinadas características de la invención se han ilustrado y descrito en la presente descripción, muchas modificaciones, sustituciones, cambios y equivalentes serán evidentes para un experto en la técnica. Por lo tanto, debe entenderse que las reivindicaciones anexas pretenden cubrir todas esas modificaciones y cambios siempre que caigan dentro del verdadero espíritu de la invención.

25 Los compuestos de la invención pueden ser coagonistas de los receptores de glucagón/GLP-1 solubles, por ejemplo, con solubilidad de al menos 0,1 mmol/l, 0,2 mmol/l, al menos 0,5 mmol/l, al menos 2 mmol/l, al menos 4 mmol/l, al menos 8 mmol/l, al menos 10 mmol/l, o al menos 15 mmol/l.

30 Estabilidad frente a la DPP-IV

35 En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención se protege frente a la DPP-IV. El término “protegido frente a la DPP-IV”, como se usa en la presente descripción, por referencia a un polipéptido, significa un polipéptido que se ha modificado químicamente para hacer que dicho compuesto sea resistente a la peptidasa plasmática dipeptidil peptidasa-4 (DPP-IV). Se conoce que la enzima DPP-IV en plasma se implica en la degradación de varias hormonas peptídicas, por ejemplo, glucagón, GLP-1, GLP-2, oxintomodulina, etcétera. Por lo tanto, se hace un esfuerzo considerable para desarrollar análogos y derivados de los polipéptidos susceptibles a la hidrólisis mediada por DPP-IV para reducir la tasa de degradación por DPP-IV. En una modalidad, el derivado de glucagón es un compuesto protegido frente a la DPP-IV. En una modalidad, el derivado de glucagón es estable frente a la DPP-IV.

40 En una modalidad, los compuestos de la invención pueden estabilizarse contra la escisión por DPP-IV en un ensayo libre de albúmina:

45 Se incuban 10 μ M del péptido con DPP-IV (2 μ g/ml) por duplicado a 37 °C en un tampón HEPES al cual se añade Tween20 al 0,005 %. En el experimento, el GLP-1 humano se usa como control positivo. Las alícuotas de muestra se toman a los 3, 15, 30, 60, 120 y 240 min y se añaden tres volúmenes de etanol para detener la reacción. Las muestras se analizan por LC-MS para determinar el péptido parental. Los datos se representan de acuerdo con una cinética de 1^{er} orden y la estabilidad se informa como vidas medias.

50 Combinaciones

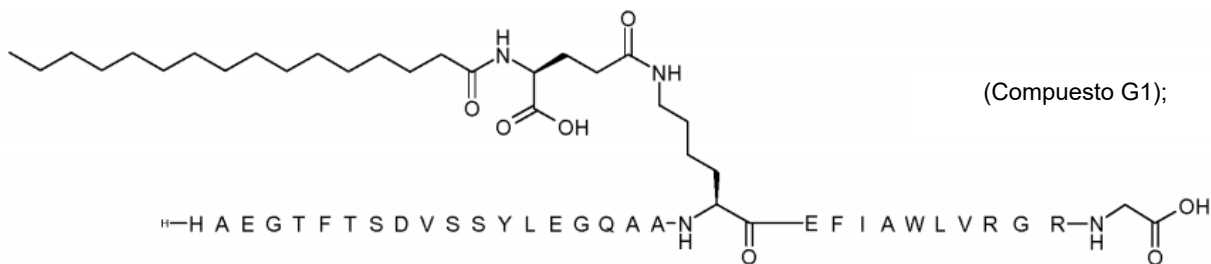
55 En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, en combinación con un compuesto de GLP-1 o con un compuesto de insulina. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, en combinación con un compuesto de GLP-1.

En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, en combinación con un compuesto de insulina.

60 En una modalidad, el compuesto de GLP-1 de la combinación es N-épsilon26-((S)-4-carboxi-4-hexadecanoilamino-butiril)[Arg34]GLP-1-(7-37):

65

5

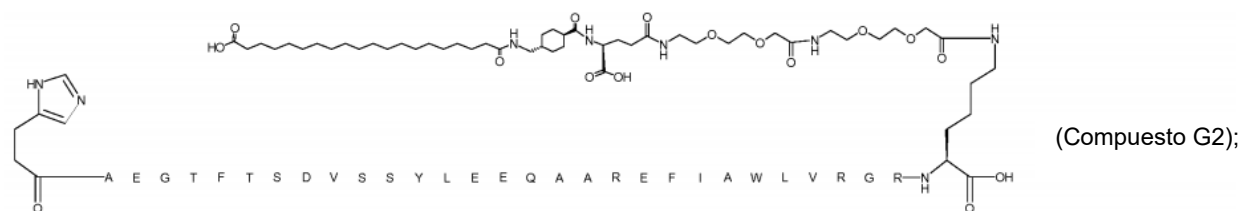


10

o una sal, amida, alquilo o éster aceptable farmacéuticamente de este. En una modalidad, el compuesto de GLP-1 de la combinación es N-épsilon37-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[(S)-4-carboxi-4-((trans-4-[(19-carboxinonadecanoilamino)metil]ciclohexanocarbonyl)amino)butirilamino]etoxi)etoxi)acetilamino]etoxi)etoxi)acetil][Des aminoHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37):

15

20

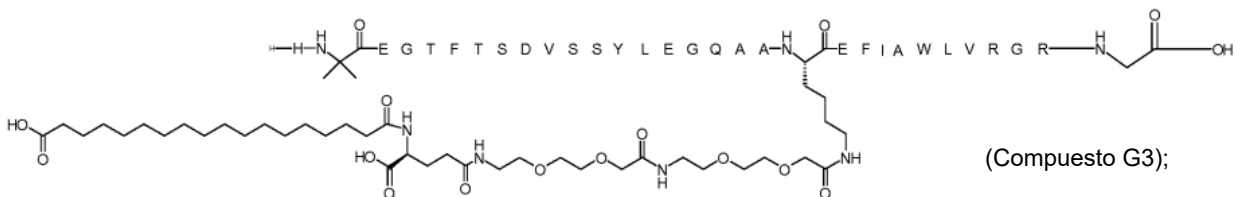


25

o una sal, amida, alquilo o éster aceptable farmacéuticamente de este. En una modalidad, el compuesto de GLP-1 de la combinación es N-épsilon26-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butirilamino]etoxi)etoxi)acetilamino]etoxi)etoxi)acetil][Aib8,Arg34]GLP-1(7-37):

30

35

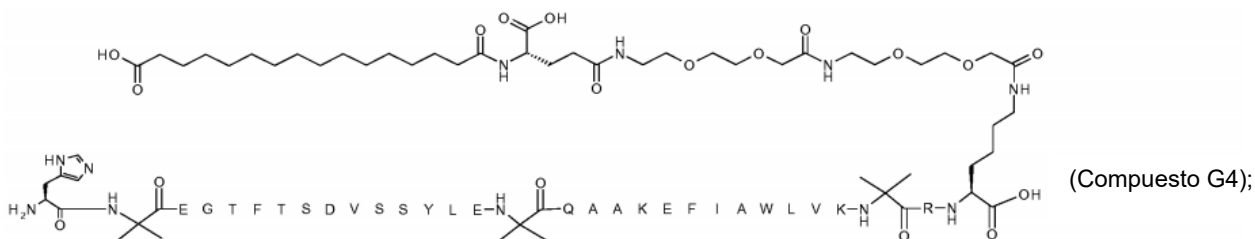


40

o una sal, amida, alquilo o éster aceptable farmacéuticamente de este. En una modalidad, el compuesto de GLP-1 de la combinación es N-épsilon-37-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[(S)-4-carboxi-4-(15-carboxi-pentadecanoilamino)-butirilamino]-etoxi)-etoxi)-acetilamino]-etoxi)-etoxi)-acetil] [Aib8,22,35,Lys37]GLP-1-(7-37):

45

50



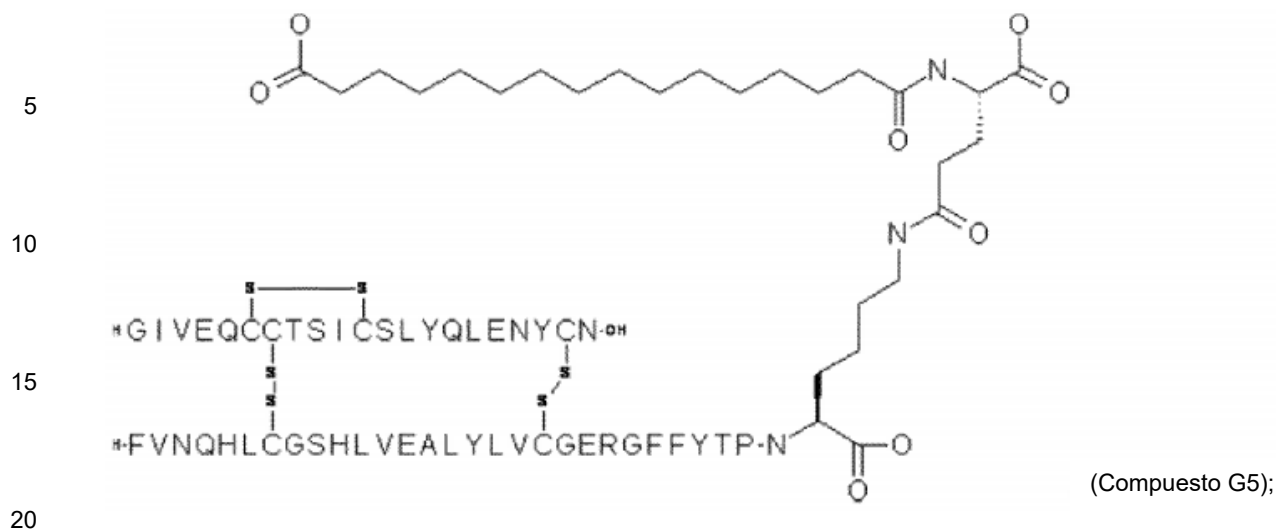
55

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

En una modalidad, el compuesto de insulina de la combinación es N-épsilon-B29-[(S)-4-Carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butiril] desB30 insulina humana (Compuesto G5).

60

65



Composiciones Farmacéuticas

25 En una modalidad, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el derivado de la invención y uno o más excipientes aceptables farmacéuticamente. En una modalidad, la composición es adecuada para la administración parenteral, tal como la administración SC, IM o IV. Los términos "composición farmacéutica" y "composición" se usan indistintamente en la presente descripción.

30 Las composiciones farmacéuticas que contienen un derivado de la invención pueden prepararse mediante técnicas convencionales, por ejemplo, como se describe en Remington's Pharmaceutical Sciences, 1985 o en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19na Edición, 1995.

35 En una modalidad, la composición farmacéutica en forma de dosificación unitaria comprende de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 1000 mg, tal como de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 5 mg, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 200 mg, de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción. En una modalidad, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un derivado de la invención, en donde dicho derivado está presente en una concentración de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 25 mg/ml, tal como de aproximadamente 0,05 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml y de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 2 mg/ml, y en donde dicha composición tiene un pH de 2,0 a 10,0. La composición farmacéutica puede comprender un derivado de la invención, en donde dicho derivado está presente en una concentración de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml, y en donde dicha composición tiene un pH de 2,0 a 10,0.

45 En una modalidad, la composición farmacéutica comprende una solución acuosa de un derivado de la invención, y un tampón, en donde dicho derivado está presente en una concentración de 0,01 mg/ml o más, y en donde dicha composición tiene un pH de aproximadamente 2,0 a aproximadamente 10,0. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende una solución acuosa de un derivado de la invención, y un tampón, en donde dicho derivado está presente en una concentración de 0,01 mg/ml o más, y en donde dicha composición tiene un pH de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,5.

50 En una modalidad, la composición de la invención tiene un pH de aproximadamente 2,0 a aproximadamente 10,0. En otra modalidad, la composición tiene un pH de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,5. En una modalidad adicional, la composición tiene un pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 8,5, tal como de aproximadamente 7,2 a aproximadamente 8,2.

55 La composición puede comprender, además, un sistema tampón, conservante(s), agente(s) de isotonicidad, agente(s) quelante(s), estabilizantes y tensioactivos. En una modalidad, la composición farmacéutica es una composición acuosa, es decir, una composición que comprende agua. Dicha composición es típicamente una solución o una suspensión. En una modalidad adicional de la invención, la composición farmacéutica es una solución acuosa. El término "composición acuosa" se define como una composición que comprende al menos 50 % p/p de agua. Igualmente, el término "solución acuosa" se define como una solución que comprende al menos 50 % p/p de agua. En una modalidad, la composición comprende un solvente orgánico no acuoso.

60 En otra modalidad, la composición farmacéutica es una composición liofilizada, a la que se añaden solventes y/o diluyentes antes del uso, por ejemplo, por el médico o el paciente.

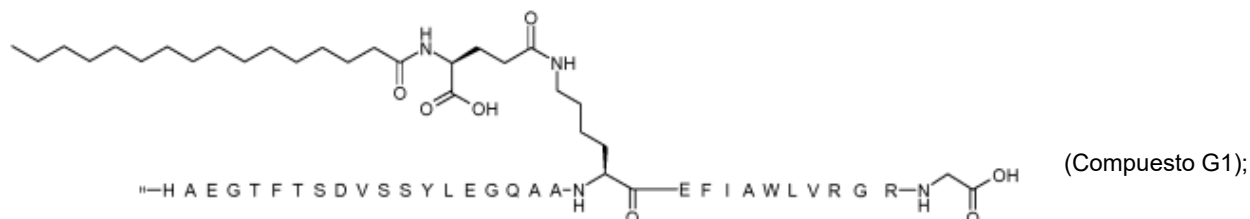
65

En otra modalidad, la composición farmacéutica es una composición seca (por ejemplo, liofilizada o secada por atomización) lista para usar sin ninguna disolución previa.

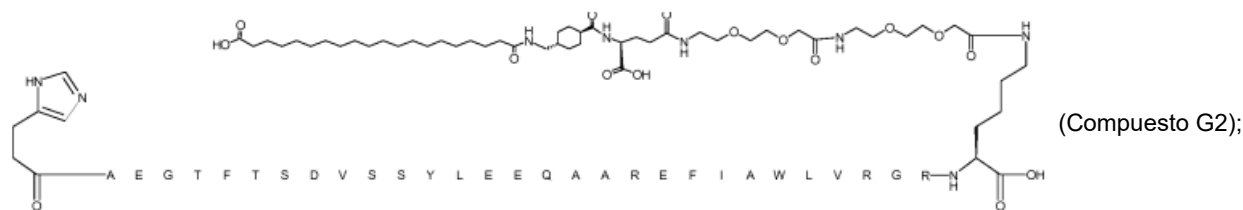
En una modalidad, la invención se refiere a una composición que comprende el derivado de la invención y uno o más otros ingredientes activos, tales como GLP-1, insulina o análogos y/o derivados de estos. En una modalidad, la invención se refiere a una composición que comprende el derivado de la invención y GLP-1 o análogos y/o derivados de estos. En una modalidad, la invención se refiere a una composición que comprende el derivado de la invención e insulina o análogos y/o derivados de estos. Una composición que comprende el derivado de la invención y uno o más otros ingredientes activos puede denominarse como "coformulación". En una modalidad, dichas coformulaciones son composiciones estables físicamente y/o estables químicamente.

El hecho de que los derivados de la invención puedan ser solubles a pH neutro, puede permitir una coformulación con insulina y permitir niveles más estables de glucosa en sangre y una cantidad reducida de episodios hipoglucémicos, así como también un menor riesgo de complicaciones relacionadas con la diabetes.

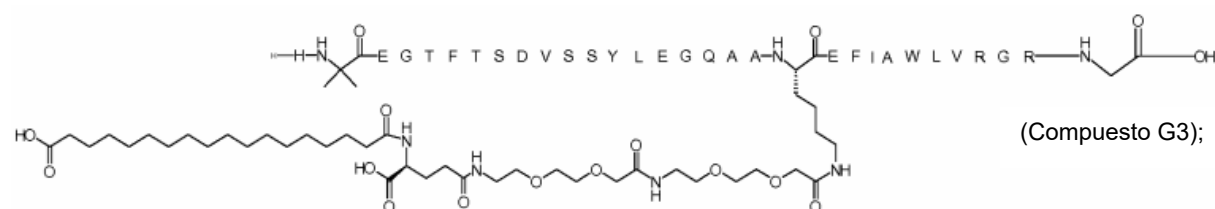
En una modalidad, la composición farmacéutica comprende, además, uno o más compuestos o sustancias activos terapéuticamente adicionales. En una modalidad, el compuesto activo terapéuticamente adicional es un compuesto de GLP-1 o un compuesto de insulina. En una modalidad, el compuesto activo terapéuticamente adicional es un compuesto de GLP-1. En una modalidad, el compuesto activo terapéuticamente adicional es un compuesto de insulina. En una modalidad, el compuesto activo terapéuticamente adicional es el compuesto de GLP-1 N-épsilon26-((S)-4-carboxi-4-hexadecanoilamino-butiril)[Arg34]GLP-1-(7-37):



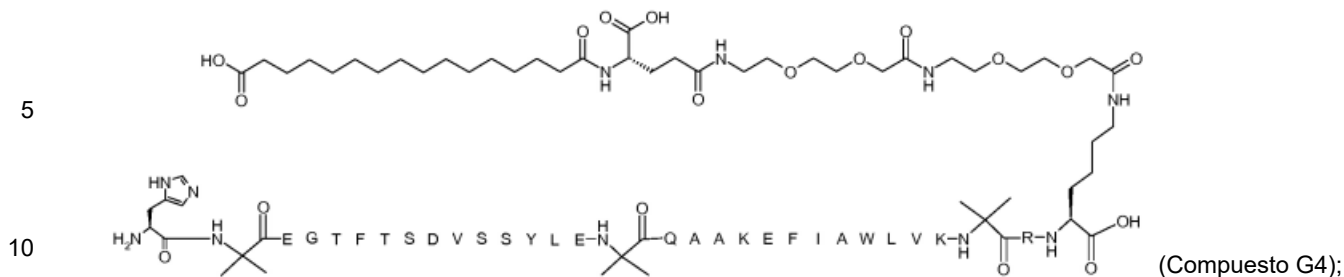
o una sal, amida, alquilo o éster aceptable farmacéuticamente de este. En una modalidad, el compuesto activo terapéuticamente adicional es el compuesto de GLP-1 N-épsilon37-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[(S)-4-carboxi-4-((trans-4-[(19-carboxinonadecanoilamino)metil]ciclohexanocarbonil)amino)butirilamino]etoxi)etoxi)acetilamino]etoxi)etoxi)acetil][Des aminoHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37):



o una sal, amida, alquilo o éster aceptable farmacéuticamente de este. En una modalidad de la invención, el compuesto activo terapéuticamente adicional es el compuesto de GLP-1 N-épsilon26-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butirilamino]etoxi)etoxi)acetilamino]etoxi)etoxi)acetil][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37):

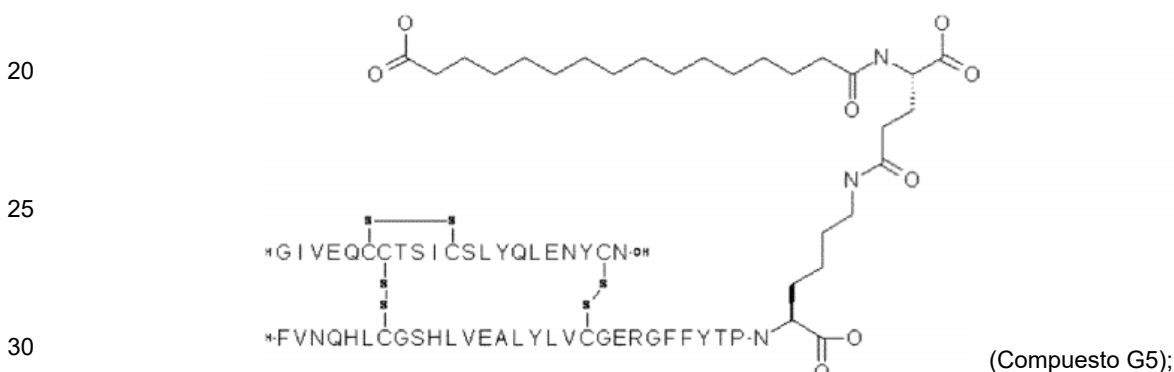


o una sal, amida, alquilo o éster aceptable farmacéuticamente de este. En una modalidad, el compuesto activo terapéuticamente adicional es el compuesto de GLP-1 N-épsilon37-[2-(2-[2-[2-(2-[2-[(S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)-butirilamino]-etoxi)-etoxi)-acetilamino]-etoxi)-etoxi)-acetil][Aib8,22,35,Lys37]GLP-1-(7-37):



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

15 En una modalidad, el compuesto activo terapéuticamente adicional es el compuesto de insulina N-épsilon-B29-[(S)-4-Carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butiril] desB30 insulina humana



En una modalidad, el compuesto activo terapéuticamente adicional es una sal, amida, alquilo o éster aceptable farmacéuticamente del Compuesto G5.

35 Administración Farmacéutica

El derivado de la invención puede administrarse por vía parenteral a un paciente. La vía de administración del derivado puede ser intramuscular (IM), subcutánea (SC), o intravenosa (IV). Se recomienda que un médico seleccione la dosificación de las composiciones que comprenden el derivado de esta invención que debe administrarse al paciente.

La administración parenteral puede realizarse por inyección subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa por medio de una jeringa, opcionalmente una jeringa similar a una lapicera. En una modalidad, las composiciones que comprenden el derivado de la invención pueden usarse en dispositivos similares a una lapicera listos para usar para la administración de glucagón. Alternativamente, la administración parenteral puede realizarse por medio de una bomba de infusión. En una modalidad, las composiciones que comprenden el derivado de la invención pueden usarse en bombas para la administración de glucagón. La administración parenteral puede ser administración nasal. Como una opción adicional, las preparaciones de glucagón que contienen el conjugado del derivado de la invención pueden adaptarse, además, a la administración transdérmica, por ejemplo, mediante inyección sin aguja o desde un parche, opcionalmente un parche iontoforético, o administración transmucosal, por ejemplo, bucal.

Una dosificación típica de un derivado o composición de la invención cuando se emplea en un método de acuerdo con la invención está en el intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal por día, preferentemente, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, con mayor preferencia, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,02 mg/kg de peso corporal. Como se describió anteriormente, los derivados de la invención pueden administrarse o aplicarse en combinación con uno o más compuestos o sustancias activos terapéuticamente adicionales, y pueden seleccionarse compuestos o sustancias adicionales adecuados, por ejemplo, de agentes antidiabéticos, agentes antihiperlipidémicos, agentes antiobesidad, agentes antihipertensivos y agentes para el tratamiento de complicaciones que resultan de, o se asocian con, la diabetes.

Los agentes antidiabéticos adecuados incluyen insulina, derivados o análogos de insulina, derivados o análogos de GLP-1 (péptido similar a glucagón-1) [tales como los descritos en el documento WO 98/08871 (Novo Nordisk A/S), u otros análogos de GLP-1 tales como exenatida (Byetta, Eli Lilly/Amilina; AVE0010, Sanofi-Aventis), taspoglútilo

(Roche), albiglutido (Syncria, GlaxoSmithKline)], amilina, análogos de amilina (por ejemplo, Symlin/Pramlintida) así como también agentes hipoglucémicos activos por vía oral.

Indicaciones Farmacéuticas

5 La presente invención se refiere, además, a un derivado de la invención para su uso en medicina. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en terapia. En una modalidad, los términos “derivado de glucagón” y “derivado” se usan indistintamente en la presente descripción en relación con un uso médico y se refieren al derivado de glucagón de la invención. En una modalidad, los términos “medicina” y “terapia” se usan indistintamente en la presente descripción. En una modalidad, la invención se refiere a un método de tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno, por ejemplo, una o más de las enfermedades o trastornos mencionados en la presente descripción en relación con usos médicos específicos. En una modalidad, la invención se refiere a un método para la preparación de un medicamento para su uso en terapia, por ejemplo, en los usos médicos específicos definidos en la presente descripción.

En una modalidad, la invención se refiere a un derivado de glucagón de la invención, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en medicina.

20 En una modalidad, el derivado se usa para tratar y/o prevenir la hipoglucemia. En una modalidad, la invención se refiere a un método para tratar y/o prevenir la hipoglucemia, que comprende administrar una cantidad eficaz terapéuticamente del derivado de la invención a un paciente que lo necesita.

En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en el tratamiento o prevención de la diabetes tipo 2. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención es para su uso en el tratamiento de la tolerancia a la glucosa alterada. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en el retardo o prevención de la progresión de la enfermedad en la diabetes tipo 2. En una modalidad, la invención se refiere a un derivado de glucagón de la invención, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el retardo de la progresión de la diabetes tipo 2 a la diabetes que requiere insulina, para su uso para regular el apetito, para su uso en la prevención de la recuperación del peso después de la pérdida de peso exitosa, para su uso en la inducción de saciedad, para su uso en la prevención de la recuperación de peso después de la pérdida de peso exitosa, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o estado relacionado con el sobrepeso u obesidad. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en el retardo de la progresión de la tolerancia a la glucosa alterada (IGT) a la diabetes tipo 2. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en el retardo de la progresión de la diabetes tipo 2 a la diabetes que requiere insulina.

En una modalidad, la invención se refiere a un método para tratar o prevenir la hipoglucemia, la diabetes tipo 2, la tolerancia a la glucosa alterada, la diabetes tipo 1 y la obesidad, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con la invención, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en el tratamiento o prevención de la hipoglucemia, la diabetes tipo 2, la tolerancia a la glucosa alterada, la diabetes tipo 1 y la obesidad.

45 En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en el tratamiento de la obesidad o la prevención del sobrepeso. En una modalidad, la invención se refiere a un método para tratar la obesidad o prevenir el sobrepeso, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de conformidad con la invención, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

50 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en la reducción del peso corporal, para su uso en la regulación del apetito, para su uso en el aumento del gasto de energía, para su uso en la inducción de saciedad, para su uso en la prevención de la recuperación de peso después de una pérdida de peso exitosa, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o estado relacionado con el sobrepeso o la obesidad, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de conformidad con la invención, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con la invención, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en la disminución de la ingestión de alimentos. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en el aumento del gasto de energía. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en la reducción del peso corporal. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en la regulación del apetito. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en la inducción de saciedad. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en la prevención de la recuperación del peso después de una pérdida de peso exitosa. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en el tratamiento de una enfermedad o estado relacionado con el sobrepeso o la obesidad. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de

glucagón para su uso en el tratamiento de la bulimia. En una modalidad, la invención se refiere al derivado de glucagón para su uso en el tratamiento de la sobreingestión compulsiva.

5 En una modalidad, la invención se refiere al uso de un derivado de glucagón de acuerdo con la invención, para la preparación de un medicamento.

10 En una modalidad, la invención se refiere al uso de un derivado de glucagón de acuerdo con la invención, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la hiperglucemia, la diabetes tipo 2, la tolerancia a la glucosa alterada, la diabetes tipo 1 y la obesidad. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención es para su uso en el tratamiento o prevención de la hiperglucemia, diabetes tipo 2, tolerancia a la glucosa alterada, diabetes tipo 1 y obesidad.

15 En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención es para su uso en el tratamiento o prevención de la aterosclerosis. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención es para su uso en el tratamiento de la hipertensión. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención es para su uso en el tratamiento de la dislipidemia. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención es para su uso en el tratamiento de enfermedades coronarias. En una modalidad, el derivado de glucagón de la invención es para su uso en el tratamiento de la esteatosis hepática.

20 En una modalidad, la invención se refiere a un método para disminuir la ingestión de alimentos, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

25 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el aumento del gasto de energía, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

30 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en la reducción del peso corporal, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

35 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en retardar la progresión de la tolerancia a la glucosa alterada (IGT) a la diabetes tipo 2, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

40 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el retardo de la progresión de la diabetes tipo 2 a la diabetes que requiere insulina, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

45 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en la regulación del apetito, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

50 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en la inducción de saciedad, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

55 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en la prevención de la recuperación del peso después de una pérdida de peso exitosa, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

60 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el tratamiento de una enfermedad o estado relacionado con el sobrepeso o a obesidad, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

65 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el tratamiento de la bulimia, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la

presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

5 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el tratamiento de la sobreingestión compulsiva, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

10 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el tratamiento de la aterosclerosis, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

15 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el tratamiento de la hipertensión, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

20 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el tratamiento de la diabetes tipo 2, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

25 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el tratamiento de la tolerancia a la glucosa alterada, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

30 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el tratamiento de la dislipidemia, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

35 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el tratamiento de enfermedades coronarias, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

40 En una modalidad, la invención se refiere a un método para su uso en el tratamiento de la esteatosis hepática, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

45 En una modalidad, la invención se refiere al uso de un derivado de glucagón como se describió en la presente descripción, para la preparación de un medicamento para retardar o evitar la progresión de la enfermedad en la diabetes tipo 2, tratar la obesidad o prevenir el sobrepeso, para disminuir la ingestión de alimentos, aumentar el gasto de energía, reducir el peso corporal, retardar la progresión de la tolerancia a la glucosa alterada (IGT) a la diabetes tipo 2; retardar la progresión de la diabetes tipo 2 a la diabetes que requiere insulina; regular el apetito; inducir saciedad, prevenir la recuperación del peso después de una pérdida de peso exitosa; tratar una enfermedad o estado relacionado con el sobrepeso o la obesidad; tratar la bulimia; tratar la sobreingestión compulsiva; tratar la aterosclerosis, la hipertensión, la diabetes tipo 2, la IGT, la dislipidemia, las enfermedades coronarias, la esteatosis hepática, el tratamiento del envenenamiento con beta-bloqueadores, el uso para la inhibición de la motilidad del tracto gastrointestinal, útil en relación con investigaciones del tracto gastrointestinal mediante el uso de técnicas tales como rayos X, exploraciones por CT y RMN.

55 En una modalidad, la invención se refiere a coagonistas de receptores de GLP-1/glucagón estables y prolongados, al uso de dichos péptidos en terapia, a métodos de tratamiento que comprenden la administración de dichos péptidos a pacientes, y al uso de dichos péptidos en la fabricación de medicamentos para su uso en el tratamiento de la diabetes, obesidad y enfermedades y afecciones relacionadas.

60 En una modalidad, el derivado de la invención se usa para el tratamiento o la prevención de la hipoglucemia, hipoglucemia inducida por insulina, hipoglucemia reactiva, hipoglucemia diabética, hipoglucemia no diabética, hipoglucemia del ayuno, hipoglucemia inducida por fármacos, hipoglucemia inducida por derivación gástrica, hipoglucemia en el embarazo, hipoglucemia inducida por alcohol, insulinoma y/o enfermedad de Von Girkés.

65

En una modalidad, los derivados de la invención son para su uso en la inhibición de la motilidad del tracto gastrointestinal, lo que es útil en relación con las investigaciones del tracto gastrointestinal mediante el uso de técnicas tales como rayos X, exploraciones por CT y RMN.

- 5 En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento del envenenamiento con betabloqueador. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de la esteatosis hepática. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de la hipoglucemia. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de la hipoglucemia inducida por insulina. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de la hipoglucemia reactiva. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de la hipoglucemia diabética. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de la hipoglucemia no diabética. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de la hipoglucemia del ayuno. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de la hipoglucemia inducida por fármacos. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de la hipoglucemia inducida por derivación gástrica. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de la hipoglucemia inducida por alcohol. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de insulinoma. En una modalidad, el derivado es para su uso en el tratamiento o prevención de la enfermedad de Von Girkes.
- 10
- 15
- 20 En una modalidad, el derivado se administra en un régimen de dosificación que proporciona una cantidad eficaz terapéuticamente de dicho derivado. Como se usa en la presente, el término "cantidad eficaz terapéuticamente" de un derivado de la invención se refiere a una cantidad suficiente para curar, aliviar, o detener parcialmente las manifestaciones clínicas de una enfermedad dada y/o sus complicaciones. Una cantidad adecuada para lograr esto se define como "cantidad eficaz terapéuticamente". Las cantidades eficaces para cada propósito dependerán de la gravedad de la enfermedad o lesión, así como también del peso y el estado general del paciente. Debe entenderse que la determinación de una dosificación apropiada puede lograrse mediante el uso de la experimentación rutinaria, mediante la construcción de una matriz de valores y la evaluación de diferentes puntos en la matriz, todo lo cual está dentro del nivel de experticia de un médico o veterinario entrenado.
- 25
- 30 Los términos "tratamiento", y "tratar", y otras variantes de estos, como se usan en la presente, se refieren al manejo y la atención de un paciente con el propósito de combatir una afección, tal como una enfermedad o un trastorno. Los términos pretenden incluir el espectro completo de tratamientos para una afección determinada de la que padece el paciente, tal como la administración del(de los) compuesto(s) activo(s) en cuestión para aliviar los síntomas o complicaciones de esta, para retardar la progresión de la enfermedad, trastorno o afección, para curar o eliminar la enfermedad, trastorno o afección, y/o para prevenir la afección, en donde prevención debe entenderse como el manejo y cuidado de un paciente con el propósito de combatir la enfermedad, afección o trastorno e incluye la administración del(de los) compuesto(s) activo(s) en cuestión para prevenir el inicio de los síntomas o complicaciones. El paciente a tratar es, preferentemente, un mamífero, en particular un ser humano, pero el tratamiento de otros animales, tales como perros, gatos, vacas, caballos, ovejas, cabras o cerdos, está dentro del alcance de la invención.
- 35
- 40

Productos Intermedios

- 45 En una modalidad, la invención se refiere a un producto intermedio en forma de un péptido de glucagón que comprende una amida C-terminal y una cualquiera de las siguientes modificaciones en comparación con el glucagón (SEQ ID NO: 1):

- 50 a) [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28];
 b) [Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28];
 c) [Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28];
 d) [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28];
 e) [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29];
 f) [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28];
 55 g) [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27];
 h) [Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29];
 i) [Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 j) [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27];
 k) [Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29];
 l) [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 60 m) Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29];
 n) [Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29];
 o) [Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29];
 p) [Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28];
 q) [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];
 65 r) [Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];
 s) [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];

- t) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
u) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
v) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
w) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
5 x) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
y) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
z) [Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
æ) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
Ø) [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29];
10 a) [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27];
aa) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
ee) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28];
cc) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28];
dd) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
15 ee) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
ii) [Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28];
gg) [Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
kk) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28];
ii) [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
20 jj) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
kk) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
ll) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
mm) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
nn) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
25 oo) [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
pp) [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];
qq) [Acb2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];
rr) [Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
ss) [Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
30 tt) [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
uu) [Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
vv) [Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
ww) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
xx) [Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28];
35 yy) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
zz) [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];
ææ) [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
ØØ) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28];
åå) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28];
40 aaa) [Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
bbb) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
ccc) [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
ddd) [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28];
eee) [Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28];
45 fff) [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28];
ggg) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29];
hhh) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29];
iii) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
jjj) [Aib2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
50 kkk) [Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
lll) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28];
mmm) [Aib2,Val10,Ala16,Leu27,Lys28];
nnn) [Aib2,Val10,Leu16,Leu27,Lys28];
ooo) [Aib2,Val10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28];
55 ppp) [Aib2,Val10,Arg12,Leu16,Leu27,Lys28];

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

- 60 En una modalidad, la invención se refiere a un producto intermedio en forma de un péptido de glucagón que tiene una amida C-terminal y que consiste en una de las modificaciones a) a ppp) como se definió anteriormente en comparación con el glucagón (SEQ ID NO: 1), o una sal, amida o éster aceptable farmacéuticamente de este.

- 65 Los derivados de glucagón de la invención pueden prepararse mediante el siguiente método de síntesis por etapas que comprende (i) preparación del producto intermedio del péptido de glucagón seguido de la (ii) unión del sustituyente. La etapa (i) de este método puede lograrse mediante el uso de síntesis en fase sólida estándar como se describe en la sección experimental mediante el uso de aminoácidos protegidos; después de la escisión de la

resina el péptido de glucagón puede someterse a purificación mediante el uso de HPLC preparativa como se describe en la sección experimental en la presente descripción para proporcionar el producto intermedio. Alternativamente, la etapa (i) de este método, la preparación del producto intermedio, puede llevarse a cabo mediante el uso de una síntesis semirecombinante como se describió en el documento WO2009/083549. La etapa (ii) de este método, es decir, la unión del sustituyente al producto intermedio que conduce al producto final, así como también la preparación del sustituyente en sí, puede lograrse mediante el uso de los métodos descritos en el documento WO2009/083549.

Modalidades

Los derivados de glucagón pueden además caracterizarse por una o más de las siguientes modalidades no limitantes:

1. Un derivado de glucagón que comprende la secuencia de aminoácidos de Fórmula I (que corresponde a la SEQ ID NO:4 y la SEQ ID NO:5):

His-X₂-X₃-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X₁₀-Ser-X₁₂-Tyr-Leu-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-Ala-X₂₀-X₂₁-Phe-Val-X₂₄-Trp-Leu-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀ [I]

en donde

X₂ representa Aib, Acb o Acpr;
 X₃ representa Gln o His;
 X₁₀ representa Leu, Ile o Val;
 X₁₂ representa Lys o Arg;
 X₁₅ representa Asp o Glu;
 X₁₆ representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys;
 X₁₇ representa Arg o Lys;
 X₁₈ representa Arg, Ala o Lys;
 X₂₀ representa Gln, Arg, Glu, Aib o Lys;
 X₂₁ representa Asp, Glu, Ser o Lys;
 X₂₄ representa Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys;
 X₂₇ representa Met, Leu o Val;
 X₂₈ representa Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys;
 X₂₉ representa Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys;
 X₃₀ representa Lys, o X₃₀ está ausente;

cuya secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una o más de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30; y en donde dicho derivado de glucagón comprende un sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, en donde una de dichas porciones cargadas negativamente es distal de una porción lipófila, se une a la posición épsilon de un residuo de lisina en una de las posiciones de aminoácidos 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 o 30; y en donde dicho derivado de glucagón es una amida C-terminal, o una sal aceptable farmacéuticamente o profármaco de esta.

2. Un derivado de glucagón que comprende la secuencia de aminoácidos de Fórmula I (que corresponde a la SEQ ID NO:2 y la SEQ ID NO:3):

His-X₂-X₃-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X₁₀-Ser-X₁₂-Tyr-Leu-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-Ala-X₂₀-X₂₁-Phe-Val-X₂₄-Trp-Leu-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀ [I]

en donde

X₂ representa Aib, Acb o Acpr;
 X₃ representa Gln o His;
 X₁₀ representa Leu, Ile o Val;
 X₁₂ representa Lys o Arg;
 X₁₅ representa Asp o Glu;
 X₁₆ representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys;
 X₁₇ representa Arg o Lys;
 X₁₈ representa Arg, Ala o Lys;
 X₂₀ representa Gln, Arg, Glu, Aib o Lys;
 X₂₁ representa Asp, Glu o Lys;
 X₂₄ representa Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys;
 X₂₇ representa Met, Leu o Val;
 X₂₈ representa Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys;
 X₂₉ representa Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys;

X₃₀ representa Lys, o X₃₀ está ausente;

cuya secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una o más de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30; y en donde dicho derivado de glucagón comprende un sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, en donde una de dichas porciones cargadas negativamente es distal de una porción lipófila, se une a la posición épsilon de un residuo de lisina en una de las posiciones de aminoácidos 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 o 30; y en donde dicho derivado de glucagón es una amida C-terminal, o una sal aceptable farmacéuticamente o profármaco de esta.

10 3. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde

X₂ representa Aib, Acb o Acpr;

X₃ representa Gln o His;

X₁₀ representa Leu;

15 X₁₂ representa Lys o Arg;

X₁₅ representa Asp o Glu;

X₁₆ representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib o Lys;

X₁₇ representa Arg o Lys;

X₁₈ representa Arg o Ala;

20 X₂₀ representa Gln, Arg, Glu o Lys;

X₂₁ representa Asp, Glu o Lys;

X₂₄ representa Gln, Ala, Arg o Lys;

X₂₇ representa Met, Leu o Val;

X₂₈ representa Asn, Ser o Lys;

25 X₂₉ representa Thr, Gly o Lys; y

X₃₀ representa Lys, o X₃₀ está ausente.

4. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde un sustituyente comprende una porción lipófila y tres o más porciones cargadas negativamente, en donde una de dichas porciones cargadas negativamente es distal de una porción lipófila, y en donde dicho sustituyente se une en la posición épsilon de una Lys en una de las siguientes posiciones de aminoácidos de dicho derivado de glucagón: 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30.

35 5. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde

X₂ representa Aib, Acb o Acpr;

X₃ representa Gln o His;

X₁₀ representa Leu;

X₁₂ representa Lys o Arg;

40 X₁₅ representa Asp o Glu;

X₁₆ representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu o Lys;

X₁₇ representa Arg o Lys;

X₁₈ representa Arg o Ala;

X₂₀ representa Gln, Arg, Glu o Lys;

45 X₂₁ representa Asp, Glu o Lys;

X₂₄ representa Gln, Ala, Arg o Lys;

X₂₇ representa Met, Leu o Val;

X₂₈ representa Asn, Ser o Lys;

X₂₉ representa Thr, Gly o Lys; y

50 X₃₀ representa Lys, o X₃₀ está ausente.

6. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde

X₂ representa Aib, Acb o Acpr.

55 7. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X₂ representa Aib.

8. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X₂ representa Acb.

9. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X₂ representa Acpr.

60 10. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X₃ representa Gln o His.

11. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X₃ representa Gln.

12. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X₃ representa His.

65

13. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{10} representa Leu, Ile o Val.
- 5 14. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{10} representa Leu.
15. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{10} es Ile.
16. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{10} representa Val.
- 10 17. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{12} representa Lys o Arg.
18. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{12} representa Lys.
- 15 19. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{12} representa Arg.
20. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{15} representa Asp o Glu.
21. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{15} representa Asp.
- 20 22. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X_{15} representa Glu.
23. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{16} representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys.
- 25 24. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{16} representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib o Lys.
- 30 25. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{16} representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu o Lys.
26. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{16} representa Ala, Leu, Thr, Glu o Lys.
- 35 27. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{16} representa Ser.
28. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{16} representa Ala.
29. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{16} representa Leu.
- 40 30. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{16} representa Thr.
31. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{16} representa Glu.
- 45 32. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{16} representa Lys.
33. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{17} representa Arg o Lys.
- 50 34. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{17} representa Arg.
35. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{17} representa Lys.
36. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{18} representa Arg o Ala.
- 55 37. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{18} representa Arg.
38. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{18} representa Ala.
39. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{20} representa Gln, Arg, Glu, Aib o Lys.
- 60 40. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{20} representa Gln, Arg, Glu o Lys.
41. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{20} representa Gln.
- 65 42. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{20} representa Arg.

43. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{20} representa Glu.
44. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{20} representa Lys.
- 5 45. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{21} representa Asp, Glu o Lys.
46. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{21} representa Glu o Lys.
- 10 47. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{21} representa Asp.
48. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{21} representa Glu.
- 15 49. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{21} representa Lys.
50. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{24} representa Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys.
- 20 51. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{24} representa Gln, Ala, Arg o Lys.
52. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{24} representa Gln.
- 25 53. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{24} representa Ala.
54. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{24} representa Arg.
55. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{24} representa Lys.
- 30 56. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{27} representa Met, Leu o Val.
57. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{27} representa Leu o Val.
- 35 58. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{27} representa Met.
59. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{27} representa Leu.
- 40 60. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{27} representa Val.
61. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{28} representa Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys.
- 45 62. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{28} representa Asn, Ser o Lys.
63. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{28} representa Asn.
- 50 64. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{28} representa Ser.
65. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{28} representa Lys.
66. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{29} representa Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys.
- 55 67. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{29} representa Thr, Gly o Lys.
- 60 68. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{29} representa Gly o Lys.
69. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{29} representa Thr.
70. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{29} representa Gly.
- 65 71. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X_{29} representa Lys.

72. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X₃₀ representa Lys, o en donde X₃₀ está ausente.

73. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X₃₀ representa Lys.

74. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde X₃₀ está ausente.

75. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde

X₂ representa Aib;

X₂₀ representa Arg; y X₂₁ representa Glu.

76. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos:

[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28];

[Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28];

[Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28];

[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29];

[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28];

[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27];

[Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29];

[Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];

[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27];

[Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29];

[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];

[Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29];

[Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29];

[Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29];

[Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];

[Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];

[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];

[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];

[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29];

[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27];

[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28];

[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28];

[Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28];

[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];

[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];

[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];

[Acb2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];

[Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28];

[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28];

[Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28];

[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28];
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29];
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]; y
 [Aib2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28].

5 77. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos:

[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28];
 10 [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; y
 [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28].

15 78. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, que comprende una secuencia de aminoácidos con una cualquiera de las siguientes sustituciones de aminoácidos:

[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; y
 [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28].

20 79. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, que comprende una secuencia de aminoácidos con las siguientes sustituciones de aminoácidos:

[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28].

25 80. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, que comprende una secuencia de aminoácidos con las siguientes sustituciones de aminoácidos:

[Aib2,Val10,Ala16,Leu27,Lys28].

30 81. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, cuya secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una o más de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30.

35 82. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, cuya secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una, dos o tres de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30.

83. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, cuya secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una o dos de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30.

40 84. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, cuya secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en dos de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30; en particular, en las posiciones 12 y 28.

45 85. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, cuya secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en la posición 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 o 30.

86. Un derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une en la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 16, 21, 24, 28, 29 o 30.

50 87. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une en la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 16, 21, 24, 28, 29 o 30.

55 88. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une en la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 16, 24, 28, 29 o 30.

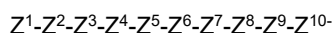
60 89. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une en la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 24, 28, 29 o 30.

90. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une en la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 28, 29 y 30.

65

91. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde el sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, se une en la posición épsilon de un residuo de lisina en la posición 28.

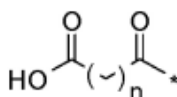
5 92. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde el sustituyente que comprende una porción lipófila y tres o más porciones cargadas negativamente es un sustituyente de Fórmula II:



10 en donde,

Z¹-representa una estructura de Fórmula IIa;

15



20 en donde n es 6-20; y el símbolo * representa el punto de unión al nitrógeno del grupo de unión vecino; y

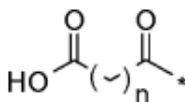
Z²-Z³-Z⁴-Z⁵-Z⁶-Z⁷-Z⁸-Z⁹-Z¹⁰- representa un grupo de unión, en donde cada uno de Z₂ a Z₁₀ se representa individualmente por uno cualquiera de los siguientes residuos de aminoácidos: Glu, γGlu, Gly, Ser, Ala, Thr o Ado; o uno o más de los residuos Z² a Z¹⁰ están ausentes; siempre y cuando, sin embargo, al menos dos de los residuos Z² a Z¹⁰ estén presentes; y

25 en donde Z¹-Z²-Z³-Z⁴-Z⁵-Z⁶-Z⁷-Z⁸-Z⁹-Z¹⁰- contienen juntos al menos tres cargas negativas; y

30 en donde dicho sustituyente se une a la posición épsilon de un residuo de Lys de acuerdo con la Fórmula I.

93. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde Z¹ de la Fórmula II representa una estructura de acuerdo con la Fórmula IIa:

35



40 en donde n representa un número entero en el intervalo de 6 a 20;

el símbolo * representa el punto de unión al nitrógeno del grupo vecino; y

45 en donde Z₂, Z₃, Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈, Z₉, Z₁₀ se representan individualmente por los siguientes aminoácidos: Glu, γGlu, Gly, Ser, Ala, Thr y Ado; o uno o más de Z₂, Z₃, Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈, Z₉, Z₁₀ pueden estar ausentes; siempre y cuando, sin embargo, al menos dos de los residuos Z₂ a Z₁₀ están presentes;

en donde Z₁-Z₂-Z₃-Z₄-Z₅-Z₆-Z₇-Z₈-Z₉-Z₁₀ contienen juntos al menos tres cargas negativas; y

50 en donde dicho sustituyente se une a la posición épsilon de un residuo de Lys de acuerdo con la Fórmula I, anterior.

94. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde n en Z¹ de Fórmula IIa representa 14, 16 o 18.

95. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde n en Z¹ de Fórmula IIa representa 14.

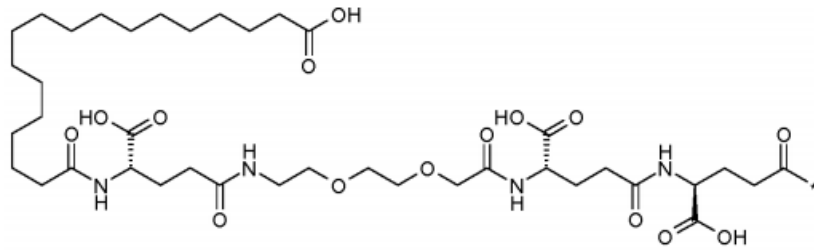
96. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde n en Z¹ de Fórmula IIa representa 16.

97. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde n en Z¹ de Fórmula IIa representa 18.

98. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde dicho sustituyente representa una estructura de acuerdo con una cualquiera de las siguientes nueve fórmulas (Quím.A - Quím.I), en donde * indica el punto de unión al átomo de nitrógeno de la posición épsilon de un residuo de Lys de Fórmula I:

65

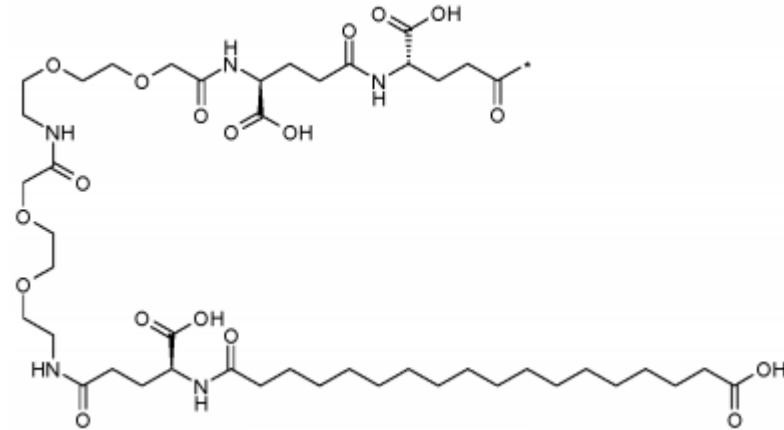
5



10

(Quím.A);

15



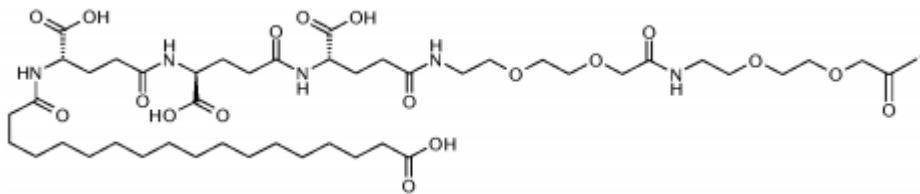
20

25

30

(Quím.B);

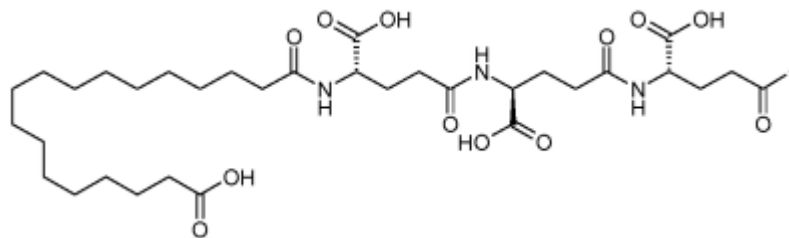
35



40

(Quím.C);

45



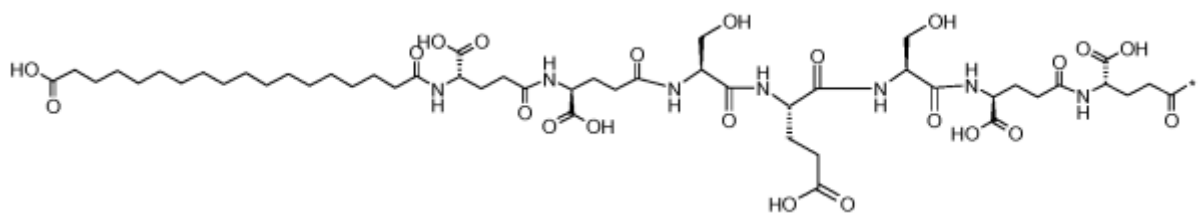
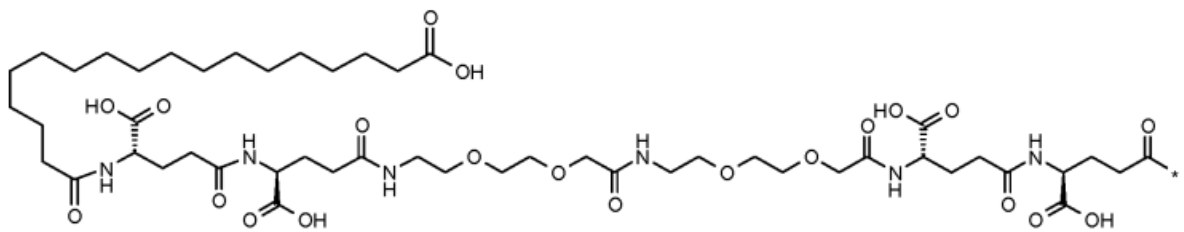
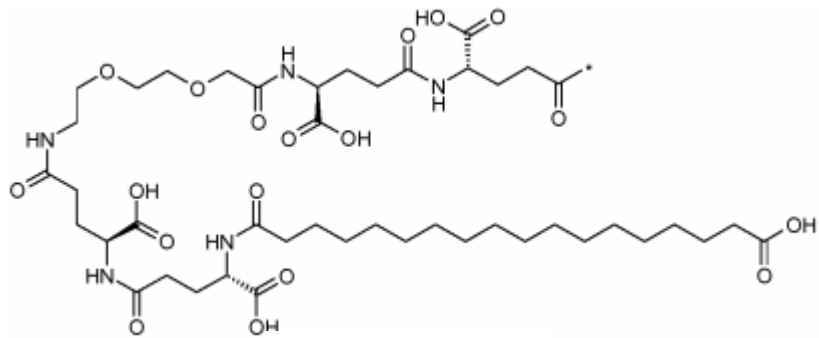
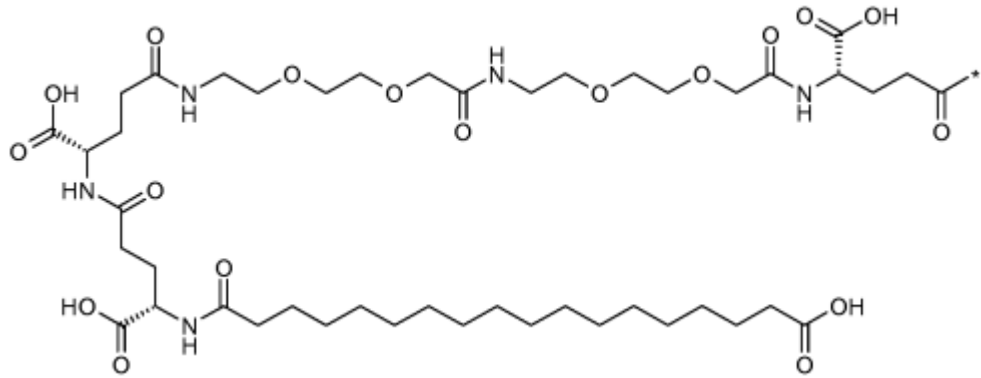
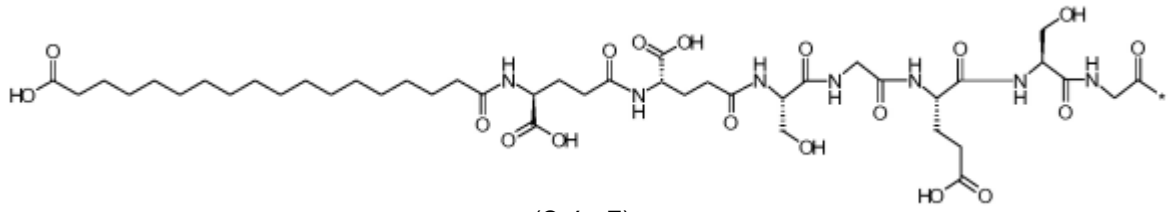
50

55

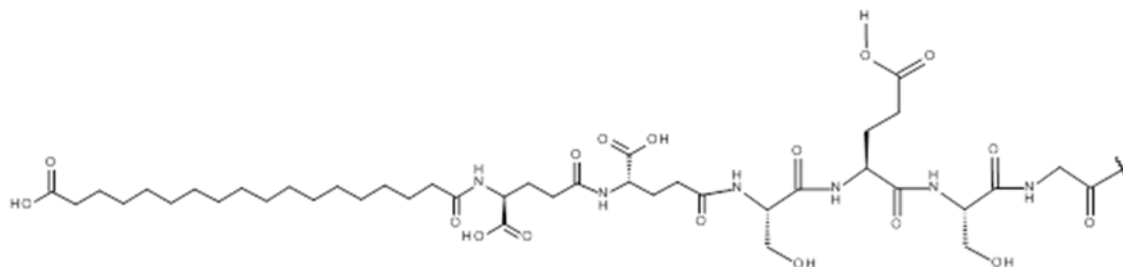
(Quím.D);

60

65



99. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde dicho sustituyente representa una estructura de acuerdo con la siguiente fórmula (Quím.J), en donde * indica el punto de unión al átomo de nitrógeno de la posición épsilon de un residuo de Lys de Fórmula I:



(Quím.J).

100. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde dicho sustituyente representa una estructura de acuerdo con una cualquiera de las fórmulas Quím.A - Quím.I o Quím.J, como se describió anteriormente, en donde * indica el punto de unión al átomo de nitrógeno de la posición épsilon de un residuo de Lys de acuerdo con la Fórmula I.

101. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde dicho sustituyente representa una estructura de acuerdo con la fórmula Quím.B, Quím.C, o Quím.H, o de conformidad con la fórmula Quím.J, como se describió anteriormente, en donde * indica el punto de unión al átomo de nitrógeno de la posición épsilon de un residuo de Lys de acuerdo con la Fórmula I.

102. Un derivado de glucagón de la invención, seleccionado del grupo que consiste en:

30 $N^{\epsilon 16}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28]-Glucagón amida;

35 $N^{\epsilon 21}$ -(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28]-Glucagón amida;

40 $N^{\epsilon 24}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28]-Glucagón amida;

45 $N^{\epsilon 28}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;

50 $N^{\epsilon 29}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida;

55 N^{ϵ} -[(Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28)-Glucagónil]- N^{ϵ} [(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-Lys amida;

60 $N^{\epsilon 16}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27]-Glucagón amida;

65 $N^{\epsilon 29}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida;

$N^{\epsilon 29}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida;

- N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27]-Glucagón amida;
- 5 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida;
- 10 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida;
- 15 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida;
- 20 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida;
- 25 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida;
- 25 N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 30 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida;
- 35 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida;
- 40 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida;
- 45 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida;
- 50 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 55 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 60 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 60 N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;

- N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 5 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 10 N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29]-Glucagón amida;
- 15 N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27]-Glucagón amida;
- 20 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 25 N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28]-Glucagón amida;
- 30 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 35 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 40 N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 45 N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 50 N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 55 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida;
- 60 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida;
- 65 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida;
- 60 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;
- 65 N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;

N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;

5 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;

10 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;

15 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;

20 N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;

N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;

25 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29]-Glucagón amida;

30 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida;

35 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida; y

40 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida.

103. Un derivado de glucagón, en donde dicho derivado de glucagón se selecciona del grupo que consiste en:

45 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;

50 N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Leu16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida;

55 N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida; y

60 N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Arg12,Leu16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida.

104. Un derivado de glucagón, en donde dicho derivado de glucagón es N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Ala16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida.

65 Modalidades adicionales se refieren a:

105. El derivado de glucagón de Fórmula I como se describió anteriormente, en donde dicho derivado de glucagón es un coagonista del receptor de GLP-1 y del receptor de glucagón.
- 5 106. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho sustituyente se une no covalentemente a la albúmina.
107. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho sustituyente se carga negativamente a pH fisiológico.
- 10 108. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un compuesto protegido frente a la DPPIV.
109. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es estable frente a la DPPIV.
- 15 110. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón.
111. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 10$ nM.
- 20 112. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 1$ nM.
- 25 113. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 100$ pM.
114. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 10$ pM.
- 30 115. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1.
116. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1, con una $EC_{50} < 100$ pM.
- 35 117. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1, con una $EC_{50} < 50$ pM.
- 40 118. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1, con una $EC_{50} < 10$ pM.
119. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 100$ pM y una $EC_{50} < 1$ nM sobre el receptor de glucagón.
- 45 120. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 50$ pM y una $EC_{50} < 1$ nM sobre el receptor de glucagón.
- 50 121. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10$ pM y una $EC_{50} < 1$ nM sobre el receptor de glucagón.
- 55 122. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 50$ pM y una $EC_{50} < 100$ pM sobre el receptor de glucagón.
- 60 123. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10$ pM y una $EC_{50} < 100$ pM sobre el receptor de glucagón.
- 65 124. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10$ pM y una $EC_{50} < 50$ pM sobre el receptor de glucagón.

125. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 1 \text{ pM}$ y una $EC_{50} < 50 \text{ pM}$ sobre el receptor de glucagón.

5 126. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10 \text{ pM}$ y una $EC_{50} < 10 \text{ pM}$ sobre el receptor de glucagón.

10 127. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un coagonista de GLP-1/glucagón con una EC_{50} sobre el receptor de GLP-1 $<$ la EC_{50} sobre el receptor de glucagón.

128. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un coagonista de GLP-1/glucagón con una EC_{50} sobre el receptor de GLP-1 (por ejemplo, en pM) mayor de la EC_{50} sobre el receptor de glucagón (por ejemplo, en pM).

15 Modalidades de la invención adicionales se refieren a combinaciones:

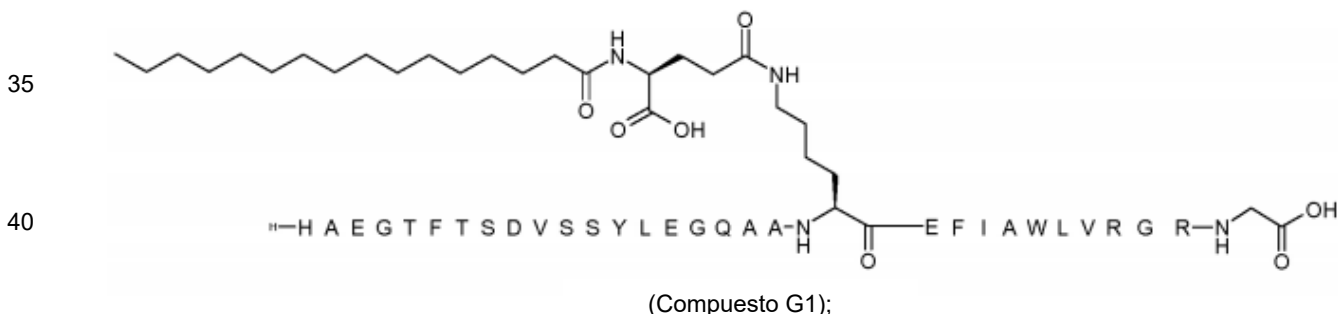
129. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en combinación con un compuesto de GLP-1 o un compuesto de insulina.

20 130. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en combinación con un compuesto de GLP-1.

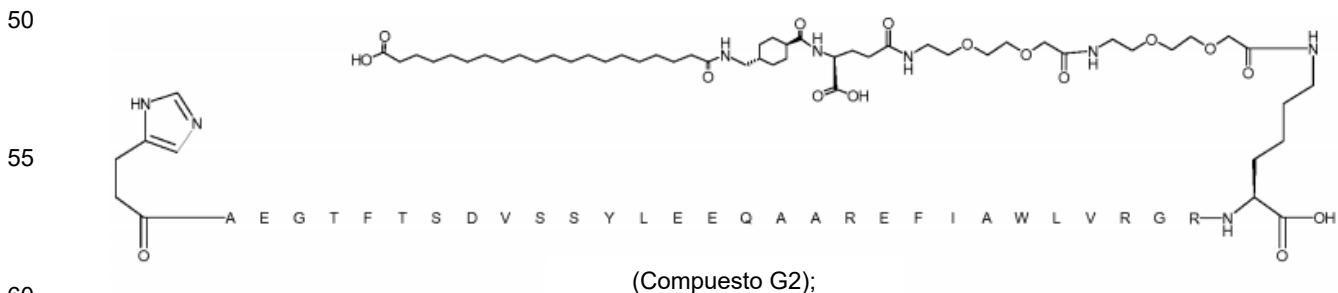
25 131. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en combinación con un compuesto de insulina.

132. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 123-125, en donde el compuesto de GLP-1 se selecciona del grupo que consiste en:

30 N-épsilon26-((S)-4-carboxi-4-hexadecanoilamino-butiril)[Arg34]GLP-1-(7-37):

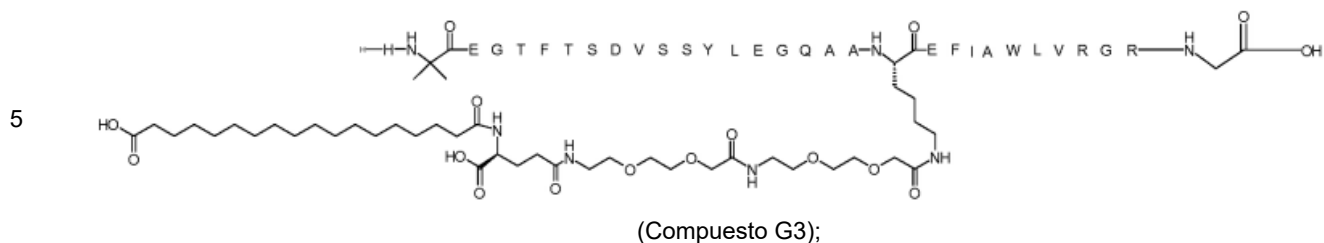


45 N-épsilon37-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-carboxi-4-((trans-4-[(19-carboxinonadecanoilamino)metil]ciclohexanocarbonil)amino)butirilamino]etoxi)etoxi)acetilamino]etoxi)etoxi)acetil][Des aminoHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37):

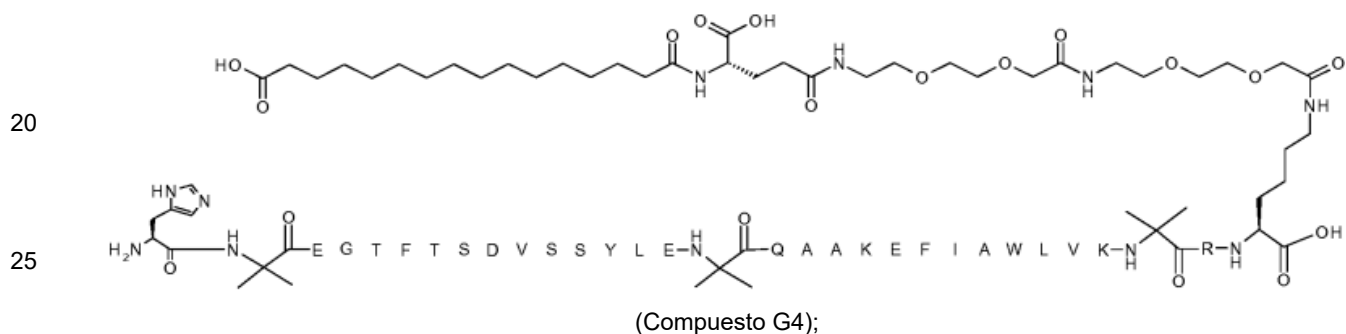


N-épsilon26-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butirilamino]etoxi)etoxi)acetilamino]etoxi)etoxi)acetil][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37):

65



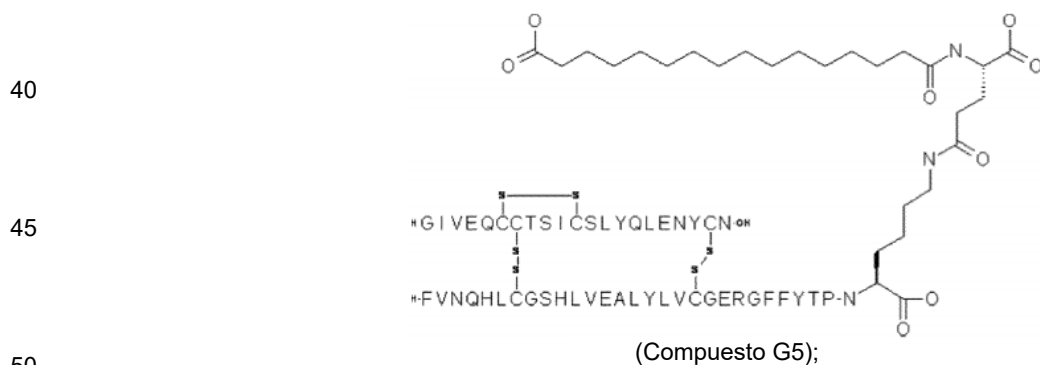
15 y N-épsilon37-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[(S)-4-carboxi-4-(15-carboxi-pentadecanoilamino)-butirilamino]-etoxi)-etoxi)-acetilamino]-etoxi)-etoxi)-acetil][Aib8,22,35,Lys37]GLP-1-(7-37):



30 y sus sales, amidas, alquilos o ésteres aceptables farmacéuticamente de estos.

133. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 129-132, en donde el compuesto de insulina es:

35 N-épsilon-B29-[(S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butiril] desB30 insulina humana



Otras modalidades de la presente se refieren a composiciones farmacéuticas:

134. Una composición farmacéutica que comprende un derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-128, y opcionalmente uno o más excipientes aceptables farmacéuticamente.

135. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad 134, que comprende además uno o más compuestos o sustancias activos terapéuticamente adicionales.

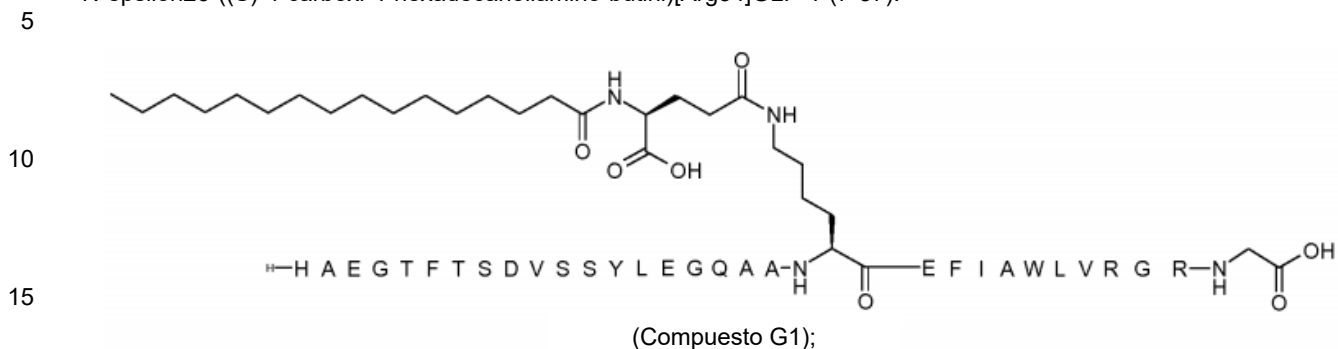
136. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad 135, en donde dicho compuesto activo terapéuticamente adicional es un compuesto de GLP-1 o un compuesto de insulina.

137. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad 136, en donde dicho compuesto activo terapéuticamente adicional es un compuesto de GLP-1.

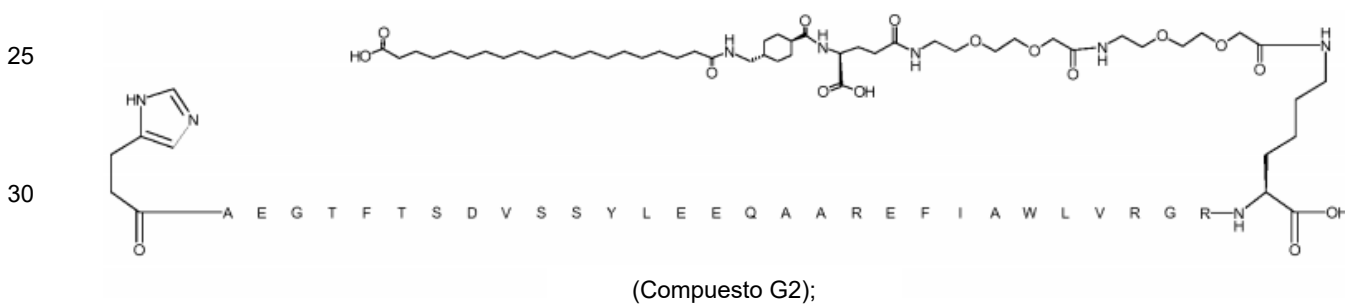
138. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad 136 o 137, en donde dicho compuesto activo terapéuticamente adicional es un compuesto de insulina.

139. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 136-138, en donde el compuesto de GLP-1 se selecciona del grupo que consiste en:

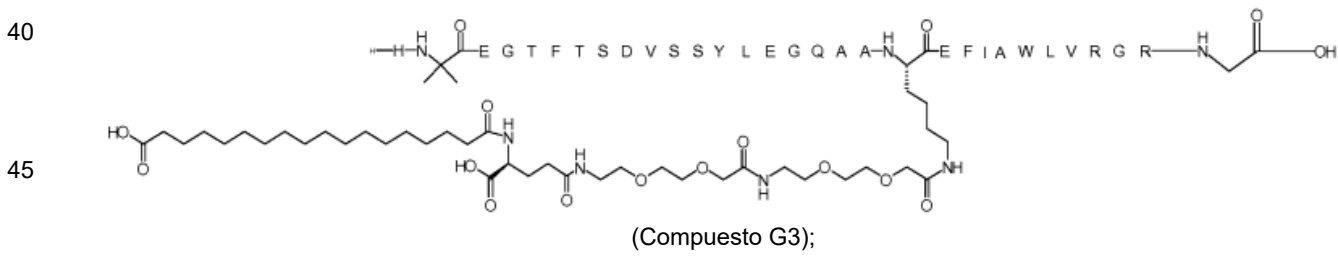
N-épsilon26-((S)-4-carboxi-4-hexadecanoilamino-butiril)[Arg34]GLP-1-(7-37):



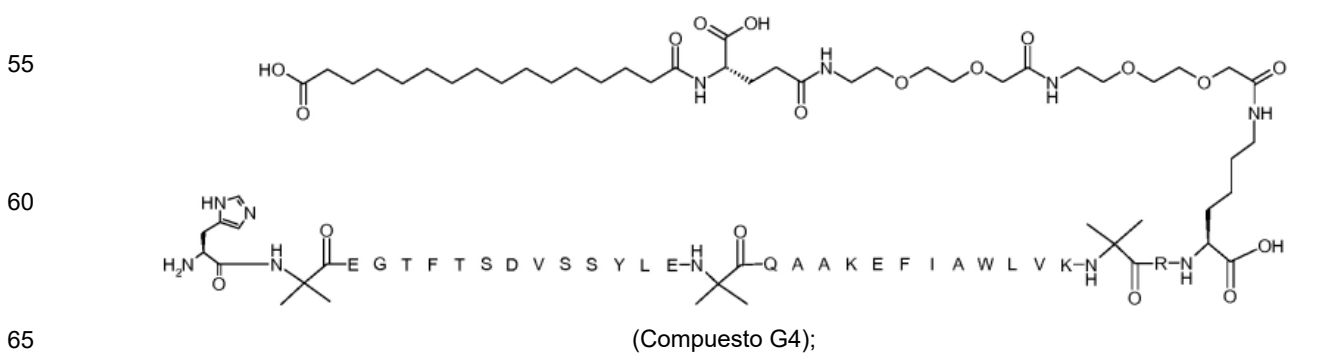
N-épsilon37-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-carboxi-4-((trans-4-[(19-carboxinonadecanoilamino)metil]ciclohexanocarbonil)amino]butirilamino]etoxi}etoxi)acetilamino]etoxi}etoxi)acetil][Des aminoHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37):



N-épsilon26-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butirilamino]etoxi}etoxi)acetilamino]etoxi}etoxi)acetil][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37):



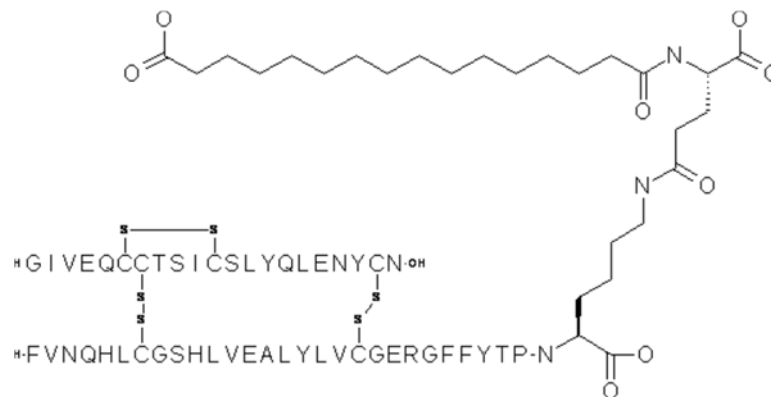
y N-épsilon37-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-carboxi-4-(15-carboxi-pentadecanoilamino)-butirilamino]-etoxi}-etoxi)-acetilamino]-etoxi}-etoxi)-acetil][Aib8,22,35,Lys37]GLP-1-(7-37):



y sus sales, amidas, alquilos o ésteres aceptables farmacéuticamente de estos.

140. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 130-133, en donde el compuesto de insulina es:

N-épsilon-B29-[(S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butiril] desB30 insulina humana



(Compuesto G5).

141. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 128-134, en forma de dosificación unitaria que comprende de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 1000 mg, tal como de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 5 mg, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 200 mg, de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128.

142. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 126-138, que es adecuada para la administración parenteral.

143. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en la terapia.

Modalidades adicionales se refieren a lo siguiente:

144. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento o prevención de la hiperglucemia, la diabetes tipo 2, la tolerancia a la glucosa alterada, la diabetes tipo 1 y la obesidad.

145. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el retardo o prevención de la progresión de la enfermedad en la diabetes tipo 2.

146. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la obesidad o la prevención del sobrepeso.

147. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en la disminución de la ingestión de alimentos.

148. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el aumento del gasto de energía.

149. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en la reducción del peso corporal.

150. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el retraso de la progresión de la tolerancia a la glucosa alterada (IGT) a la diabetes tipo 2.

151. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el retardo de la progresión de la diabetes tipo 2 a la diabetes que requiere insulina.
- 5 152. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en la regulación del apetito.
- 10 153. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en la inducción de saciedad.
- 15 154. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en la prevención de la recuperación del peso después de una pérdida de peso exitosa.
- 20 155. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o estado relacionado con sobrepeso u obesidad.
- 25 156. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la bulimia.
- 30 157. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la sobreingestión compulsiva.
- 35 158. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la aterosclerosis.
- 40 159. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la hipertensión.
- 45 160. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la diabetes tipo 2.
- 50 161. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la tolerancia a la glucosa alterada.
- 55 162. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la dislipidemia.
163. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de enfermedades coronarias.
164. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la esteatosis hepática.
- Modalidades adicionales se refieren a los siguientes métodos:
- 60 165. Un método para tratar o prevenir la hipoglucemia, diabetes tipo 2, tolerancia a la glucosa alterada, diabetes tipo 1 y obesidad, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 65 166. Un método para retardar o prevenir la progresión de la enfermedad en la diabetes tipo 2, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

- 5 167. Un método para tratar la obesidad o prevenir el sobrepeso, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
168. Un método para disminuir la ingestión de alimentos, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 10 169. Un método para su uso en el aumento del gasto de energía, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 15 170. Un método para su uso en la reducción del peso corporal, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 20 171. Un método para su uso en retardar la progresión de la tolerancia a la glucosa alterada (IGT) a la diabetes tipo 2, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 25 172. Un método para su uso en retardar la progresión de la diabetes tipo 2 a la diabetes que requiere insulina, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 30 173. Un método para su uso en la regulación del apetito, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 35 174. Un método para su uso en la inducción de saciedad, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 40 175. Un método para su uso en la prevención de la recuperación del peso después de una pérdida de peso exitosa, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 45 176. Un método para su uso en el tratamiento de una enfermedad o estado relacionado con sobrepeso u obesidad, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 50 177. Un método para su uso en el tratamiento de la bulimia, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 55 178. Un método para su uso en el tratamiento de la sobreingestión compulsiva, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 60 179. Un método para su uso en el tratamiento de la aterosclerosis, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 65 180. Un método para su uso en el tratamiento de la hipertensión, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
181. Un método para su uso en el tratamiento de la diabetes tipo 2, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

182. Un método para su uso en el tratamiento de la tolerancia a la glucosa alterada, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

5 183. Un método para su uso en el tratamiento de la dislipidemia, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

10 184. Un método para su uso en el tratamiento de enfermedades coronarias, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

15 185. Un método para su uso en el tratamiento de la esteatosis hepática, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-128, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

20 Modalidades adicionales se refieren a los siguientes usos:

186. El uso de un derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-128, para la preparación de un medicamento.

25 187. El uso de un derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-128, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la hiperglucemia, la diabetes tipo 2, la tolerancia a la glucosa alterada, la diabetes tipo 1 y la obesidad.

30 188. El uso de un derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-128, para la preparación de un medicamento para retrasar o prevenir la progresión de la enfermedad en la diabetes tipo 2, tratar la obesidad o prevenir el sobrepeso, para disminuir la ingestión de alimentos, aumentar el gasto de energía, reducir el peso corporal, retrasar la progresión de la tolerancia a la glucosa alterada (IGT) a la diabetes tipo 2; retardar la progresión de la diabetes tipo 2 a la diabetes que requiere insulina; regulación del apetito; inducción de saciedad; prevenir la recuperación del peso después de una pérdida de peso exitosa; tratar una enfermedad o estado relacionado con sobrepeso u obesidad; tratar la bulimia; tratar la sobreingestión compulsiva; tratar la aterosclerosis, la hipertensión, la diabetes tipo 2, la IGT, la dislipidemia, la enfermedad coronaria, la esteatosis hepática, el tratamiento del envenenamiento con beta-bloqueadores, el uso para la inhibición de la motilidad del tracto gastrointestinal, útil en relación con investigaciones del tracto gastrointestinal mediante el uso de técnicas tales como rayos X, exploraciones por CT y RMN.

40 Modalidades adicionales se refieren a lo siguiente:

189. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene más de 70 % de recuperación en el ensayo de fibrilación con ThT.

45 190. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene más de 90 % de recuperación en el ensayo de fibrilación con ThT.

50 191. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene aproximadamente 100 % de recuperación en el ensayo de fibrilación con ThT.

192. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene más de 7 horas de tiempo de retraso en el ensayo de fibrilación con ThT.

55 193. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene más de 20 horas de tiempo de retraso en el ensayo de fibrilación con ThT.

194. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene 45 horas de tiempo de retraso o más en el ensayo de fibrilación con ThT.

60 195. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho ensayo de fibrilación con ThT es como se describe en el Ejemplo 76 en la presente descripción.

65 196. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 14 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.

197. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 13 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
- 5 198. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 12 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
199. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 10 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
- 10 200. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 9 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
201. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 7 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
- 15 202. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 5 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
203. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 3 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
- 20 204. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 2 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
205. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho ensayo de estabilidad química es como se describe en el Ejemplo 79 en la presente descripción.
- 25 206. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es tan selectivo para el receptor de glucagón como para el receptor de GLP-1.
- 30 207. Un derivado de glucagón como se define en cualquiera de las modalidades anteriores, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en medicina.
208. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 207, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para i) tratamiento de la obesidad, prevención de sobrepeso, y/o reducción del peso corporal, y/o ii) tratamiento o prevención de hiperglucemia, diabetes tipo 2, tolerancia a la glucosa alterada, y/o diabetes tipo 1.
- 35

Modalidades adicionales

40 Entre las modalidades adicionales están las siguientes:

1. Un derivado de glucagón que comprende (Fórmula I) (SEQ ID NO:2 y SEQ ID NO:3):

45 His-X₂-X₃-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X₁₀-Ser-X₁₂-Tyr-Leu-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-Ala-X₂₀-X₂₁-Phe-Val-X₂₄-Trp-Leu-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀ (Fórmula I),

en donde

50 X₂ es Aib, Acb o Acpr,
 X₃ es Gln o His,
 X₁₀ es Leu, Ile o Val,
 X₁₂ es Lys o Arg,
 X₁₅ es Asp o Glu
 X₁₆ es Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys,
 55 X₁₇ es Arg o Lys,
 X₁₈ es Arg, Ala o Lys,
 X₂₀ es Gln, Arg, Glu, Aib o Lys,
 X₂₁ es Asp, Glu o Lys,
 X₂₄ es Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys,
 60 X₂₇ es Met, Leu o Val,
 X₂₈ es Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys,
 X₂₉ es Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys,
 X₃₀ está ausente o es Lys,

65 y un sustituyente que comprende una porción lipófila y tres o más porciones cargadas negativamente, en donde una de dichas porciones cargadas negativamente es distal de una porción lipófila,

y en donde dicho sustituyente se une en la posición épsilon de una Lys en una de las siguientes posiciones de aminoácidos de dicho derivado de glucagón: 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29

5 y /o 30, en donde dicho derivado de glucagón es una amida C-terminal o una sal aceptable farmacéuticamente o profármaco de esta.

2. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 1, en donde dicho derivado de glucagón es un coagonista del receptor de GLP-1 y del receptor de glucagón.

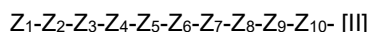
- 10 3. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 2, en donde X₂ es Aib.
 4. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 2, en donde X₂ es Acb.
5. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 2, en donde X₂ es Acpr.
- 15 6. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₃ es Gln.
 7. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₃ es His.
- 20 8. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₁₀ es Leu.
 9. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₁₀ es Ile.
 10. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₁₀ es Val.
- 25 11. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₁₂ es Lys.
 12. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₁₂ es Arg.
- 30 13. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₁₅ es Asp.
 14. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₁₅ es Glu.
- 35 15. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₁₆ es Ser, Ala, Leu, Thr, Glu o Lys.
 16. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 15, en donde X₁₆ es Ser.
 17. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 15, en donde X₁₆ es Ala, Leu, Thr, Glu o Lys.
- 40 18. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 15, en donde X₁₆ es Ala.
 19. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 15, en donde X₁₆ es Leu.
- 45 20. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 15, en donde X₁₆ es Thr.
 21. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 15, en donde X₁₆ es Glu.
 22. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 15, en donde X₁₆ es Lys.
- 50 23. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₁₇ es Arg.
 24. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₁₇ es Lys.
- 55 25. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₁₈ es Arg o Ala.
 26. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 25, en donde X₁₈ es Arg.
 27. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 25, en donde X₁₈ es Ala.
- 60 28. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X₂₀ es Gln, Arg, Glu o Lys.
 29. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 28, en donde X₂₀ es Gln.
- 65 30. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 28, en donde X₂₀ es Arg.

ES 2 754 048 T3

31. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 28, en donde X_{20} es Glu.
32. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 28, en donde X_{20} es Lys.
- 5 33. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X_{21} es Asp.
34. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X_{21} es Glu o Lys.
- 10 35. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 34, en donde X_{21} es Glu.
36. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 34, en donde X_{21} es Lys.
- 15 37. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X_{24} es Gln, Ala, Arg o Lys.
38. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 37, en donde X_{24} es Gln.
39. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 37, en donde X_{24} es Ala.
- 20 40. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 37, en donde X_{24} es Arg.
41. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 37, en donde X_{24} es Lys.
- 25 42. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X_{27} es Met, Leu o Val.
43. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 42, en donde X_{27} Met.
- 30 44. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 42, en donde X_{27} es Leu.
45. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 42, en donde X_{27} es Val.
- 35 46. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X_{28} es Asn, Ser o Lys.
47. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 46, en donde X_{28} es Asn.
48. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 46, en donde X_{28} es Ser.
- 40 49. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 46, en donde X_{28} es Lys.
50. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X_{29} es Thr, Gly o Lys.
- 45 51. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 50, en donde X_{29} es Gly o Lys.
52. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 50, en donde X_{29} es Thr.
- 50 53. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 50, en donde X_{29} es Gly.
54. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 50, en donde X_{29} es Lys.
- 55 55. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X_{30} está ausente.
56. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-54, en donde X_{30} es Lys.
57. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde X_2 representa Aib, X_{20} representa Arg y X_{21} representa Glu.
- 60 58. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde las sustituciones de aminoácidos son:
- 65 (i) 2Acb, 10L, 12R, 16L, 20R, 27L, 28K;
(ii) 2Acb, 10L, 15E, 16E, 20R, 27L 28K;

- (iii) 2Acb, 10L, 15E, 17K, 20R, 21E, 27L, 28K;
 (iv) 2Acb, 10L, 15E, 20R, 21E, 27L, 28K;
 (v) 2Acb, 10L, 16L, 17K, 20R, 21E, 27L, 28K;
 (vi) 2Acb, 10L, 16L, 20R, 21E, 27L, 28K;
 5 (vii) 2Acb, 10L, 16L, 20R, 27L, 28K;
 (viii) 2Acb, 3H, 10L, 15E, 27L, 28K;
 (ix) 2Acpr, 10L, 15E, 20R, 21E, 27L, 28K;
 (x) 2Aib, 10L, 15E, 17K, 18A, 20R, 21E, 27L, 28K;
 (xi) 2Aib, 10L, 15E, 17K, 20R, 21E, 27L, 28K;
 10 (xii) 2Aib, 10L, 15E, 20R, 21E, 27L, 28K;
 (xiii) 2Aib, 10L, 16A, 20R, 21E, 27L, 28K;
 (xiv) 2Aib, 10L, 16E, 20K, 27L, 28S, 29K;
 (xv) 2Aib, 10L, 16K, 17K, 18A, 20R, 21E, 24A, 27L;
 (xvi) 2Aib, 10L, 16K, 17K, 21E, 27L;
 15 (xvii) 2Aib, 10L, 16K, 18A, 20R, 21E, 24A, 27L;
 (xviii) 2Aib, 10L, 16K, 20E, 27L, 28S, 29K;
 (xix) 2Aib, 10L, 16K, 20R, 21E, 24A, 27L;
 (xx) 2Aib, 10L, 16K, 20R, 21E, 27L;
 (xxi) 2Aib, 10L, 16K, 20R, 27L, 28S;
 20 (xxii) 2Aib, 10L, 16K, 21E, 27L;
 (xxiii) 2Aib, 10L, 16K, 21E, 27V, 28K, 29G;
 (xxiv) 2Aib, 10L, 16L, 17K, 20R, 21E, 27L, 28K;
 (xxv) 2Aib, 10L, 16L, 20R, 21E, 27L, 29K;
 (xxvi) 2Aib, 10L, 16T, 20K, 27L, 28S, 29K;
 25 (xxvii) 2Aib, 10L, 16T, 24R, 27L, 28S, 29K;
 (xxviii) 2Aib, 10L, 17K, 18A, 21E, 27L, 29K;
 (xxix) 2Aib, 10L, 18A, 20R, 21E, 27L, 29K;
 (xxx) 2Aib, 10L, 20R, 21E, 23I, 27L, 29K;
 (xxxi) 2Aib, 10L, 20R, 21E, 27L, 29K;
 30 (xxxii) 2Aib, 10L, 20R, 21K, 27L, 28S;
 (xxxiii) 2Aib, 10L, 20R, 24K, 27L, 28S;
 (xxxiv) 2Aib, 10L, 20R, 27L, 28K;
 (xxxv) 2Aib, 10L, 20R, 27L, 28S, 29K;
 (xxxvi) 2Aib, 10L, 20R, 27L, 28S, 30K;
 35 (xxxvii) 2Aib, 3H, 10L, 15E, 16K, 20R, 21E, 24A, 27L, 28S;
 (xxxviii) 2Aib, 3H, 10L, 15E, 17K, 20R, 21E, 27L, 28K;
 (xxxix) 2Aib, 3H, 10L, 15E, 20R, 21E, 24A, 27L, 28K;
 (xl) 2Aib, 3H, 10L, 15E, 20R, 21E, 27L, 28K o
 (xli) 2Aib, 3H, 10L, 15E, 20R, 27L, 28K.

59. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho sustituyente tiene la Fórmula II:



45 en donde,

Z₁ representa una estructura de acuerdo con la fórmula IIa;



55 en donde n en la Fórmula IIa es 6-20,

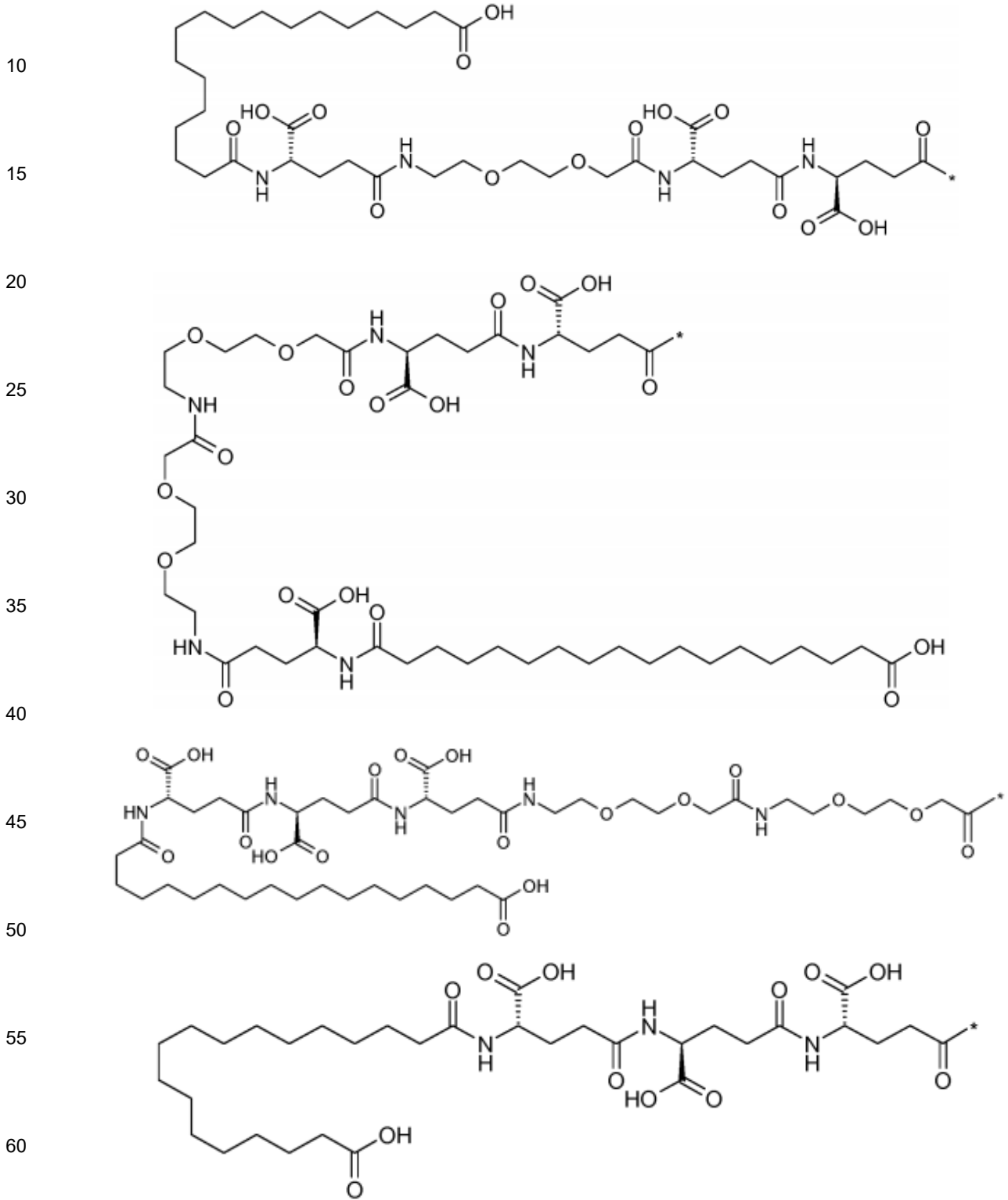
el símbolo * en la fórmula Z₁ representa el punto de unión al nitrógeno del grupo vecino y en donde Z₂, Z₃, Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈, Z₉, Z₁₀ se representan individualmente por los siguientes aminoácidos;

60 Glu, γGlu, Gly, Ser, Ala, Thr, Ado o están ausentes,

en donde al menos dos de los residuos Z₂ a Z₁₀ están presentes,

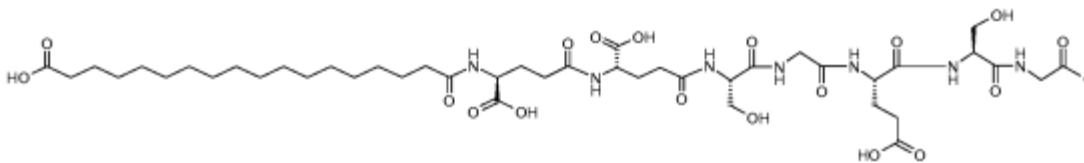
65 en donde dicho sustituyente se une en la posición épsilon de una Lys de la fórmula I y en donde Z₁-Z₂-Z₃-Z₄-Z₅-Z₆-Z₇-Z₈-Z₉-Z₁₀ contienen juntos al menos tres cargas negativas.

60. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 59, en donde n en Z1 de la Fórmula II es 14, 16 o 18.
61. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 59, en donde n en Z1 de la Fórmula II es 14.
- 5 62. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 59, en donde n en Z1 de la Fórmula II es 16.

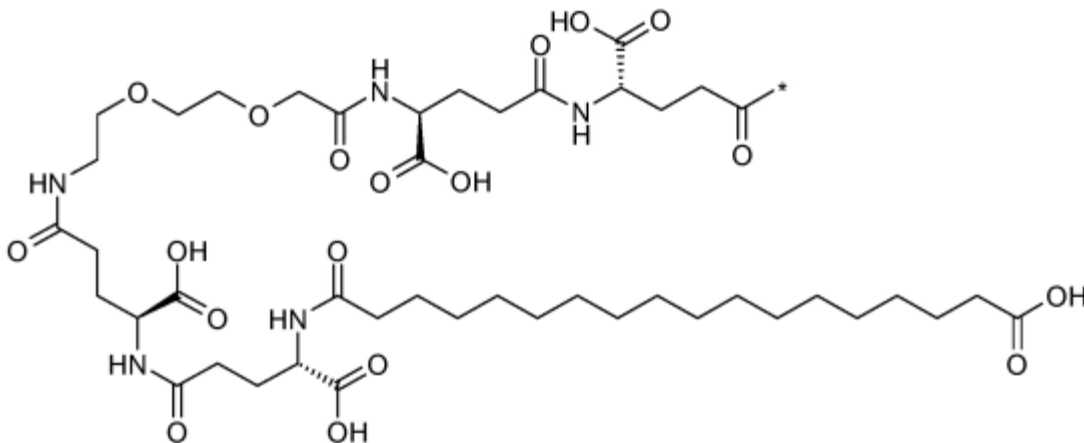


65

5



10



15

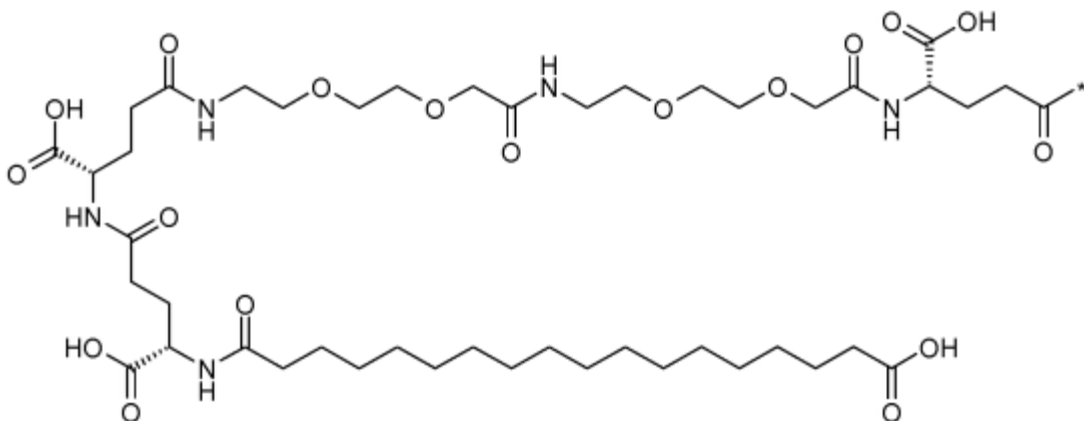
20

25

30

35

40



65. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho sustituyente se une no covalentemente a la albúmina.

45

66. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho sustituyente se carga negativamente a pH fisiológico.

67. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, seleccionado del grupo que consiste en: Quím.1; Quím.2; Quím.3; Quím.4; Quím.5; Quím.6; Quím.7; Quím.8; Quím.9; Quím.10; Quím.11; Quím.12; Quím.13; Quím.14; Quím.15; Quím.16; Quím.17; Quím.18; Quím.19; Quím.20; Quím.21; Quím.22; Quím.23; Quím.24; Quím.25; Quím.26; Quím.27; Quím.28; Quím.29; Quím.30; Quím.31; Quím.32; Quím.33; Quím.34; Quím.35; Quím.36; Quím.37; Quím.38; Quím.39; Quím.40; Quím.41; Quím.42; Quím.43; Quím.44; Quím.45; Quím.46; Quím.47; Quím.48; Quím.49 y Quím.50.

55

Modalidades adicionales se refieren a:

68. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un compuesto protegido frente a la DPPIV.

60

69. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es estable frente a la DPPIV.

70. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón.

65

71. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 10$ nM.
- 5 72. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 1$ nM.
73. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 100$ pM.
- 10 74. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón, con una $EC_{50} < 10$ pM.
75. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1.
- 15 76. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1, con una $EC_{50} < 100$ pM.
- 20 77. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1, con una $EC_{50} < 50$ pM.
78. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1, con una $EC_{50} < 10$ pM.
- 25 79. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 100$ pM y una $EC_{50} < 1$ nM sobre el receptor de glucagón.
- 30 80. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 50$ pM y una $EC_{50} < 1$ nM sobre el receptor de glucagón.
- 35 81. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10$ pM y una $EC_{50} < 1$ nM sobre el receptor de glucagón.
82. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 50$ pM y una $EC_{50} < 100$ pM sobre el receptor de glucagón.
- 40 83. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10$ pM y una $EC_{50} < 100$ pM sobre el receptor de glucagón.
- 45 84. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10$ pM y una $EC_{50} < 50$ pM sobre el receptor de glucagón.
- 50 85. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de GLP-1 con una $EC_{50} < 10$ pM y una $EC_{50} < 10$ pM sobre el receptor de glucagón.
86. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es un coagonista de GLP-1/glucagón con una EC_{50} sobre el receptor de GLP-1 $<$ la EC_{50} sobre el receptor de glucagón.
- 55
- Modalidades de la invención adicionales se refieren a combinaciones:
- 60 87. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en combinación con un compuesto de GLP-1 o un compuesto de insulina.
88. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en combinación con un compuesto de GLP-1.
- 65 89. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades anteriores, en combinación con un compuesto de insulina.

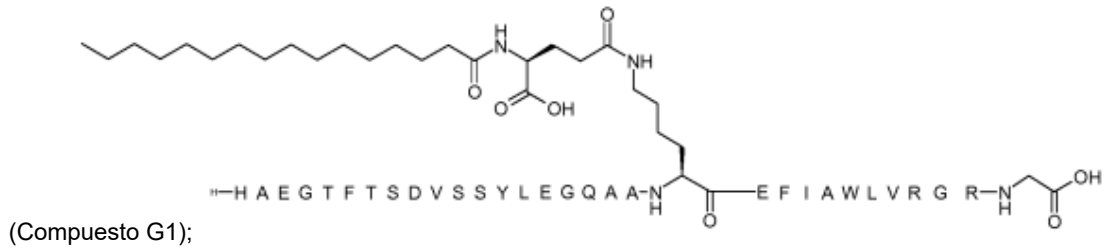
90. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 88, en donde el compuesto de GLP-1 se selecciona del grupo que consiste en:

$N^{\epsilon 26}$ -[(S)-4-carboxi-4-hexadecanoilamino-butiril][Arg34]GLP-1-(7-37):

5

10

15

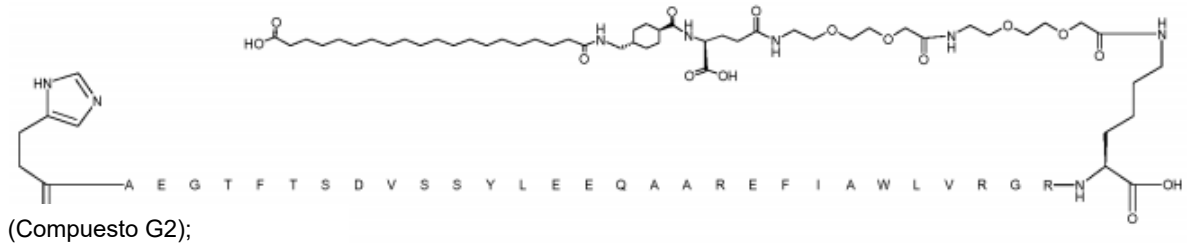


$N^{\epsilon 37}$ -[2-(2-[2-(2-[2-(2-[(S)-4-carboxi-4-((trans-4-[(19-carboxionadecanoilamino)metil]ciclohexanocarbonil)amino)butirilamino]etoxi)etoxi)acetilamino]etoxi)etoxi)acetil][Des aminoHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37):

20

25

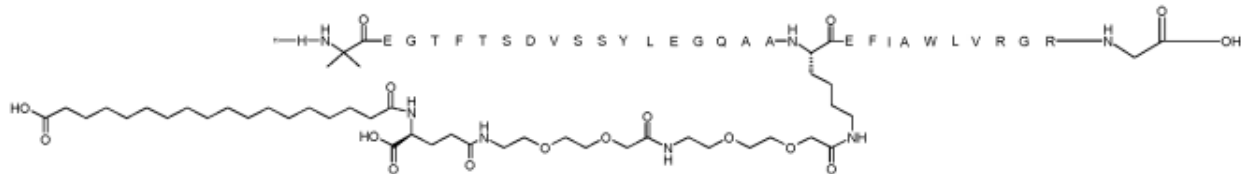
30



$N^{\epsilon 26}$ -[2-(2-[2-(2-[2-(2-[(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butirilamino]etoxi)etoxi)acetilamino]etoxi)etoxi)acetil][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37):

35

40



45

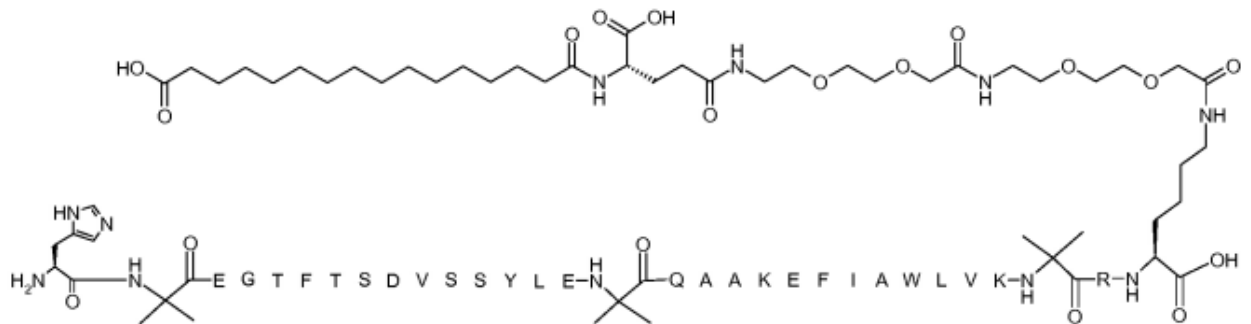
$N^{\epsilon 37}$ -[2-(2-[2-[2-(2-[2-(S)-4-carboxi-4-(15-carboxi-pentadecanoilamino)-butirilamino]-etoxi)-etoxi)-acetilamino]-etoxi)-etoxi)-acetil][Aib8,22,35,Lys37]GLP-1-(7-37):

50

55

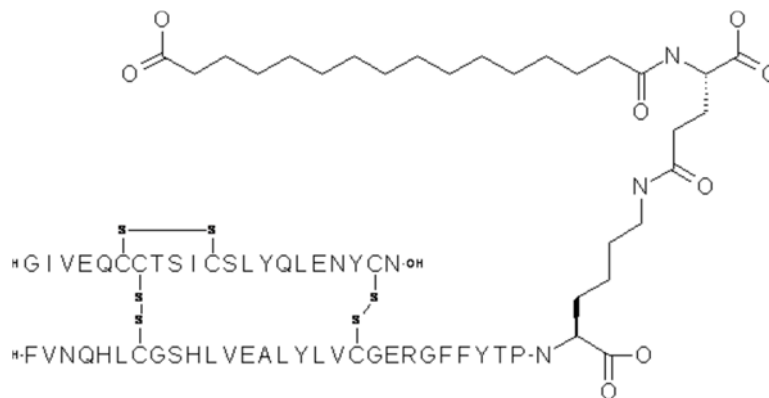
60

65



y sus sales, amidas, alquilos o ésteres aceptables farmacéuticamente de estos.

91. El derivado de glucagón de acuerdo con la modalidad 89, en donde el compuesto de insulina es: N-épsilon-B29-[(S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butiril] desB30 insulina humana



(Compuesto G5);

Otras modalidades de la presente se refieren a composiciones farmacéuticas:

92. Una composición farmacéutica que comprende un derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-91.

93. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad 92, que comprende además uno o más compuestos o sustancias activos terapéuticamente adicionales.

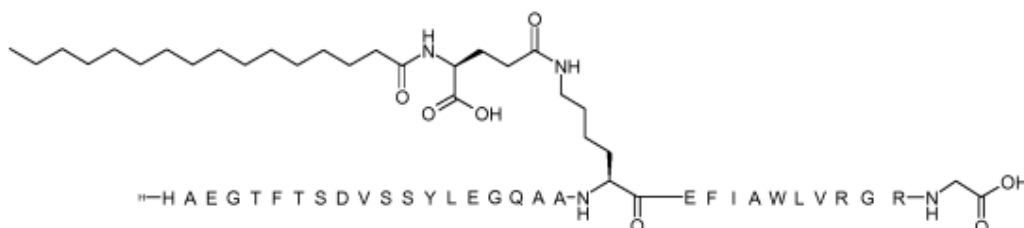
94. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad 93, en donde dicho compuesto activo terapéuticamente adicional es un compuesto de GLP-1 o un compuesto de insulina.

95. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad 94, en donde dicho compuesto activo terapéuticamente adicional es un compuesto de GLP-1.

96. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad 94, en donde dicho compuesto activo terapéuticamente adicional es un compuesto de insulina.

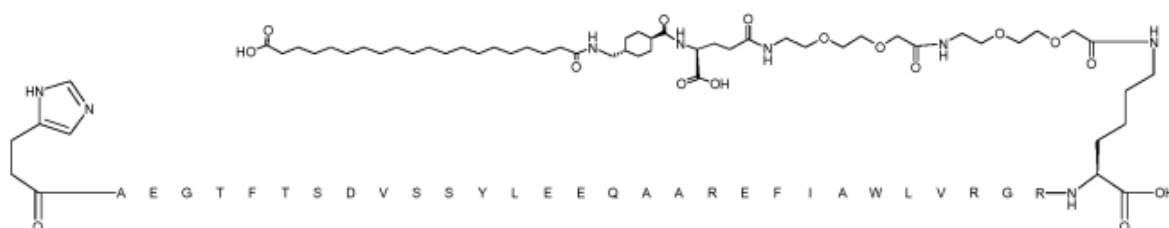
97. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad 95, en donde el compuesto de GLP-1 se selecciona del grupo que consiste en:

N-épsilon26-((S)-4-carboxi-4-hexadecanoilamino-butiril)[Arg34]GLP-1-(7-37):



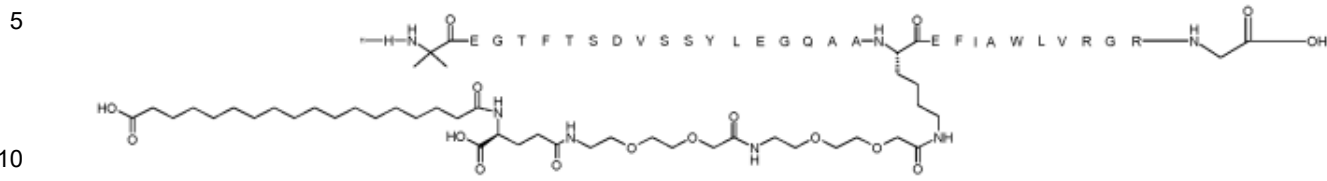
(Compuesto G1);

N-épsilon37-[2-(2-{2-[2-(2-{2-(2-{(S)-4-carboxi-4-((trans-4-[(19-carboxinonadecanoilamino)metil]ciclohexanocarbonil)amino)butirilamino]etoxi)etoxi)acetilamino]etoxi)etoxi)acetil][Des aminoHis7,Glu22,Arg26,Arg34,Lys37]GLP-1-(7-37):



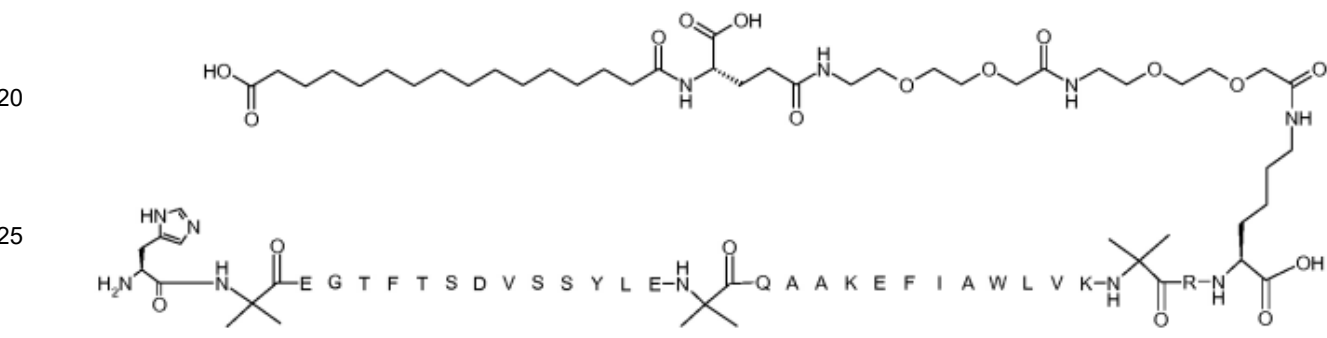
(Compuesto G2);

N-épsilon26-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-carboxi-4-(7-carboxiheptadecanoilamino)butirilamino]etoxi}etoxi)acetilamino]etoxi}etoxi)acetil]]Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37):



(Compuesto G3);

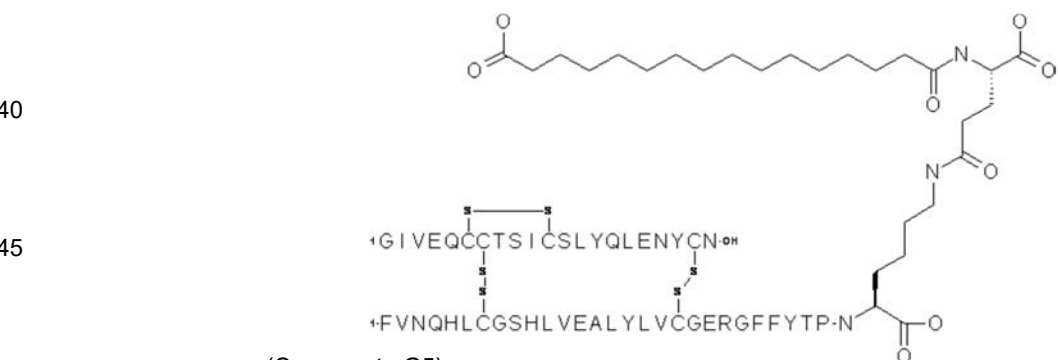
N-épsilon37-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-carboxi-4-(15-carboxi-pentadecanoilamino)-butirilamino]-etoxi}-etoxi)-acetilamino]-etoxi}-etoxi)-acetil]]Aib8,22,35,Lys37]GLP-1-(7-37):



(Compuesto G4);

y sus sales, amidas, alquilo o ésteres aceptables farmacéuticamente de estos.

98. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad 96, en donde el compuesto de insulina es: N-épsilon-B29-[(S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butiril] desB30 insulina humana



(Compuesto G5);

99. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 92-98, en forma de dosificación unitaria que comprende de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 1000 mg, tal como de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 5 mg, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 200 mg, de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91.

100. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 92-99, que es adecuada para la administración parenteral.

101. El derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-91, para su uso en la terapia.

Modalidades adicionales se refieren a lo siguiente:

102. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento o prevención de la hiperglucemia, la diabetes tipo 2, la tolerancia a la glucosa alterada, la diabetes tipo 1 y la obesidad.

103. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el retardo o prevención de la progresión de la enfermedad en la diabetes tipo 2.
- 5 104. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la obesidad o la prevención del sobrepeso.
- 10 105. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en la disminución de la ingestión de alimentos.
- 15 106. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el aumento del gasto de energía.
- 20 107. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en la reducción del peso corporal.
- 25 108. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el retraso de la progresión de la tolerancia a la glucosa alterada (IGT) a la diabetes tipo 2.
- 30 109. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el retardo de la progresión de la diabetes tipo 2 a la diabetes que requiere insulina.
- 35 110. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en la regulación del apetito.
- 40 111. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en inducir saciedad.
- 45 112. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en la prevención de la recuperación del peso después de una pérdida de peso exitosa.
- 50 113. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o estado relacionado con sobrepeso u obesidad.
- 55 114. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la bulimia.
- 60 115. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la sobreingestión compulsiva.
- 65 116. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la aterosclerosis.
117. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la hipertensión.
118. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la diabetes tipo 2.
119. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la tolerancia a la glucosa alterada.
120. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la dislipidemia.
121. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de enfermedades coronarias.

122. El derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en el tratamiento de la esteatosis hepática.

5 Modalidades adicionales se refieren a los siguientes métodos:

10 123. Un método para tratar o prevenir la hipoglucemia, diabetes tipo 2, tolerancia a la glucosa alterada, diabetes tipo 1 y obesidad, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

15 124. Un método para retardar o prevenir la progresión de la enfermedad en la diabetes tipo 2, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

20 125. Un método para tratar la obesidad o prevenir el sobrepeso, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

25 126. Un método para disminuir la ingestión de alimentos, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

30 127. Un método para su uso en el aumento del gasto de energía, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

35 128. Un método para su uso en la reducción del peso corporal, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

40 129. Un método para su uso en retardar la progresión de la tolerancia a la glucosa alterada (IGT) a la diabetes tipo 2, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

45 130. Un método para su uso en retardar la progresión de la diabetes tipo 2 a la diabetes que requiere insulina, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

50 131. Un método para su uso en la regulación del apetito, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

55 132. Un método para su uso en la inducción de saciedad, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

60 133. Un método para su uso en la prevención de la recuperación del peso después de una pérdida de peso exitosa, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

65 134. Un método para su uso en el tratamiento de una enfermedad o estado relacionado con sobrepeso u obesidad, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

70 135. Un método para su uso en el tratamiento de la bulimia, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.

136. Un método para su uso en el tratamiento de la sobreingestión compulsiva, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 5 137. Un método para su uso en el tratamiento de la aterosclerosis, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 10 138. Un método para su uso en el tratamiento de la hipertensión, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 15 139. Un método para su uso en el tratamiento de la diabetes tipo 2, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 20 140. Un método para su uso en el tratamiento de la tolerancia a la glucosa alterada, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 25 141. Un método para su uso en el tratamiento de la dislipidemia, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 30 142. Un método para su uso en el tratamiento de enfermedades coronarias, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- 30 143. Un método para su uso en el tratamiento de la esteatosis hepática, que comprende administrar a un paciente que lo necesita, una cantidad eficaz de un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-91, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales.
- Modalidades adicionales se refieren a los siguientes usos:
- 35 144. El uso de un derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-91, para la preparación de un medicamento.
- 40 145. El uso de un derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-91 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la hiperglucemia, la diabetes tipo 2, la tolerancia a la glucosa alterada, la diabetes tipo 1 y la obesidad.
- 45 146. El uso de un derivado de glucagón de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-91, para la preparación de un medicamento para retrasar o prevenir la progresión de la enfermedad en la diabetes tipo 2, tratar la obesidad o prevenir el sobrepeso, para disminuir la ingestión de alimentos, aumentar el gasto de energía, reducir el peso corporal, retrasar la progresión de la tolerancia a la glucosa alterada (IGT) a la diabetes tipo 2; retardar la progresión de la diabetes tipo 2 a la diabetes que requiere insulina; regulación del apetito; inducción de saciedad; prevenir la recuperación del peso después de una pérdida de peso exitosa; tratar una enfermedad o estado relacionado con sobrepeso u obesidad; tratar la bulimia; tratar la sobreingestión compulsiva; tratar la aterosclerosis, la hipertensión, la diabetes tipo 2, la IGT, la dislipidemia, la enfermedad coronaria, la esteatosis hepática, el tratamiento del envenenamiento con beta-bloqueadores, el uso para la inhibición de la motilidad del tracto gastrointestinal, útil en relación con investigaciones del tracto gastrointestinal mediante el uso de técnicas tales como rayos X, exploraciones por CT y RMN.
- 50 147. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene más de 70 % de recuperación en el ensayo de fibrilación con ThT.
- 55 148. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene más de 90 % de recuperación en el ensayo de fibrilación con ThT.
- 60 149. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene aproximadamente 100 % de recuperación en el ensayo de fibrilación con ThT.
- 65 150. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene más de 7 horas de tiempo de retraso en el ensayo de fibrilación con ThT.

151. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene más de 20 horas de tiempo de retraso en el ensayo de fibrilación con ThT.
- 5 152. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene 45 horas de tiempo de retraso o más en el ensayo de fibrilación con ThT.
153. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 14 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
- 10 154. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 13 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
155. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 12 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
- 15 156. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 10 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
157. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 9 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
- 20 158. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 7 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
- 25 159. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 5 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
160. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 3 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
- 30 161. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón tiene menos de 2 % de degradación en el ensayo de estabilidad química.
- 35 162. Un derivado de glucagón de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho derivado de glucagón es tan selectivo para el receptor de glucagón como para el receptor de GLP-1.

EJEMPLOS

40 La invención se ilustra adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos, que no pretenden limitar de ninguna manera el alcance de la invención como se reivindica.

Lista de abreviaturas

BOC:	terc-butiloxicarbonilo
45 DCM:	Diclorometano
DIC:	Diisopropilcarbodiimida
Fmoc:	9-fluorenilmetiloxicarbonilo
HOAt:	1-hidroxi-7-azabenzotriazol
HPLC:	Cromatografía líquida de alto rendimiento
50 LCMS:	Cromatografía líquida Espectrometría de masas
MeCN:	Acetonitrilo
Mtt:	4-Metiltrilito
NMP:	N-metil pirrolidona
Oxima Pura:	Éster etílico del ácido ciano-hidroxiimino-acético
55 RP:	Fase inversa
RP-HPLC:	Cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa
RT:	Temperatura ambiente
Rt:	Tiempo de retención
SPPS:	Síntesis de péptidos en fase sólida
60 TFA:	Ácido trifluoroacético
TIPS:	Triisopropilsilano
UPLC:	Cromatografía líquida de ultra rendimiento

Métodos generales

65

Esta sección se refiere a métodos para la síntesis de péptidos unidos a resinas (métodos SPPS, lo que incluye 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 y UPLC).

- 5 Los compuestos en los Ejemplos 1-73 en la presente descripción se prepararon, purificaron y analizaron de acuerdo con los procedimientos descritos más abajo.

Métodos generales de SPPS

- 10 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, Fmoc-Val-OH y Fmoc-Lys(Mtt)-OH suministrados por, por ejemplo, Anaspec, Bachem, Iris Biotech, o NovabioChem.

- 15 El aminoácido N terminal se protege con Boc en el grupo alfa amino (por ejemplo, se usó Boc-His(Trt)OH para los péptidos con His en el N-terminal).

- 20 La introducción del sustituyente en el nitrógeno épsilon de una Lisina se logró mediante el uso de una Lisina protegida con Mtt (Fmoc-Lys(Mtt)-OH). Para la introducción del sustituyente se usaron bloques de construcción protegidos adecuadamente tales como ácido Fmoc-8-amino-3,6-dioxaoctanoico, Fmoc-Glu-OtBu, así como también los aminoácidos estándar protegidos anteriormente. La introducción de la porción de ácido graso se logró mediante el uso del mono-terc-butil-éster del ácido octadecanodioico.

- 25 La SPPS se realizó en un sintetizador de péptidos en fase sólida Prelude de Protein Technologies (Tucson, AZ 85714, EE.UU) a una escala de 100 o 250 μ mol mediante el uso de un exceso de seis veces de Fmoc-aminoácidos (300 mM en NMP con HOAt 300 mM u Oxima Pura®) con respecto a la carga de resina. Se usó resina H-Rink Amide-ChemMatrix (carga, por ejemplo, 0,52 nmol/g) o resina Rink Amide AM poliestireno (Novabiochem, carga, por ejemplo 0,62 mmol/g) como soporte sólido. La desprotección de Fmoc se realizó mediante el uso de piperidina al 20 % en NMP. El acoplamiento se realizó mediante el uso de 3 : 3 : 3 : 4 aminoácido/(HOAt u Oxyma Pure®)/DIC/colidina en NMP. Se realizaron lavados superiores con NMP y DCM (7 ml, 0,5 min, 2 x 2 cada uno) entre las etapas de desprotección y acoplamiento. Los tiempos de acoplamiento fueron generalmente de 60 minutos. Algunos aminoácidos, lo que incluye, pero no se limita a, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Aib-OH o Boc-His(Trt)-OH, así como también los bloques de construcción que conducen al sustituyente estaban "acoplados 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 Oxima Pura®), DIC y colidina), y la mezcla se deja reaccionar de nuevo (por ejemplo, 60 minutos). El grupo Mtt se eliminó mediante el lavado de la resina con HFIP/DCM (75:25) (2 x 2 min), se lavó con DCM y se suspendió la resina en HFIP/DCM (75:25) (2 x 20 min) y se lavó posteriormente en secuencia con Piperidina/NMP (20:80), DCM(1x), NMP(1x), DCM(1x), NMP(1x).

- 40 Escisión de la resina

- 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) seguido por precipitación con éter dietílico. El precipitado se lavó con éter dietílico.

Purificación y cuantificación

- 50 El péptido crudo se disolvió en una mezcla adecuada de agua y MeCN tal como agua/MeCN (4:1) y se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (Waters Deltaprep 4000 o Gilson) en una columna que contenía gel de sílice C18. La elución se realizó con un gradiente creciente de MeCN en agua que contenía TFA al 0,1 %. Las fracciones relevantes se revisan mediante HPLC analítica o UPLC. Las fracciones que contenían el péptido objetivo puro se agruparon y se concentraron a presión reducida. La solución resultante se analizó (HPLC, LCMS) y el producto se cuantificó mediante el uso de un detector de quimioluminiscencia específico para nitrógeno de HPLC (Antek 8060 HPLC-CLND) o mediante la medición de la absorción UV a 280 nm. El producto se dispensa en viales de vidrio. Los viales se taponan con prefiltros de fibra de vidrio Millipore. La liofilización proporciona el trifluoroacetato peptídico como un sólido blanco.

Métodos para la detección y caracterización

- 60 Métodos de LCMS

Método: LCMS_4

- 65 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.

ES 2 754 048 T3

Eluyentes:

A: Ácido fórmico al 0,1 % en agua

5 B: Ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo

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

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

15 *Método: LCMS01v01*

20	Sistema	Sistema de LC: Waters Acquity UPLC Columna: Waters Acquity UPLC BEH, C-18, 1,7 µm, 2,1 mm x 50 mm Detector: LCT Premier XE de Waters (Micromass)
25	Configuración del detector	Método de ionización: ES Intervalo de barrido: 500 – 2000 amu Modo de funcionamiento: Modo W positivo/negativo: modo positivo Voltaje del Cono: 50 V Tiempo de barrido 1 Demora entre barridos: 0,0
30	Condiciones	Gradiente lineal: B 5 % a 95 % Tiempo de ejecución del gradiente: 4,0 minutos Tiempo de ejecución total: 7,0 minutos Tasa de flujo: 0,4 ml/min Temperatura de la columna: 40 °C
35	Eluyentes	Solvente A: 99,90 % agua MQ, 0,1 % ácido fórmico Solvente B: 99,90 % acetonitrilo, 0,1 % ácido fórmico Solvente C: NA
40	Descripción y validación de resultados	Masa encontrada es la masa encontrada del compuesto M/z encontrada es el ion molecular encontrado ((M+z)/z) del compuesto Masa calculada es el peso molecular del compuesto deseado M/z calculada es el peso molecular (M+z)/z del compuesto deseado

Método: LCMS13v01

45	Sistema	Sistema: Waters Acquity UPLC SQD 2000 Columna: Acquity UPLC BEH 1,7 µ C18 100 Å 2,1 x 100 mm Detector: UV: PDA, SQD 2000
50	Configuración del detector	Método de ionización: ES+ Intervalo de barrido: 500-2000 Voltaje del Cono: 60 V Tiempo de barrido 0,5
55	Condiciones	Gradiente lineal: B 10 % a 90 % Tiempo de ejecución del gradiente: 3 min Tiempo de ejecución total: 4 min Tasa de flujo: 0,3 ml/min
60	Eluyentes	Solvente A: 99,90 % H2O, 0,1 % TFA Solvente B: 99,90 % CH3CN, 0,1 % TFA Solvente C: NA
60	Descripción y validación de resultados	Masa encontrada es la masa encontrada del compuesto M/z encontrada es el ion molecular encontrado ((M+z)/z) del compuesto Masa calculada es el peso molecular del compuesto deseado M/z calculada es el peso molecular (M+z)/z del compuesto deseado

Métodos de UPLC

65 *Método: 04_A9_1*

ES 2 754 048 T3

El análisis RP se realizó mediante el uso de un sistema UPLC de Waters ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se recogieron mediante el uso de una columna ACQUITY UPLC BEH Shield RP18, C18, 1,7 µm, 2,1 mm x 150 mm, 60 °C.

5 El sistema UPLC se conectó a dos recipientes de eluyente que contenían:

A: Na₂SO₄ 200 mM + Na₂HPO₄ 20 mM + NaH₂PO₄ 20mM en 90 % H₂O/10 % CH₃CN, pH 7,2;

B: 70 % CH₃CN, 30 % H₂O.

10 Se usó el siguiente gradiente por etapas: 90 % A, 10 % B a 80 % A, 20 % B durante 3 minutos, 80 % A, 20 % B a 50 % A, 50 % B durante 17 minutos a una tasa de flujo de 0,40 ml/min.

Método: 09_B2_1

15 El análisis RP se realizó mediante el uso de un sistema UPLC de Waters ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se recogieron mediante el uso de una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1,7 µm, 2,1 mm x 150 mm, 40 °C.

20 El sistema UPLC se conectó a dos recipientes de eluyente que contenían:

A: 99,95 % H₂O, 0,05 % TFA;

B: 99,95 % CH₃CN, 0,05 % TFA.

25 Se usó el siguiente gradiente lineal: 95 % A, 5 % B a 40 % A, 60 % B durante 16 minutos a una tasa de flujo de 0,40 ml/min.

Método: 09_B4_1

30 El análisis RP se realizó mediante el uso de un sistema UPLC de Waters ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se recogieron mediante el uso de una columna ACQUITY UPLC BEH130, C18, 130 Å, 1,7 µm, 2,1 mm x 150 mm, 40 °C.

35 El sistema UPLC se conectó a dos recipientes de eluyente que contenían:

A: 99,95 % H₂O, 0,05 % TFA;

B: 99,95 % CH₃CN, 0,05 % TFA.

40 Se usó el siguiente gradiente lineal: 95 % A, 5 % B a 5 % A, 95 % B durante 16 minutos a una tasa de flujo de 0,40 ml/min.

Método: 10_B4_1

45 El análisis RP se realizó mediante el uso de un sistema UPLC de Waters ajustado con un detector de doble banda. Las detecciones UV a 214 nm y 254 nm se recogieron mediante el uso de una columna ACQUITY UPLC BEH C18, 1,7µm, 2,1 mm x 150 mm, 40 °C.

50 El sistema UPLC se conectó a dos recipientes de eluyente que contenían:

A: 99,95 % H₂O, 0,05 % TFA;

B: 99,95 % CH₃CN, 0,05 % TFA.

55 Se usó el siguiente gradiente lineal: 95 % A, 5 % B a 5 % A, 95 % B durante 16 minutos a una tasa de flujo de 0,40 ml/min.

Método: UPLC01v01

60	Sistema	Sistema: Sistema Waters Acquity UPLC Columna: Columna ACQUITY UPLC BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 150 mm Detectores: Detector TUV Waters Acquity
65	Configuración del detector	214 nm y 254 nm

ES 2 754 048 T3

Condiciones	Gradiente lineal: 5 % a 60 % B Tiempo de ejecución del gradiente: 16 minutos Tiempo de ejecución total: 20 minutos Tasa de flujo: fijada a 0,40 ml/min Temperatura de la columna: 40 °C
Eluyentes	Solvente A: 99,95 % Agua, 0,05 % Ácido trifluoroacético Solvente B: 99,95 % Acetonitrilo, 0,05 % Ácido trifluoroacético

5

10 *Método: UPLC02v01*

Sistema	Sistema: Sistema Waters Acquity UPLC Columna: Columna ACQUITY UPLC BEH C18, 1,7 um, 2,1 x 150 mm Detectores: Detector TUV Waters Acquity
Configuración del detector	214 nm y 254 nm
Condiciones	Gradiente lineal: 5 % a 95 % B Tiempo de ejecución del gradiente: 16 minutos Tasa de flujo: fijada a 0,40 ml/min Temperatura de la columna: 40 °C
Eluyentes	Solvente A: 99,95 % Agua, 0,05 % Ácido trifluoroacético Solvente B: 99,95 % Acetonitrilo, 0,05 % Ácido trifluoroacético

15

20

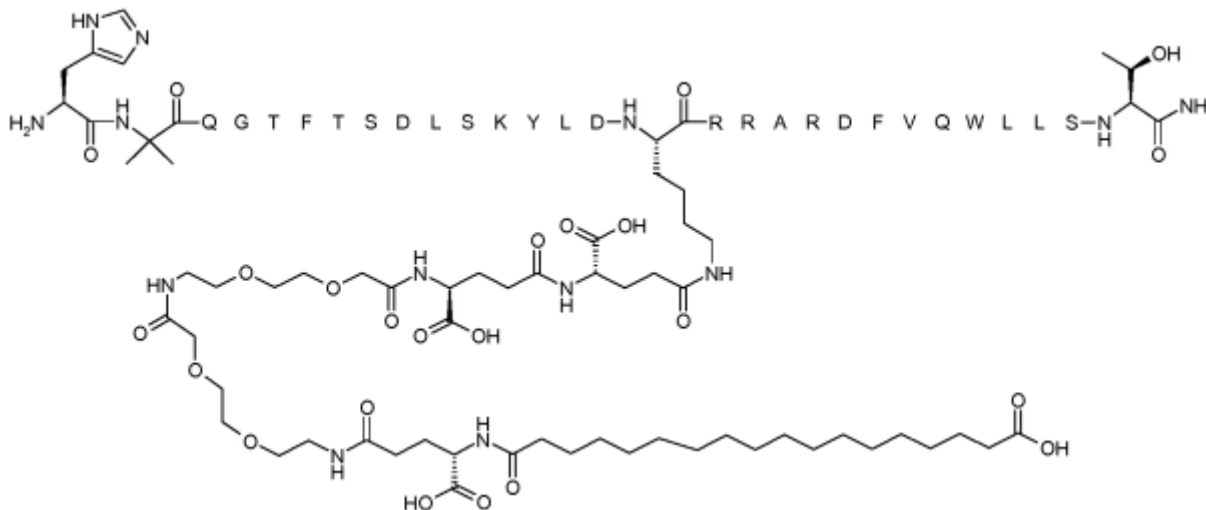
25

Ejemplo 1

30

N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28]-Glucagón amida

35



40

45

50

55 Método de UPLC: 04_A9_1; Rt= 15,8 min

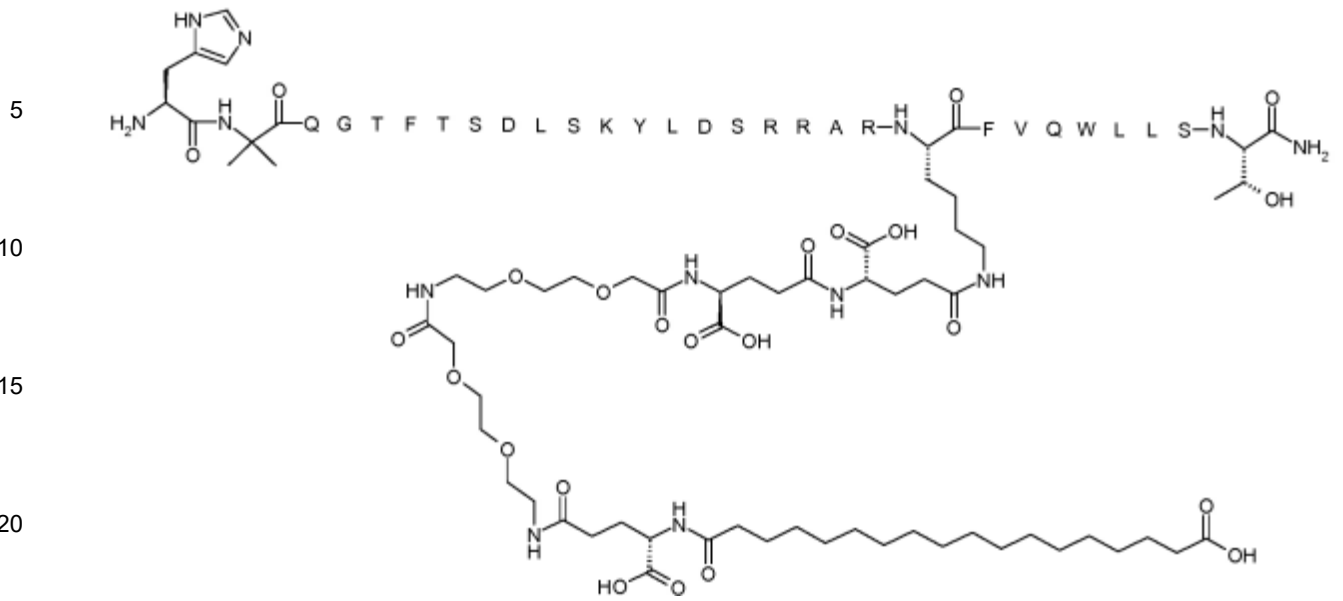
Método de LC-MS: LCMS_4; Rt=2,3 min; m/3: 1429; m/4: 1108; m/5: 887

Método de UPLC: 10_B4_1; Rt= 8,2 min

60 Ejemplo 2

N^{ε21}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28]-Glucagón amida

65



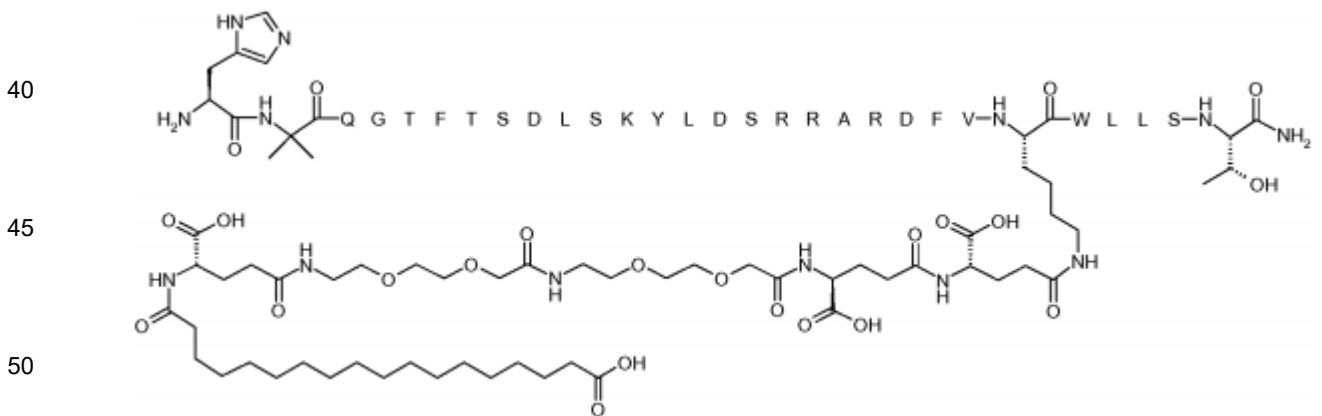
25 Método de UPLC: 10_B4_1; Rt= 8,18 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt= 17,4 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt=2,29; m/3:1468; m/4: 1101; m/5: 885

30 Ejemplo 3

35 N^{ε24}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28]-Glucagón amida



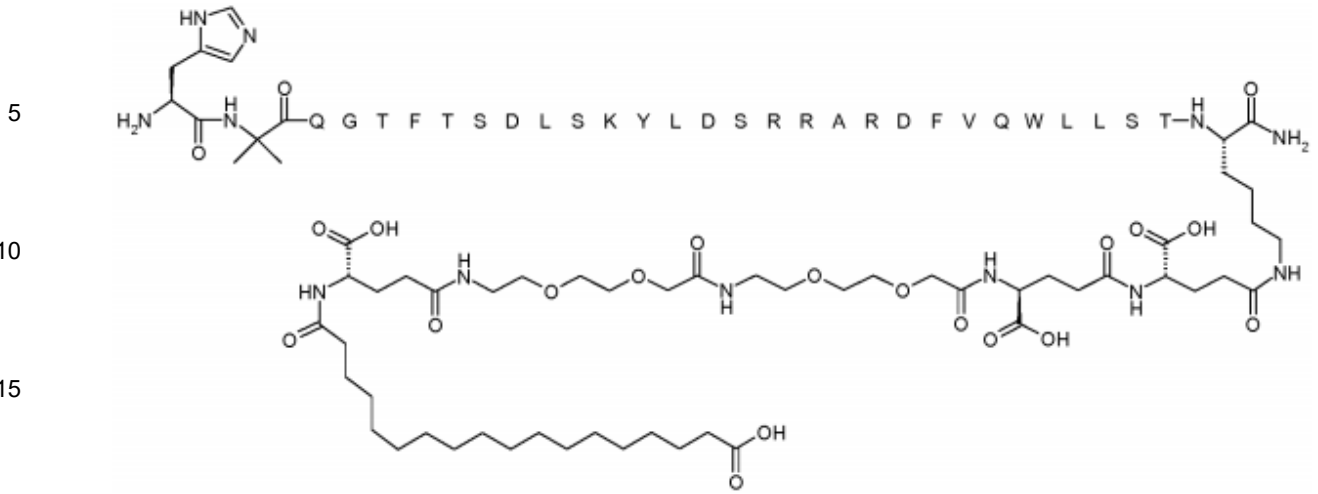
55 Método de UPLC: 09_B4_1; Rt= 8,4 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt= 17,4 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt=2,4 min; m/3:1464; m/4: 1098; m/5: 879

60 Ejemplo 4

65 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



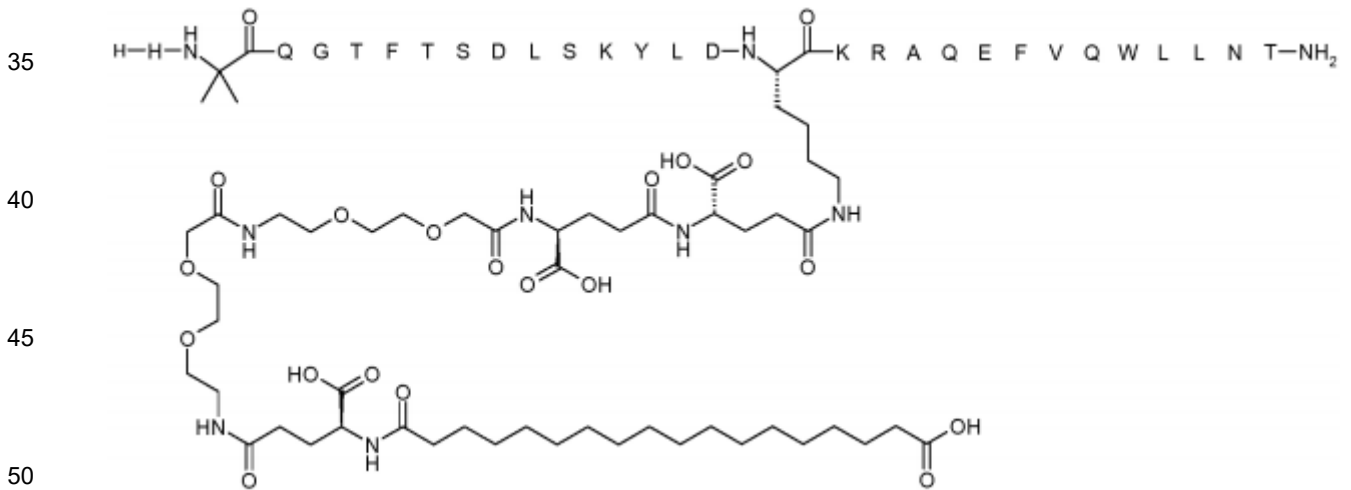
Método de UPLC: 10_B4_1; Rt= 8,0 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt= 14,2 min

25 Método de LC-MS: LCMS_4; Rt=2,3 min; m/4:1130; m/5: 904; m/6: 754

Ejemplo 7

30 N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27]-Glucagón amida



Método de UPLC: 10_B4_1; Rt = 8,3 min

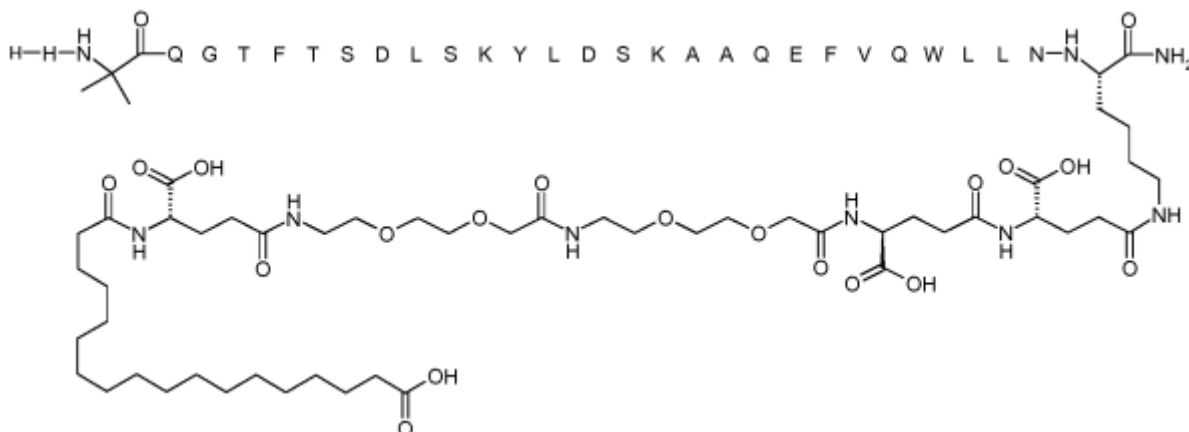
55 Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 15,3 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,3 min, m/3: 1472; m/4:1104; m/5:883

Ejemplo 8

60 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

65



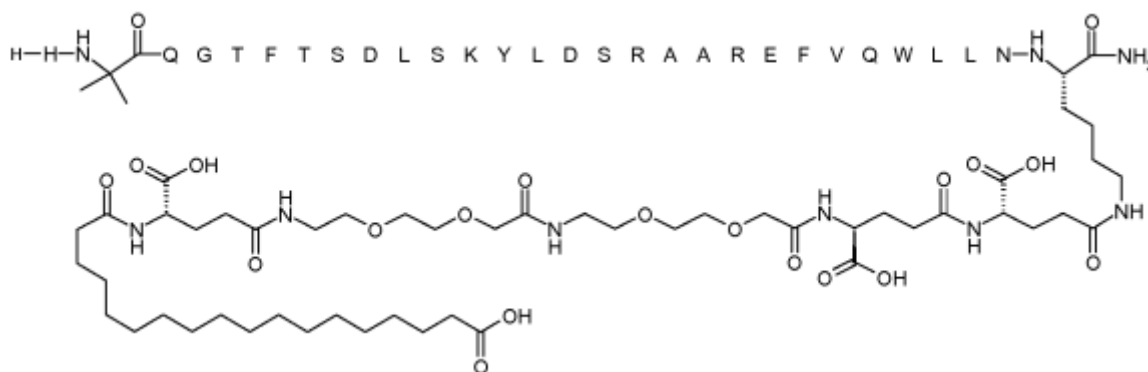
Método de UPLC: 10_B4_1; Rt = 8,9 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 16,2 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,3 min, m/3: 1439; m/4: 1079; m/5: 863

Ejemplo 9

N^ε₂₉-(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida



Método de UPLC: 10_B4_1; Rt = 8,6 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 16,7 min

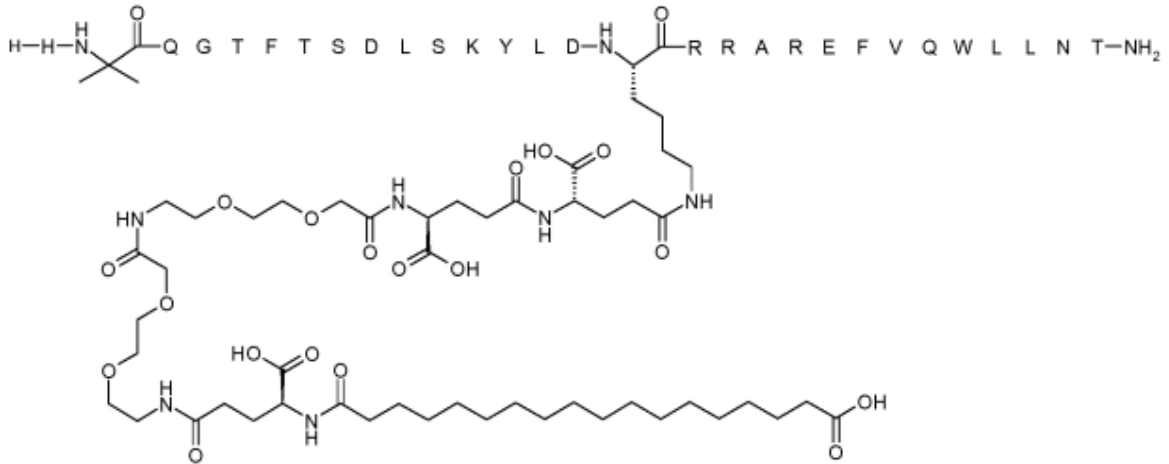
Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,3 min, m/3: 1458; m/4: 1093; m/5: 875

Ejemplo 10

N^ε₁₆-(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27]-Glucagón amida

60

65



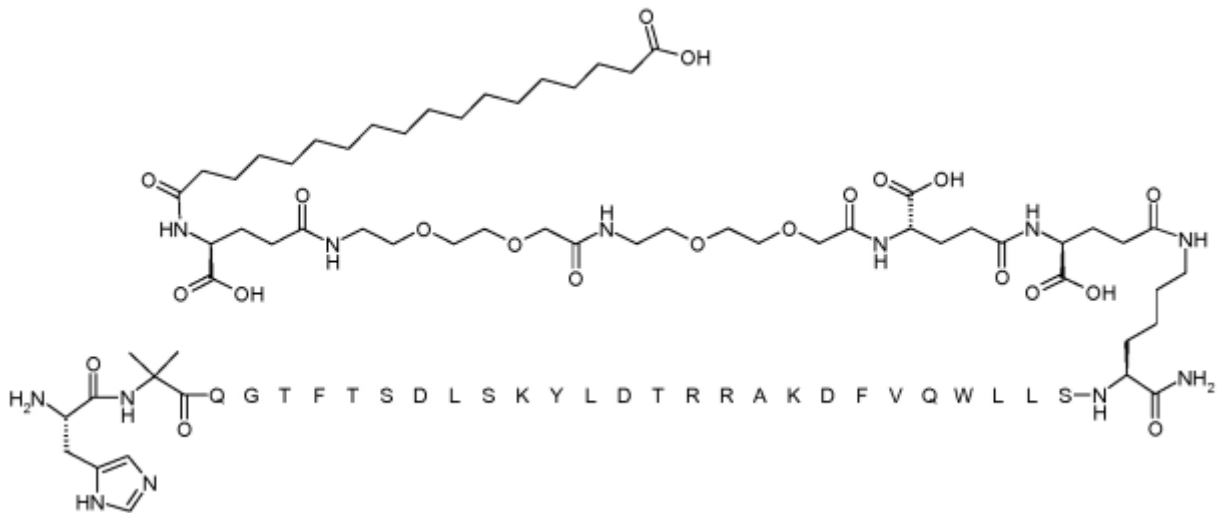
20 Método de UPLC: 10_B4_1; Rt = 8,0 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 16,6 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,2 min, m/3: 1491; m/4: 1118; m/5: 895

25 Ejemplo 11

30 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida



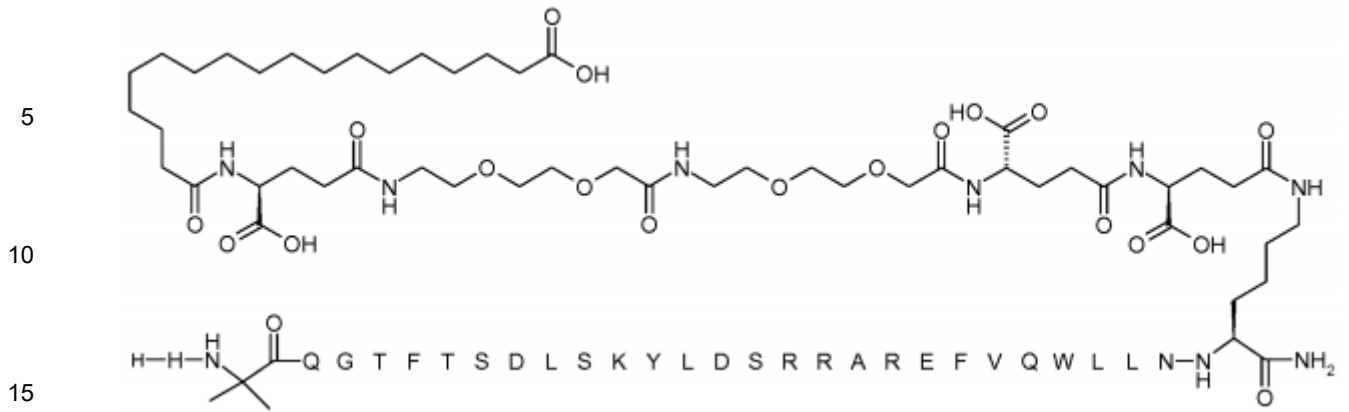
Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,5 min

55 Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,28 min; m/6: 734

Ejemplo 12

60 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

65



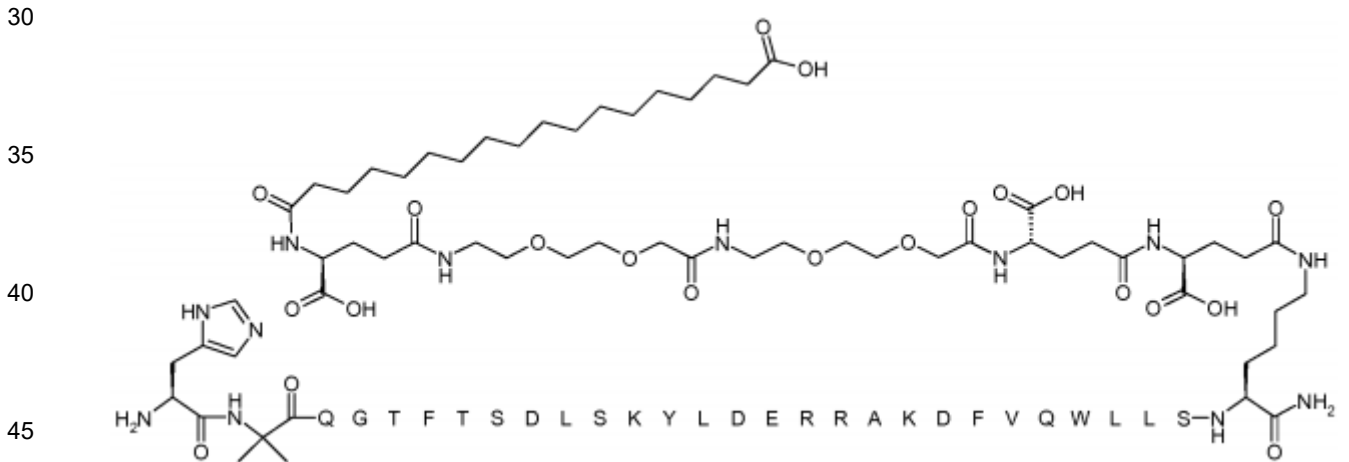
Método de UPLC: 09_B4_1; Rt = 8,0 min

20 Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 14,7 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,2 min, m/3: 1486; m/4: 1115; m/5: 892

Ejemplo 13

25 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida



50 Método de UPLC: 09_B2_1; Rt= 12,4 min

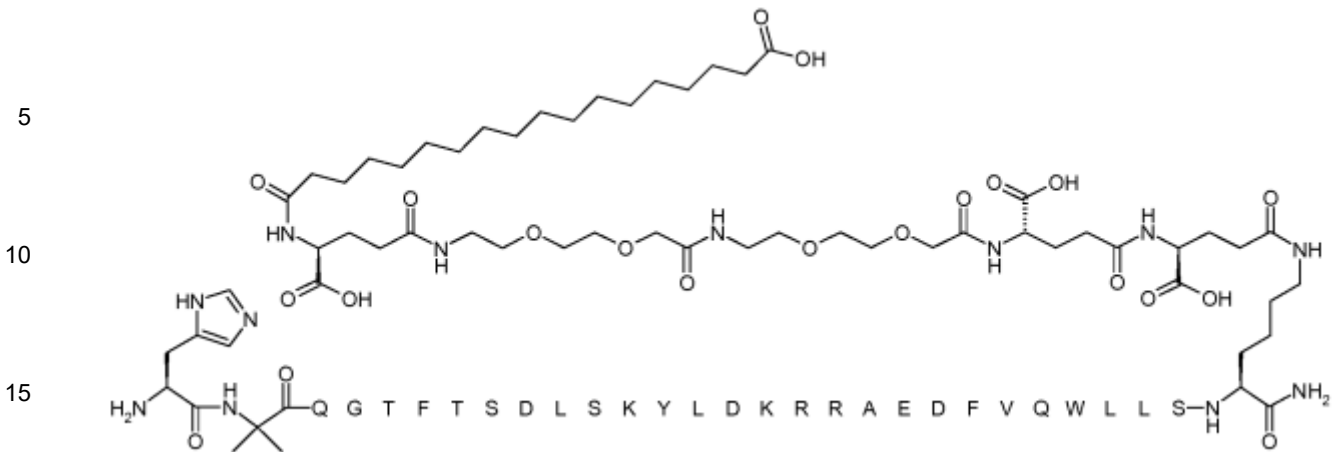
Método de LC-MS: LCMS_4; Rt=2,2 min; m/6: 739

Ejemplo 14

55 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

60

65



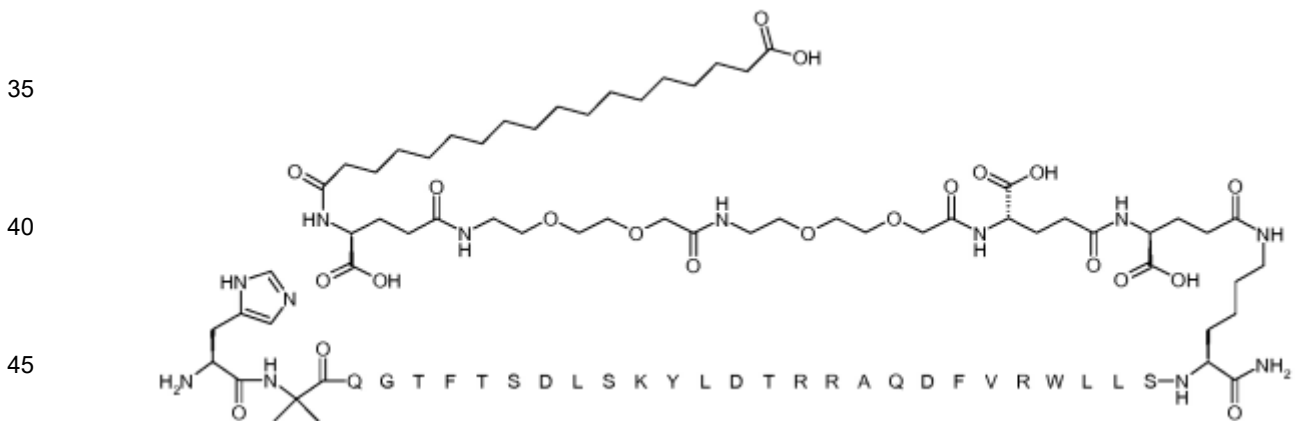
20 Método de UPLC: 09_B2_1; Rt= 12,5 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt= 13,4 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt=2,3 min; m/3: 1108; m/4: 1006; m/5: 886

25 Ejemplo 15

30 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida



50 Método de UPLC: 09_B2_1; Rt= 12,4 min

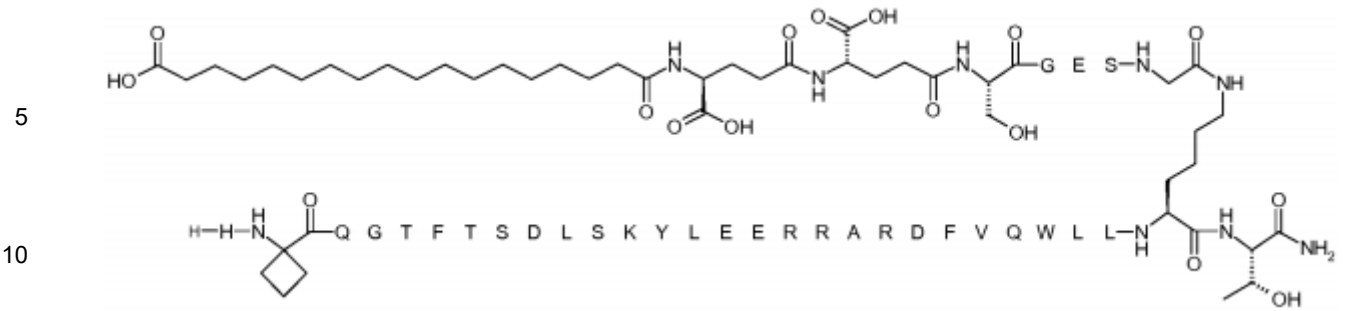
Método de UPLC: 04_A9_1; Rt= 16,1 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt=2,3 min; m/3: 1477; m/4: 1108; m/5: 886

55 Ejemplo 16

60 N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65

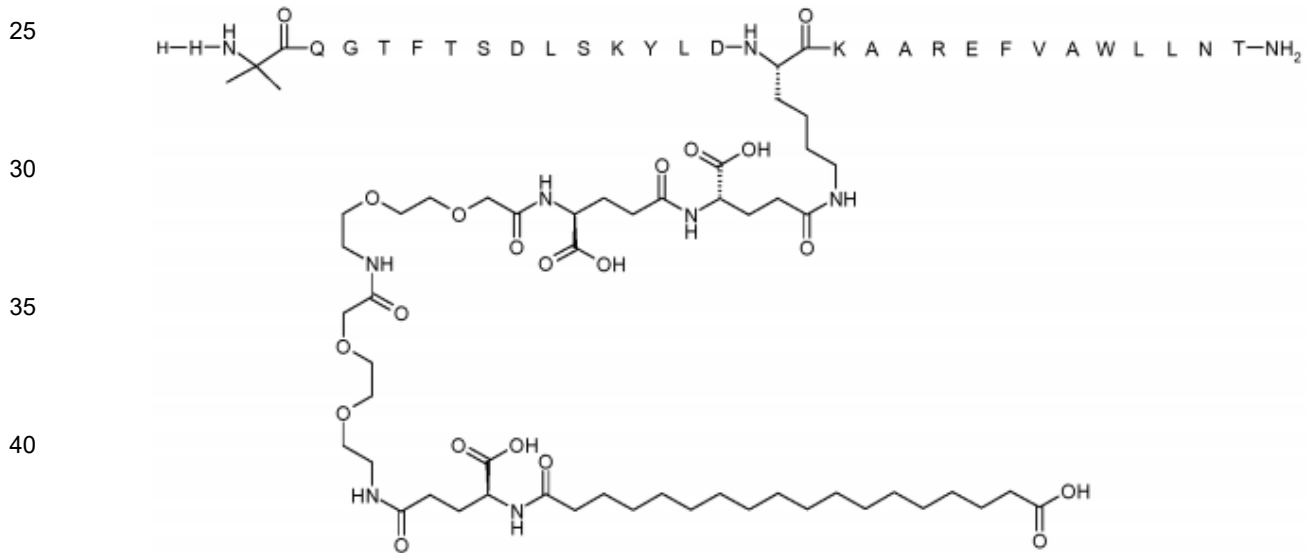


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt=7,9 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt=2,1 min; m/3: 1499; m/4: 1124; m/5: 900

Ejemplo 17

20 N^ε₂₉-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida



Método de UPLC: 09_B4_1; Rt = 8,5 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 15,6 min

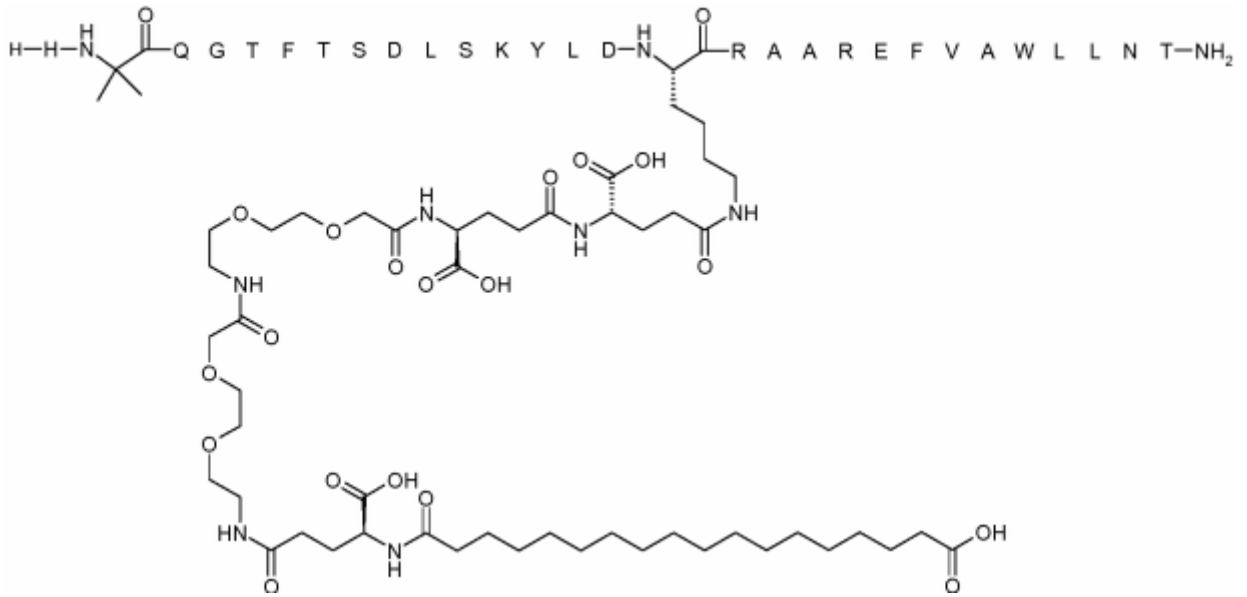
50 Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,3 min, m/3: 1433; m/4: 1075; m/5: 860

Ejemplo 18

55 N^ε₂₉-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida

60

65



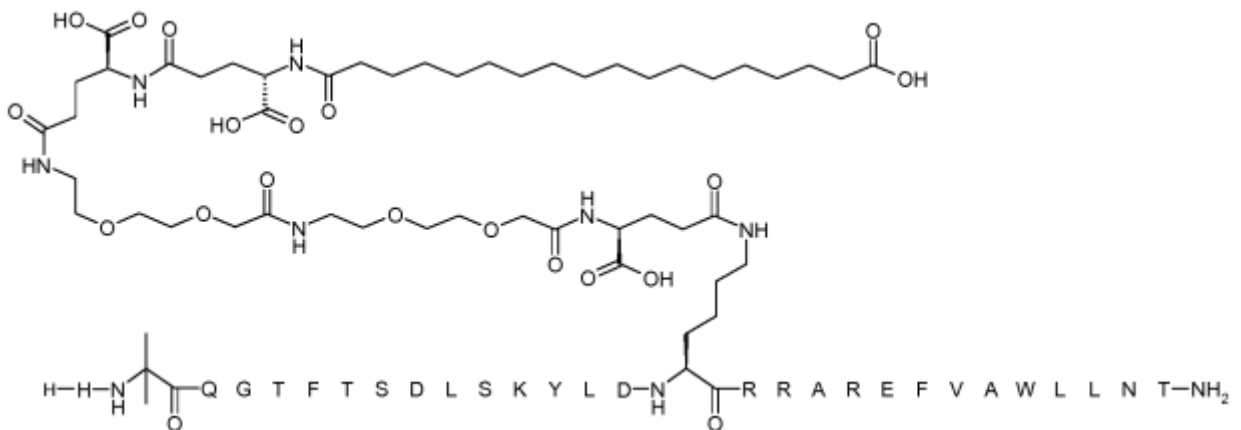
25 Método de UPLC: 09_B4_1; Rt = 8,4 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 16,0 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,3 min, m/3: 1443; m/4: 1082; m/5: 866

30 Ejemplo 19

35 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida



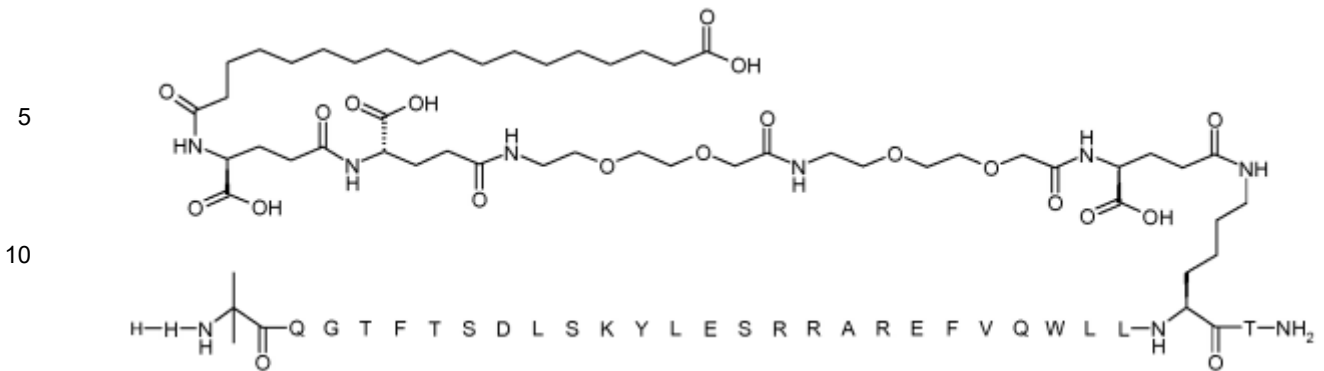
55 Método de UPLC: UPLC01v01: Rt = 12,2 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt = 1,9 min, m/3 1471; m/4 1103; m/5 882

Ejemplo 20

60 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65

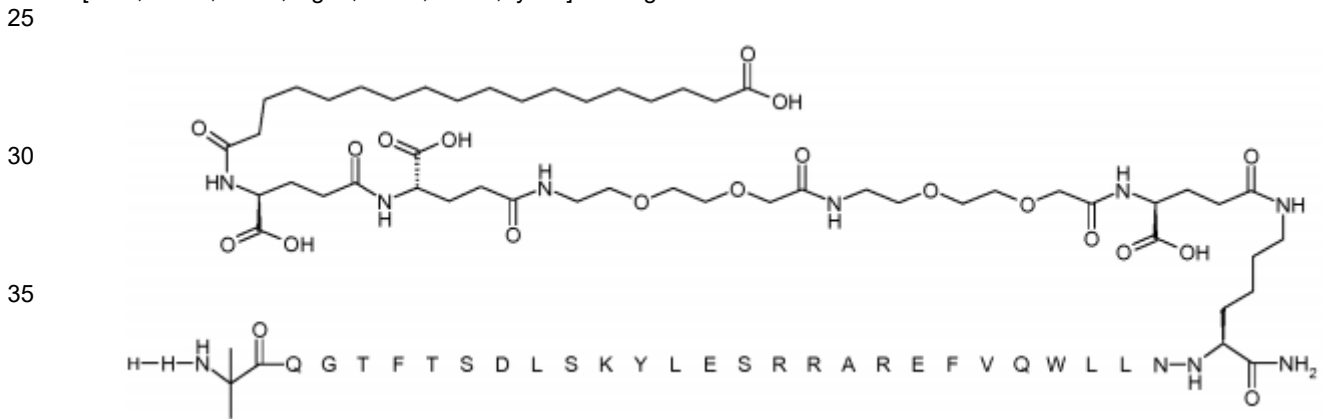


Método de UPLC: UPLC01v01: Rt = 12,3 min

Método de LC-MS: LCMS01v01:Rt = 1,8 min, m/3 1485; m/4 1114; m/5 891

20 Ejemplo 21

N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

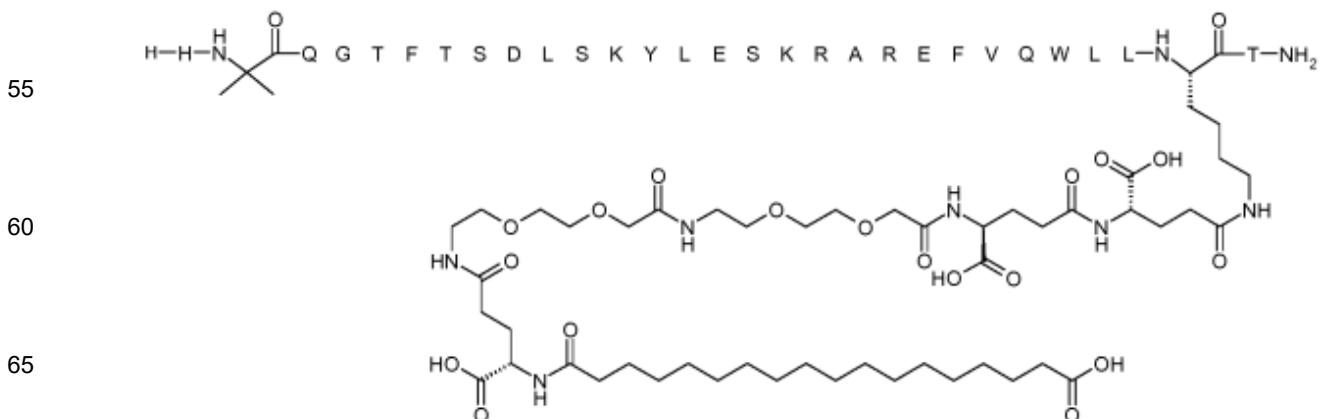


Método de UPLC: UPLC01v01: Rt= 12,1 min

Método de LC-MS: Rt = 1,8 min, m/3 1490; m/4 1117; m/5 894

45 Ejemplo 22

N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



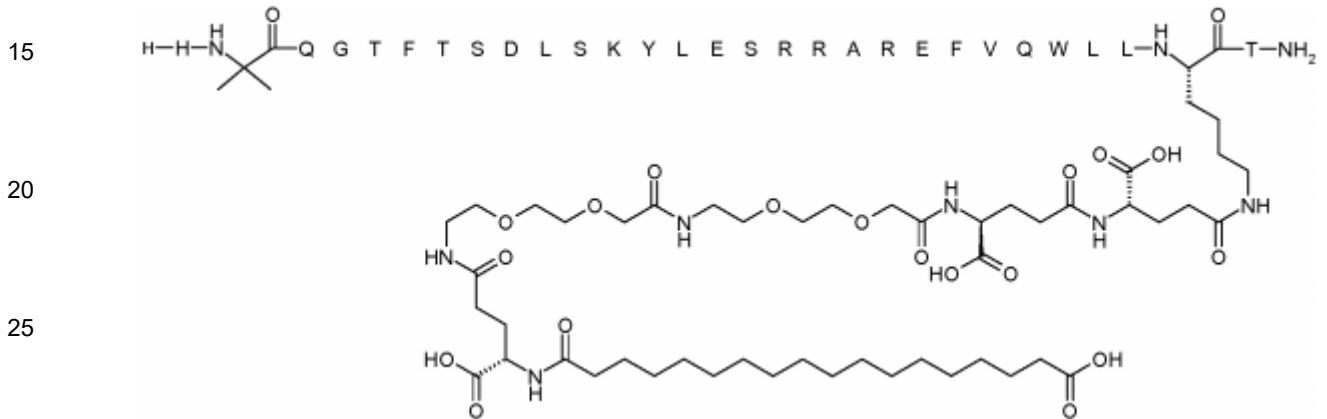
Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,5 min

Método de UPLC: 04_A10_1; Rt = 9,7 min

5 Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,6 min, m/3: 1476; m/4: 1107; m/5: 886

Ejemplo 23

10 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



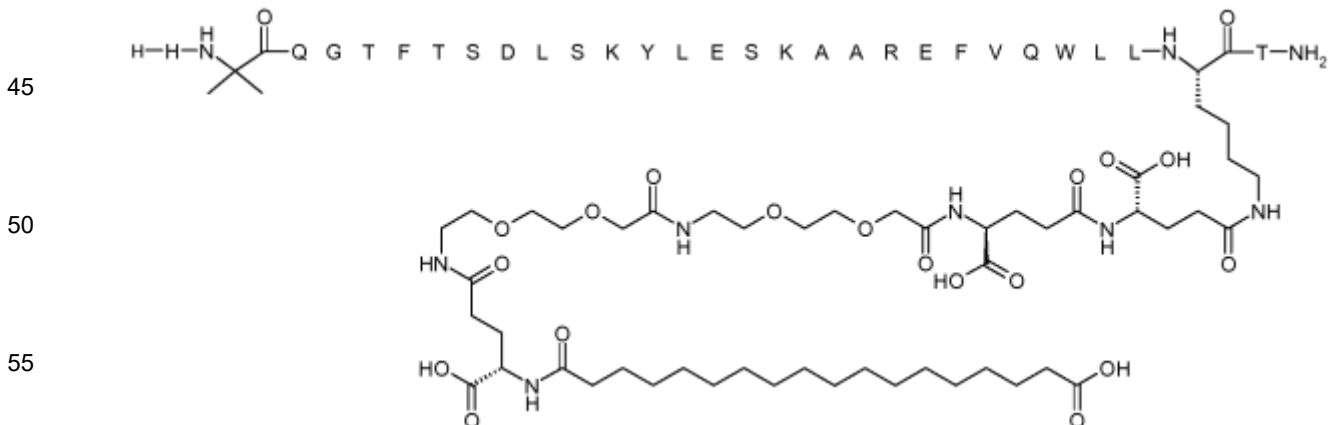
30 Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,5 min

Método de UPLC: 04_A10_1; Rt = 9,7 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,6 min, m/3: 1486; m/4: 1114; m/5: 892

35 Ejemplo 24

40 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



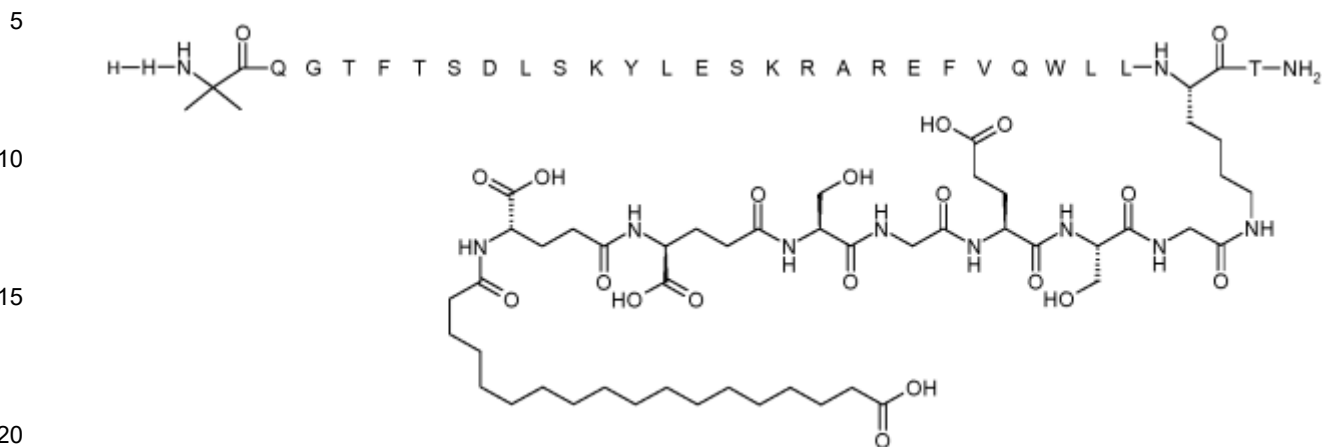
60 Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 13,4 min

Método de UPLC: 04_A10_1; Rt = 10,1 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,8 min, m/3: 1448; m/4: 1086; m/5: 869

65 Ejemplo 25

N^ε28-[2-[[2S]-2-[[[2S]-4-carboxi-2-[[2-[[[2S]-2-[[[4S]-4-carboxi-4-[[[4S]-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



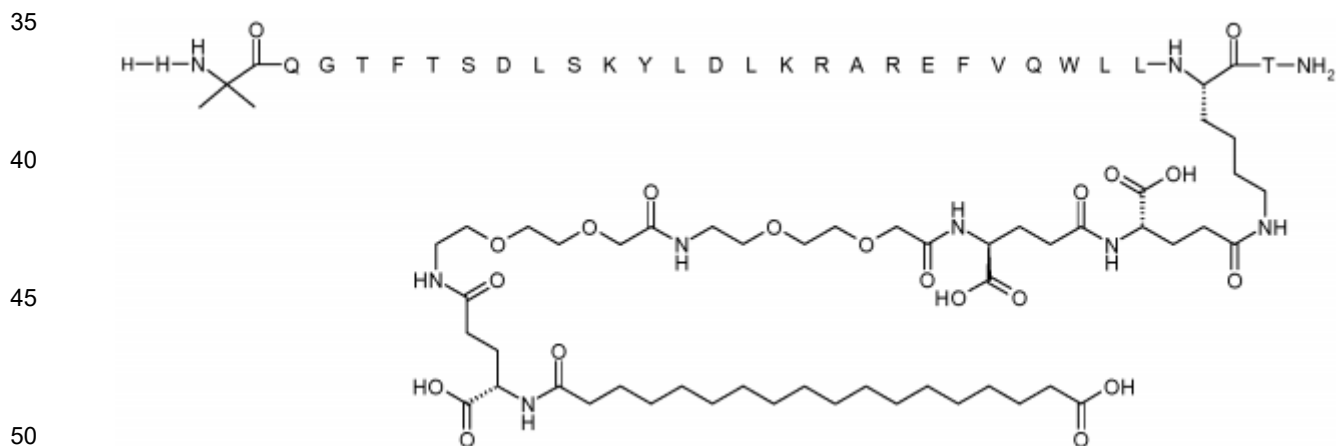
Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,6 min

25 Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 12,2 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 1,7 min, m/3: 1475; m/4: 1107; m/5: 885

Ejemplo 26

30 N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[4S]-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 13,3 min

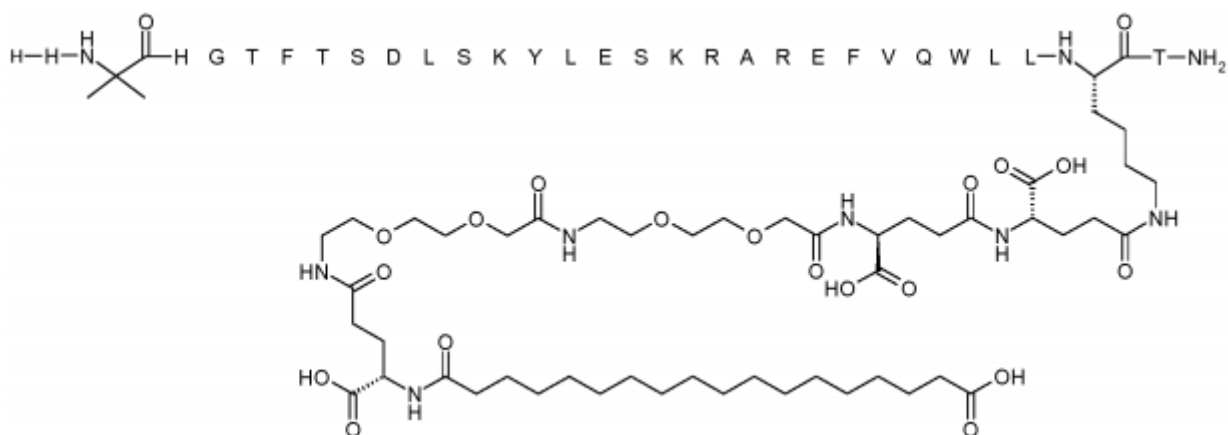
55 Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 17,5 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 1,8 min, m/3: 1481; m/4: 1111; m/5: 889

Ejemplo 27

60 N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[4S]-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[4S]-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65



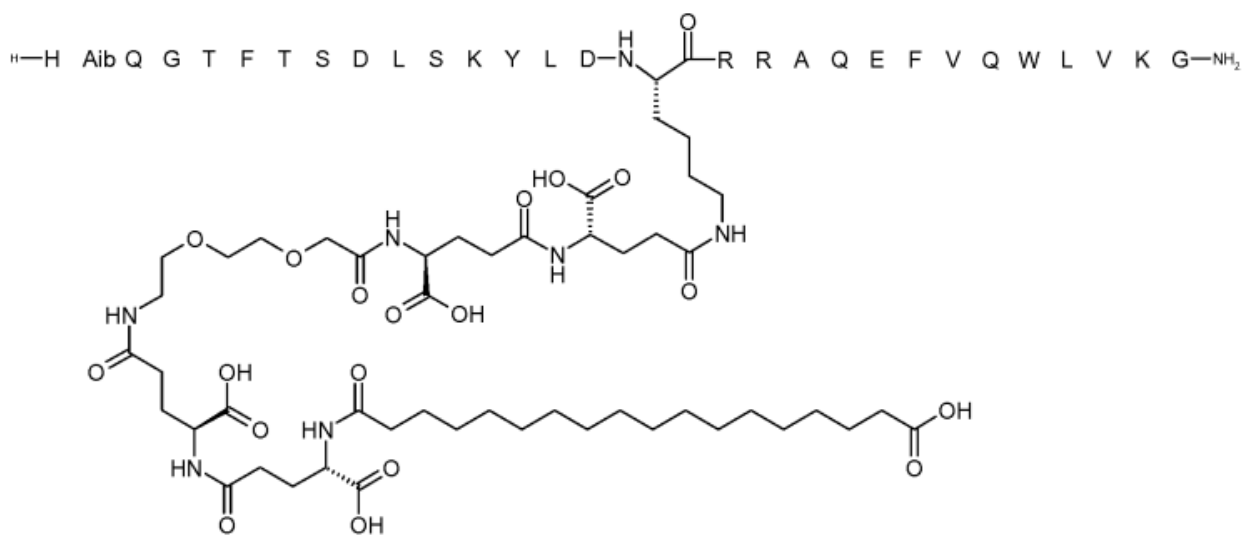
Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,6 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 12,7 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 1,7 min, m/3: 1479; m/4: 1110; m/5: 888

Ejemplo 28

N^ε¹⁶-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29]-Glucagón amida



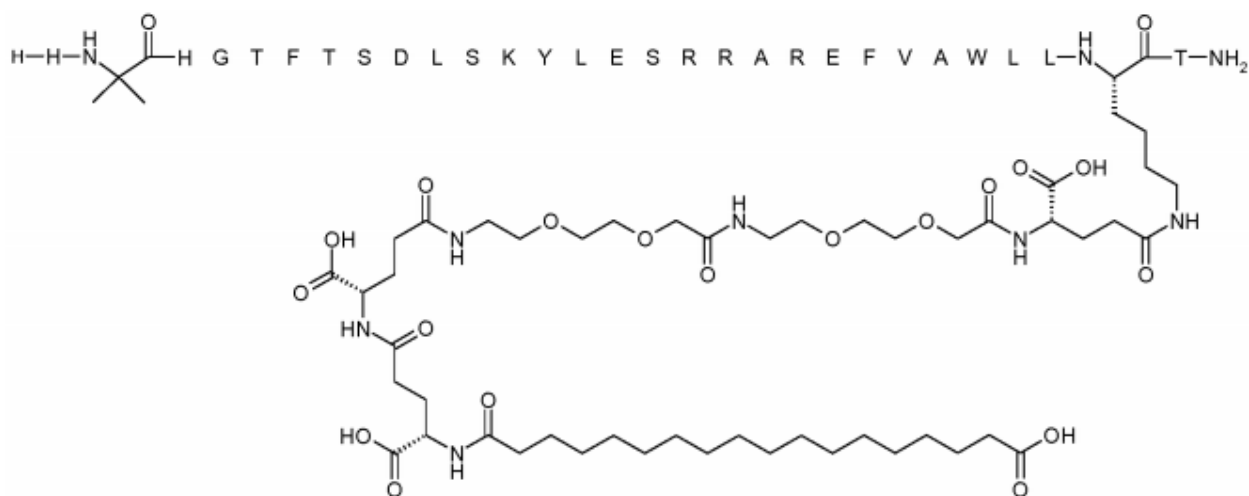
Método de UPLC: UPLC02v01; Rt= 7,7 min

Método de LC-MS: LCMS13v01; Rt = 2,1 min, m/3: 1461; m/4: 1096

Ejemplo 29

N^ε¹⁶-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27]-Glucagón amida

65



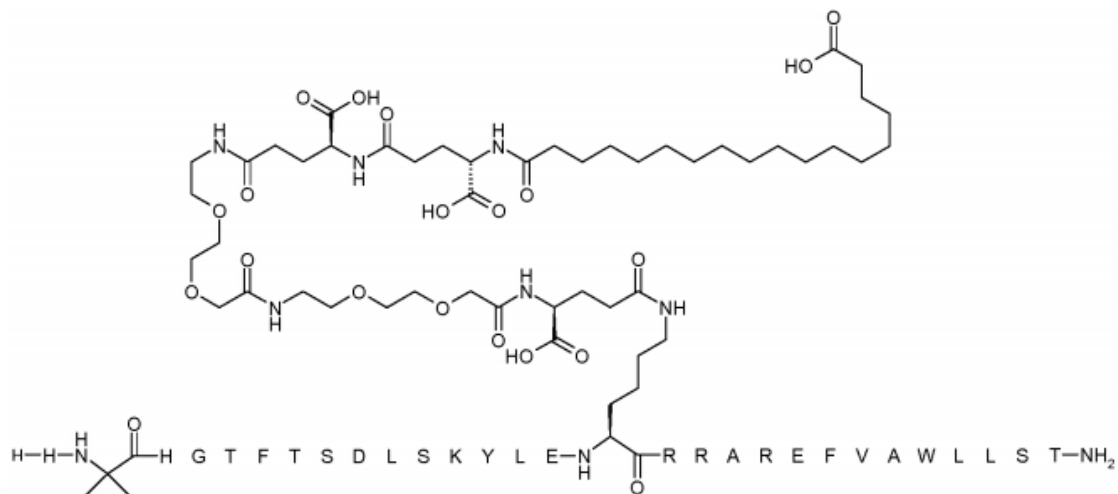
Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,2 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 14,2 min

25 Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,2 min, m/4: 1102; m/5: 882

Ejemplo 32

30 N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28]-Glucagón amida



Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,1 min

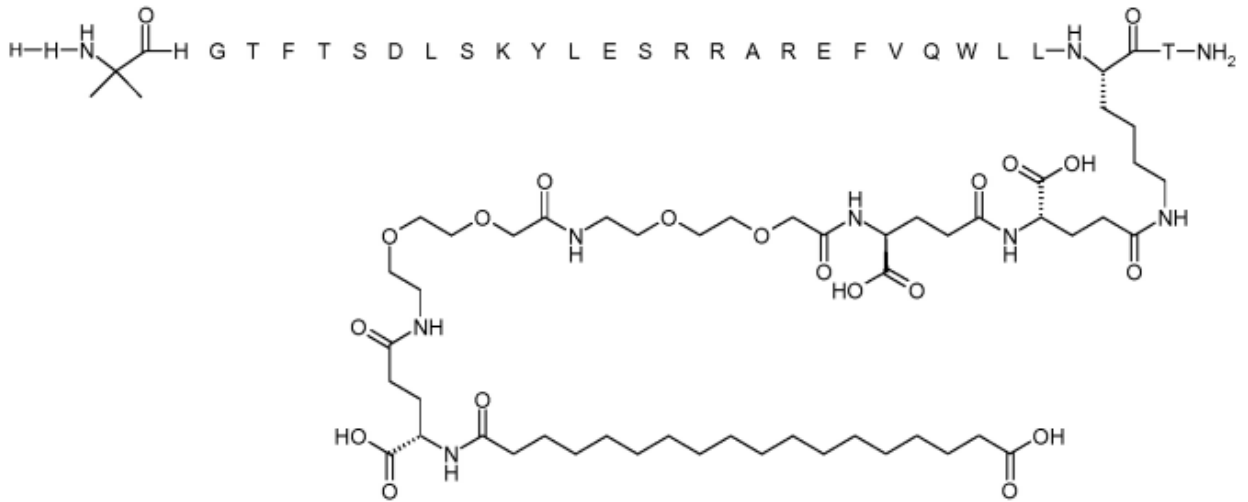
55 Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 14,1 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,1 min, m/4: 1102; m/5: 882

Ejemplo 33

60 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65



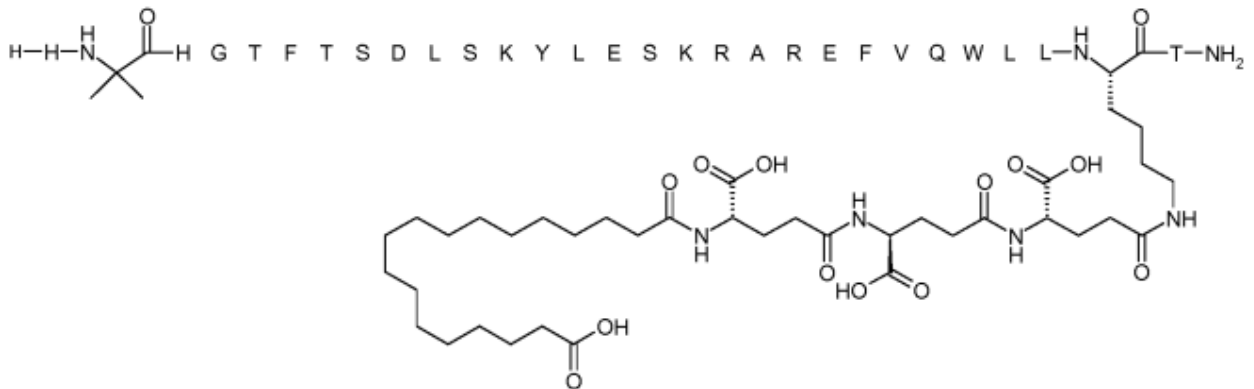
Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,2 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 15,2 min

25 Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,0 min, m/3: 1489; m/4: 1117; m/5: 893

Ejemplo 34

30 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,2 min

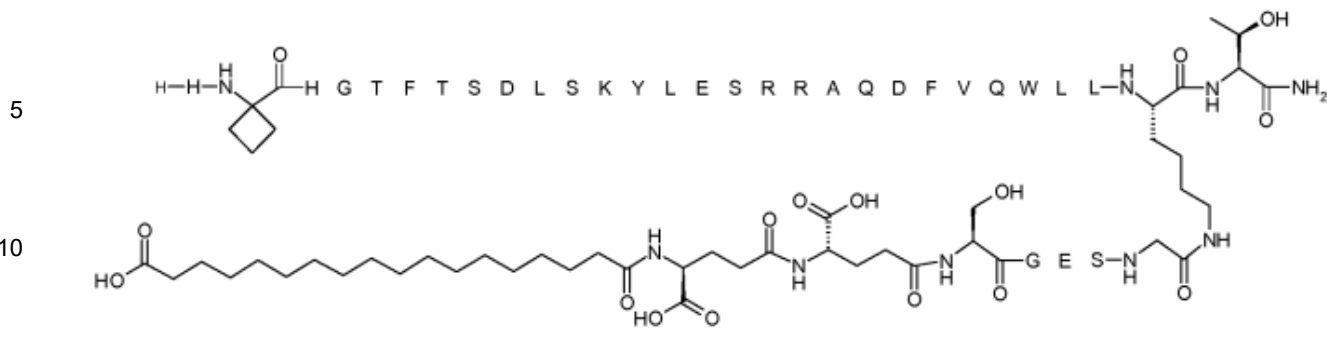
Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 14,9 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,0 min, m/3: 1383; m/4: 1037; m/5: 830

55 Ejemplo 35

60 N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65

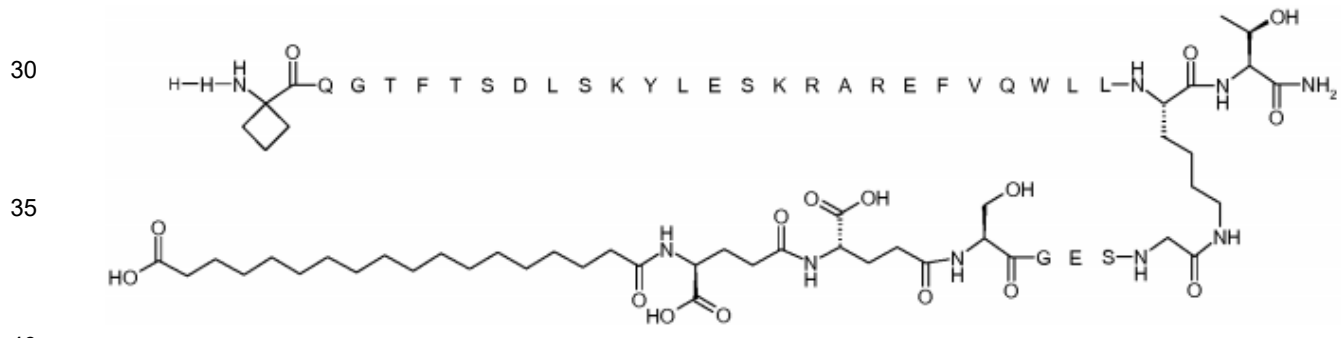


Método de UPLC: UPLC02v01 Rt= 8,14 min

Método de LC-MS: LCMS01v01; Rt=2,1; m/3:1478; m/5:1109; m/6:887

20
Ejemplo 36

25 $N^{\epsilon 28}$ -[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

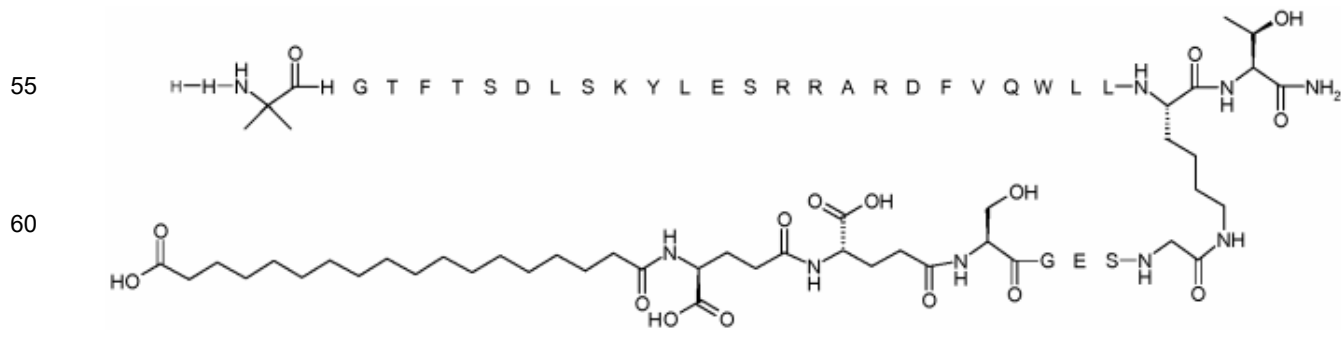


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt=7,9 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt=2,1; m/3: 1480; m/4: 1110; m/5: 888

45
Ejemplo 37

50 $N^{\epsilon 28}$ -[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

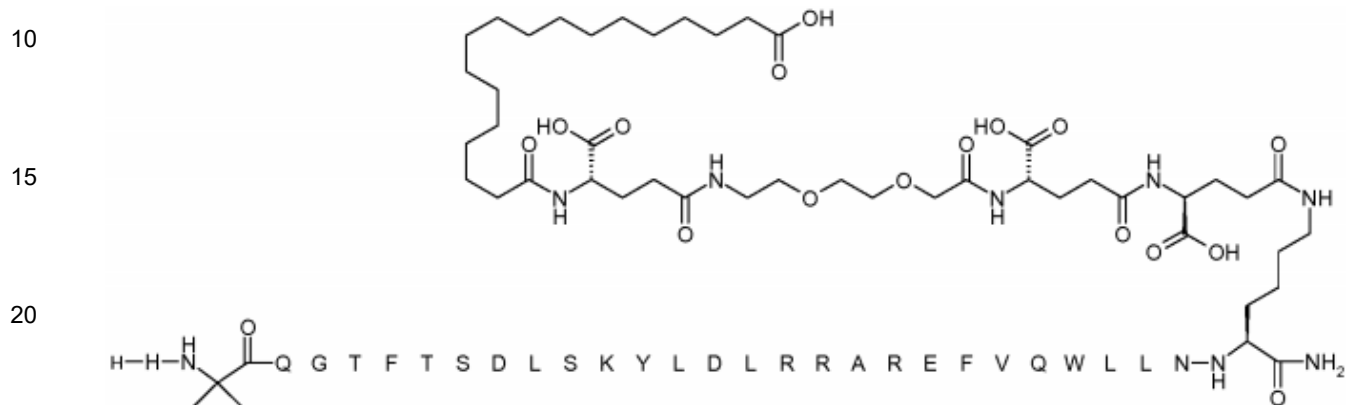


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt=7,8 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt=2,1; m/3: 1484; m/4: 1113; m/5: 891

Ejemplo 38

5 N^ε29-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida



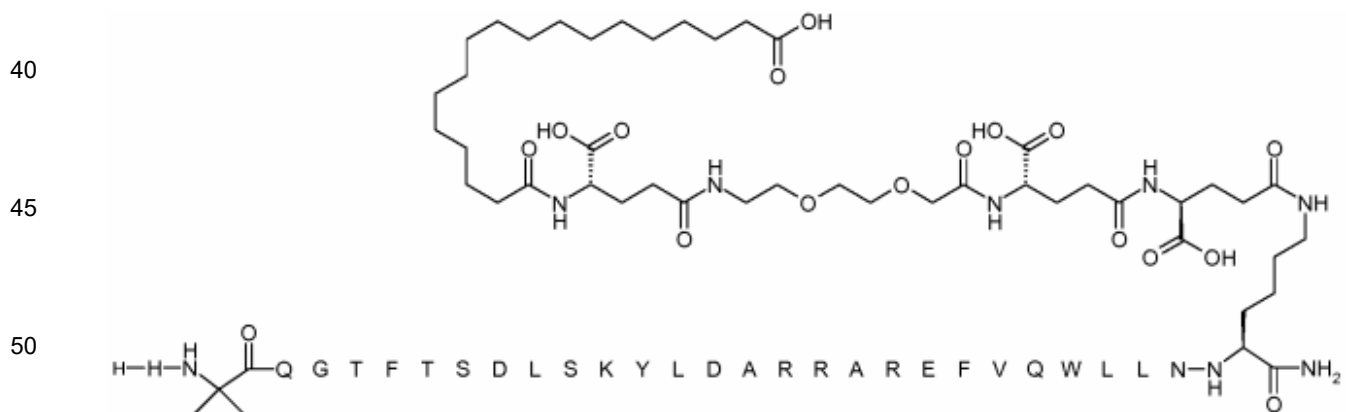
Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,8 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 18,6 min

30 Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,9 min, m/3: 1446; m/4: 1084; m/5: 868

Ejemplo 39

35 N^ε29-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida



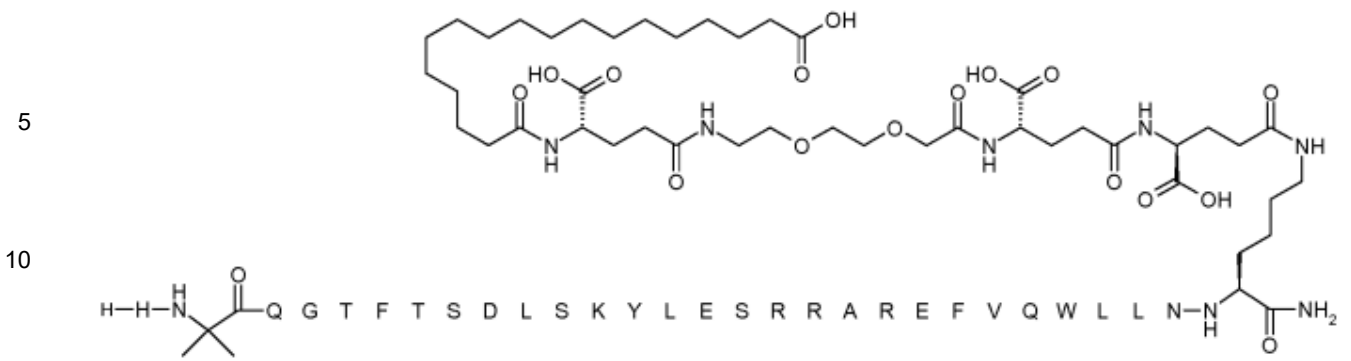
Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,3 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 16,0 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,8 min, m/3: 1432; m/4: 1074; m/5: 859

60 Ejemplo 40

65 N^ε29-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida



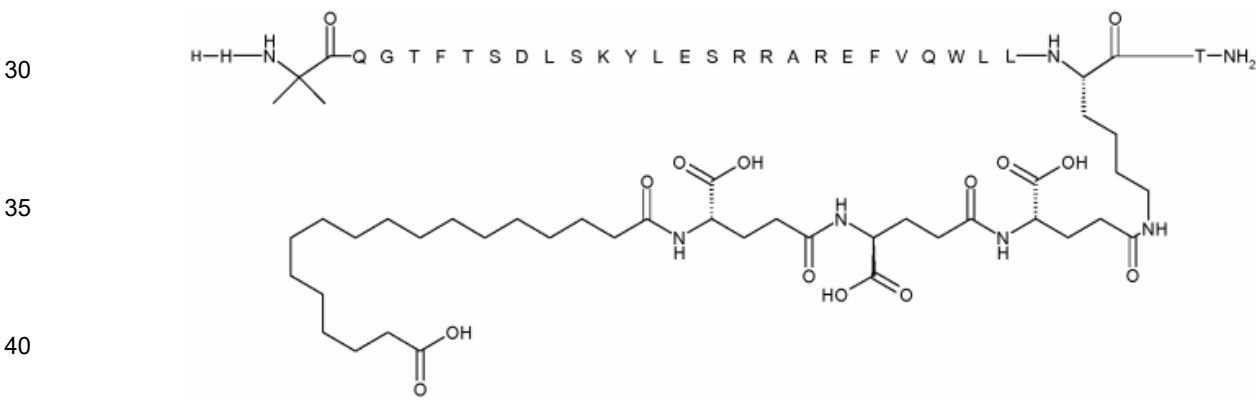
15 Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,2 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 13,9 min

20 Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,7 min, m/3: 1442; m/4: 1081; m/5: 865

Ejemplo 41

25 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



45 Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,3 min

Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 15,1 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,3 min, m/3: 1389; m/4: 1042; m/5: 834

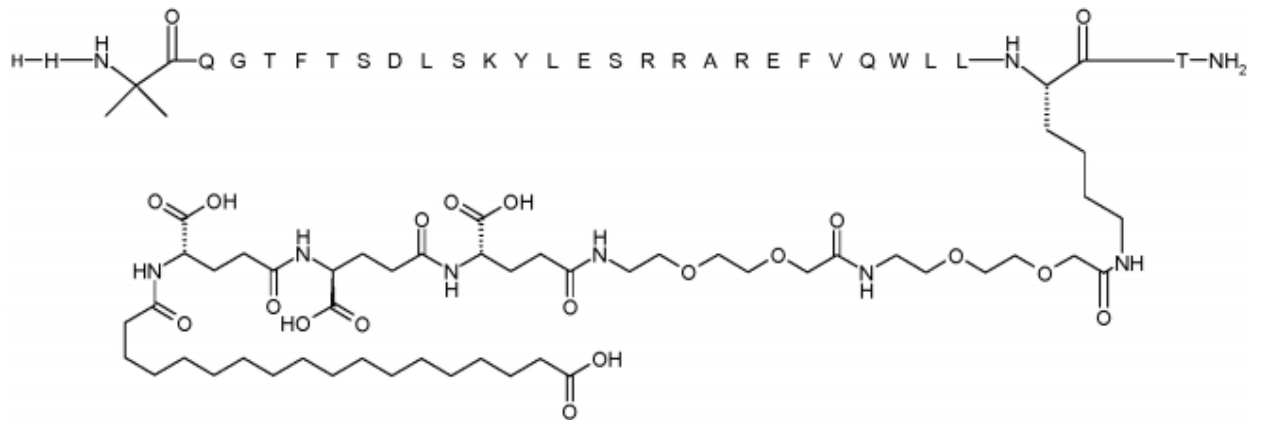
Ejemplo 42

50 N^{ε28}-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

55

60

65



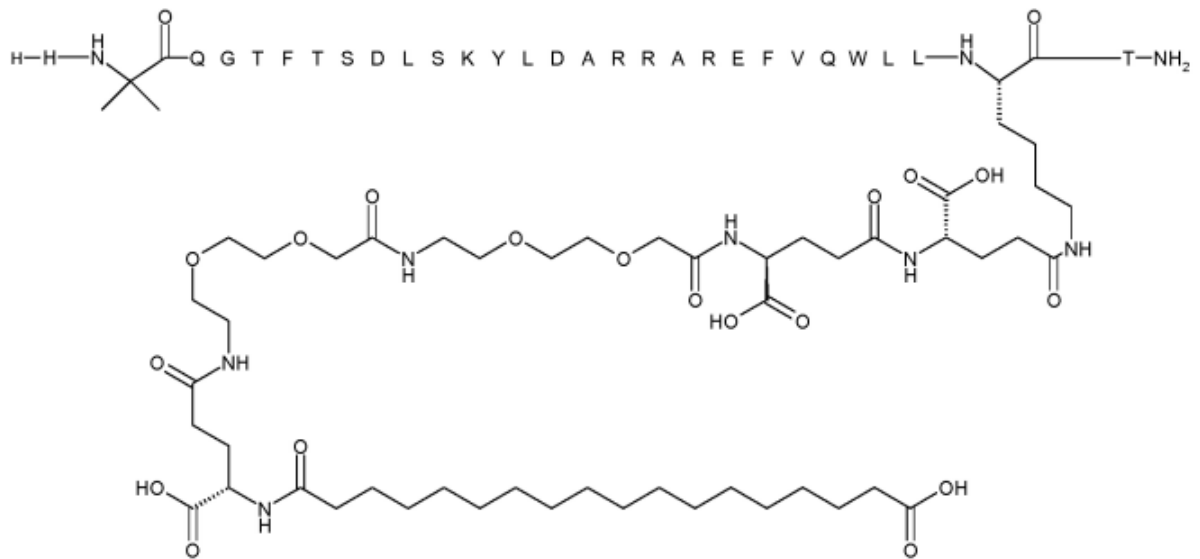
Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,2 min

20 Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 14,7 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,3 min, m/3: 1486; m/4: 1114; m/5: 892

Ejemplo 43

25 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,4 min

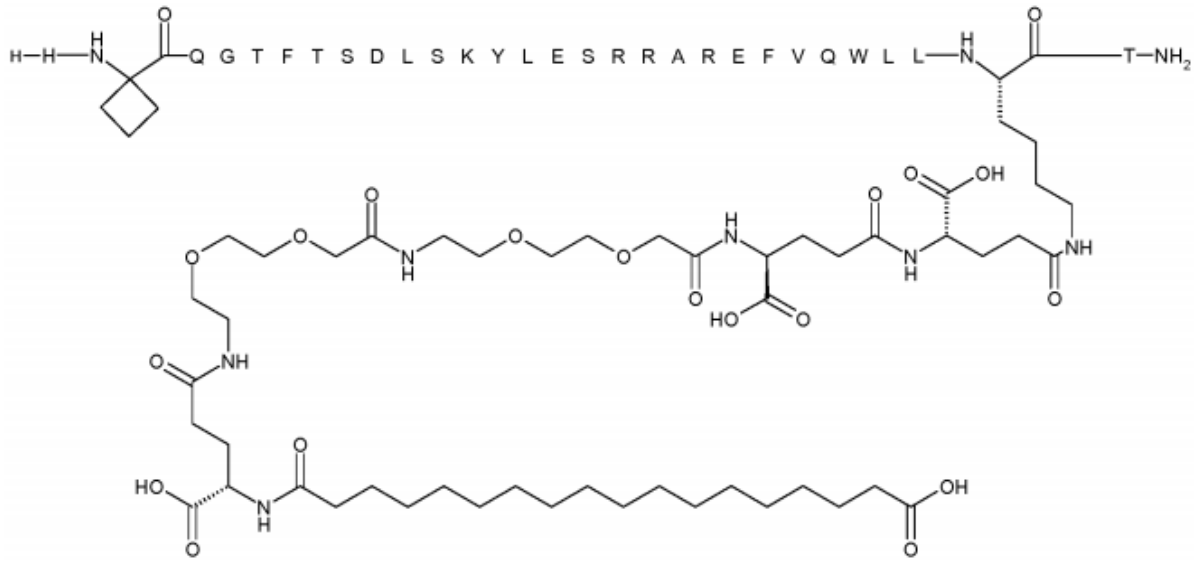
55 Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 17,2 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,4 min, m/3: 1476; m/4: 1107; m/5: 886

Ejemplo 44

60 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Ac2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65



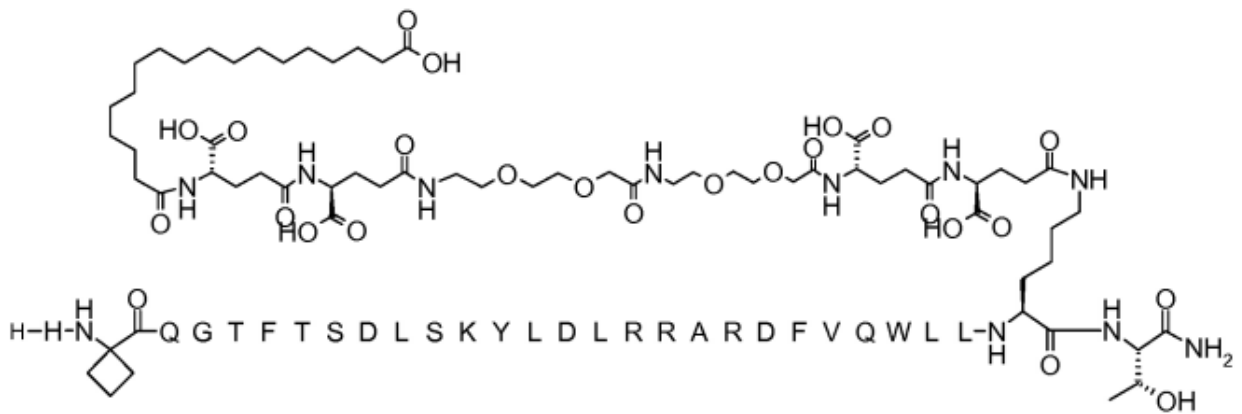
Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,3 min

25 Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 15,2 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,3 min, m/3: 1490; m/4: 1117; m/5: 894

Ejemplo 45

30 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



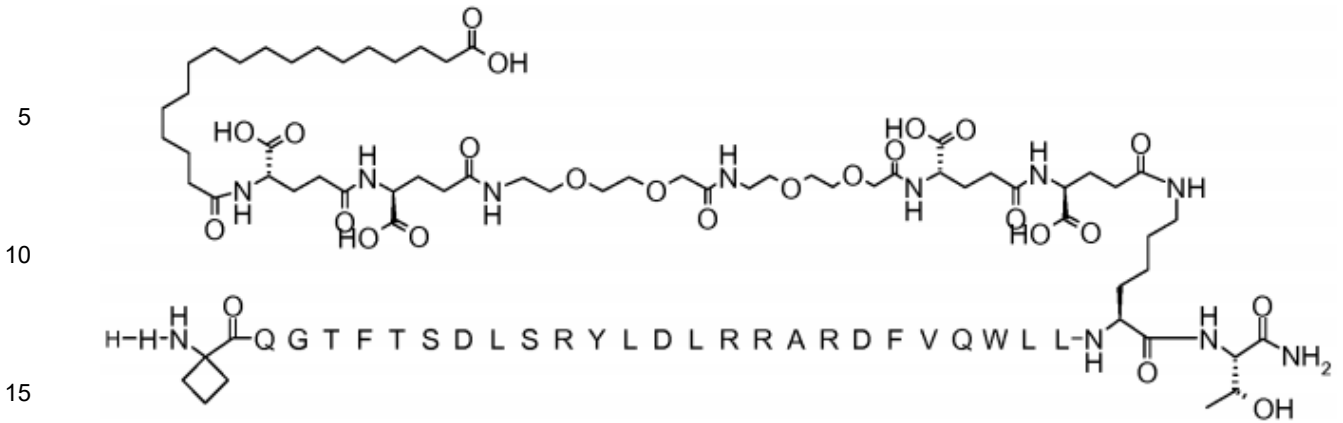
Método de UPLC: UPLC02v01 Rt= 8,4 min

Método de LC-MS: LCMS01v01; Rt=2,7 min; m/3:1532; m/5:1150; m/6:920

Ejemplo 46

60 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65

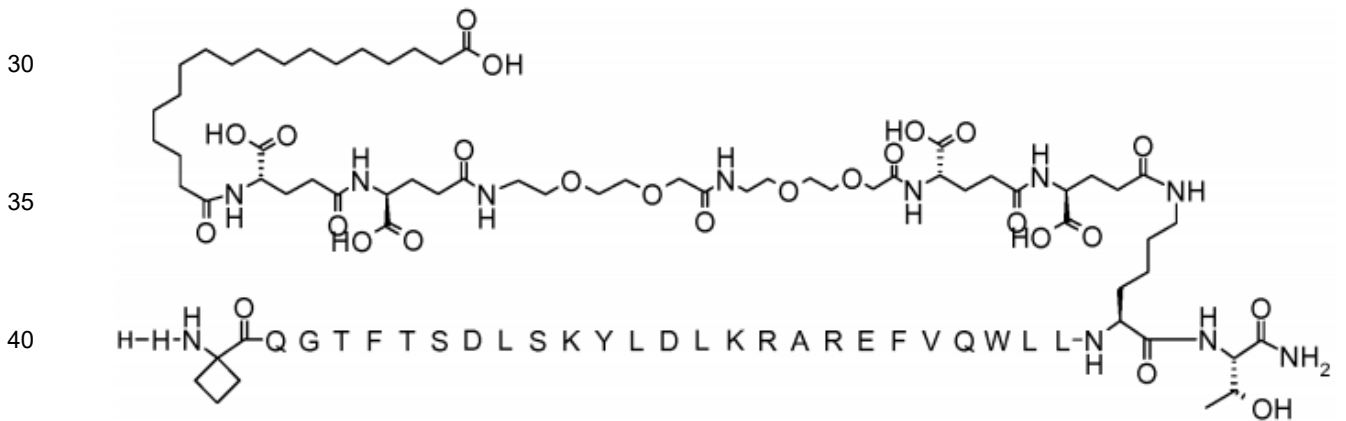


Método de UPLC: UPLC02v01 Rt= 8,4 min

20 Método de LC-MS: LCMS01v01; Rt=2,7 min; m/3:1542; m/5:1157; m/6:925

Ejemplo 47

25 N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Ac2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

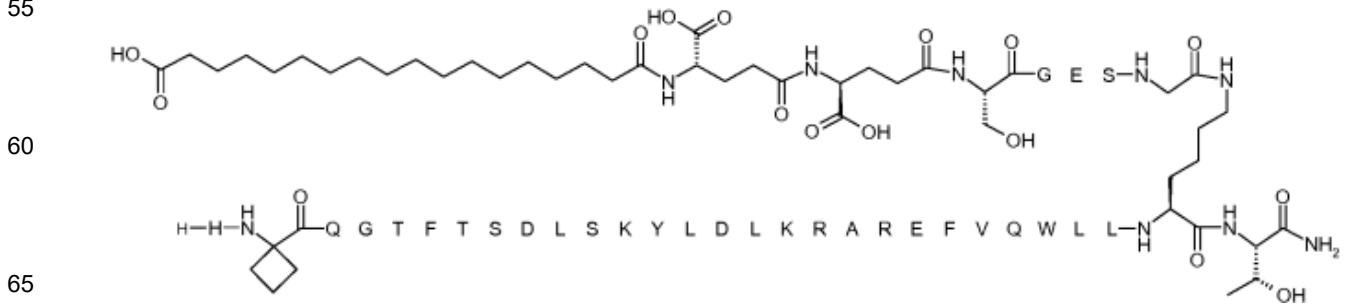


45 Método de UPLC: UPLC02v01: Rt=8,4 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt=2,7 min; m/3: 1528; m/4: 1146; m/5: 917

Ejemplo 48

50 N^ε28-[2-[[2S)-2-[[2S)-4-carboxi-2-[[2-[[2S)-2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Ac2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



Método de UPLC: UPLC02v01: Rt=8,3 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt=2,1 min; m/3: 1484; m/4: 1113; m/5: 891

5 Ejemplo 49

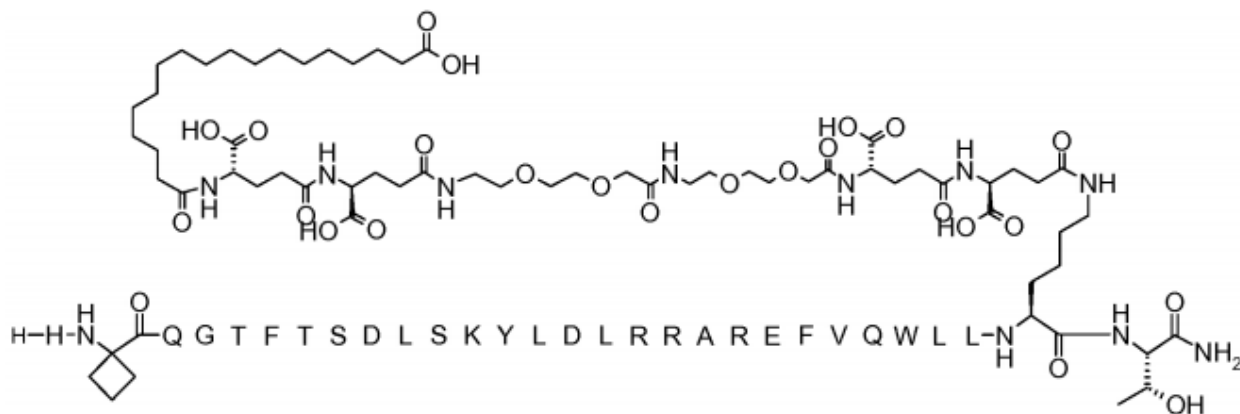
N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

10

15

20

25



Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,4 min

30 Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 14,5 min

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,4 min, m/3: 1485; m/4: 1114; m/5: 891

35 Ejemplo 50

N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

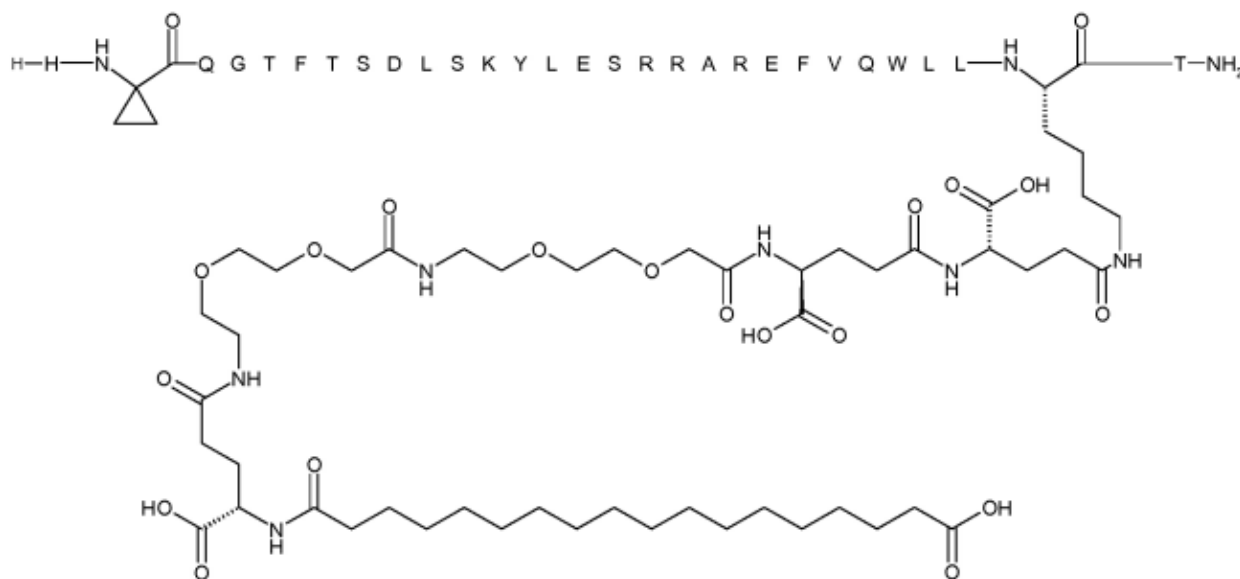
40

45

50

55

60



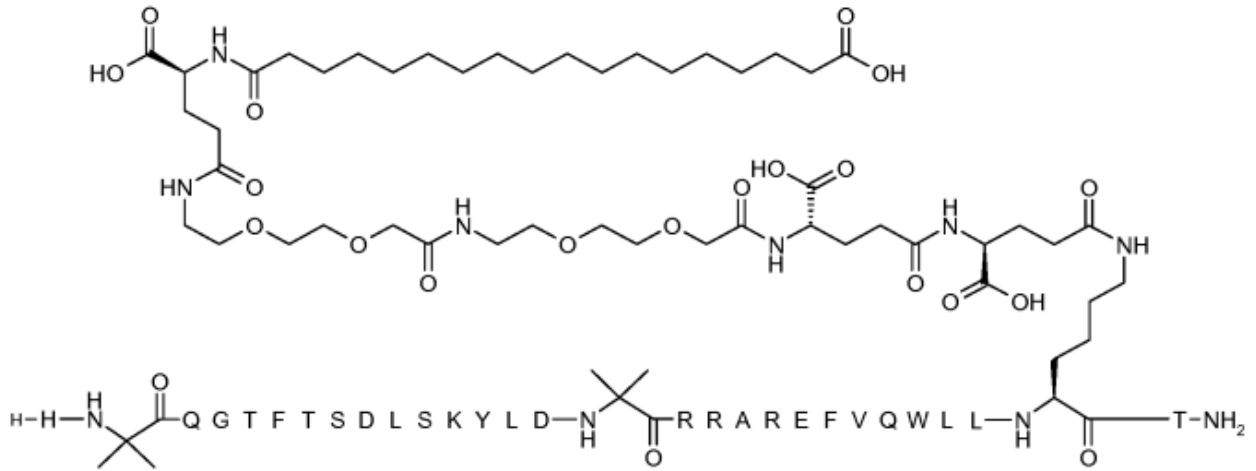
Método de UPLC: 09_B2_1; Rt = 12,4 min

65 Método de UPLC: 04_A9_1; Rt = 14,5 min

ES 2 754 048 T3

Método de LC-MS: LCMS_4; Rt = 2,4 min, m/3: 1485; m/4: 1114; m/5: 891
Ejemplo 51

N^{ε28}-(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

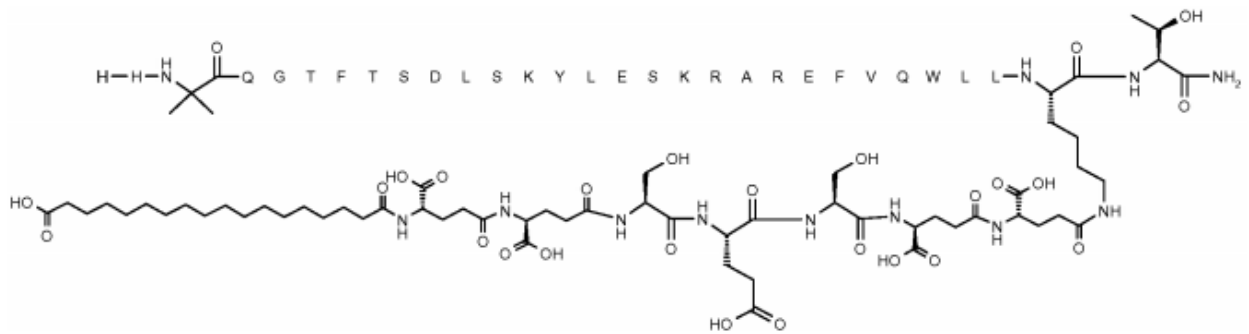


Método de UPLC: UPLC01v01: Rt = 12,7 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt = 2,7 min; m/3 = 1480; m/4 = 1110; m/5 = 888

Ejemplo 52

N^{ε28}(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

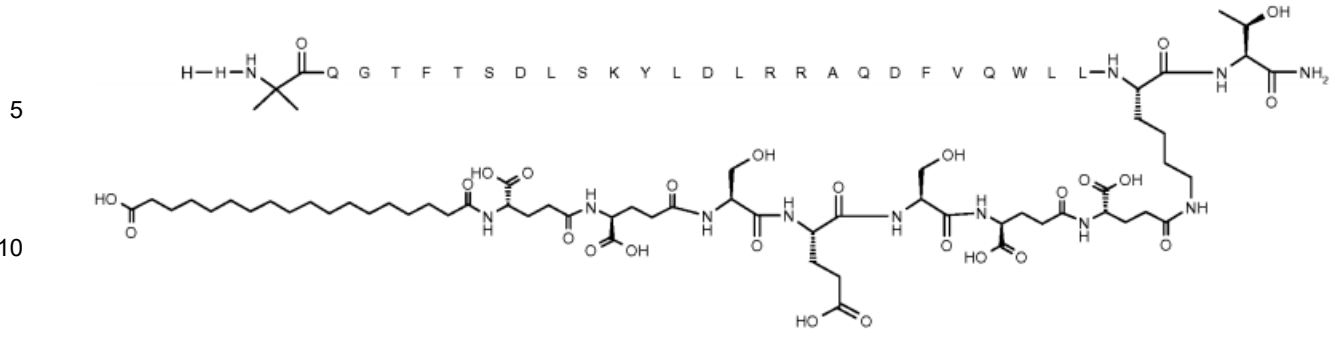


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,0 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt = 2,6 min; m/1 = 4570; m/3 = 1524; m/4 = 1143; m/5 = 915

Ejemplo 53

N^{ε28}-(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

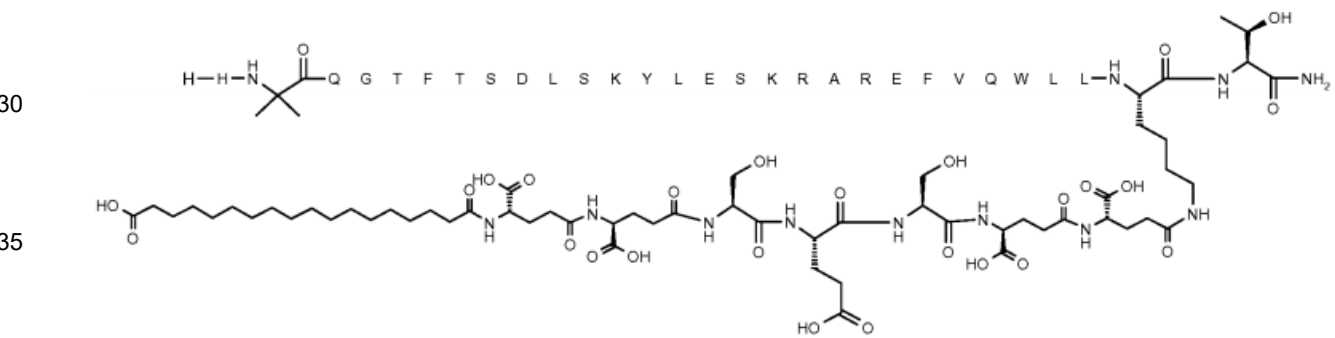


15 Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,5 min

Método de LC-MS:LCMS01v01: Rt = 2,8 min; m/1 = 4569; m/3 = 1523; m/4 = 1143; m/5 = 915

Ejemplo 54

20 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-
 25 carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-
 hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón
 amida

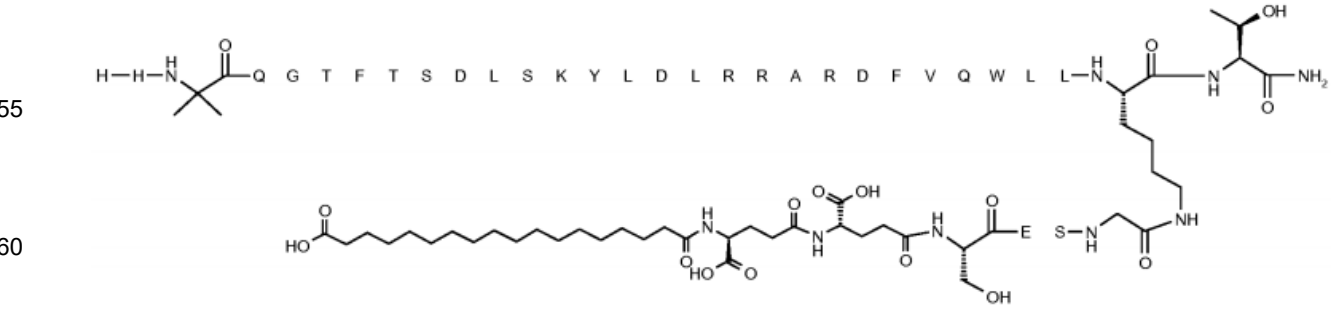


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,0 min

Método de LC-MS:LCMS01v01: Rt = 2,5 min; m/3 = 1524; m/4 = 1143; m/5 = 915; m/z = 4571

Ejemplo 55

50 N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-
 55 carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-
 hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

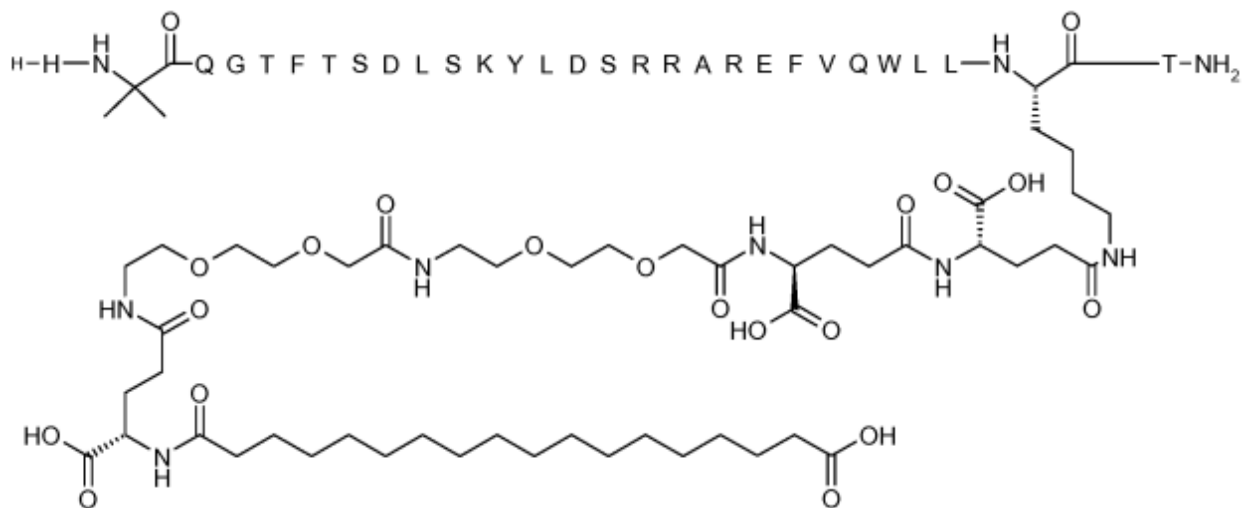


65 Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,4 min

ES 2 754 048 T3

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt = 2,8 min; m/3 = 1466; m/4 = 1100; m/5 = 880; m/z = 4395
Ejemplo 56

N^ε₂₈-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

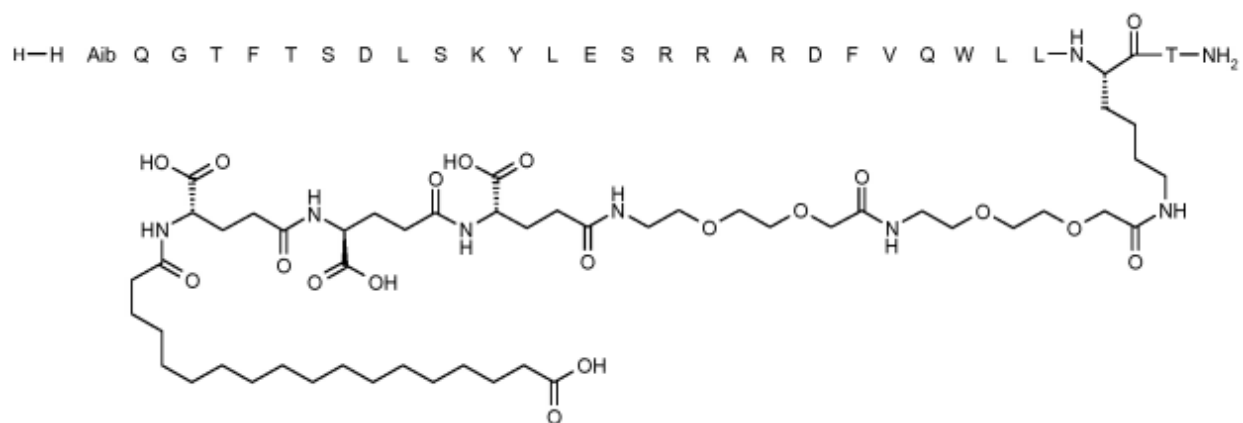


Método de UPLC: UPLC01v01: Rt = 12,386 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: m/3 = 1481,4; m/4 = 1111,03; m/5 = 889,3

Ejemplo 57

N^ε₂₈-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

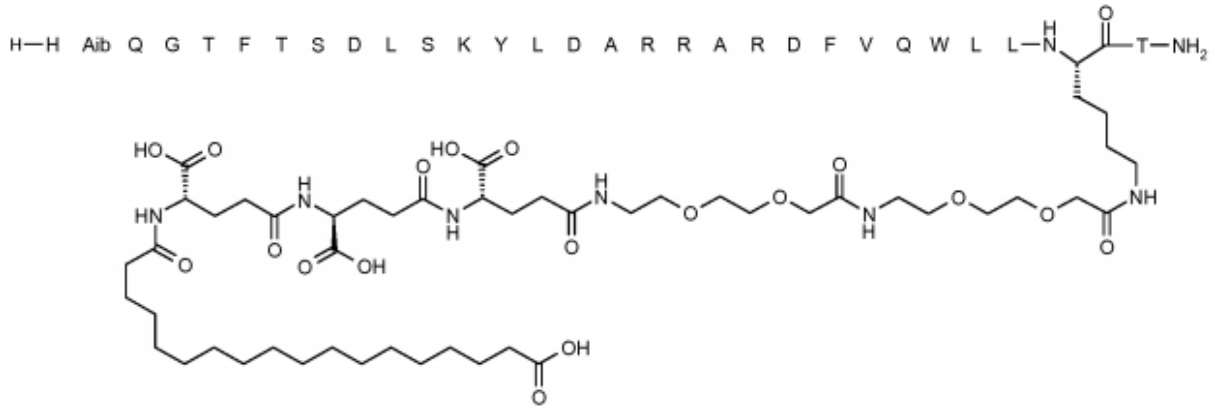


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,0 min

Método de LC-MS: LCMS13v01: Rt = 2,2 min; m/3 = 1480,8; m/4 = 1111,04

Ejemplo 58

N^ε₂₈-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

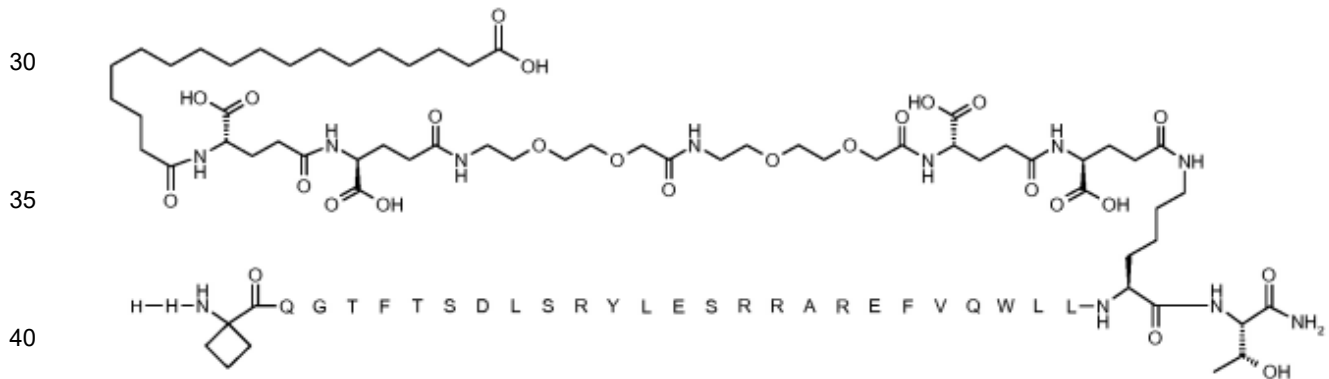


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,7 min

Método de LC-MS: LCMS13v01: Rt = 2,2 min; m/3 = 1471,05; m/4 = 1103,69

Ejemplo 59

N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

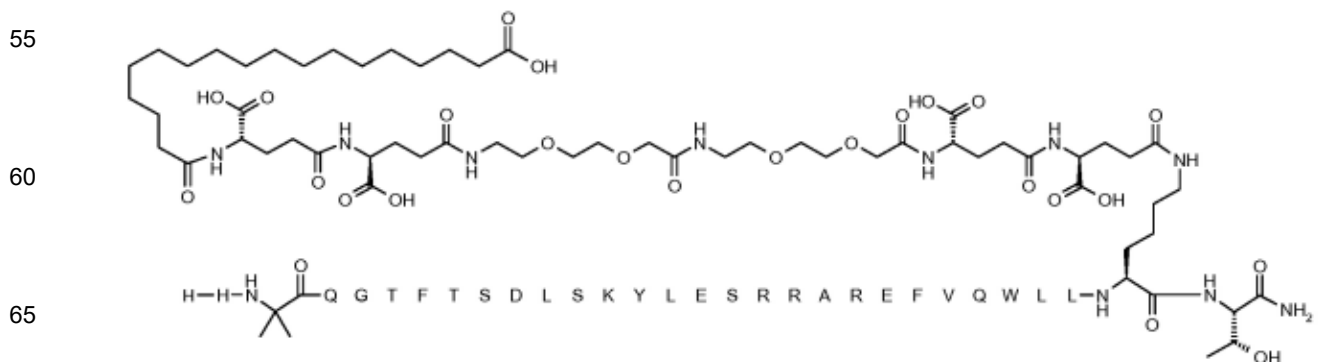


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,0 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: m/3 = 1542; m/4 = 1157; m/5 = 926; m/z = 4626

Ejemplo 60

N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



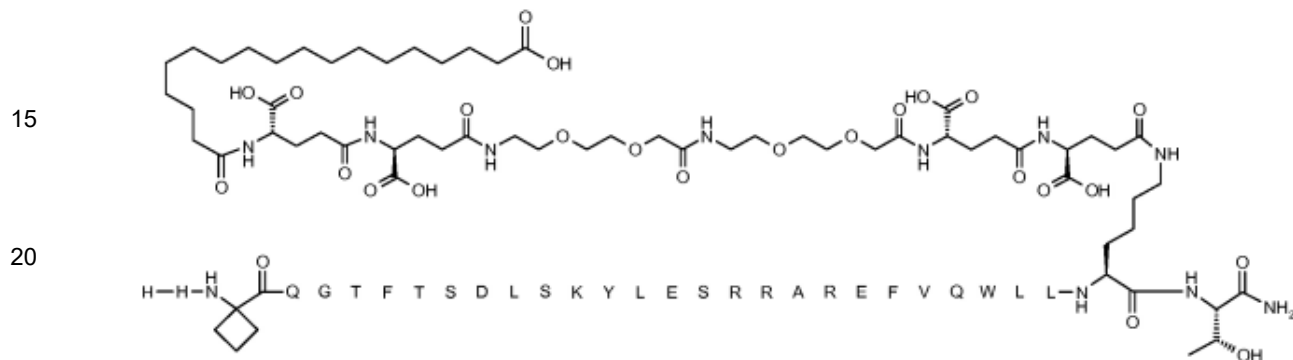
Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 7,9 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt = 2,0 min; m/1 = 4587; m/3 = 1529; m/4 = 1147; m/5 = 918

5 Ejemplo 61

N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Ac2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

10



25

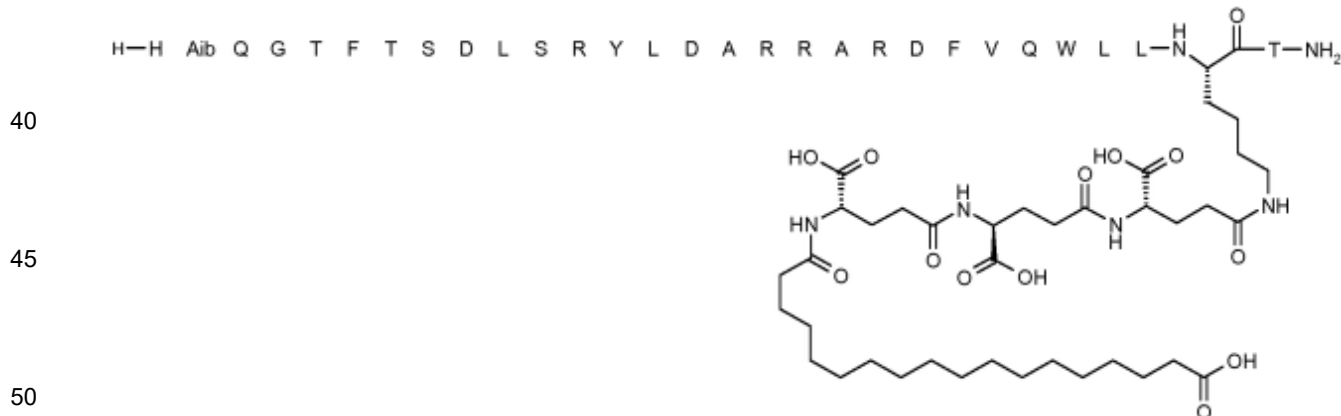
Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,2 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt = 2,1 min; m/1 = 4598; m/4 = 1150; m/5 = 920

30 Ejemplo 62

N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

35



Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,2 min

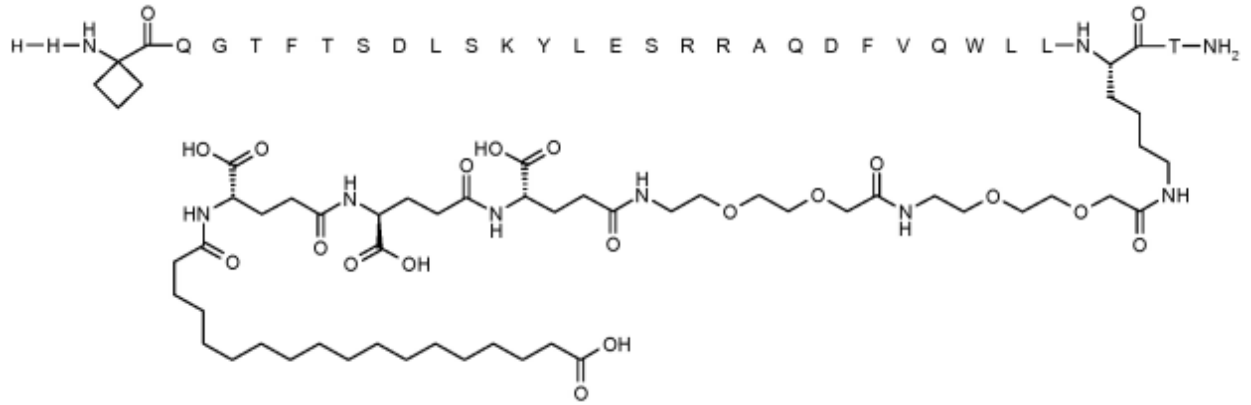
Método de LC-MS: LCMS13v01: Rt = 2,3 min; m/3 = 1384,04; m/4 = 1038,14

Ejemplo 63

N^ε28-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Ac2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

60

65

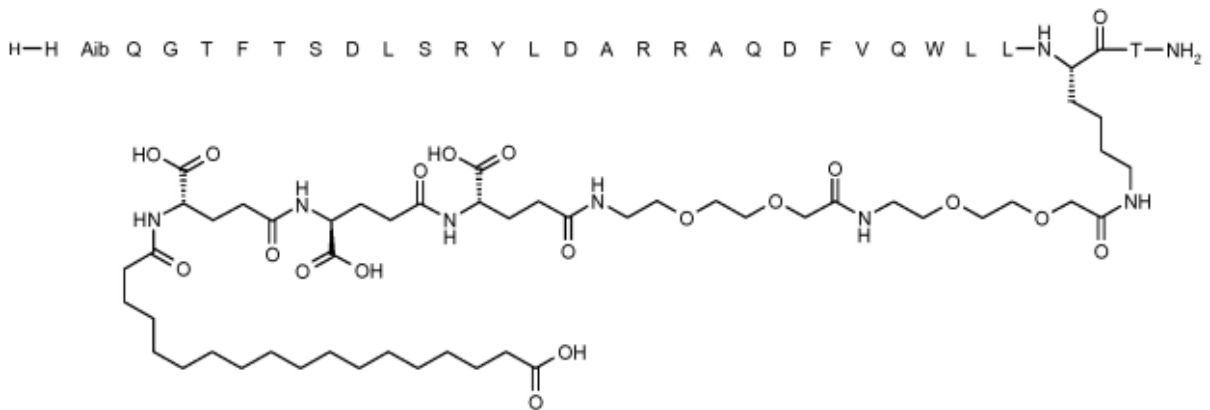


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,3 min

20 Método de LC-MS: LCMS13v01: Rt = 2,2 min; m/3 = 1476,15; m/4 = 1107,36

Ejemplo 64

25 N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



45 Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,3 min

Método de LC-MS: LCMS13v01: Rt = 2,2 min; m/3 = 1471,27; m/4 = 1103,76

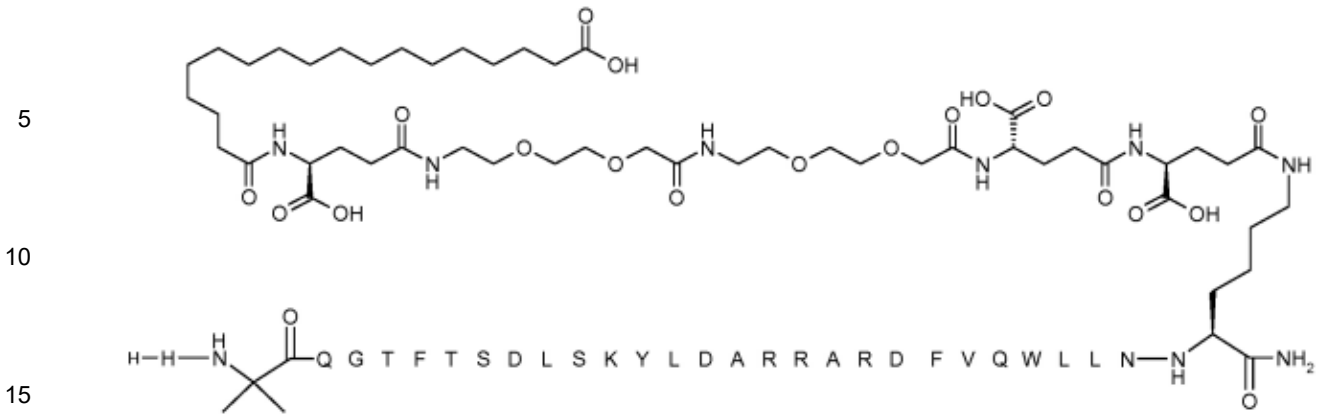
Ejemplo 65

50 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

55

60

65

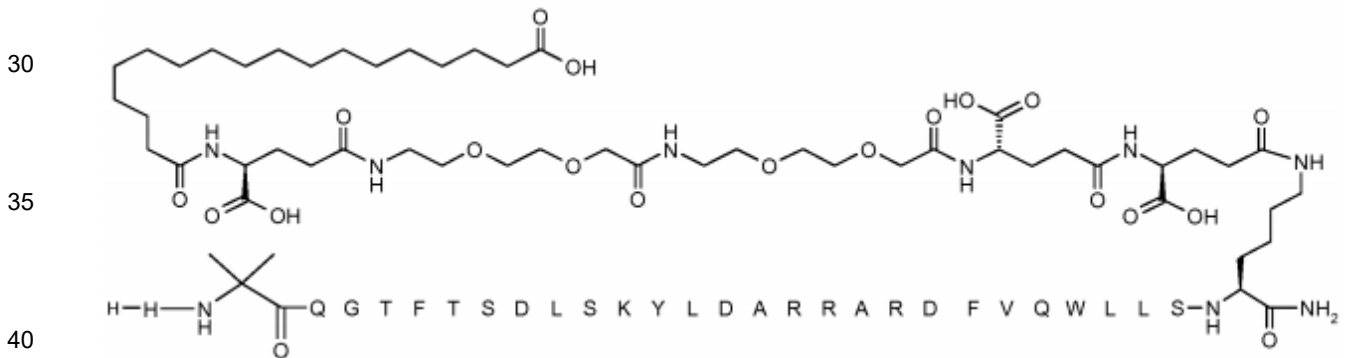


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,1 min

20 Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt = 2,2 min; m/3 = 1476; m/4 = 1107; m/5 = 886

Ejemplo 66

25 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

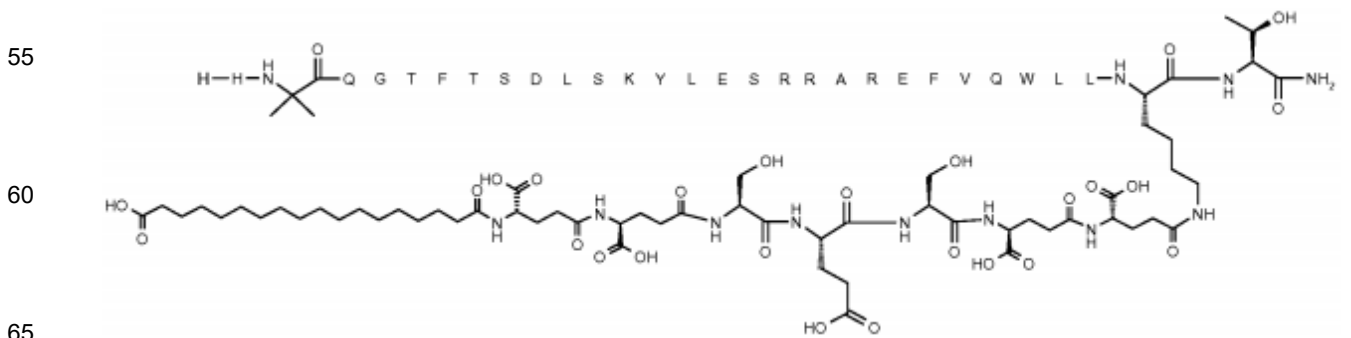


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,2 min

45 Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt = 2,2 min; m/3 = 1467; m/4 = 1100; m/5 = 880

Ejemplo 67

50 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

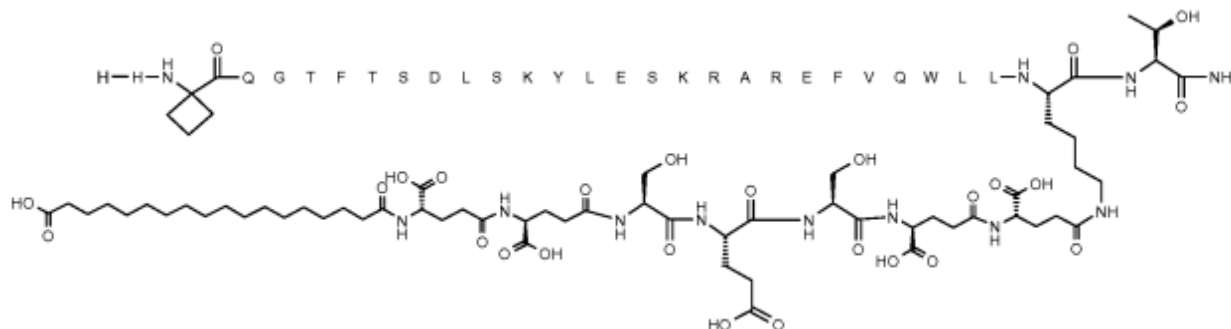


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,0 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt = 2,1 min; m/3 = 1533; m/4 = 1150; m/5 = 920

5 Ejemplo 68

10 N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

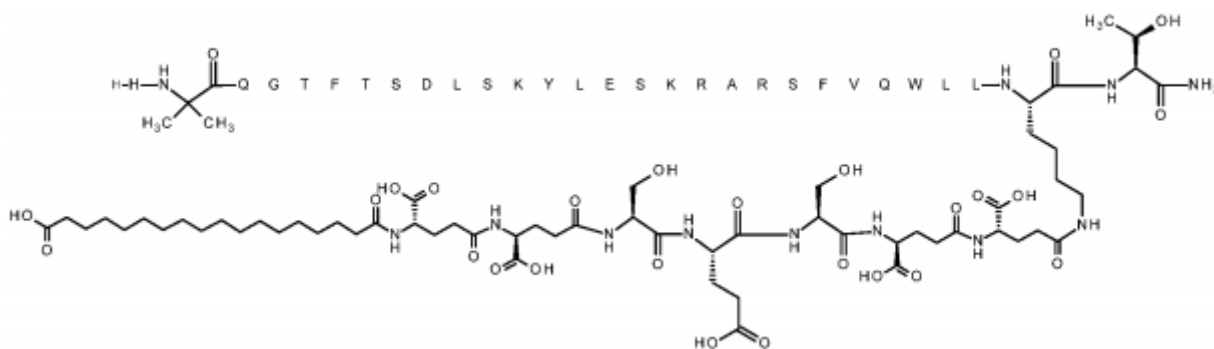


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 7,9 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt = 2,0 min; m/3 = 1528; m/4 = 1146; m/5 = 917

30 Ejemplo 69

35 N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



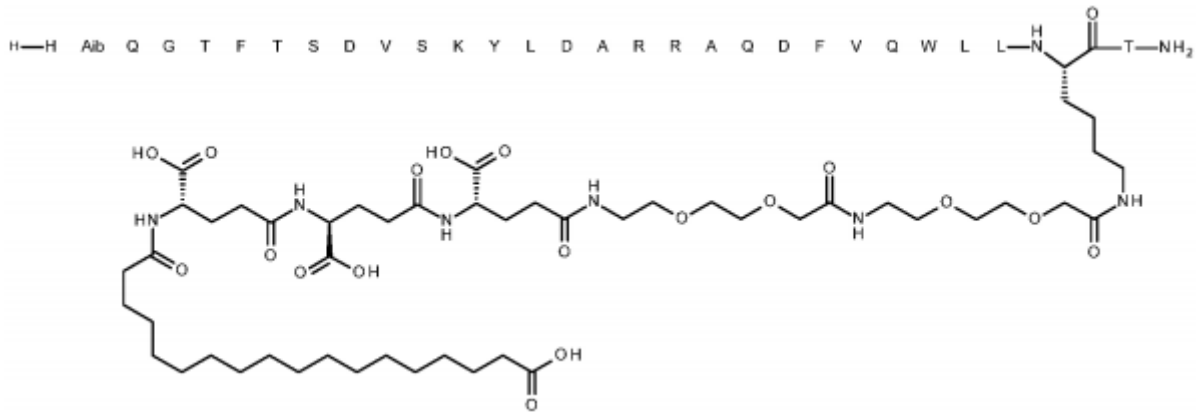
Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,1 min

Método de LC-MS: LCMS01v01: Rt = 2,6 min; m/3 = 1133; m/4 = 906; m/5 = 756

55 Ejemplo 70

60 N^ε28-[2-[2-[2-[[[2-[2-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Ala16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65

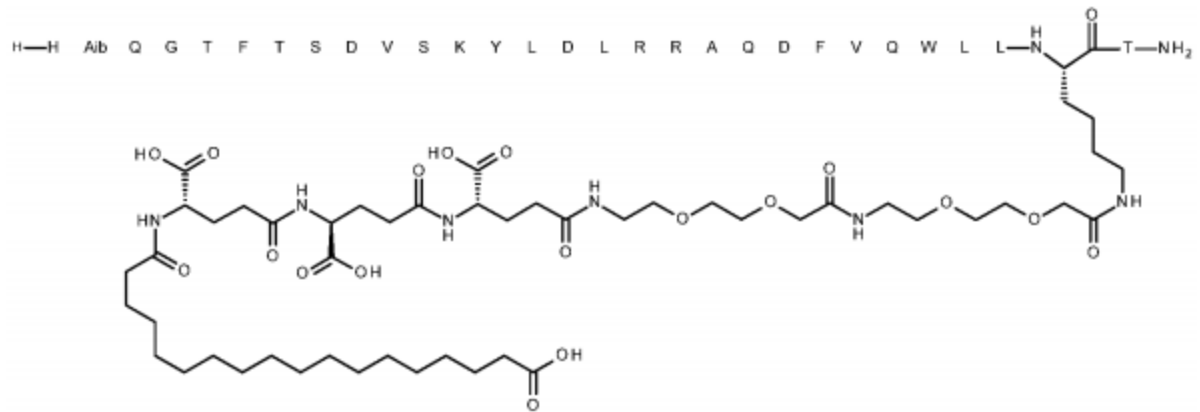


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,4 min

20 Método de LC-MS: LCMS13v01: Rt = 2,2 min; m/3 = 1457; m/4 = 1093; m/5 = 874

Ejemplo 71

25 N^ε₂₈-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Leu16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



45 Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,5 min

Método de LC-MS: LCMS13v01: Rt = 2,3 min; m/3 = 1471; m/4 = 1104

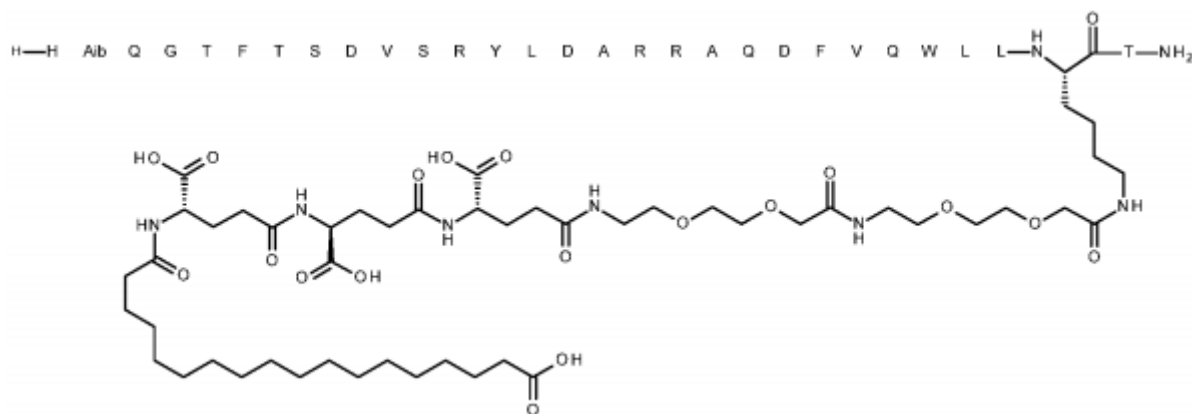
Ejemplo 72

50 N^ε₂₈-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

55

60

65

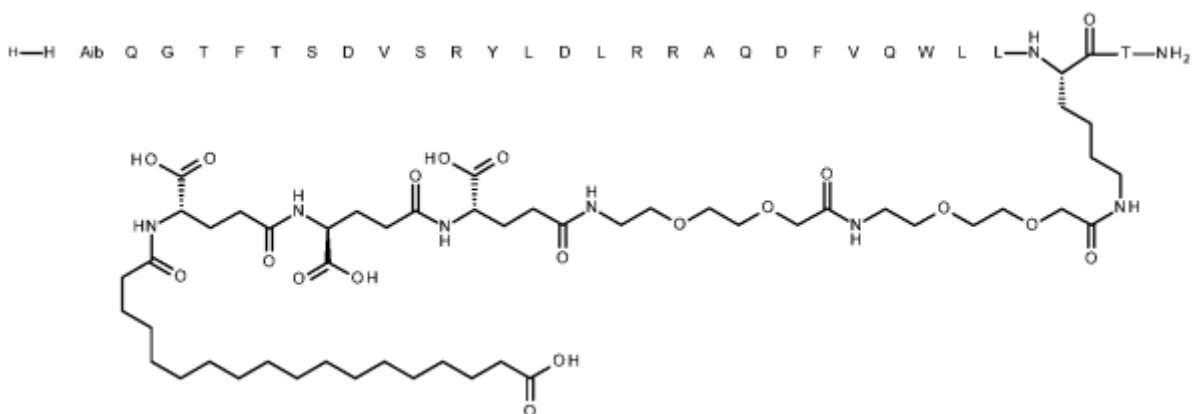


Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,4 min

20 Método de LC-MS: LCMS13v01: Rt = 2,3 min; m/3 = 1467; m/4 = 1100

Ejemplo 73

25 N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]-[Aib2,Val10,Arg12,Leu16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



45 Método de UPLC: UPLC02v01: Rt = 8,5 min

Método de LC-MS: LCMS13v01: Rt = 2,3 min; m/3 = 1481; m/4 = 1111

Ejemplo 74: Potencia del receptor de GLP-1 y Glucagón

50 El propósito de este ejemplo fue probar la potencia, de los derivados de glucagón de la invención, *in vitro*. La potencia *in vitro* es la medida de la activación del receptor de GLP-1 o del receptor de glucagón humano, respectivamente, en un ensayo de células completas.

55 Principio

La potencia *in vitro* se determinó mediante la medición de la respuesta del receptor de GLP-1 o glucagón humano, respectivamente, en un ensayo de gen reportero. El ensayo se realizó en una línea celular BHK transfectada establemente que expresa ya sea el receptor de GLP-1 humano o el receptor de glucagón 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 o de glucagón humano, respectivamente, se activó resultó en la producción de AMPc, que a su vez resultó en la expresión de la proteína luciferasa. Cuando se completó la incubación del ensayo, se añadió el sustrato de luciferasa (luciferina) y la enzima convirtió luciferina a oxiluciferina y produjo bioluminiscencia. La luminiscencia se midió como la lectura para el ensayo.

65

(a) Activación del receptor de GLP-1

Cultivo celular y preparación

5 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 estableció por transfección posterior con CRE luciferasa para obtener el clon actual.

10 Las células se cultivaron en CO₂ al 5 % en medio DMEM con FBS al 10 %, Glutamax 1x, G418 1 mg/ml, MTX 240 nM (metotrexato) y 1 % de pen/estrep (penicilina/estreptomicina). Se dividieron en alícuotas y se almacenaron en nitrógeno líquido. Antes de cada ensayo, se tomó una alícuota y se lavó tres veces en PBS antes de suspenderse a la concentración deseada en medio de ensayo. Se preparó la suspensión para placas de 96 pocillos para obtener una concentración final de 5x10³ células/pocillo.

Materiales

15 Se usaron los siguientes compuestos químicos en el ensayo: Pluronic F-68 (10 %) (Gibco 2404), 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).

20 El medio de ensayo consistió en DMEM sin rojo de fenol, Hepes 10 nM, Glutamax 1x, Ovoalbúmina al 2 % y Pluronic F-68 al 0,2 %.

Procedimiento

25 Las reservas de células se descongelaron en un baño de agua a 37 °C. Las células se lavaron tres veces en PBS. Las células se contaron y se ajustaron a 5x10³ células/50 µl (1x10⁵ células/ml) en medio de ensayo. Se transfirió una alícuota de 50 µl de células a cada pocillo en la placa de ensayo.

30 Las soluciones madre de los compuestos de prueba y los compuestos de referencia se diluyeron a una concentración de 0,2 µM en medio de ensayo. Los compuestos se diluyeron 10 veces para obtener las siguientes concentraciones: 2x10⁻⁶ M, 2x10⁻⁷ M, 2x10⁻⁸ M; 2x10⁻⁹ M, 2x10⁻¹⁰ M, 2x10⁻¹¹ M, 2x10⁻¹² M y 2x10⁻¹³ M. Para cada compuesto se incluyó, además, un control de medio de ensayo en blanco.

35 Se transfirió una alícuota de 50 µl del compuesto o del blanco de la placa de dilución a la placa de ensayo. Los compuestos se probaron a las siguientes concentraciones finales: 1x10⁻⁶ M, 1x10⁻⁷ M, 1x10⁻⁸ M; 1x10⁻⁹ M, 1x10⁻¹⁰ M, 1x10⁻¹¹ M y 1x10⁻¹² M y 1x10⁻¹³ M.

40 La placa de ensayo se incubó durante 3 h en una incubadora con CO₂ al 5 % a 37 °C. La placa del ensayo se retiró de la incubadora y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 15 min. Se añadió una alícuota de 100 µl de reactivo steadylite plus a cada pocillo de la placa de ensayo (el reactivo es sensible a la luz). Cada placa de ensayo se cubrió con papel de aluminio para protegerla de la luz y se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Cada placa de ensayo se leyó en un instrumento TopCount NXT de Perkin Elmer.

Cálculos

45 Los datos del instrumento TopCount se transfirieron al programa informático GraphPad Prism. El programa informático realizó una regresión no lineal (log(agonista) frente a respuesta- pendiente de la variable (cuatro parámetros)). Los valores de EC₅₀ se calcularon por el programa informático y se informaron en pM. Los datos se muestran en la Tabla 6.

50 *(b) Activación del receptor de glucagón*

Cultivo celular y preparación

55 Las células usadas en este ensayo (clon pLJ6'-4-25) fueron células BHK con BHK570 como una línea celular parental que expresan el gen de luciferasa CRE (clon BHK/KZ10-20-48) y se establecieron mediante transfección posterior con el receptor de glucagón humano (clon pLJ6' en vector pHZ-1).

60 Las células se cultivaron en CO₂ al 5 % en medio DMEM con FBS al 10 %, Glutamax 1x, G418 1 mg/ml, MTX 240 nM (metotrexato) y 1 % de pen/estrep (penicilina/estreptomicina). Se dividieron en alícuotas y se almacenaron en nitrógeno líquido. Antes de cada ensayo, se tomó una alícuota y se lavó tres veces en PBS antes de suspenderse a la concentración deseada en medio de ensayo. Se preparó la suspensión para placas de 96 pocillos para obtener una concentración final de 5x10³ células/pocillo.

Materiales

65

ES 2 754 048 T3

Se usaron los siguientes compuestos químicos en el ensayo: Pluronic F-68 (10 %) (Gibco 2404), 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).

- 5 El medio de ensayo consistió en DMEM sin rojo de fenol, Hepes 10 nM, Glutamax 1x, Ovoalbúmina al 2 % y Pluronic F-68 al 0,2 %.

Procedimiento

- 10 Las reservas de células se descongelaron en un baño de agua a 37 °C. Las células se lavaron tres veces en PBS. Las células se contaron y se ajustaron a 5×10^3 células/50 μ l (1×10^5 células/ml) en medio de ensayo. Se transfirió una alícuota de 50 μ l de células a cada pocillo en la placa de ensayo.

- 15 Las soluciones madre de los compuestos de prueba y los compuestos de referencia se diluyeron a una concentración de 0,2 μ M en medio de ensayo. Los compuestos se diluyeron 10 veces para obtener las siguientes concentraciones: 2×10^{-6} M, 2×10^{-7} M, 2×10^{-8} M; 2×10^{-9} M, 2×10^{-10} M, 2×10^{-11} M, 2×10^{-12} M y 2×10^{-13} M. Para cada compuesto se incluyó, además, un control de medio de ensayo en blanco.

- 20 Se transfirió una alícuota de 50 μ l del compuesto o del blanco de la placa de dilución a la placa de ensayo. Los compuestos se probaron a las siguientes concentraciones finales: 1×10^{-6} M, 1×10^{-7} M, 1×10^{-8} M; 1×10^{-9} M, 1×10^{-10} M, 1×10^{-11} M y 1×10^{-12} M y 1×10^{-13} M.

- 25 La placa de ensayo se incubó durante 3 h en una incubadora con CO₂ al 5 % a 37 °C. La placa del ensayo se retiró de la incubadora y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 15 min. Se añadió una alícuota de 100 μ l de reactivo steadylite plus a cada pocillo de la placa de ensayo (el reactivo es sensible a la luz). Cada placa de ensayo se cubrió con papel de aluminio para protegerla de la luz y se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Cada placa de ensayo se leyó en un instrumento TopCount NXT de Perkin Elmer.

Cálculos

- 30 Los datos del instrumento TopCount se transfirieron al programa informático GraphPad Prism. El programa informático realizó una regresión no lineal (log(agonista) frente a respuesta- pendiente de la variable (cuatro parámetros)). Los valores de EC₅₀ se calcularon por el programa informático y se informaron en μ M. Los datos se muestran en la Tabla 6.

- 35 Ejemplo 75: Unión a los receptores de GLP-1 y de glucagón

(a) Unión al receptor de GLP-1

- 40 El propósito de este ensayo fue probar la actividad de unión al receptor *in vitro* de los derivados de glucagón de la invención. La unión al receptor es una medida de la afinidad de un compuesto por el receptor de GLP-1.

Principio

- 45 La unión al receptor de cada compuesto al receptor de GLP-1 humano se midió en un ensayo de unión por desplazamiento. En este tipo de ensayo un ligando marcado (en este caso 125I-GLP-1) se une al receptor. Cada derivado se añadió en una serie de concentraciones a membranas aisladas que contenían el receptor de GLP-1 humano y se monitoreó el desplazamiento del ligando marcado. La unión al receptor se informó como la concentración a la que la mitad del ligando marcado se desplazó del receptor, el valor de IC₅₀.

- 50 Para probar la unión de los derivados a albúmina, el ensayo puede realizarse en una concentración muy baja de albúmina sérica (concentración final en el ensayo máx. 0,001 %) así como también en presencia de una concentración mayor de albúmina sérica (concentración final en el ensayo 2,0 %). Un aumento del valor de IC₅₀, 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

- 60 Se usaron los siguientes compuestos químicos en el ensayo: 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, MgCl₂ (Merck 1.05832.1000), Tween 20 (Amresco 0850C335), partículas de SPA (perlas de SPA con aglutinina de germen de trigo (WGA), Perkin Elmer RPNQ0001), [125I]-GLP-1]-(-7-36)NH₂ (producido internamente), OptiPlatEtM-96 (Perkin Elmer).

- 65 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 del ensayo consistió en HEPES 50 mM suplementado con EGTA 5 mM, MgCl₂ 5 mM, Tween 20 al 0,005 % y el pH se ajustó a 7,4.

5 Cultivo celular y preparación de 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.

10 Las células se cultivaron en CO₂ al 5 % en DMEM, suero fetal bovino al 10 %, Pen/Estrep (penicilina/estreptomicina) al 1 % y 1,0 mg/ml del marcador de selección G418. Para elaborar una preparación de membrana, las células se cultivaron a aproximadamente 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 centrifugación breve y el sedimento celular se mantuvo en hielo. El sedimento celular se homogeneizó con un instrumento de dispersión
15 ULTRA-THURRAX durante 20-30 seg en una cantidad adecuada de tampón 1 (por ejemplo, 10 ml). El homogenato se centrifugó durante 15 min. 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.

20 Procedimiento

1. Para el ensayo de unión al receptor, se añadió 50 µl del tampón de ensayo a cada pocillo de una placa de ensayo.

25 2. Los compuestos de prueba se diluyeron seriadamente para dar las siguientes concentraciones: 8x10^{EE-7} M, 8x10^{EE-8} M, 8x10^{EE-9} M, 8x10^{EE-10} M, 8x10^{EE-11} M, 8x10^{EE-12} M y 8x10^{EE-13} M. Se añadieron veinticinco µl a los pocillos apropiados en la placa de ensayo.

30 3. 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.

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

35 5. La incubación se inició mediante la adición de 25 µl de solución de [125I]-GLP-1-(7-36)NH₂ 480 pM a cada pocillo de la placa de ensayo. Se reservó una alícuota de 25 µl para medir los conteos totales/pocillo.

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

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

8. La placa de ensayo se leyó en un instrumento TopCount NXT de Perkin Elmer.

45 Cálculos

Los datos 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 IC₅₀ se calcularon por el programa informático y se informaron en nM. Los datos se muestran en la Tabla 6.

50 (b) Unión al receptor de glucagón

El propósito de este ensayo fue probar la actividad de unión al receptor *in vitro* (es decir, afinidad) de los derivados de glucagón de la invención. La actividad de unión al receptor es una medida de la afinidad de un derivado para el receptor de glucagón humano.

Principio

60 La unión al receptor de cada compuesto al receptor de glucagón humano se midió en un ensayo de unión por desplazamiento. En este tipo de ensayo un ligando marcado (en este caso 125I-glucagón) se une al receptor. Cada derivado se añadió en una serie de concentraciones a membranas aisladas que contenían el receptor de glucagón humano y se monitorea el desplazamiento del ligando marcado. La unión al receptor se informó como la concentración a la que la mitad del ligando marcado se desplaza del receptor, el valor de IC₅₀.

65 Para probar la unión de los derivados a albúmina, el ensayo puede realizarse en una concentración muy baja de albúmina sérica (concentración final en el ensayo máx. 0,001 %) así como también en presencia de una

concentración mayor de albúmina sérica (concentración final en el ensayo 0,2 %). Un aumento del valor de IC_{50} , 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.

5 Materiales

Se usaron los siguientes compuestos químicos en el ensayo: DMEM w Glutamax (Gibco 61965-026), Pen/Estrep (Invitrogen 15140-122), G418 (Invitrogen 10131-027), Versene (Gibco 15040), Hepes 1 M (Gibco 15630), PBS (Invitrogen 14190-094), suero fetal bovino (Invitrogen 16140-071), $MgCl_2$ (Merck 1.05832.1000), EDTA (Invitrogen 15575-038), $CaCl_2$ (Sigma, C5080), Tween 20 (Amresco 0850C335), ovoalbúmina (Sigma A5503), partículas de SPA (perlas de SPA con aglutinina de germen de trigo (WGA), Perkin Elmer RPNQ0001), [125I]-glucagón (producido internamente), OptiPlatEtM-96 (Packard 6005290).

El tampón HME consistió en HEPES 25 mM, $MgCl_2$ 2 mM y EDTA 1 mM, y el pH se ajustó a 7,4. El tampón del ensayo consistió en HEPES 50 mM suplementado con $MgCl_2$ 5 mM, $CaCl_2$ 1 mM, Tween 20 al 0,02 % y Ovoalbúmina al 0,1 %, y el pH se ajustó a 7,4. Cultivo celular y preparación de membranas

Las células usadas en este ensayo (clon BHK hGCGR A3*25) fueron células BHK transfectadas establemente con un plásmido de expresión que contiene el ADNc que codifica el receptor de glucagón humano.

Las células se cultivaron en CO_2 al 5 % en DMEM, suero fetal bovino al 10 %, Pen/Estrep (penicilina/estreptomicina) al 1 % y 1,0 mg/ml del marcador de selección G418. Para elaborar una preparación de membrana, las células se cultivaron a aproximadamente 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 centrifugación breve y el sedimento celular se mantuvo en hielo. Las células se lisaron al añadir aprox. 5 ml de tampón HME, se mezclaron por pipeteo y se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido. Se descongeló rápidamente y se añadió tampón HME a 10 ml. El sedimento celular se homogeneizó con un instrumento de dispersión ULTRA-THURRAX durante 20-30 seg. El homogenato se centrifugó a 20.000xG, 4 °C durante 10 min. El sedimento se resuspendió (homogeneizó) en 1-2 ml de tampón HME. Se determinó la concentración de proteína. Las membranas se dividieron en alícuotas y se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a menos 80°C.

Procedimiento

1. Para el ensayo de unión al receptor, se añadió 50 μ l del tampón de ensayo a cada pocillo de una placa de ensayo.

2. Los compuestos de prueba se diluyeron seriadamente para dar las siguientes concentraciones: $8 \times 10^{EE-7}$ M, $8 \times 10^{EE-8}$ M, $8 \times 10^{EE-9}$ M, $8 \times 10^{EE-10}$ M, $8 \times 10^{EE-11}$ M, $8 \times 10^{EE-12}$ M y $8 \times 10^{EE-13}$ M. Se añadieron veinticinco μ l a los pocillos apropiados en la placa de ensayo.

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

4. Las perlas de SPA con WGA se suspendieron en tampón de ensayo a 20 mg/ml. La suspensión se diluyó a 10 mg/ml en tampón de ensayo justo antes de la adición a la placa de ensayo. Se añadieron cincuenta μ l a cada pocillo en la placa de ensayo.

5. La incubación se inició mediante la adición de 25 μ l de solución de [125I]-glucagón 480 pM a cada pocillo de la placa de ensayo. Se reservó una alícuota de 25 μ l para medir los conteos totales/pocillo.

6. La placa de ensayo se incubó durante 2 h a 25 °C.

7. La placa de ensayo se centrifugó durante 10 min a 1500 rpm.

8. La placa de ensayo se leyó en un instrumento TopCount NXT de Perkin Elmer.

Cálculos

Los datos 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_{50} se calcularon por el programa informático y se informaron en nM. Los datos se muestran en la Tabla 6.

Ejemplo 76: Ensayo de fibrilación con tioflavina T (ThT) para la evaluación de la estabilidad física de las formulaciones de péptidos

El propósito de este ensayo fue evaluar la estabilidad física de los derivados de glucagón de la invención en soluciones acuosas.

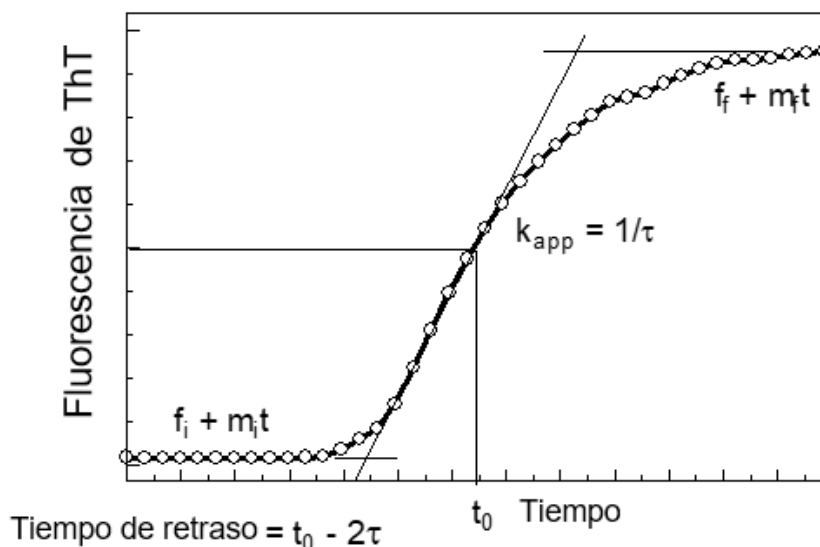
La estabilidad física baja de un péptido puede conducir a la formación de fibrillas de amiloide, que se observa como estructuras macromoleculares similares a hilo en la muestra, bien ordenadas, que eventualmente pueden conducir a la formación de gel. Esto se ha medido tradicionalmente mediante inspección visual de la muestra. Sin embargo, ese tipo de medición es muy subjetiva y depende del observador. Por lo tanto, la aplicación de una sonda indicadora de molécula pequeña es mucho más ventajosa. Dicha sonda es la tioflavina T (ThT) y tiene una fluorescencia característica propia al unirse a las fibrillas [Naiki y otros; *Anal. Biochem.* 1989 177 244-249; LeVine; *Methods Enzymol* 1999 309 274-284].

El transcurso del tiempo para la formación de fibrillas puede describirse mediante una curva sigmoidal con la siguiente expresión [Nielsen y otros; *Biochemistry* 2001 40 6036-6046]:

$$F = f_i + m_i t + \frac{f_f + m_f t}{1 + e^{-[(t-t_0)/\tau]}}$$

Ec. (1)

Aquí, F es la fluorescencia de ThT en el tiempo t. La constante t_0 es el tiempo necesario para alcanzar el 50 % de fluorescencia máxima. Los dos parámetros importantes que describen la formación de la fibrilla son el tiempo de retraso calculado por $t_0 - 2\tau$ y la constante de tasa aparente $k_{app} = 1/\tau$.



La formación de un intermediario parcialmente plegado del péptido se sugiere como un mecanismo de iniciación general para la fibrilación. Algunos de esos intermediarios se nuclean para formar una plantilla sobre la cual los intermediarios posteriores pueden ensamblarse y se procede a la fibrilación. El tiempo de retraso corresponde al intervalo en el cual se construye la masa crítica de núcleos y la constante de tasa aparente es la tasa con la que se forma la propia fibrilla.

Las muestras se prepararon poco antes de cada ensayo. Cada composición de muestra se describe en las leyendas. El pH de la muestra se ajustó al valor deseado mediante el uso de las cantidades apropiadas de NaOH y HCl concentrados. La tioflavina T se añadió a las muestras a partir de una solución madre en H₂O a una concentración final de 1 μ M.

Se colocaron alícuotas de muestra de 200 μ l (250 μ M del derivado/análogo de glucagón en tampón HEPES 10 mM, pH 7,5) en una placa de microtitulación de 96 pocillos (Packard OptiPlate™-96, poliestireno blanco). Usualmente, se colocaron cuatro u ocho réplicas de cada muestra (que corresponden a una condición de prueba) en una columna de pocillos. La placa se selló con Scotch Pad (Qiagen).

La incubación a una temperatura dada, la agitación y la medición de la emisión de fluorescencia de ThT se realizó en un lector de placas de fluorescencia Fluoroskan Ascent FL (Thermo Labsystems). La temperatura se estableció a 37 °C y la placa se incubó con agitación orbital ajustada a 960 rpm con una amplitud de 1 mm. La medición de la fluorescencia se realizó mediante el uso de excitación a través de un filtro de 444 nm y la medición de la emisión a través de un filtro de 485 nm.

Cada ejecución se inició mediante la incubación de la placa a la temperatura del ensayo durante 10 min. La placa se midió cada 20 minutos por un período de tiempo deseado. Entre cada medición, la placa se agitó y se calentó como se describió.

5 Después de completar el ensayo con ThT, las cuatro u ocho réplicas de cada muestra se agruparon y se centrifugaron a 20 000 rpm durante 30 minutos a 18 °C. El sobrenadante se filtró a través de un filtro de 0,22 µm y se transfirió una alícuota a un vial de HPLC.

10 La concentración del péptido en la muestra inicial y en el sobrenadante filtrado se determinó por HPLC de fase inversa mediante el uso de un estándar apropiado como referencia. La fracción porcentual de la concentración de la muestra filtrada constituida de la concentración de la muestra inicial se informó como la recuperación.

15 Los puntos de medición se guardaron en formato de Microsoft Excel para el procesamiento posterior y el dibujo y el ajuste de curvas se realizó mediante el uso de GraphPad Prism. La emisión de fondo a partir de ThT en ausencia de fibrillas fue insignificante. Los puntos de datos fueron típicamente un promedio de cuatro u ocho muestras.

20 El conjunto de datos puede ajustarse a Eq. (1). Sin embargo, el tiempo de retraso antes de la fibrilación puede evaluarse mediante inspección visual de la curva que identifica el punto temporal en el cual la fluorescencia de ThT aumenta significativamente por encima del nivel de fondo. Los datos, como se muestra en la Tabla 6, confirmaron fuertemente la estabilidad física mejorada de los compuestos de esta invención.

Ejemplo 77: Prueba in vivo en ratones con obesidad inducida por dieta (DIO)

25 El propósito de este experimento fue investigar el efecto de los coagonistas de receptores de glucagón-GLP-1 del Ejemplo 8 y el Ejemplo 12 sobre el peso corporal y la glucosa en sangre *in vivo* en ratones DIO. Se incluyó liraglutida (un análogo de GLP-1 humano comercializado por Novo Nordisk A/S bajo el nombre comercial Victoza™) para la comparación.

30 Los ratones c57bl/6J machos obtenidos de Jackson Lab (EE.UU.) se alimentaron con una dieta rica en grasa (Research Diets D12451, grasa 45 %kcal) para obtener aproximadamente 50 % de sobrepeso en comparación con ratones controles delgados emparejados por edad. Los ratones DIO se caracterizan por normoglucemia, resistencia a la insulina y obesidad. Los ratones DIO con un peso corporal de aproximadamente 40 g se asignaron a grupos de 8 animales para obtener una proporción de peso corporal y de grasa corporal comparable entre grupos.

35 Los coagonistas, es decir, los derivados de glucagón, se disolvieron en Na₂HPO₄ 50 mM, NaCl 145 mM, og Tween 80 al 0,05 %, pH 7,4, mientras que la liraglutida se diluyó a partir de lapiceras Victoza™ 6 mg/ml en tampón DPBS (Invitrogen) que contenía albúmina sérica de rata al 0,5 %. Los animales tratados con vehículo recibieron Na₂HPO₄ 50 mM, NaCl 145 mM, og Tween 80 al 0,05 %, pH 7,4. Los compuestos y el vehículo se dosificaron (1 ml/kg) durante 40 5 semanas por vía s.c. una vez al día justo antes de apagar las luces. Para la primera mitad del estudio los coagonistas se administraron a una dosis de 5 nmol/kg y para la segunda mitad del estudio los coagonistas se administraron a una dosis de 10 nmol/kg. Para la comparación, se incluyó la liraglutida a una dosis de 100 nmol/kg, igualmente dosificada por vía s.c. una vez al día. El peso corporal se monitoreó antes de la administración de la dosis, y diariamente durante el período de administración de la dosis. La glucosa en sangre sin ayuno se midió en el 45 día del inicio de la dosificación y semanalmente durante el período de administración de la dosis, antes de la administración de la dosis. La sangre para la medición de la glucosa en sangre se tomó de capilares de la punta de la cola y la glucosa en sangre se midió mediante el uso de un analizador de glucosa (Biosen 5040) basado en el método de glucosa oxidasa.

50 La reducción del peso corporal/peso corporal al final del período de tratamiento de 5 semanas y el área bajo la curva de glucosa en sangre durante el período de tratamiento de cinco semanas se proporcionan en las tablas más abajo.

Tabla 1

Peso corporal normalizado después de 5 semanas de tratamiento		
Compuesto	Por ciento de PC del valor basal a la semana 5 (media±SD)	Peso Corporal
Vehículo	103 %±2 %	42 g±4 g
Liraglutida	87 %±4 %	36 g±5 g*
Ejemplo 8	88 %±8 %	36 g±5 g*
Ejemplo 12	75 %±8 %	31 g±2 g**
*p<0,05; **p<0,001 frente al vehículo, ANOVA de una vía, prueba post hoc de Bonferroni		

65

Tabla 2

Área bajo la curva de glucosa en sangre medida durante el período de tratamiento de 5 semanas	
Compuesto	AUC de la GS _(semana 1-5) (media±SD)
Vehículo	243 mM*día±16 mM*día
Liraglutida	208 mM*día±10 mM*día***
Ejemplo 8	187 mM*día±11 mM*día***
Ejemplo 12	206 mM*día±16 mM*día***
***p<0,001 frente a vehículo, ANOVA de una vía, prueba post hoc de Bonferoni	

Los resultados en las Tablas 1 y 2 muestran que los derivados de coagonistas de receptores de GLP-1-glucagón de la invención son biológicamente activos *in vivo*, con reducción eficaz del peso corporal, que para el compuesto del Ejemplo 12 tiende a ser superior con respecto a la liraglutida sola, mientras que la glucosa en sangre permanece mejorada en comparación con animales tratados con vehículo y a la par con animales tratados con liraglutida.

Ejemplo 78: Perfil farmacocinético en ratones

El propósito de este ensayo fue evaluar los perfiles farmacocinéticos de los derivados de glucagón de la invención en ratones.

El perfil farmacocinético de coagonistas de glucagón-GLP1 se analizó en ratones c57/Bl6 machos normales (peso corporal aproximado: 30 gramos), en un diseño de muestreo disperso con, por ejemplo, 3 ratones representados en cada punto temporal (por ejemplo: t= 0,25, 0,5, 1, 3, 6, 10, 24, 30 y 48 horas). El compuesto se dosificó como una dosis subcutánea única de 10 nmol/kg en t=0.

Los niveles en plasma de los compuestos coagonistas de GLP1-glucagón se determinaron mediante el uso de un ensayo ELISA/LOCI (ver el Ejemplo 80 en la presente descripción). Cálculos farmacocinéticos tales como vida media ($T_{1/2}$) concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y tiempo para la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$) de los compuestos se determinaron mediante el uso del programa informático basado en PC, Phoenix (WinNonLin versión 6.3 de Pharsight, Certara).

Los resultados confirmaron fuertemente el efecto prolongado de los coagonistas de glucagón-GLP1 de esta invención.

Tabla 3

Vida media ($T_{1/2}$), concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y tiempo para la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$) media			
Compuesto	$T_{1/2}$ (horas)	$C_{m\acute{a}x}$ (pM)	$T_{m\acute{a}x}$ (horas)
Ejemplo 8	23	45 000	3
Ejemplo 12	14	24 400	3

Ejemplo 79: Evaluación de la estabilidad química

El propósito de este ensayo fue evaluar la estabilidad química de los derivados de glucagón de la invención en soluciones acuosas.

La estabilidad química de los derivados o análogos de glucagón se investigó mediante la separación por RP-UPLC y la detección UV. Las muestras liofilizadas se disolvieron en un tampón fosfato 8 mM pH 8,6, seguido del ajuste a pH 7,3 mediante el uso de HCl hasta una concentración final de 333 μ M. Las muestras se incubaron durante 14 días a 5 °C y 37 °C seguido del análisis por RP-UPLC. La pureza se definió como el porcentaje de área del pico principal en relación con el área total de todos los picos integrados en cada cromatograma. La pérdida de pureza después de 14 días a 37 °C se determinó como la diferencia en pureza entre las muestras incubadas a 5 °C y 37 °C, dividido por la pureza de la muestra después de la incubación durante 14 días a 5 °C.

El análisis por RP-UPLC se realizó mediante el uso de una columna Waters BEH130 2,1 mm x 150 mm, 1,7 μ m operada a 50 °C y una tasa de flujo de 0,4 ml/min mediante el uso de un sistema de fase móvil que consiste en A: TFA al 0,05 % en agua-MQ B: TFA al 0,05 % en acetonitrilo. La detección UV se realizó a 215 nm. El perfil de gradiente típico usado para la mayoría de las muestras se muestra más abajo.

Tabla 4

Perfil de gradiente típico usado para el análisis por RP-UPLC	
Tiempo (min)	%B
Inyección	20
30	60
31	99
37	99
39	20
40	20
45	20

Para algunos derivados o análogos individuales que eluyen en tiempos de retención diferentes sustancialmente en comparación con la mayoría de los derivados o análogos, se realizaron algunos ajustes al perfil de gradiente para permitir una mejor comparación de la evaluación de pureza en las muestras. Los datos confirmaron la estabilidad química mejorada de los derivados de glucagón de esta invención.

Tabla 5

Estabilidad química de coagonistas de los receptores de GLP-1/glucagón. Los datos mostrados son la pérdida de pureza después de 14 días a 37 °C en por ciento (%)	
Compuesto	Pérdida de pureza; 14 días a 37 °C
Ejemplo 8	9
Ejemplo 12	8
Ejemplo 16	3
Ejemplo 22	1
Ejemplo 23	2
Ejemplo 25	1
Ejemplo 26	2
Ejemplo 27	5
Ejemplo 34	5
Ejemplo 36	2
Ejemplo 38	2
Ejemplo 39	3
Ejemplo 40	2
Ejemplo 41	1
Ejemplo 42	3
Ejemplo 43	2
Ejemplo 44	2
Ejemplo 45	3
Ejemplo 46	1
Ejemplo 47	3
Ejemplo 48	2
Ejemplo 49	2
Ejemplo 51	3
Ejemplo 54	1
Ejemplo 55	2
Ejemplo 57	1

	Ejemplo 58	2
	Ejemplo 60	4
5	Ejemplo 56	4
	Ejemplo 62	2
	Ejemplo 63	1
10	Ejemplo 65	3
	Ejemplo 66	2
	Ejemplo 68	3
	Ejemplo 67	4
15	Ejemplo 69	2
	Ejemplo 70	2

Ejemplo 80: Ensayo ELISA/LOCI para la determinación de péptidos en plasma sanguíneo

El propósito de este ensayo fue determinar el contenido de coagonistas de receptores de GLP-1/glucagón en plasma sanguíneo.

Las muestras se analizaron para determinar los niveles de péptido mediante el uso de un inmunoensayo de luminiscencia de canalización de oxígeno (LOCI). Las perlas donantes se recubrieron con estreptavidina. Las perlasceptoras se conjugan con un anticuerpo monoclonal específico para gGlu en el enlazador (NN454-1F31) mientras que el segundo anticuerpo monoclonal (1F120) específico para glucagón se biotiniló. Los tres reactivos se combinaron con el analito y formaron un inmunocomplejo de dos sitios. La iluminación del complejo liberó átomos de oxígeno singlete de las perlas donantes. Se canalizaron en las esferasceptoras y desencadenaron la quimioluminiscencia que se midió en un lector de placas Envision. La cantidad de luz emitida es proporcional a la concentración del péptido.

Se aplicó un μl de muestra/calibrador/control a los pocillos de placas LOCI de 384 pocillos seguido de una mezcla de 15 μl de las perlasceptoras recubiertas de anticuerpo (0,5 $\mu\text{g/pocillo}$) y el anticuerpo biotinilado. Las placas se incubaron durante toda la noche a 21–22 °C. Después de la incubación, se añadió 30 μl de las perlas donantes recubiertas con estreptavidina (2 $\mu\text{g/pocillo}$) a cada pocillo y se incubó durante 30 minutos a 21-22 °C. Las placas se leyeron en un lector de placas Envision a 21-22 °C con un filtro que tiene un ancho de banda de 520-645 nm después de la excitación mediante un láser de 680 nm. El tiempo de medición total por pocillo fue de 210 ms, lo que incluye un tiempo de excitación de 70 ms.

La siguiente tabla muestra los datos de los derivados de glucagón de la invención obtenidos como se describió en los ejemplos anteriores.

Tabla 6

Valores de EC ₅₀ (Ensayo descrito en el Ejemplo 74 en la presente descripción) e IC ₅₀ (Ensayo descrito en el Ejemplo 75 en la presente descripción) para los coagonistas de los receptores de GLP-1/glucagón y datos de estabilidad física (Ensayo descrito en el Ejemplo 76 en la presente descripción)						
Compuesto de Ejemplo Núm.	EC ₅₀ Receptor de GLP-1 [pM] (Ej. 74)	EC ₅₀ Receptor de Gluc [pM] (Ej. 74)	IC ₅₀ Receptor de GLP-1 [nM] (Ej. 75)	IC ₅₀ Receptor de Gluc [nM] (Ej. 75)	Ensayo con THT Tiempo de retraso (Ej. 76)	Ensayo con THT Recuperación (Ej. 76)
1	8,0	54,0			45,0	100,0
2	44,0	97,0			7,0	2,0
3	6,0	60,0			45,0	100,0
4	4,0	16,0			45,0	100,0
5	5,0	109,0			45,0	100,0
6	20,0	1210,0			45,0	100,0

ES 2 754 048 T3

	7			2,4	1,1	45,0	100,0
	8	29,6	1128,1	1,1	6,7	45,0	98,0
5	9	3,2	698,9	0,2	380,8	8,0	45,0
	10	9,2	42,3	0,5	1,2	7,0	11,0
	11	15,0	672,0				
10	12	14,7	104,0	0,5	7,0	45,0	100,0
	16	5,8	113,1	0,2	3,9	45,0	100,0
	17			0,2	53,0	45,0	92,6
15	18	2,3	220,3	0,1	11,0	45,0	103,3
	19	4,7	39,9	0,9	8,5	6,7	5,0
	20	4,4	62,4	0,4	6,7	6,0	5,0
20	21	2,7	240,3	0,3	51,0	18,0	33,0
	22	11,8	87,1	0,2	7,1	45,0	100,0
	23	22,1	77,3	0,3	6,4	45,0	104,0
25	24	11,9	506,3	0,2	61,0	28,0	105,0
	25	5,7	44,7	0,2	5,1	45,0	104,0
	26	9,0	8,7	0,5	4,0	45,0	100,0
30	27	4,1	1,7	0,9	0,7	42,0	98,0
	28	29,5	1328,0	1,6	148,0		
	39	26,6	58,8	1,4	5,9	33,0	77,0
35	30	35,7	4,8	1,4	0,5	45,0	100
	31	19,5	2,9	1,5	0,8	45,0	100
	32	32,7	6,8	3,9	1,9	45,0	100
40	33	14,6	3,6	0,6	2,0	45	100
	34	14,7	2,9	0,2	0,2	45	100
	35	3,0	1,0	2,6	0,7	45	119
45	36	2,0	4,0	0,2	0,6	45	131
	37	4,0	2,0	0,2	0,1	45	50
	38	13,0	24,0	1,2	29,4	45	99
50	39	4,0	12,0	0,3	5,6	45	98
	40	4,0	136,0	0,4	37,7	40	96
55	41	7,0	29,0	0,3	1,2	45	100
	42	3,0	32,0	0,3	38,2	45	100
	43	5,0	2,0	0,3	5,6	45	105
60	44	3,0	10,0	0,3	7,2	45	105
	45	18,0	6,0	0,4	4,5	45	105
	46	21,0	16,0	1,1	8,5	45	105
65							

ES 2 754 048 T3

5	47	17,0	5,0	0,2	1,5	45	105
	48	44,0	8,0	0,2	3,1	45	105
	49	17,0	4,0	0,4	1,7	45	104
	50	11,0	280,0	2,2	26,2	28	80
10	51	6,0	4,0	0,7	1,4	45	104
	52	4,0	16,0	0,2		45	88
	53	11,0	7,0	1,9		45	100
15	54	2,7	12,7	0,2	1,7	45	100
	55	27,0	30,5	1,1	18,4	45	100
	56	5,3	6,3	0,3	2,1	45	100
20	57	3,0	129,0	0,2	19,0	45	100
	58	4,3	11,3	0,2	2,6	45	100
	59	4,0	17,0	0,2	1,4	12	9
25	60	6,0	54,0	0,2	4,0	45	100
	61	6,0	11,0	0,3	1,8	20	27
	62	8,0	10,0	0,2	3,9	45	100
30	63	7,0	24,0	0,8	7,7	45	100
	64	3,0	20,0	0,9	5,5	19	27
	65	6,0	44,0	0,5	17,0	45	100
35	66	5,0	47,0	0,6	10,4	45	104
	67	4,0	10,0	0,3	1,5	45	100
	68	7,0	5,0	0,3	0,6	45	100
40	69	7,0	68,0	0,2	9,5	45	105
	70	1,5	30,0	0,2	3,2	45	106
45	71	4,0	17,0	0,7	5,7	45	100
	72	3,0	57,0	0,5	11,3	31	98
	73	5,0	49,0	1,5	16,2	22	88

50 Si bien determinadas características de la invención se han ilustrado y descrito en la presente descripción, muchas modificaciones, sustituciones, cambios y equivalentes serán evidentes para un experto en la técnica. Por lo tanto, debe entenderse que las reivindicaciones anexas pretenden cubrir todas esas modificaciones y cambios siempre que caigan dentro del verdadero espíritu de la invención.

55 Listado de secuencias

<110> Novo Nordisk A/S

<120> COAGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE GLP-1/GLUCAGÓN PROLONGADOS Y ESTABLES

60

<130> 8676WO01

<160> 5

65 <170> PatentIn versión 3.5

ES 2 754 048 T3

<210> 1
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 1
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15
 10
 Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25
 15
 <210> 2
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Sintético
 20
 <220>
 <221> SITIO
 <222> (2)..(2)
 <223> X2 es Aib, Acb o Acpr
 25
 <220>
 <221> SITIO
 <222> (3)..(3)
 <223> X3 es Gln o His
 30
 <220>
 <221> SITIO
 <222> (10)..(10)
 <223> X10 es Leu, Ile o Val
 35
 <220>
 <221> SITIO
 <222> (12)..(12)
 <223> X12 es Lys o Arg
 40
 <220>
 <221> SITIO
 <222> (15)..(15)
 <223> X15 es Asp o Glu
 45
 <220>
 <221> SITIO
 <222> (16)..(16)
 <223> X16 es Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys
 50
 <220>
 <221> SITIO
 <222> (17)..(17)
 <223> X17 es Arg o Lys
 55
 <220>
 <221> SITIO
 <222> (18)..(18)
 <223> X18 es Arg, Ala o Lys
 60
 <220>
 <221> SITIO
 <222> (20)..(20)
 <223> X20 es Gln, Arg, Glu, Aib o Lys
 65
 <220>

<221> SITIO
 <222> (21)..(21)
 <223> X21 es Asp, Glu o Lys

5

<220>
 <221> SITIO
 <222> (24)..(24)
 <223> X24 es Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys

10

<220>
 <221> SITIO
 <222> (27)..(27)
 <223> X27 es Met, Leu o Val

15

<220>
 <221> SITIO
 <222> (28)..(28)
 <223> X28 es Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys

20

<220>
 <221> SITIO
 <222> (29)..(29)
 <223> X29 es Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys

25

<400> 2

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

30

Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Phe Val Xaa Trp Leu Xaa Xaa Xaa
 20 25

35

<210> 3
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Sintético

40

<220>
 <221> SITIO
 <222> (2)..(2)
 <223> X2 es Aib, Acb o Acpr

45

<220>
 <221> SITIO
 <222> (3)..(3)
 <223> X3 es Gln o His

50

<220>
 <221> SITIO
 <222> (10)..(10)
 <223> X10 es Leu, Ile o Val

55

<220>
 <221> SITIO
 <222> (12)..(12)
 <223> X12 es Lys o Arg

60

<220>
 <221> SITIO
 <222> (15)..(15)
 <223> X15 es Asp o Glu

65

<220>

ES 2 754 048 T3

<221> SITIO
 <222> (16)..(16)
 <223> X16 es Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys

5

<220>
 <221> SITIO
 <222> (17)..(17)
 <223> X17 es Arg o Lys

10

<220>
 <221> SITIO
 <222> (18)..(18)
 <223> X18 es Arg, Ala o Lys

15

<220>
 <221> SITIO
 <222> (20)..(20)
 <223> X20 es Gln, Arg, Glu, Aib o Lys

20

<220>
 <221> SITIO
 <222> (21)..(21)
 <223> X21 es Asp, Glu o Lys

25

<220>
 <221> SITIO
 <222> (24)..(24)
 <223> X24 es Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys

30

<220>
 <221> SITIO
 <222> (27)..(27)
 <223> X27 es Met, Leu o Val

35

<220>
 <221> SITIO
 <222> (28)..(28)
 <223> X28 es Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys

40

<220>
 <221> SITIO
 <222> (29)..(29)
 <223> X29 es Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys

45

<220>
 <221> SITIO
 <222> (30)..(30)
 <223> X30 es Lys

50

<400> 3

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

55

Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Phe Val Xaa Trp Leu Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

60

<210> 4
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Sintético

65

<220>

- <221> SITIO
 <222> (2)..(2)
 <223> X2 es Aib, Acb o Acpr
- 5 <220>
 <221> SITIO
 <222> (3)..(3)
 <223> X3 es Gln o His
- 10 <220>
 <221> SITIO
 <222> (10)..(10)
 <223> X10 es Leu, Ile o Val
- 15 <220>
 <221> SITIO
 <222> (12)..(12)
 <223> X12 es Lys o Arg
- 20 <220>
 <221> SITIO
 <222> (15)..(15)
 <223> X15 es Asp o Glu
- 25 <220>
 <221> SITIO
 <222> (16)..(16)
 <223> X16 es Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys
- 30 <220>
 <221> SITIO
 <222> (17)..(17)
 <223> X17 es Arg o Lys
- 35 <220>
 <221> SITIO
 <222> (18)..(18)
 <223> X18 es Arg, Ala o Lys
- 40 <220>
 <221> SITIO
 <222> (20)..(20)
 <223> X20 es Gln, Arg, Glu, Aib o Lys
- 45 <220>
 <221> SITIO
 <222> (21)..(21)
 <223> X21 es Asp, Glu, Ser o Lys
- 50 <220>
 <221> SITIO
 <222> (24)..(24)
 <223> X24 es Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys
- 55 <220>
 <221> SITIO
 <222> (27)..(27)
 <223> X27 es Met, Leu o Val
- 60 <220>
 <221> SITIO
 <222> (28)..(28)
 <223> X28 es Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys
- 65 <220>
 <221> SITIO

ES 2 754 048 T3

<222> (29)..(29)
 <223> X29 es Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys

<400> 4

5

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

10

	Xaa	Xaa	Ala	Xaa	Xaa	Phe	Val	Xaa	Trp	Leu	Xaa	Xaa	Xaa
				20					25				

15

<210> 5
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Sintético

20

<220>
 <221> SITIO
 <222> (2)..(2)
 <223> X2 es Aib, Acb o Acpr

25

<220>
 <221> SITIO
 <222> (3)..(3)
 <223> X3 es Gln o His

30

<220>
 <221> SITIO
 <222> (10)..(10)
 <223> X10 es Leu, Ile o Val

35

<220>
 <221> SITIO
 <222> (12)..(12)
 <223> X12 es Lys o Arg

40

<220>
 <221> SITIO
 <222> (15)..(15)
 <223> X15 es Asp o Glu

45

<220>
 <221> SITIO
 <222> (16)..(16)
 <223> X16 es Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys

50

<220>
 <221> SITIO
 <222> (17)..(17)
 <223> X17 es Arg o Lys

55

<220>
 <221> SITIO
 <222> (18)..(18)
 <223> X18 es Arg, Ala o Lys

60

<220>
 <221> SITIO
 <222> (20)..(20)
 <223> X20 es Gln, Arg, Glu, Aib o Lys

65

<220>

ES 2 754 048 T3

<221> SITIO
 <222> (21)..(21)
 <223> X21 es Asp, Glu, Ser o Lys

5 <220>
 <221> SITIO
 <222> (24)..(24)
 <223> X24 es Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys

10 <220>
 <221> SITIO
 <222> (27)..(27)
 <223> X27 es Met, Leu o Val

15 <220>
 <221> SITIO
 <222> (28)..(28)
 <223> X28 es Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys

20 <220>
 <221> SITIO
 <222> (29)..(29)
 <223> X29 es Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys

25 <220>
 <221> SITIO
 <222> (30)..(30)
 <223> X30 es Lys

30 <400> 5

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

35

Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Phe Val Xaa Trp Leu Xaa Xaa Xaa Xaa

40

20

25

30

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de glucagón que comprende la secuencia de aminoácidos de Fórmula I (que corresponde a la SEQ ID NO:4 y la SEQ ID NO:5):

His-X₂-X₃-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-X₁₀-Ser-X₁₂-Tyr-Leu-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-Ala-X₂₀-X₂₁-Phe-Val-X₂₄-Trp-Leu-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀ [I],

en donde,

X₂ representa Aib, Acb o Acpr;
 X₃ representa Gln o His;
 X₁₀ representa Leu;
 X₁₂ representa Lys o Arg;
 X₁₅ representa Asp o Glu;
 X₁₆ representa Ser, Ala, Leu, Thr, Glu, Aib, Ile, Val o Lys;
 X₁₇ representa Arg o Lys;
 X₁₈ representa Arg, Ala o Lys;
 X₂₀ representa Gln, Arg, Glu, Aib o Lys;
 X₂₁ representa Asp, Glu, Ser, o Lys;
 X₂₄ representa Gln, Ala, Arg, Glu, Aib o Lys;
 X₂₇ representa Met, Leu o Val;
 X₂₈ representa Asn, Ser, Thr, Gln, Ala, Gly, Glu o Lys;
 X₂₉ representa Thr, Gly, Ser, Gln, Ala, Glu o Lys;
 X₃₀ representa Lys, o X₃₀ está ausente;

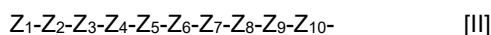
cuya secuencia de aminoácidos comprende un residuo de lisina en una o más de las posiciones 12, 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 y/o 30; y

en donde dicho derivado de glucagón comprende un sustituyente que comprende una porción lipófila y al menos tres porciones cargadas negativamente, en donde una de dichas porciones cargadas negativamente es distal de dicha porción lipófila, y en donde dicho sustituyente se une a la posición épsilon de un residuo de lisina en una de las posiciones de aminoácidos 16, 17, 18, 20, 21, 24, 28, 29 o 30; y

en donde dicho derivado de glucagón es una amida C-terminal;

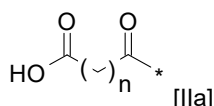
o una sal aceptable farmacéuticamente o profármaco de este.

2. El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 1, en donde dicho derivado de glucagón es un agonista del receptor de glucagón y agonista del receptor de GLP-1.
3. El derivado de glucagón de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho sustituyente tiene la Fórmula II:



en donde,

Z₁ representa una estructura de acuerdo con la Fórmula IIa;

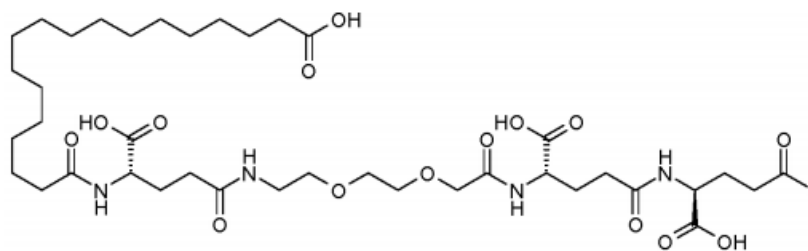


en donde n en la Fórmula IIa es 6-20, y el símbolo * representa el punto de unión al nitrógeno del grupo vecino y en donde Z₂, Z₃, Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈, Z₉, Z₁₀ se representan individualmente por los siguientes aminoácidos: Glu, γGlu, Gly, Ser, Ala, Thr, Ado o está ausente,

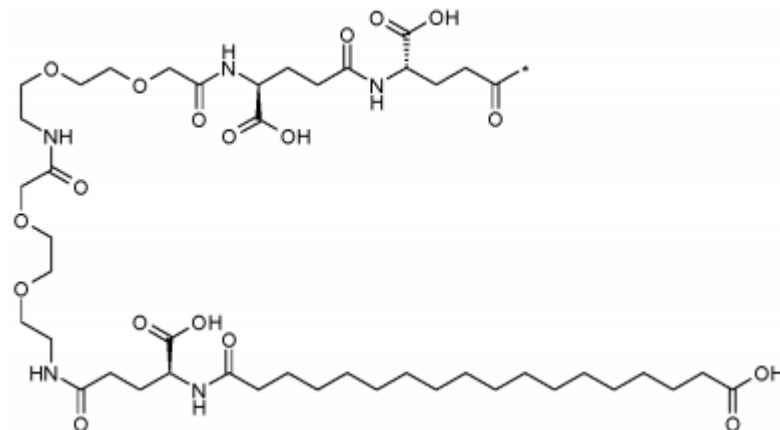
en donde al menos dos de los residuos Z₂ a Z₁₀ están presentes,

en donde dicho sustituyente se une en la posición épsilon de una Lys de la Fórmula I y en donde Z₁-Z₂-Z₃-Z₄-Z₅-Z₆-Z₇-Z₈-Z₉-Z₁₀ contienen juntos al menos tres cargas negativas.

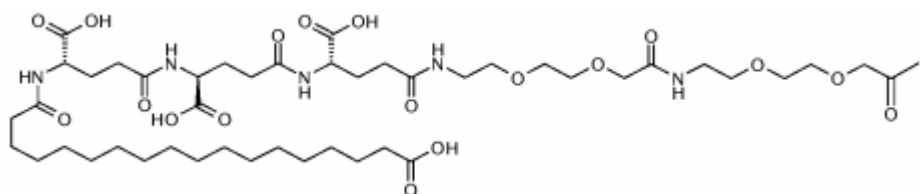
4. El derivado de glucagón de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho derivado de glucagón comprende modificaciones de residuos de 3-15 aminoácidos, tales como sustituciones o adiciones, en comparación con el glucagón (SEQ ID NO: 1).
5. El derivado de glucagón de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho sustituyente representa una estructura de acuerdo con una cualquiera de las siguientes nueve fórmulas (Quím.A - Quím.I), en donde * indica el punto de unión al átomo de nitrógeno de la posición épsilon de un residuo de Lys de Fórmula I:



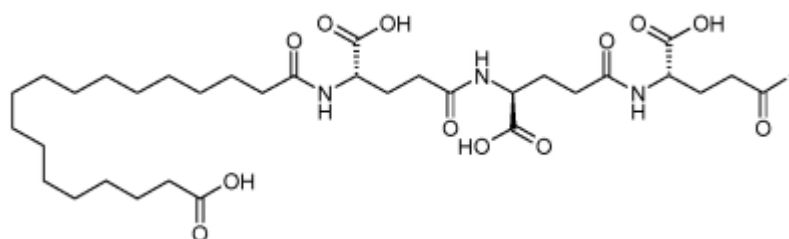
(Quím.A);



(Quím.B);

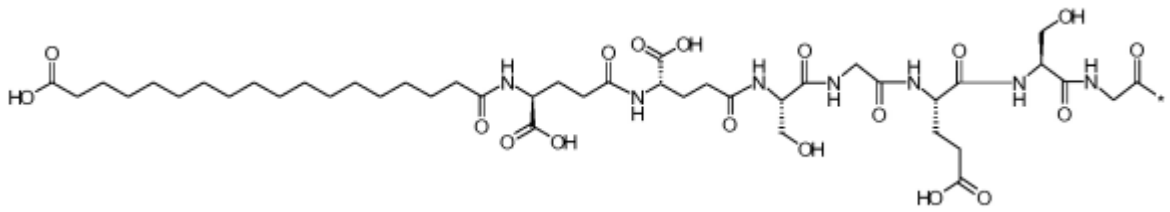


(Quím.C);



(Quím.D);

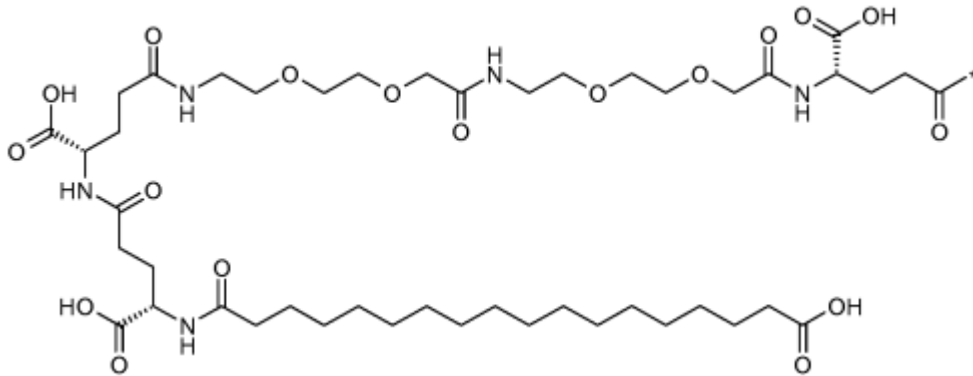
5



10

(Quím.E);

15

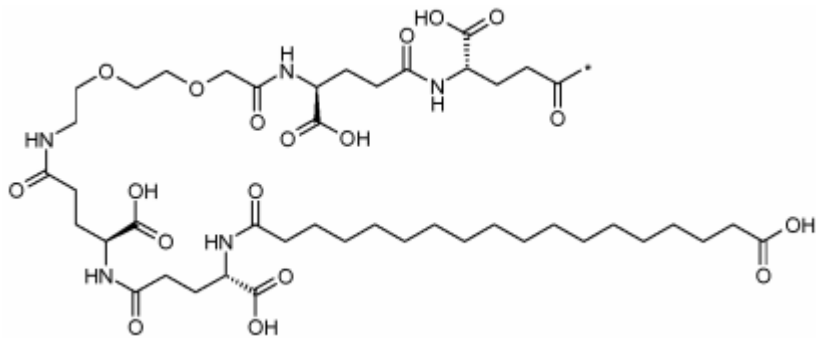


20

25

(Quím.F);

30

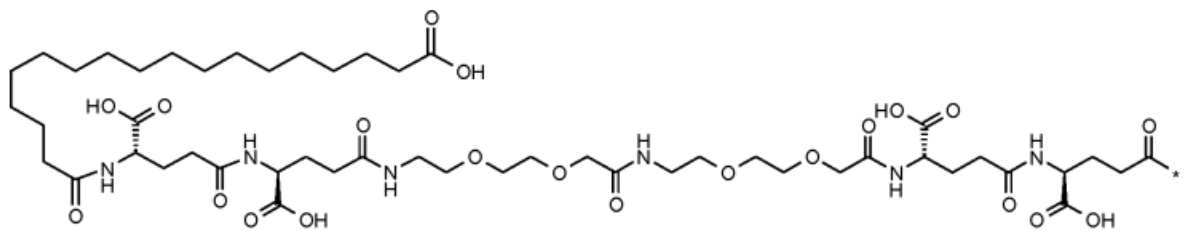


35

40

(Quím.G);

45



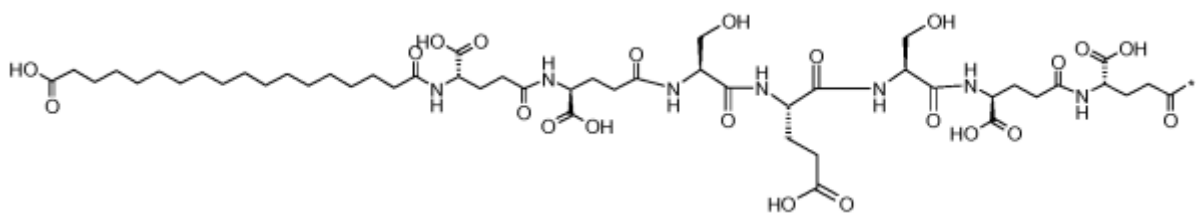
50

55

(Quím.H);

y 2

60

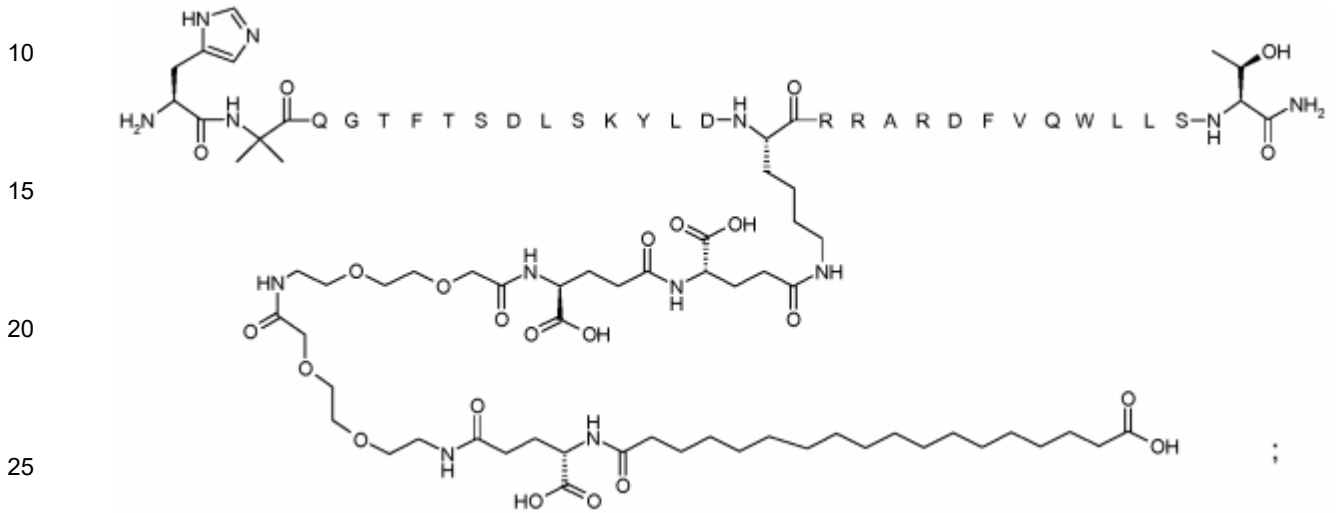


65

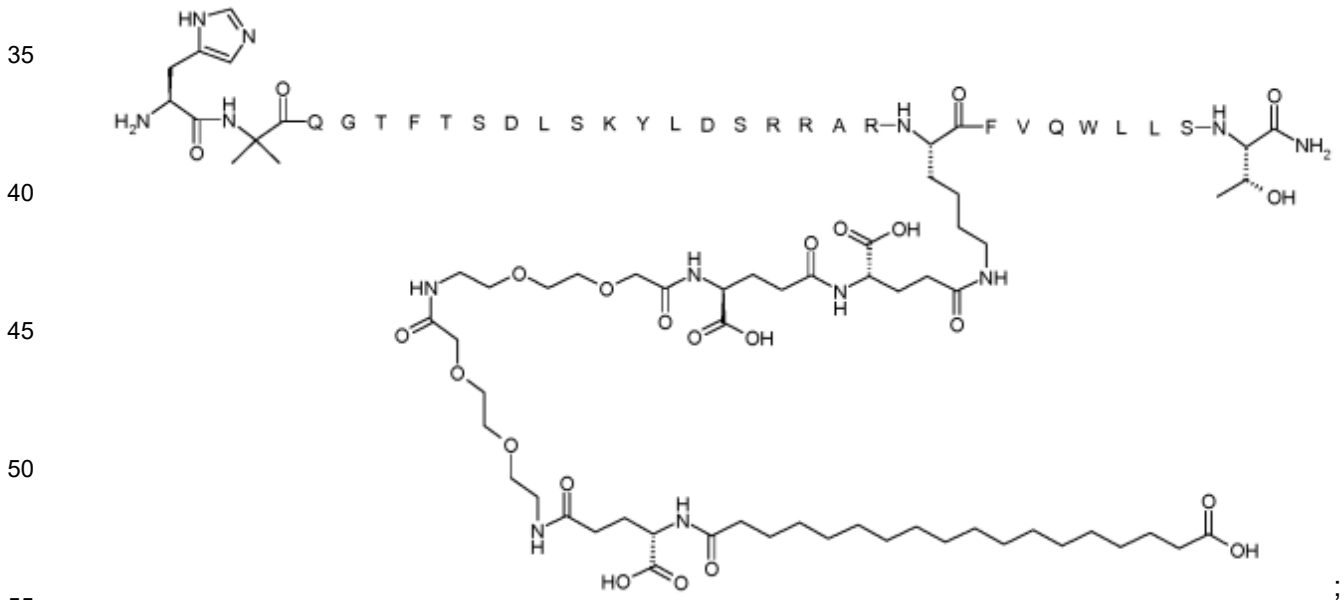
(Quím.I).

6. El derivado de glucagón de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, seleccionado del grupo que consiste en:

5 N^{E16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28]-Glucagón amida

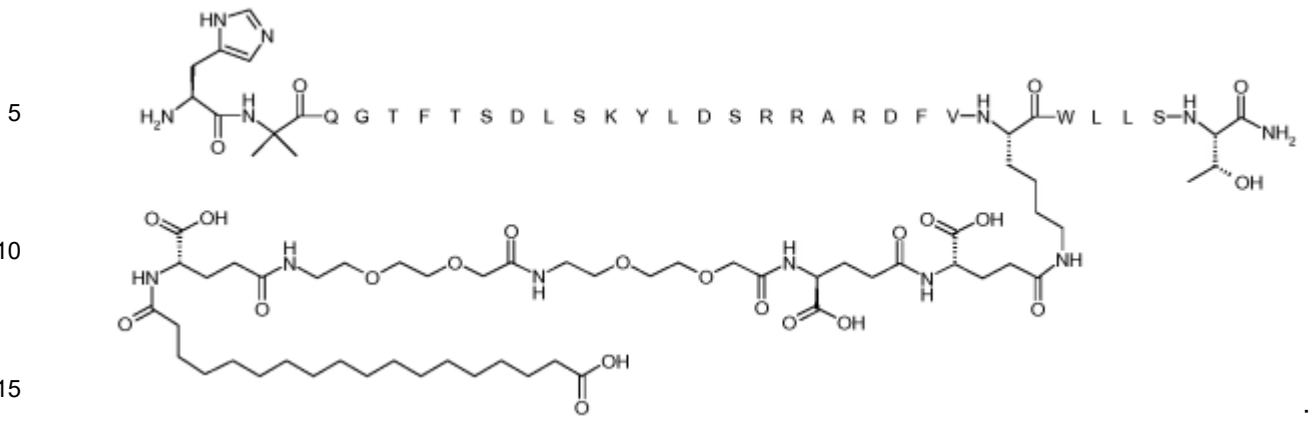


30 N^{E21}-(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28]-Glucagón amida

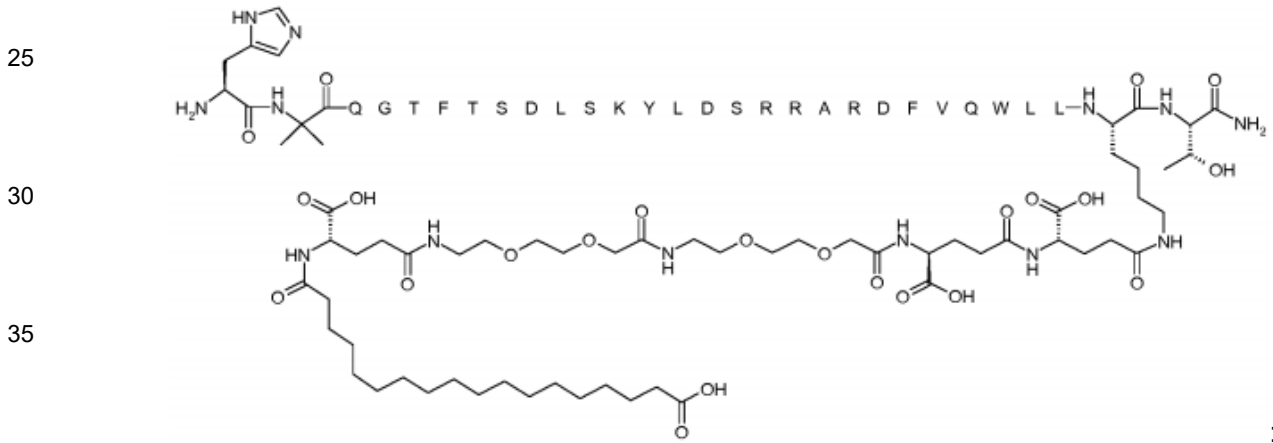


60 N^{E24}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28]-Glucagón amida

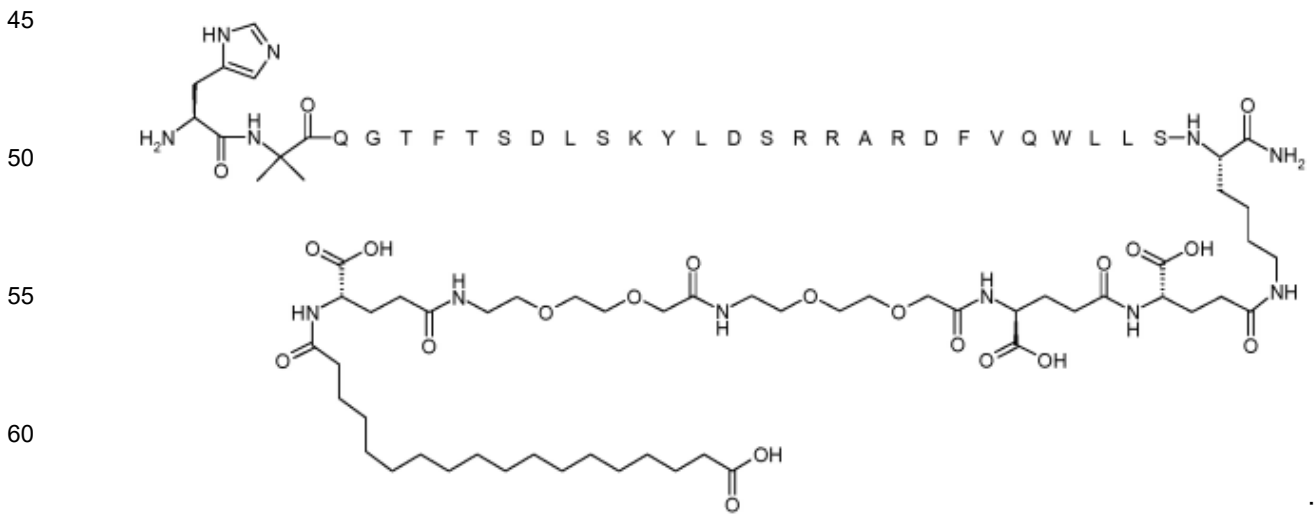
65



20 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

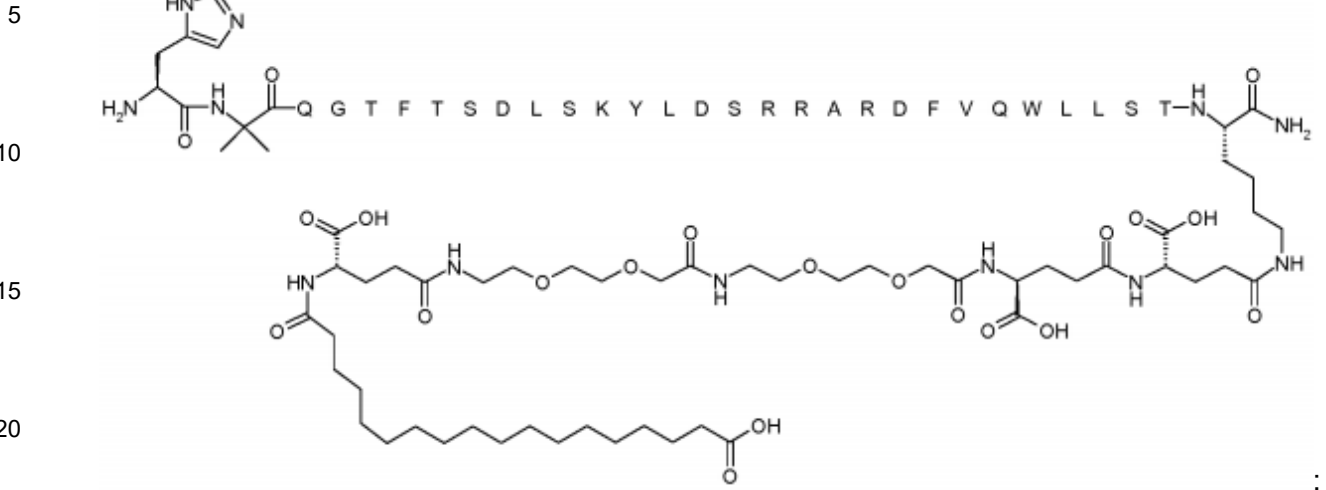


45 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

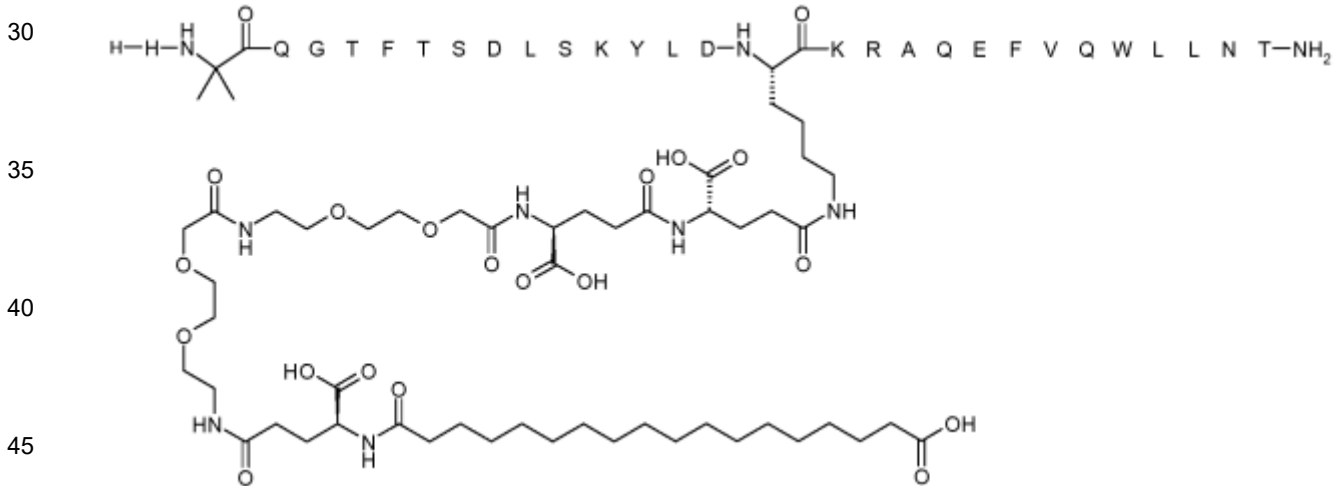


65 N^ε-[(Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28]-Glucagonil)-N(Épsilon)[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-

carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]Lys amida



25 N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27]-Glucagón amida

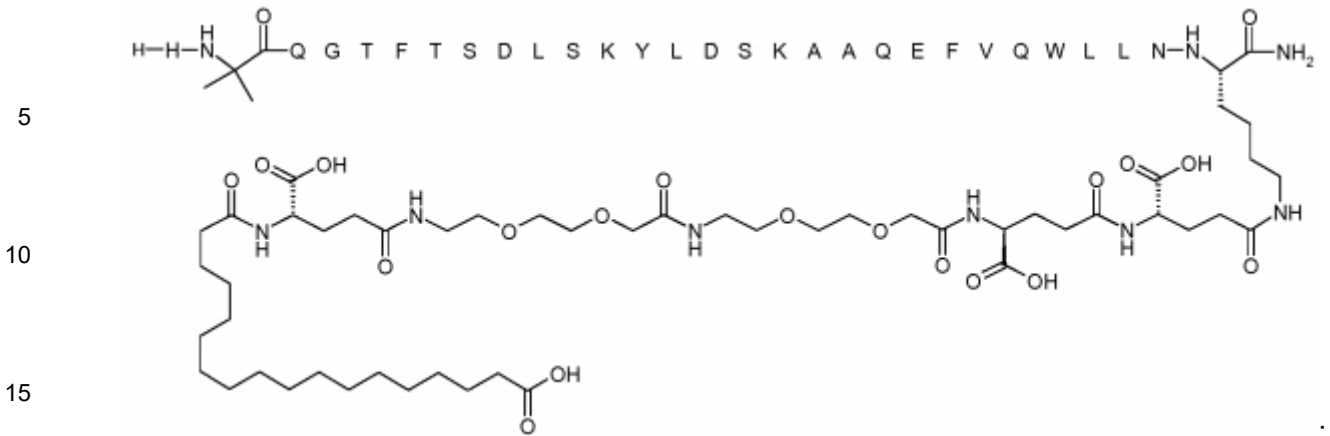


50 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

55

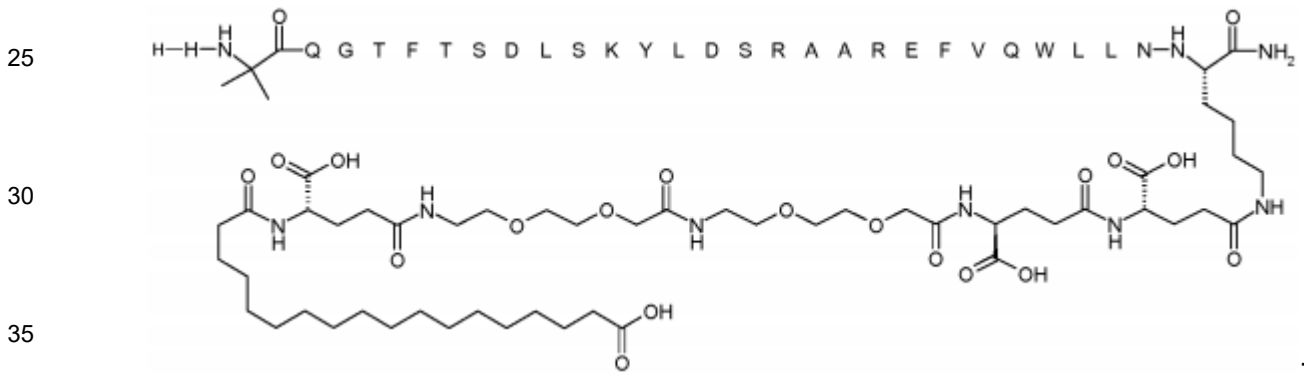
60

65



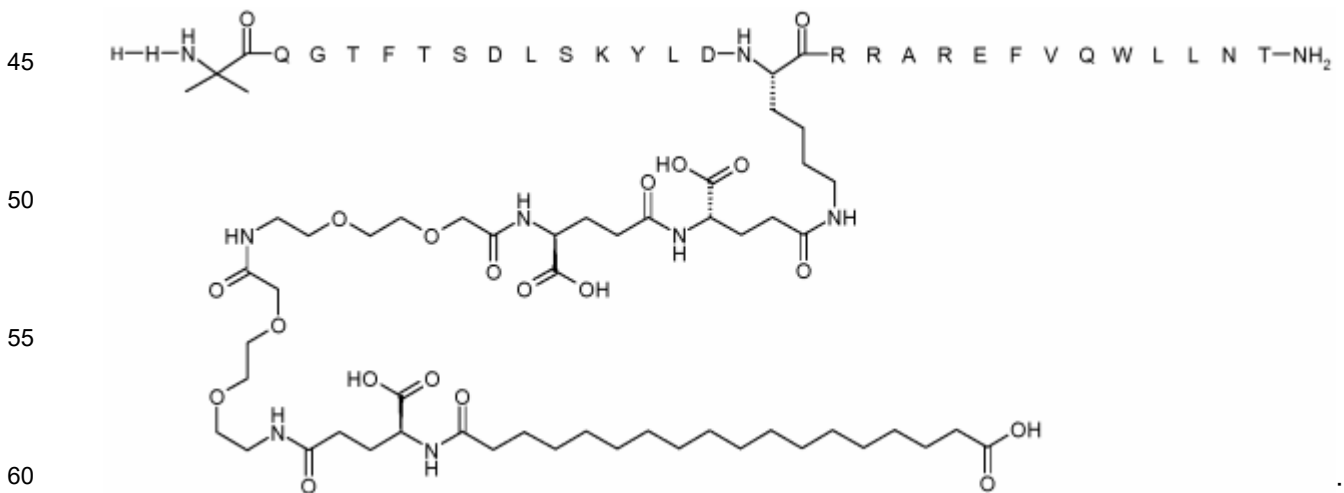
20

$N^{\epsilon 29}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida



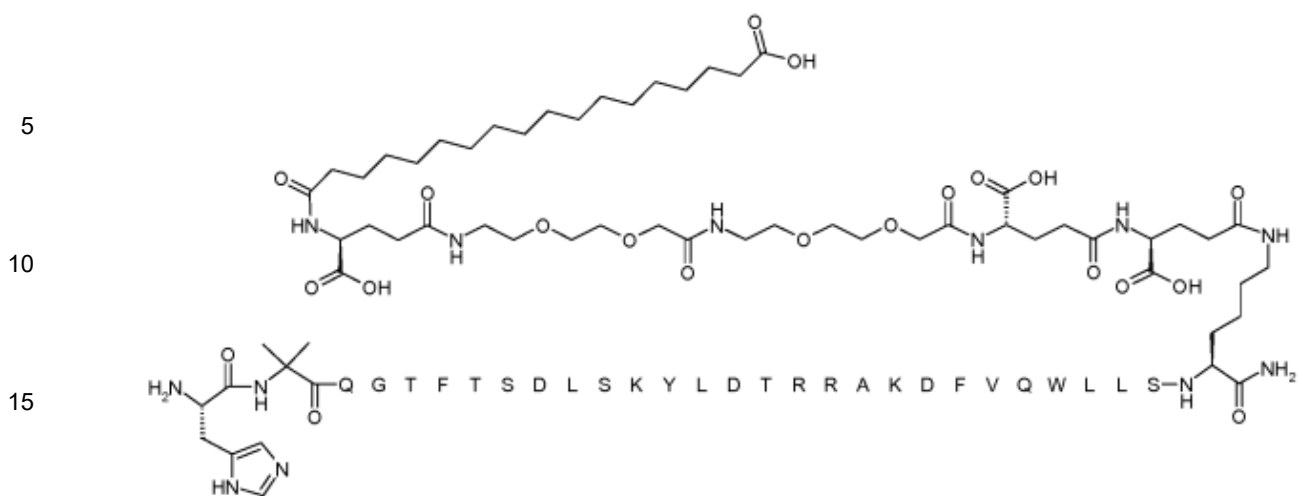
40

$N^{\epsilon 16}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27]-Glucagón amida

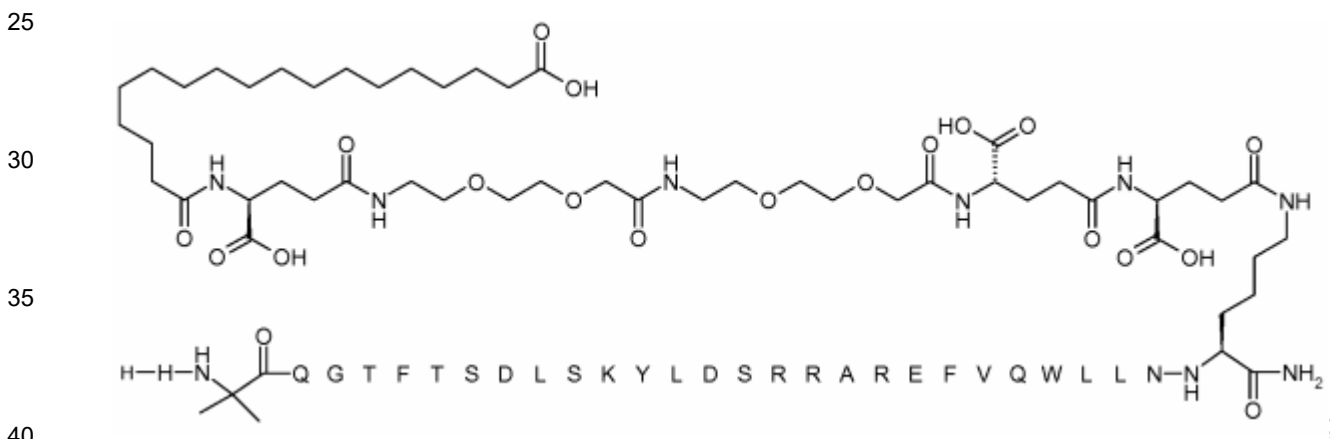


65

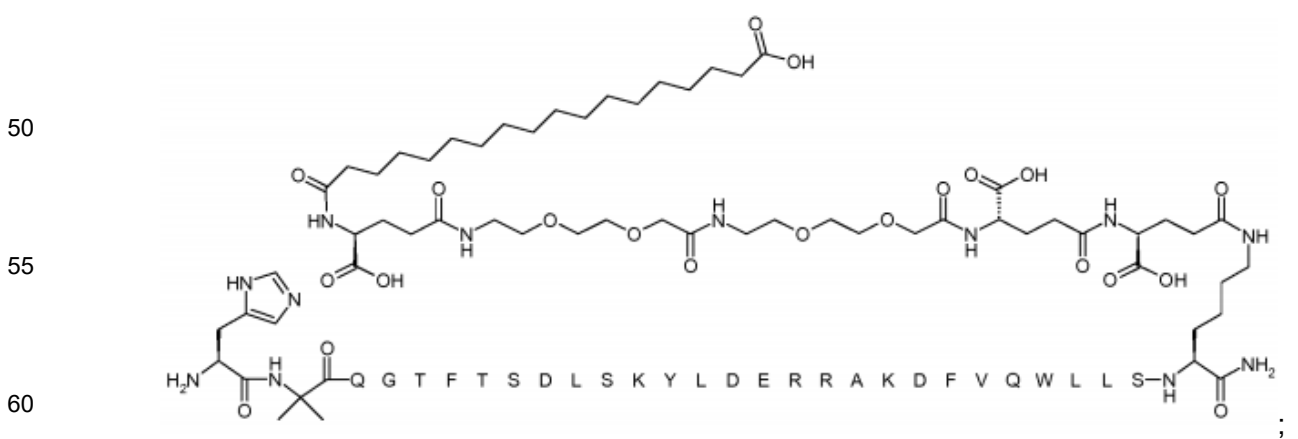
$N^{\epsilon 29}$ -[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida



N^ε29-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida



N^ε29-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

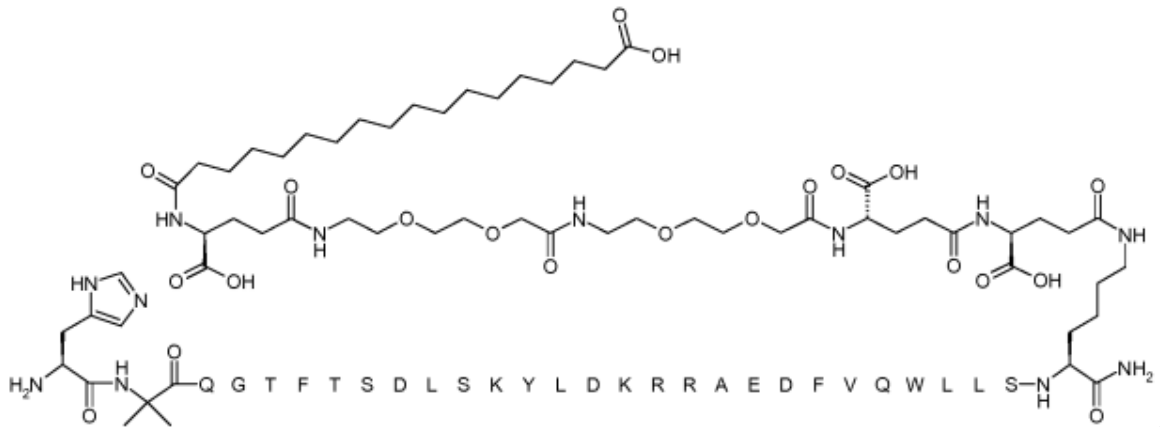


N^ε29-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

5

10

15



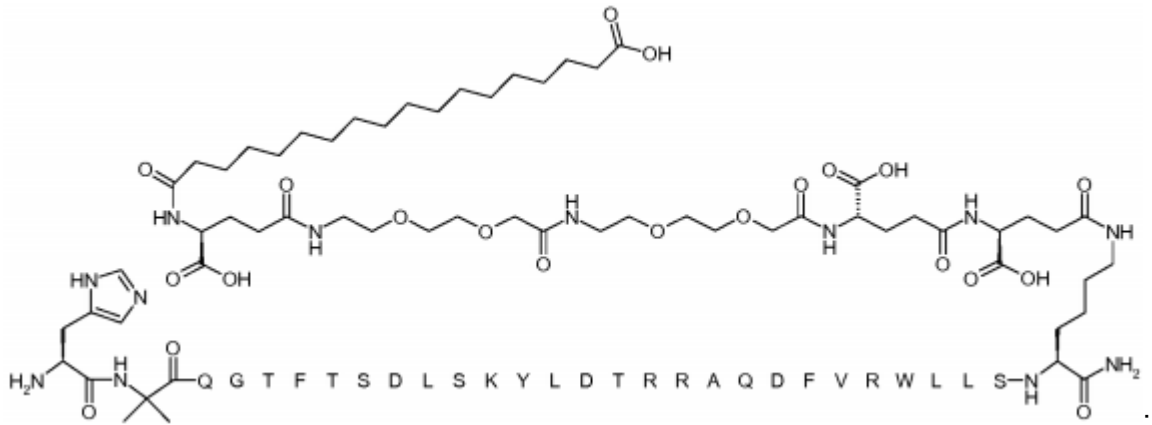
20

N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida

25

30

35



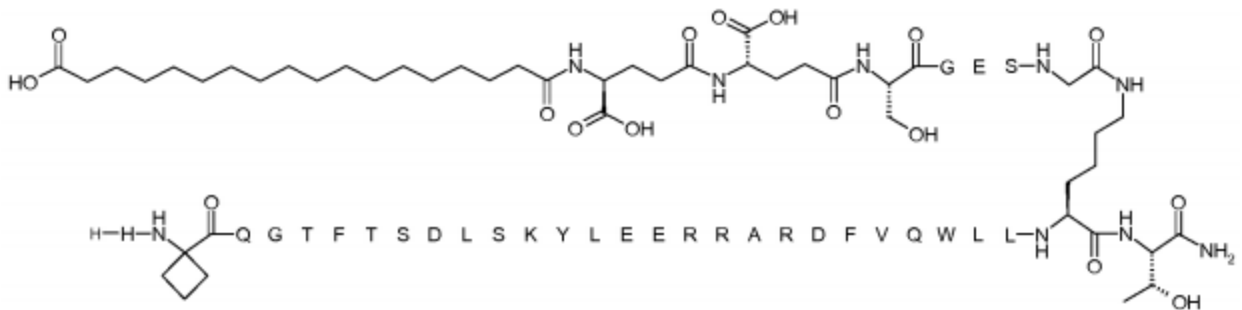
40

N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

45

50

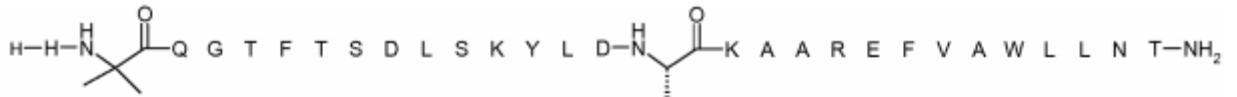
55



60

N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida

65

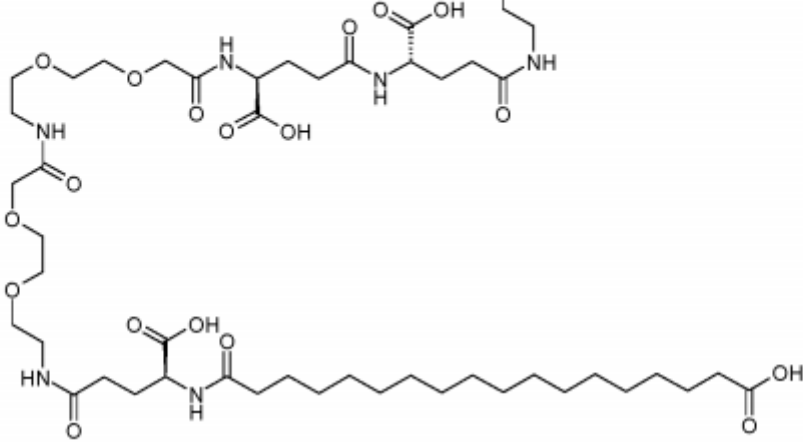


5

10

15

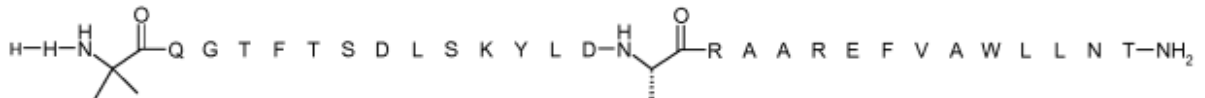
20



25

N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida

30

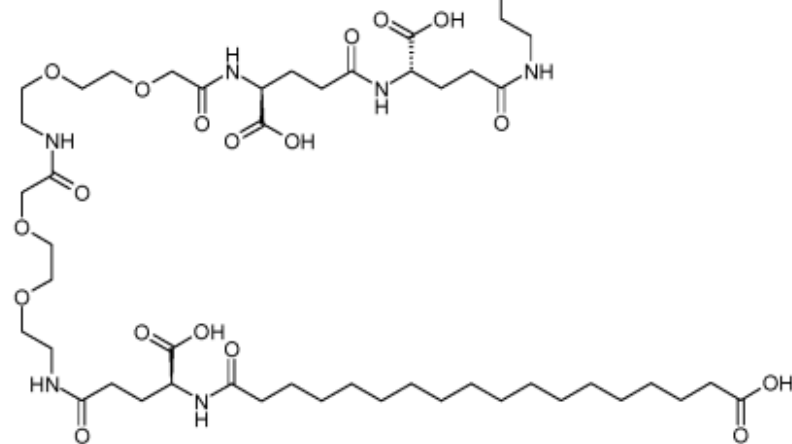


35

40

45

50

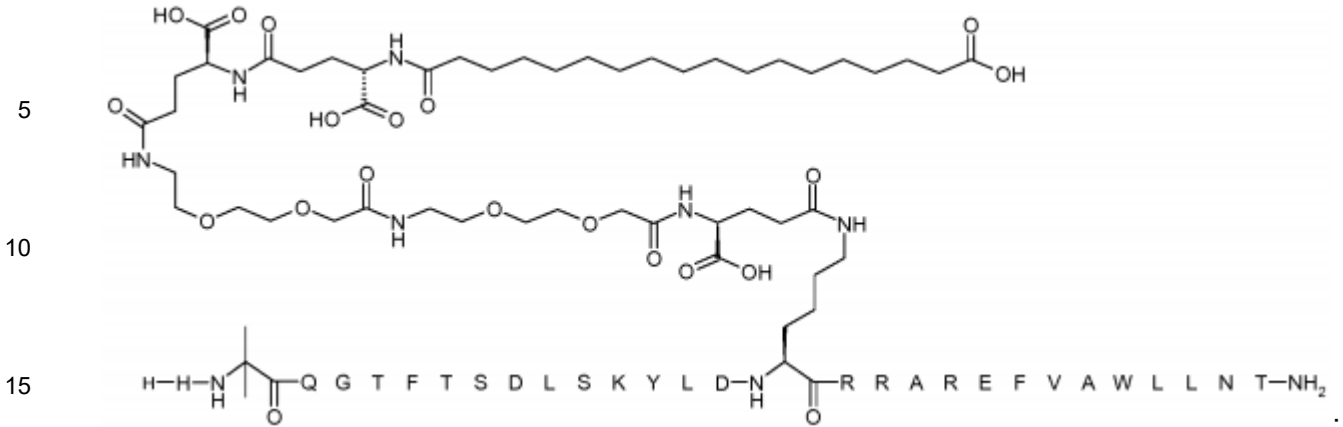


55

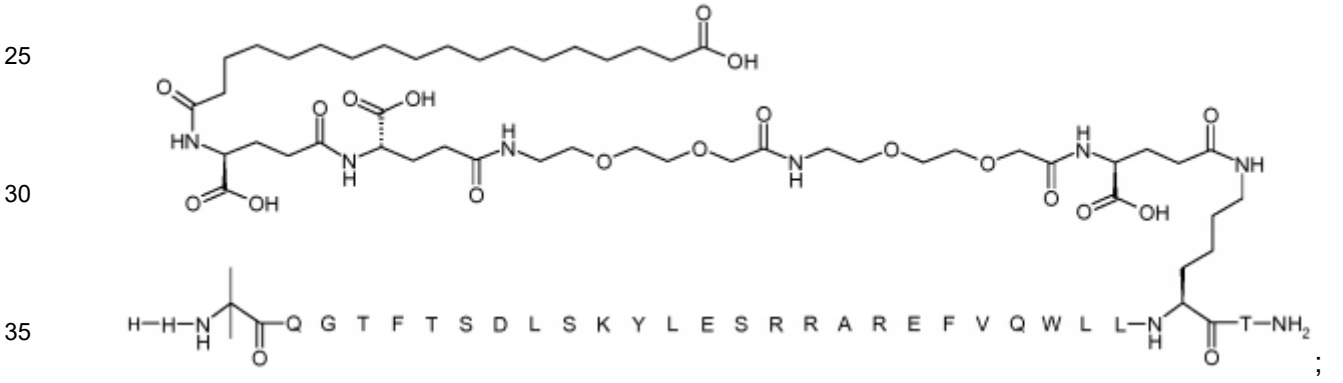
N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27]-Glucagón amida

60

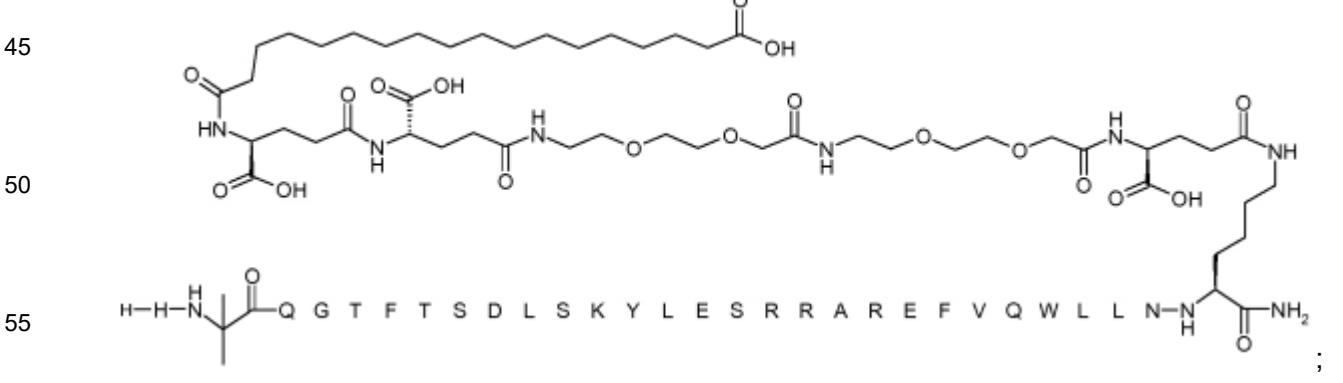
65



20 N^ε₂₉-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

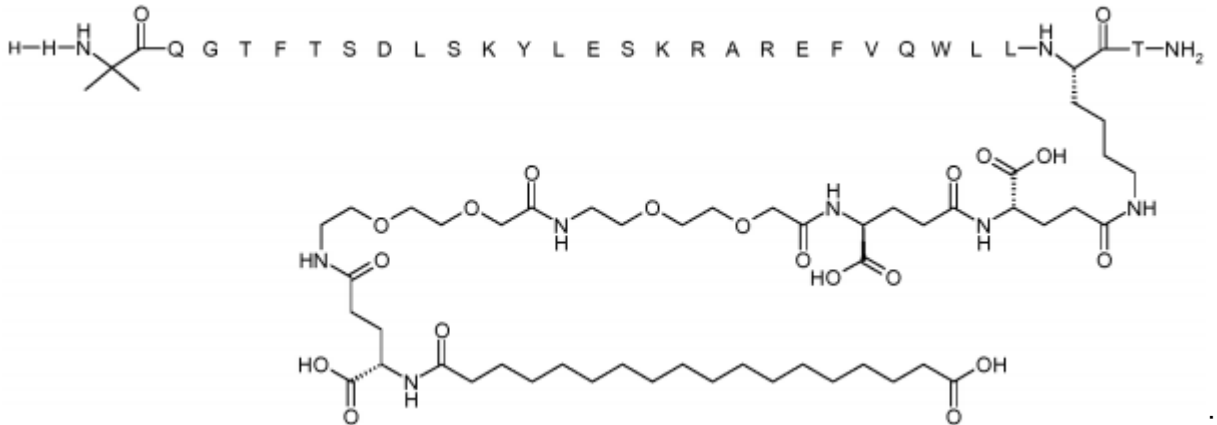


40 N^ε₂₉-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

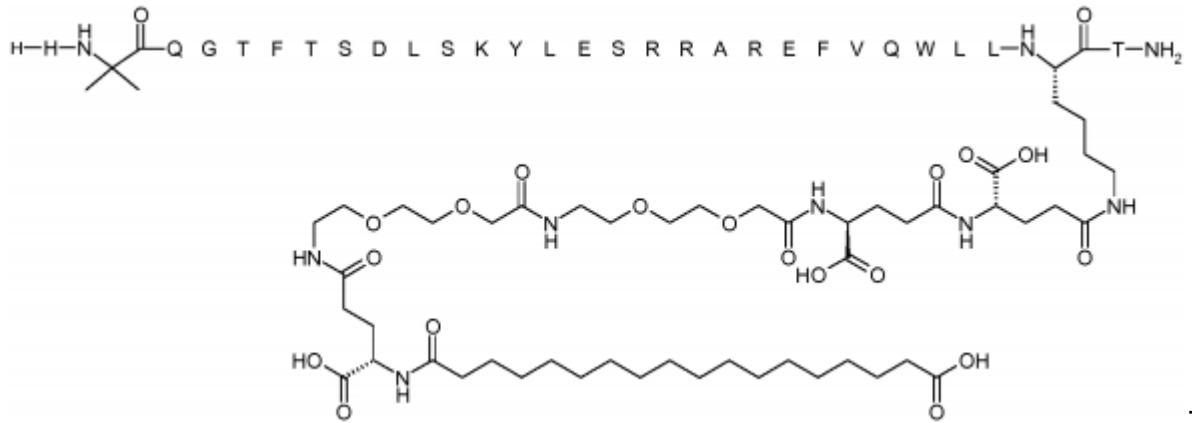


60 N^ε₂₉-[(4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

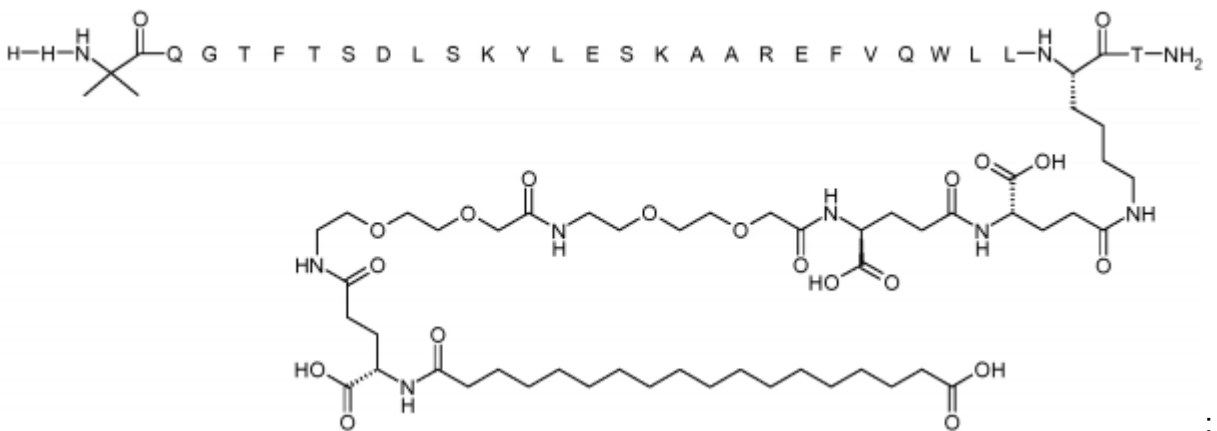
65



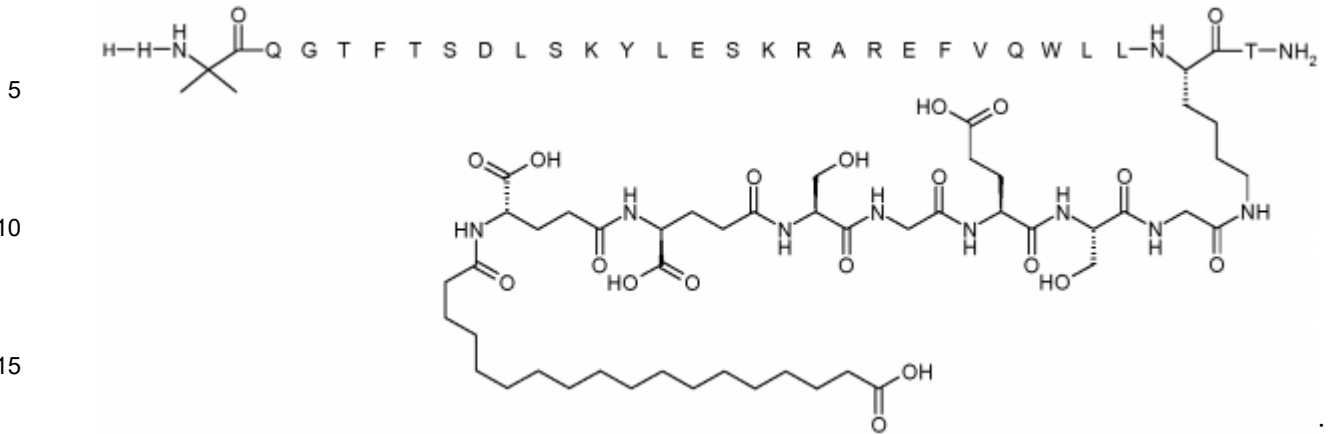
20 N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



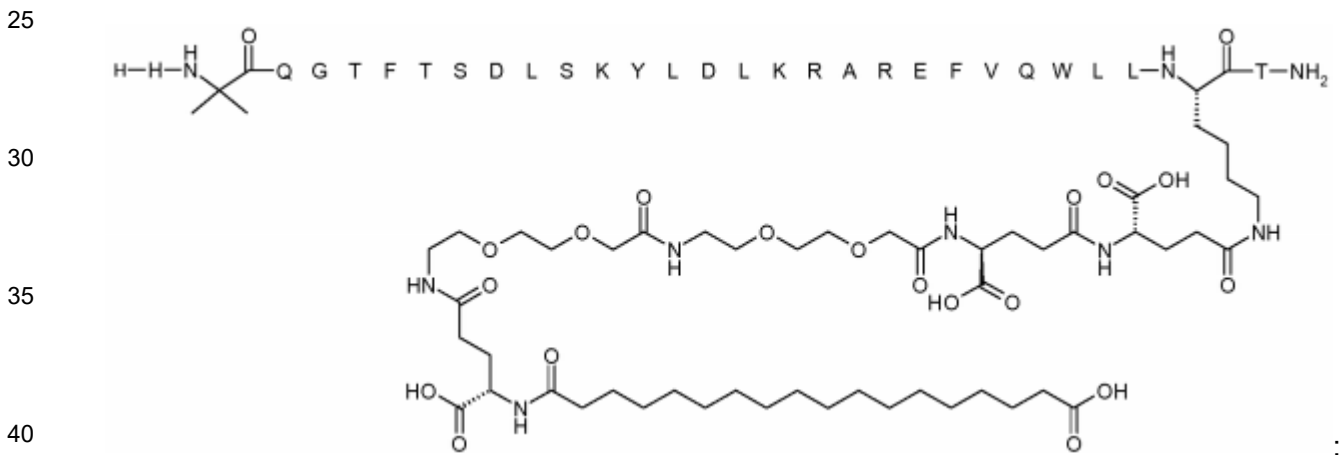
40 N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



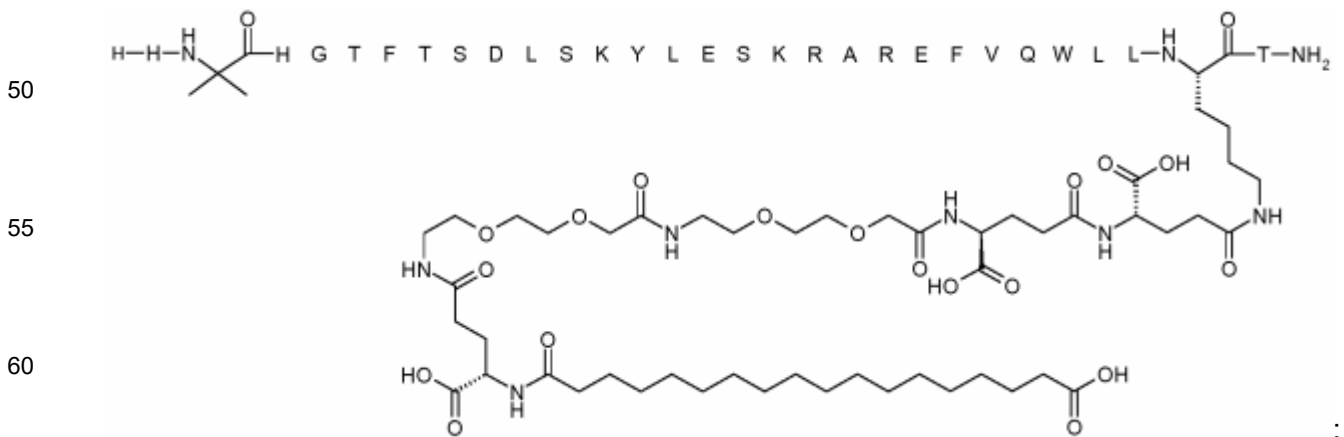
65 N^ε28-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



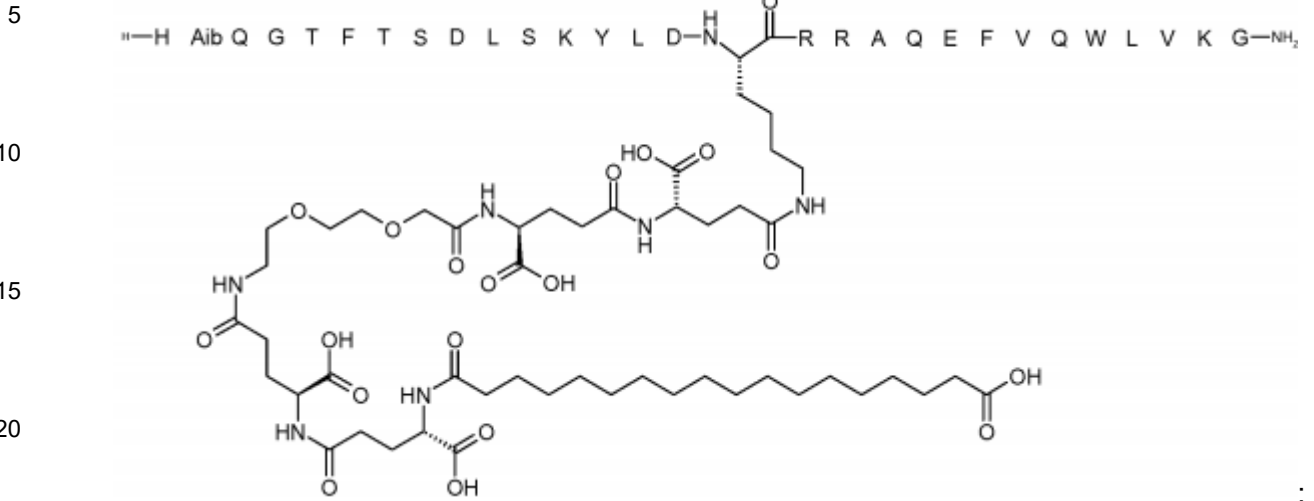
20 N^ε₂₈-[(4S)-4-carboxy-4-[[[(4S)-4-carboxy-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxy-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]-acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



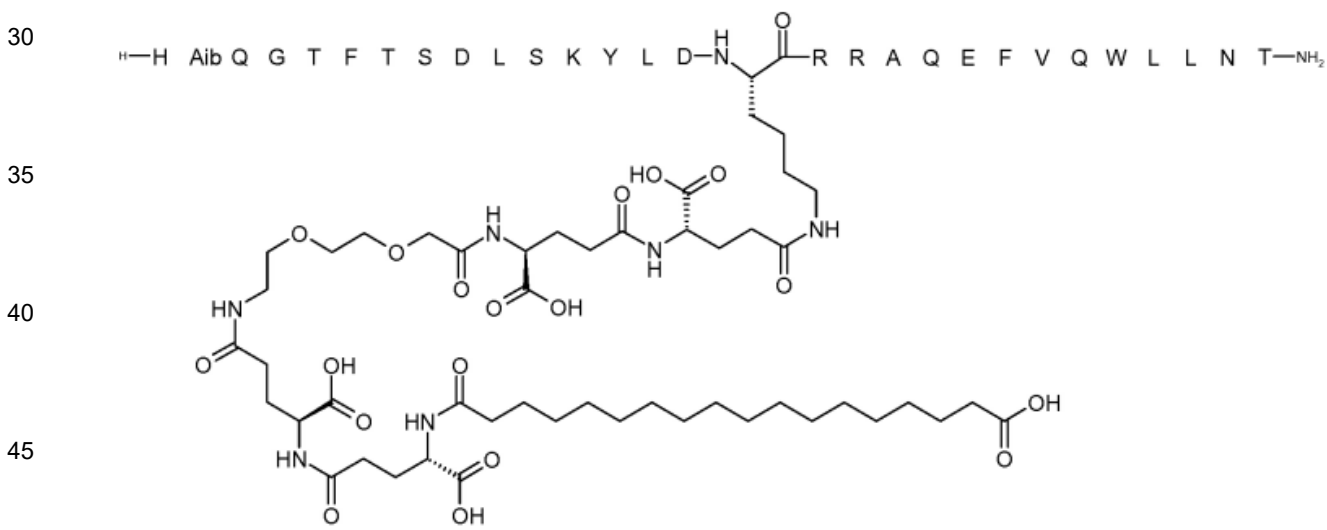
45 N^ε₂₈-[(4S)-4-carboxy-4-[[[(4S)-4-carboxy-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxy-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29]-Glucagón amida

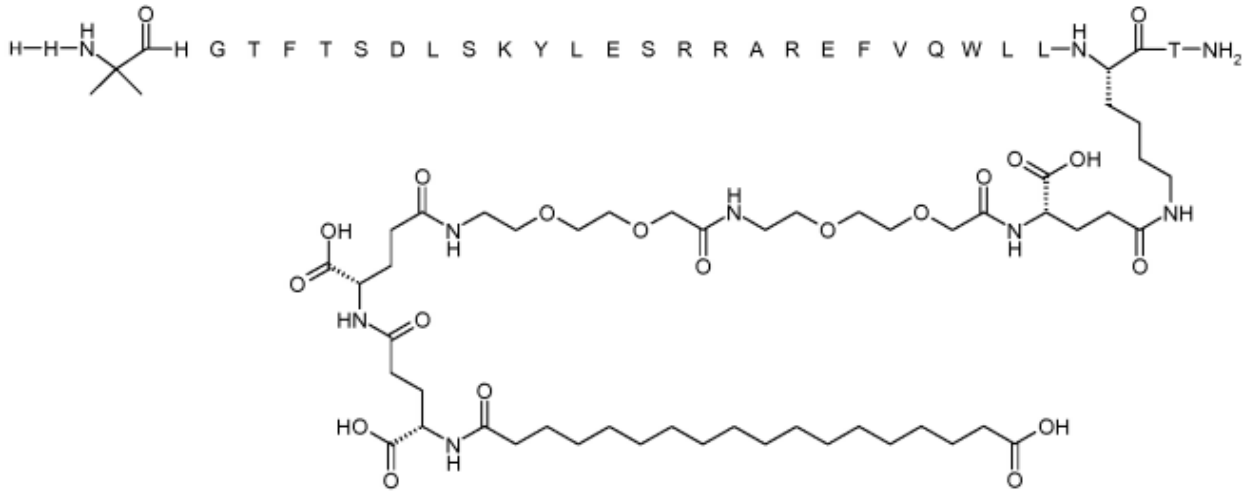


25 N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27]-Glucagón amida



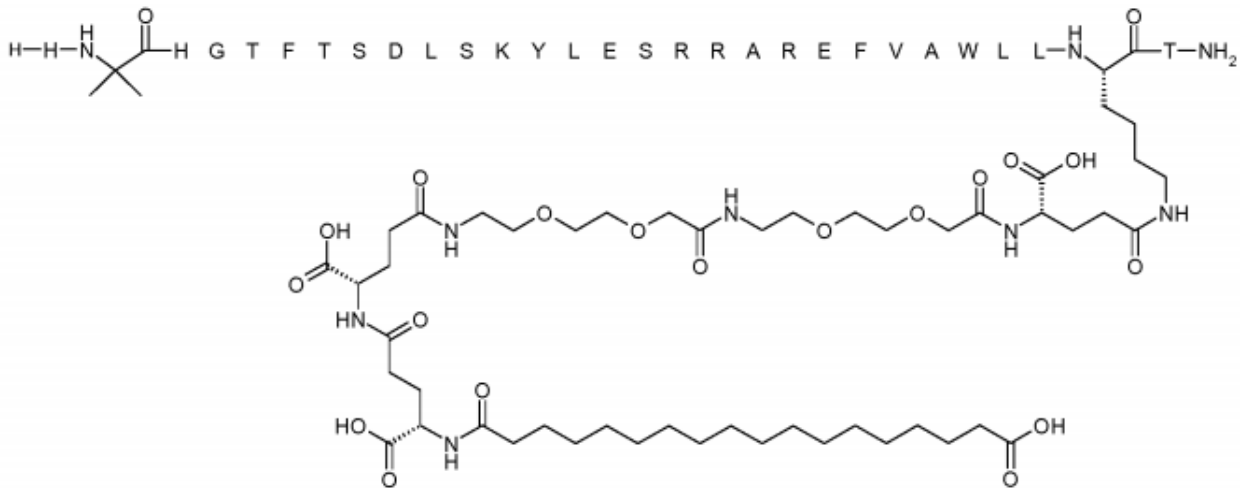
50 N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

55
60
65



25

N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



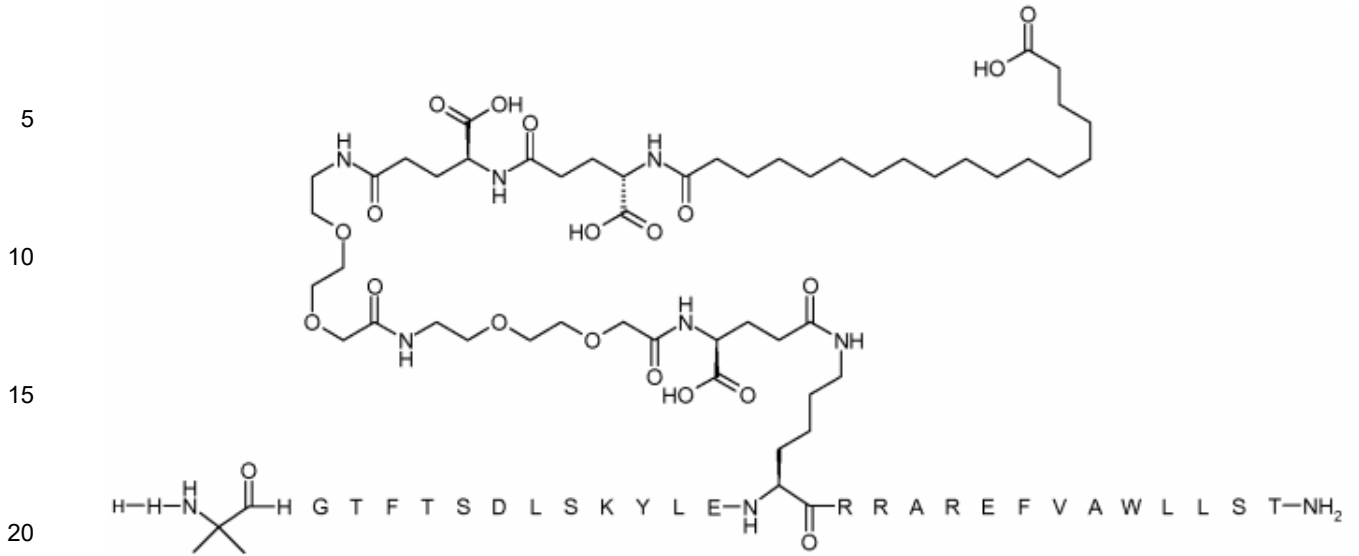
50

N^{ε16}-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[4S)-4-carboxi-4-[[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28]-Glucagón amida

55

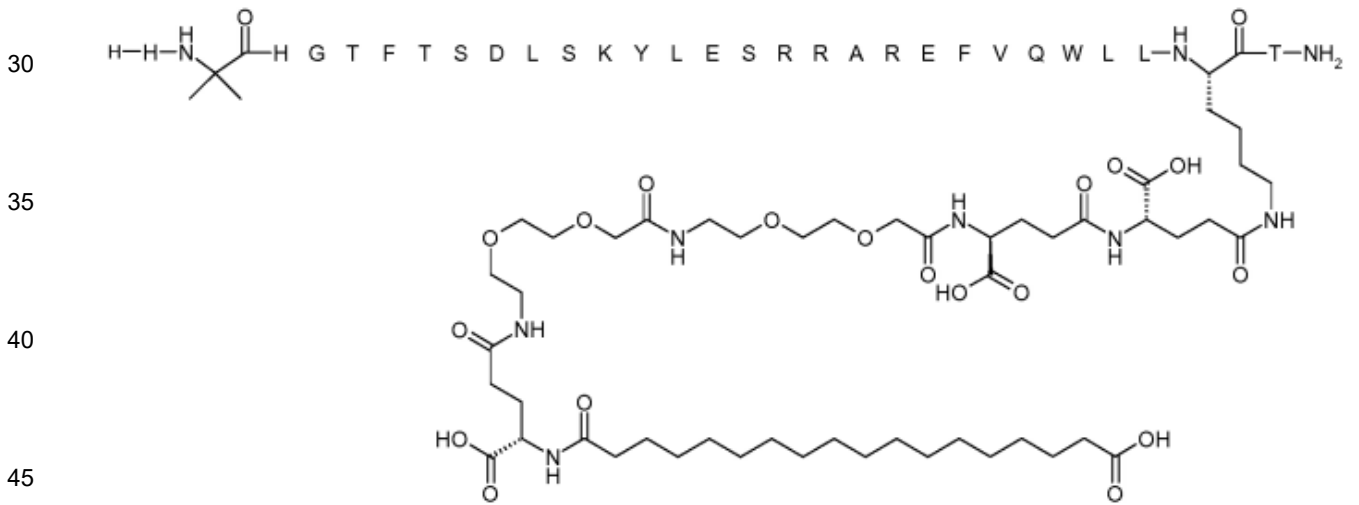
60

65



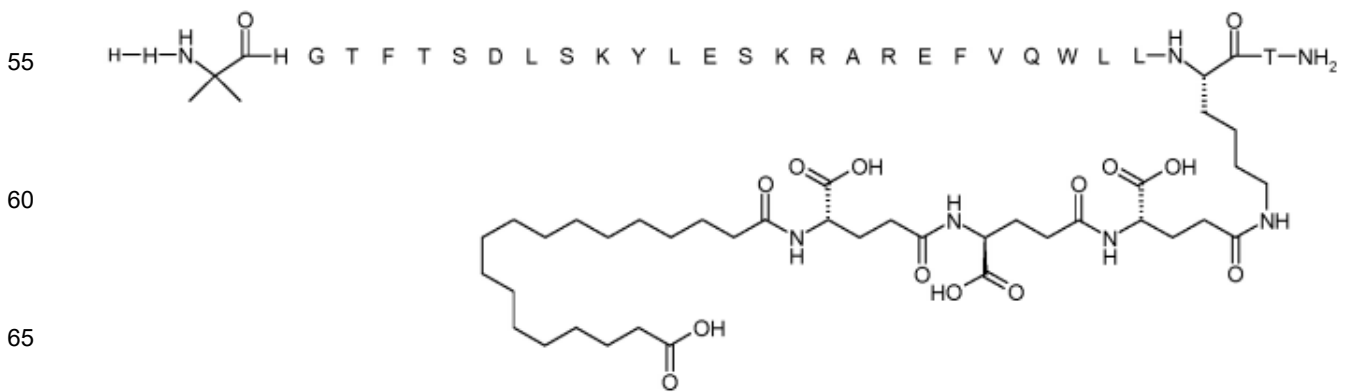
;

25 N^ε₂₈-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10, Glu15,Arg20, Glu21,Leu27, Lys28]-Glucagón amida



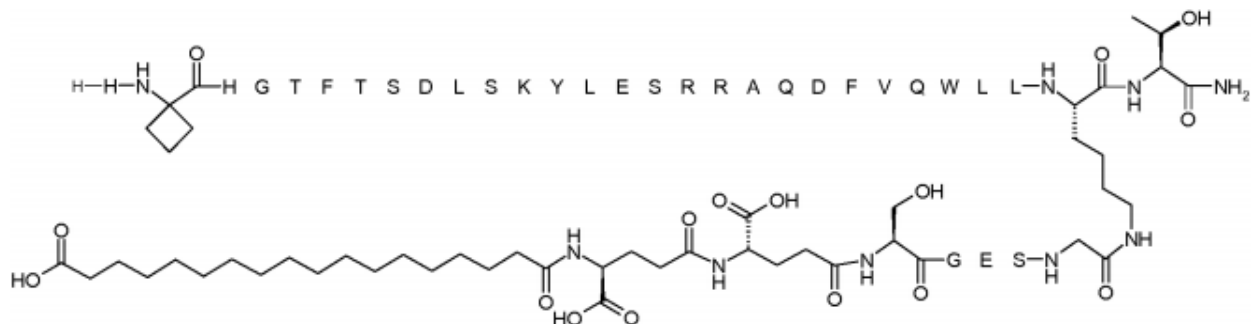
;

50 N^ε₂₈-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,His3,Leu10, Glu15,Lys17,Arg20, Glu21,Leu27, Lys28]-Glucagón amida



N^ε28-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

5



10

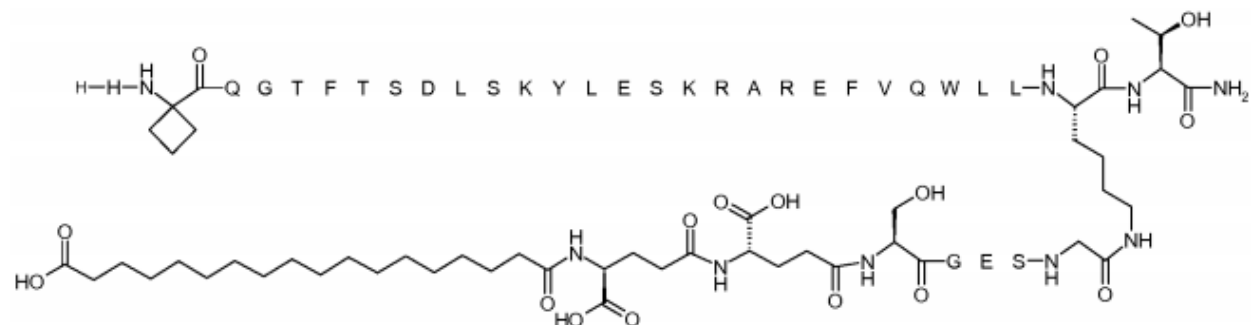
15

;

20

N^ε28-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

25



30

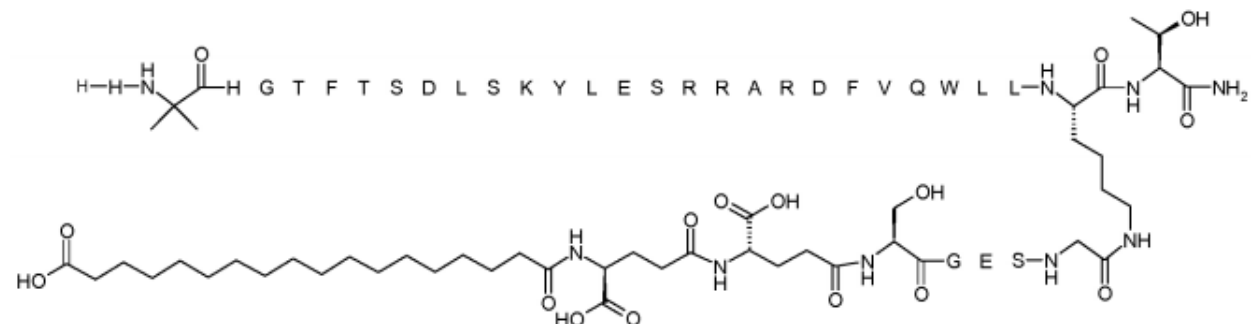
35

;

40

N^ε28-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

45



50

55

;

60

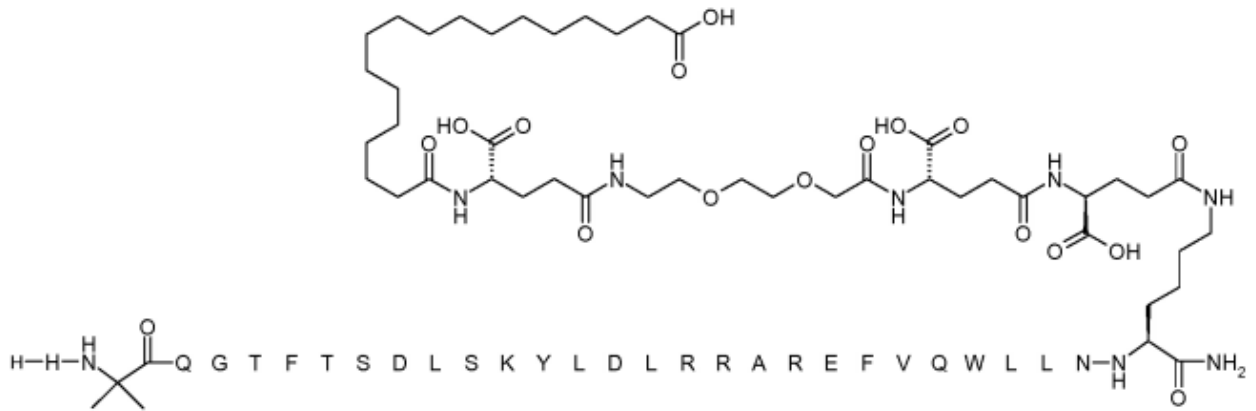
N^ε29-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

65

5

10

15



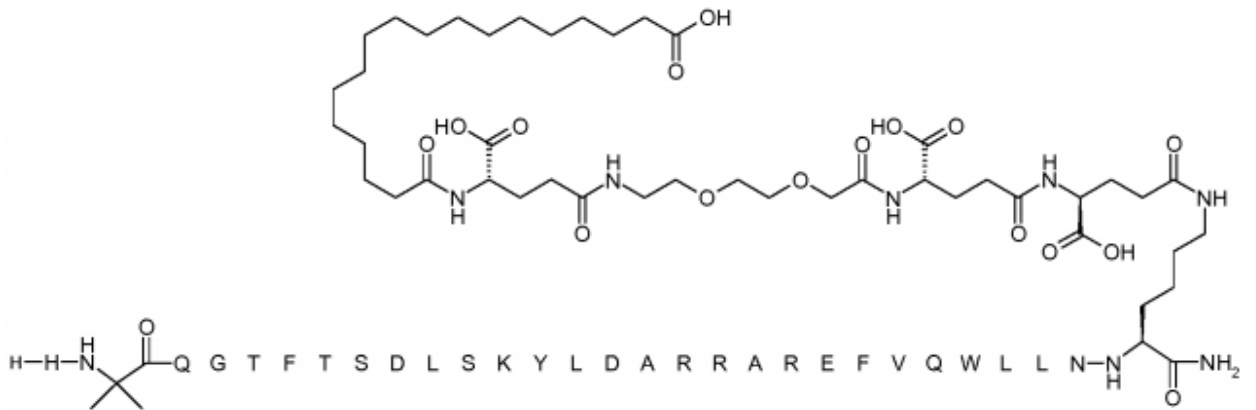
20

N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

25

30

35



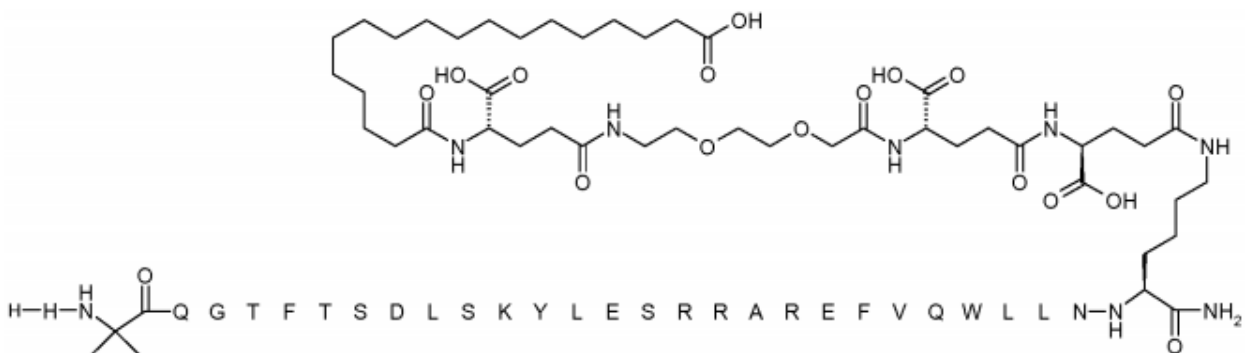
40

N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

45

50

55

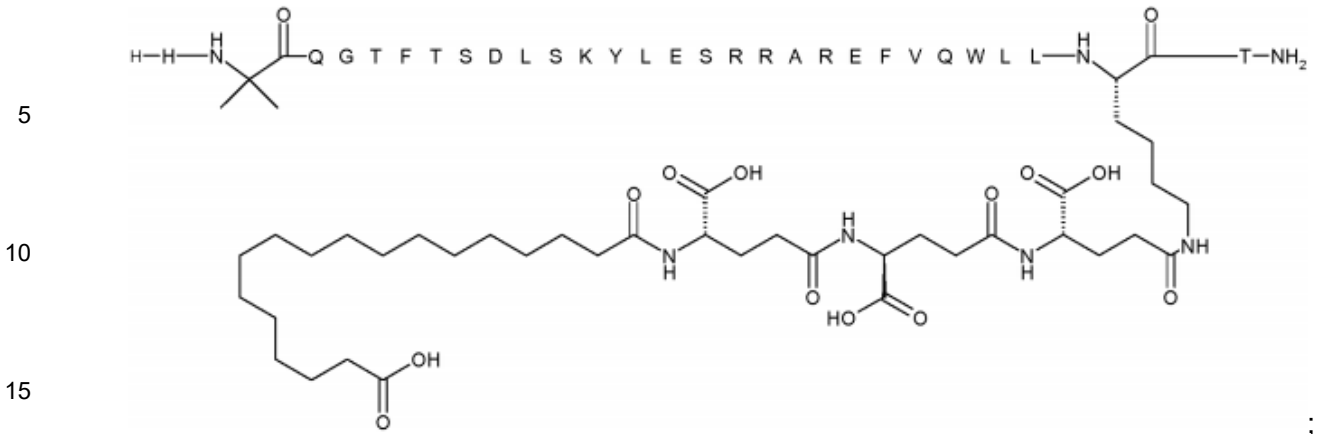


;

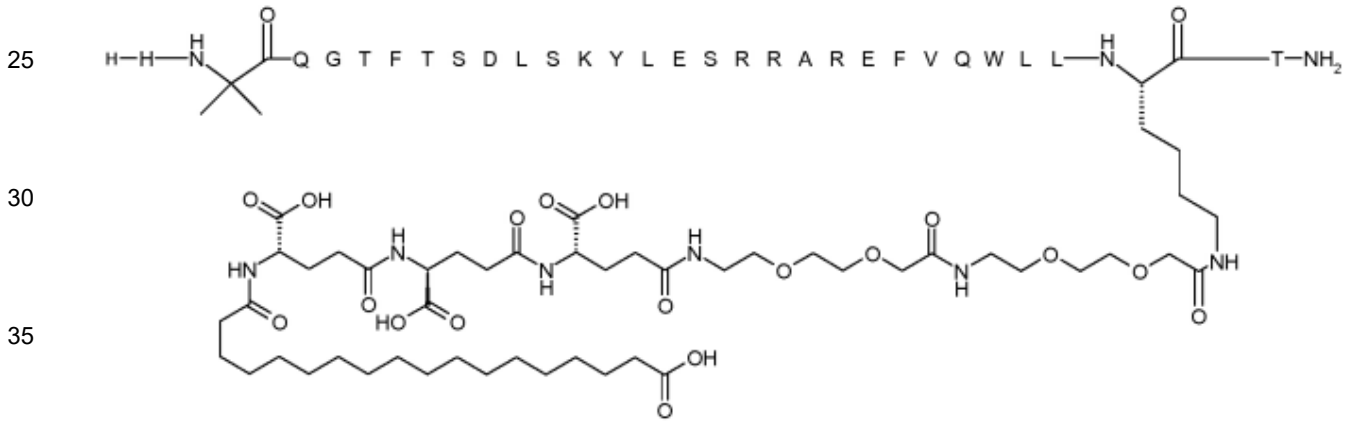
60

N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

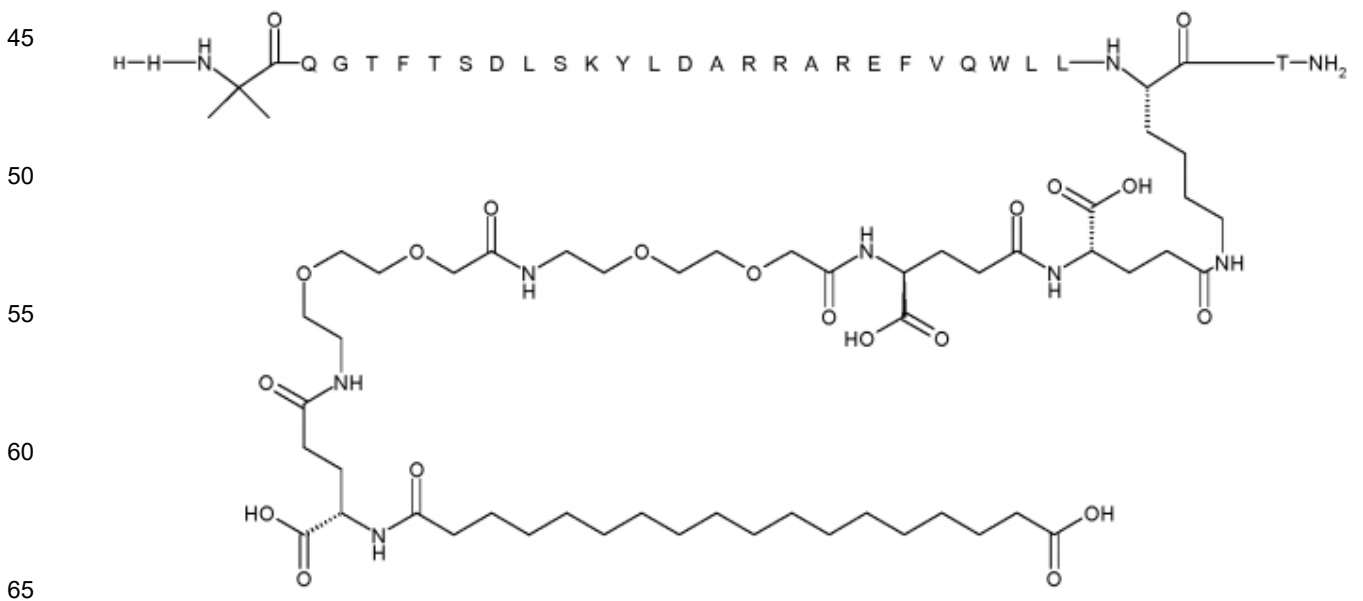
65



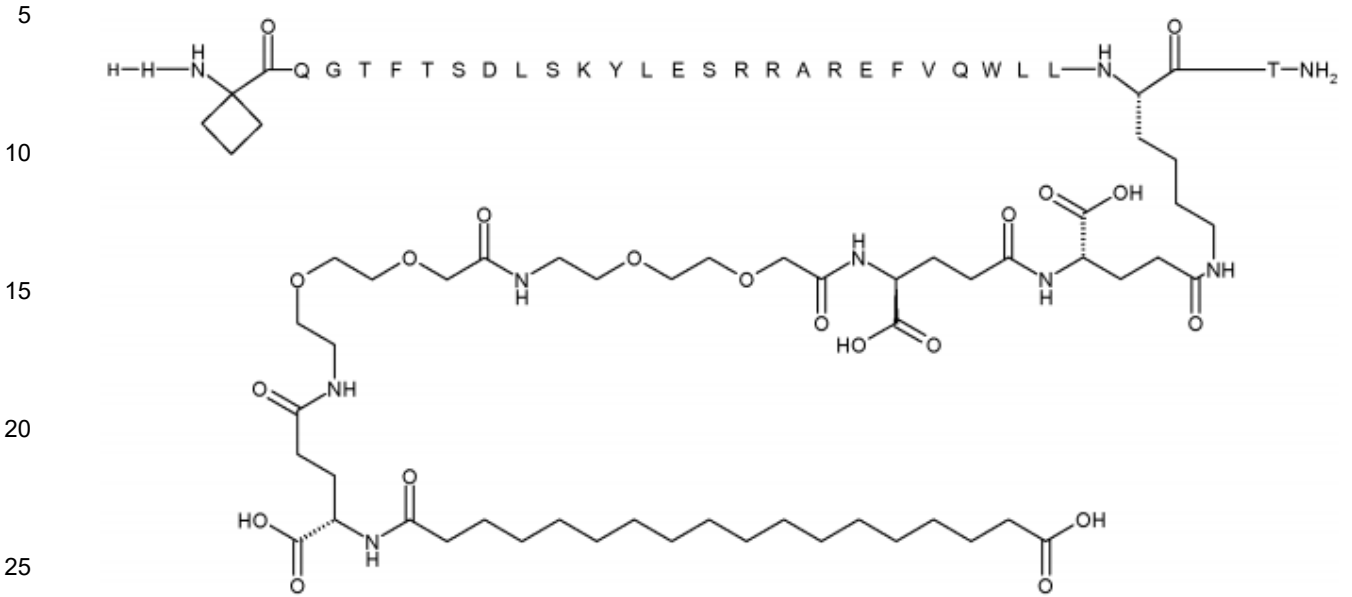
20 N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



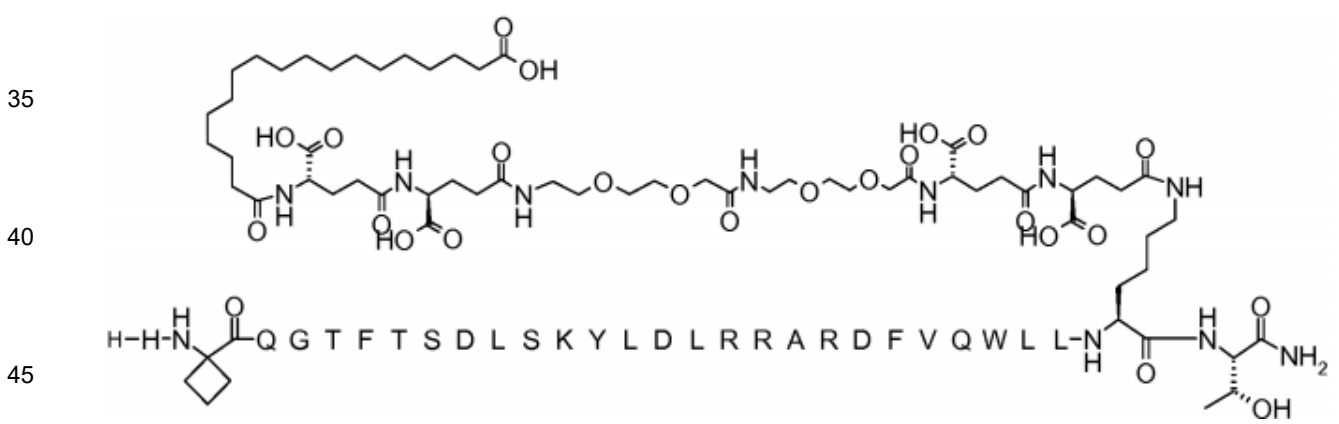
40 N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Ac2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Ac2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



;

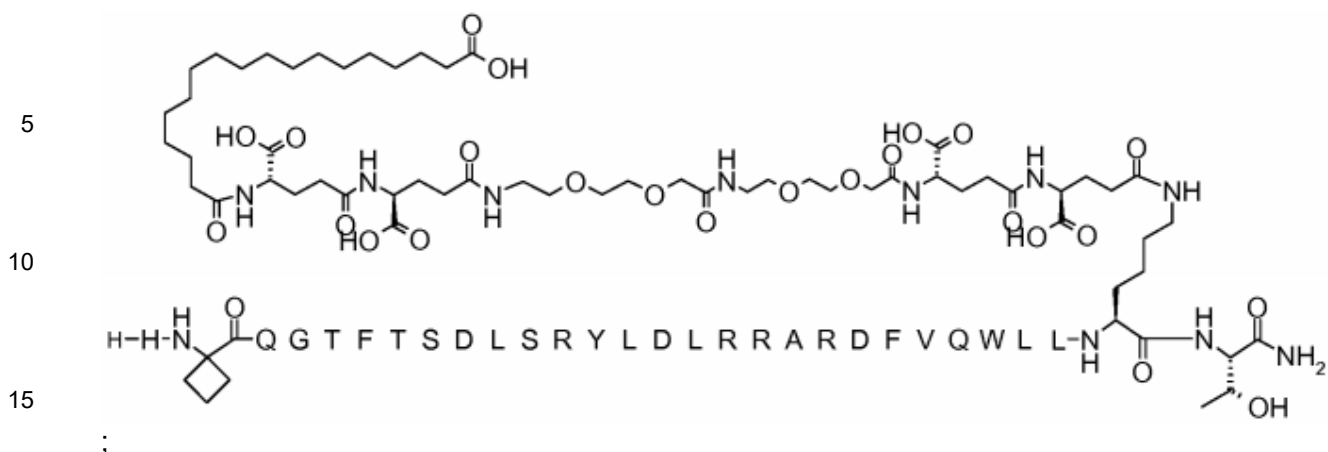
N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Ac2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

50

55

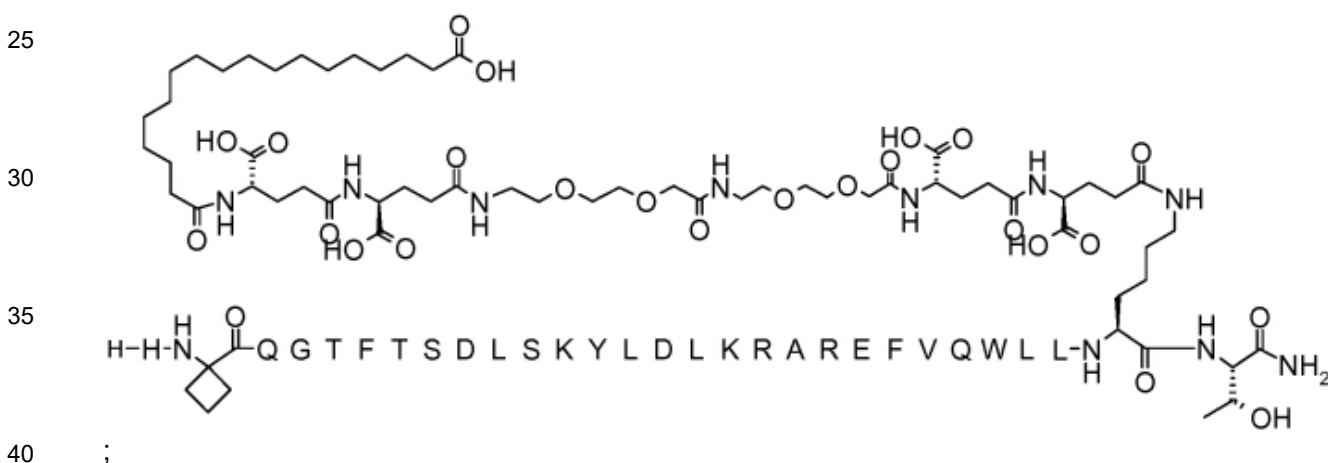
60

65



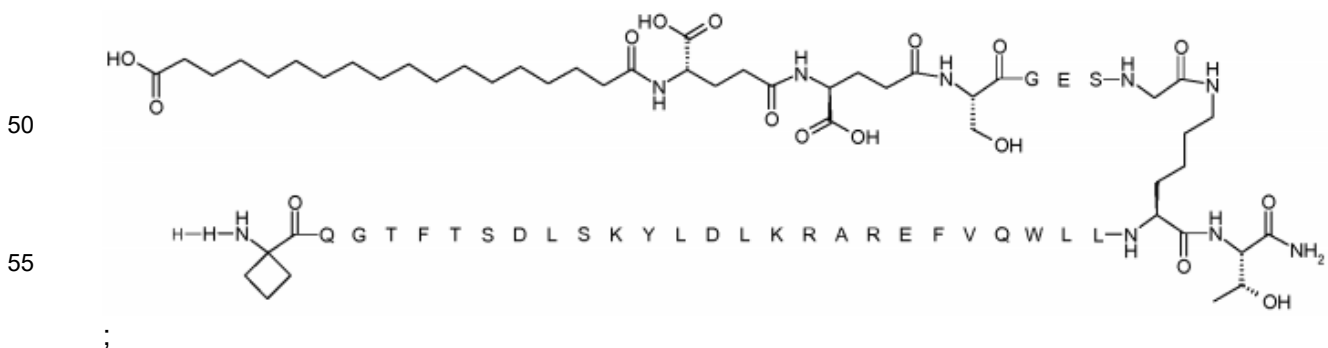
20

N^{ε28}-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



45

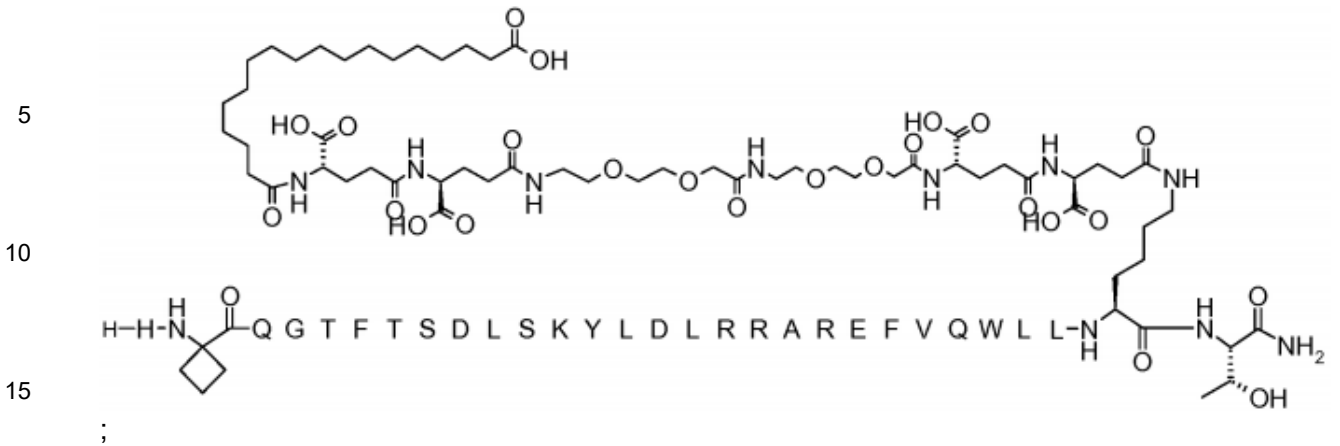
N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[[2-[[2-[[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



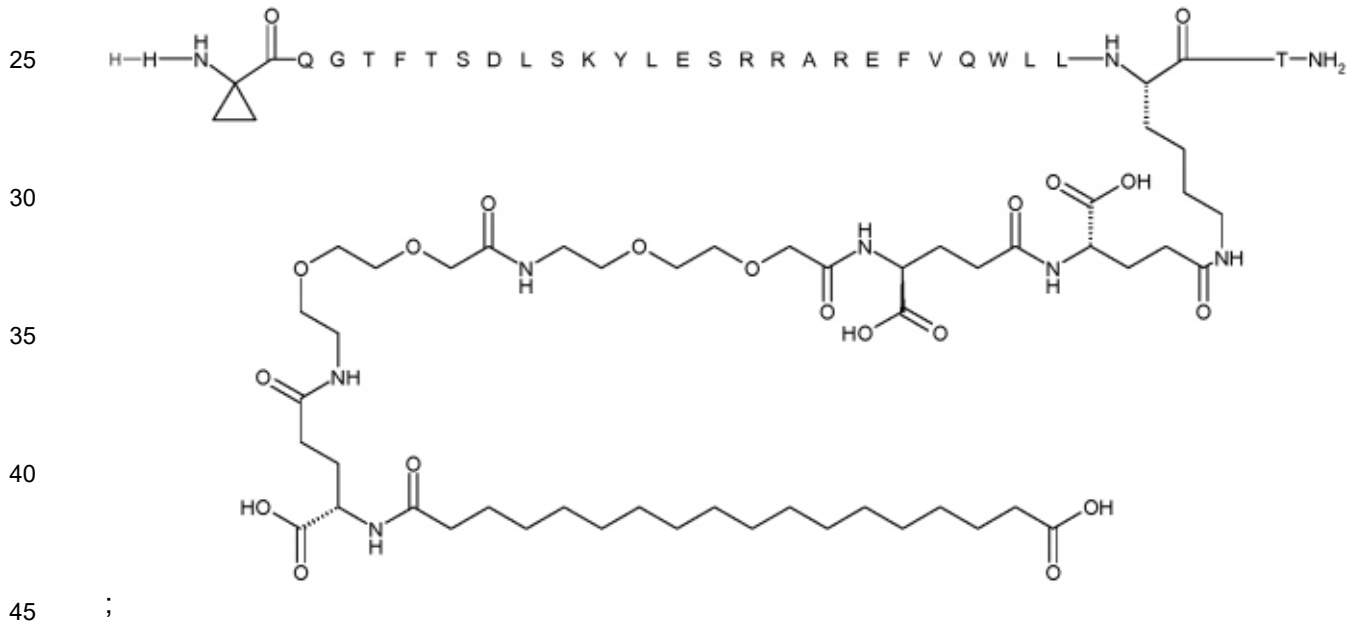
60

N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[[2-[[2-[[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

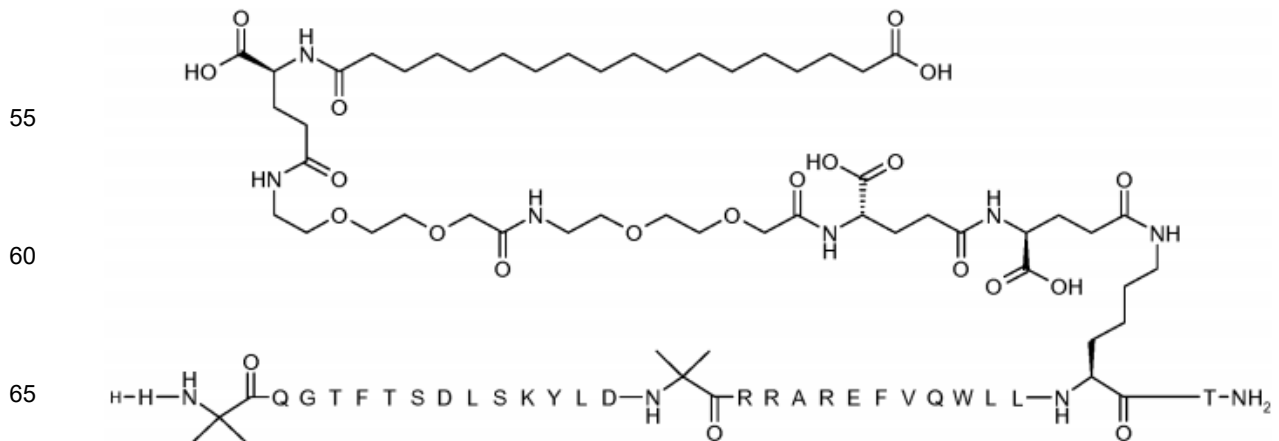
65



N^{ε28}-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

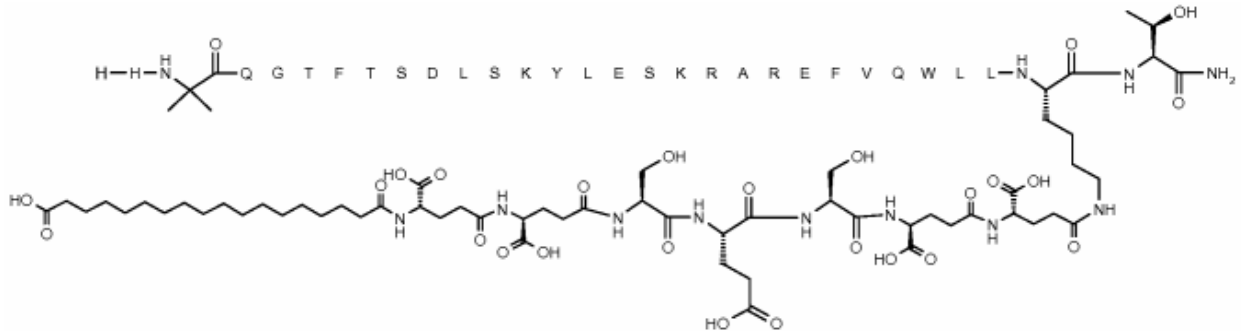


N^{ε28}(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

5

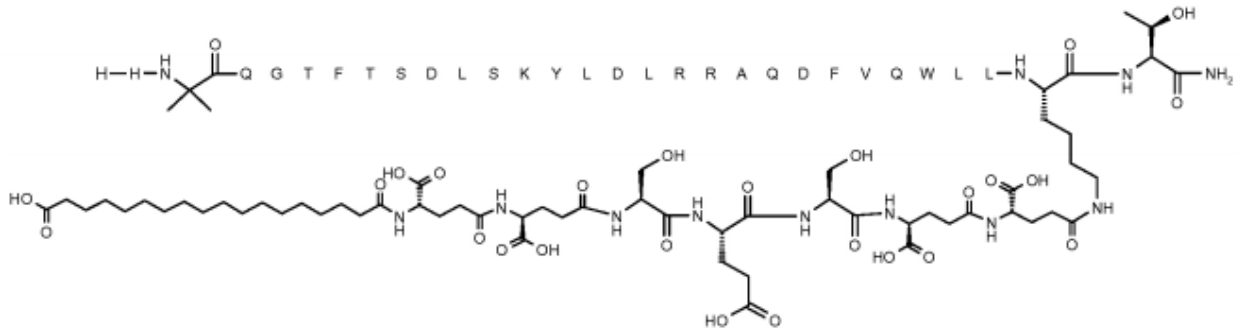


10

15

N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

25



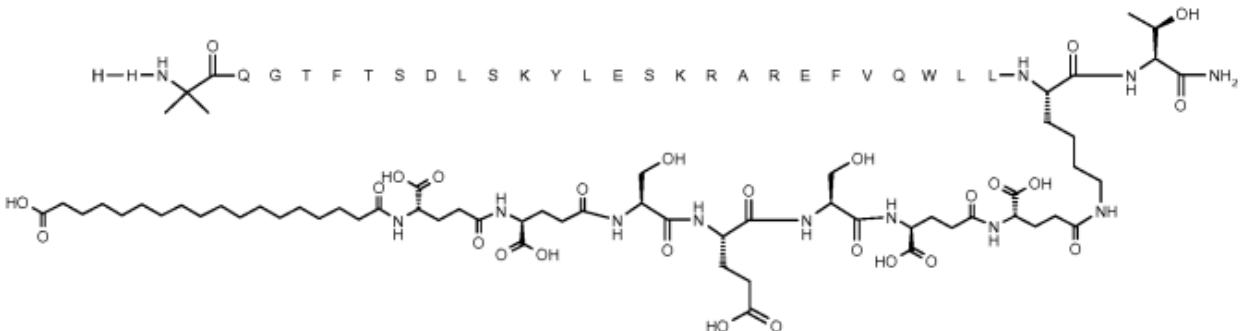
30

35

;

N^ε28-[2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]acetil]-[Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

45



50

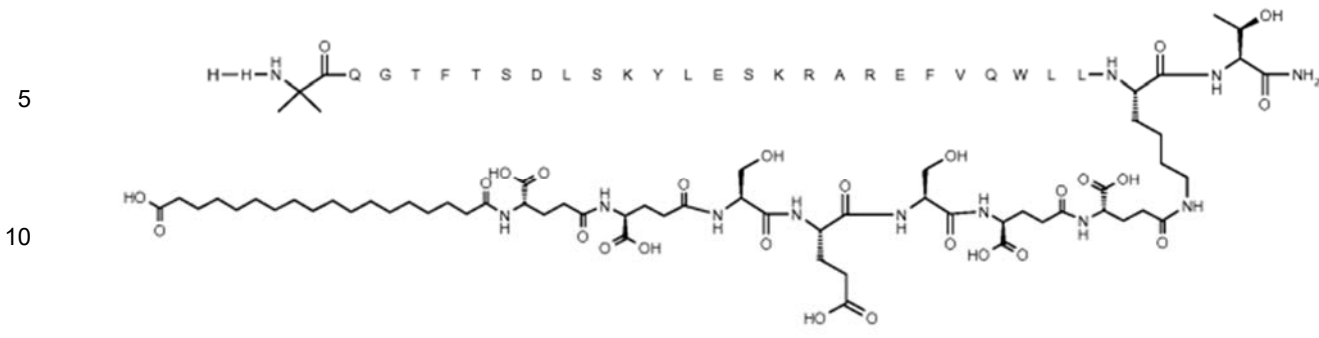
55

;

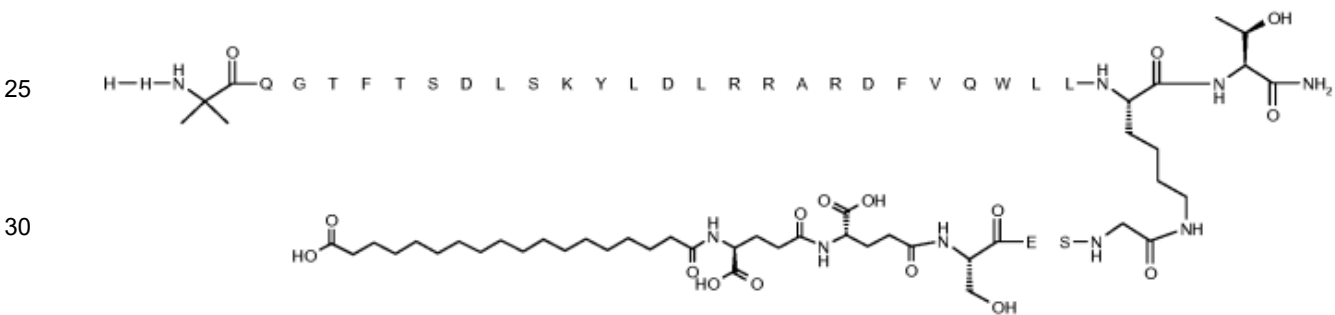
N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

60

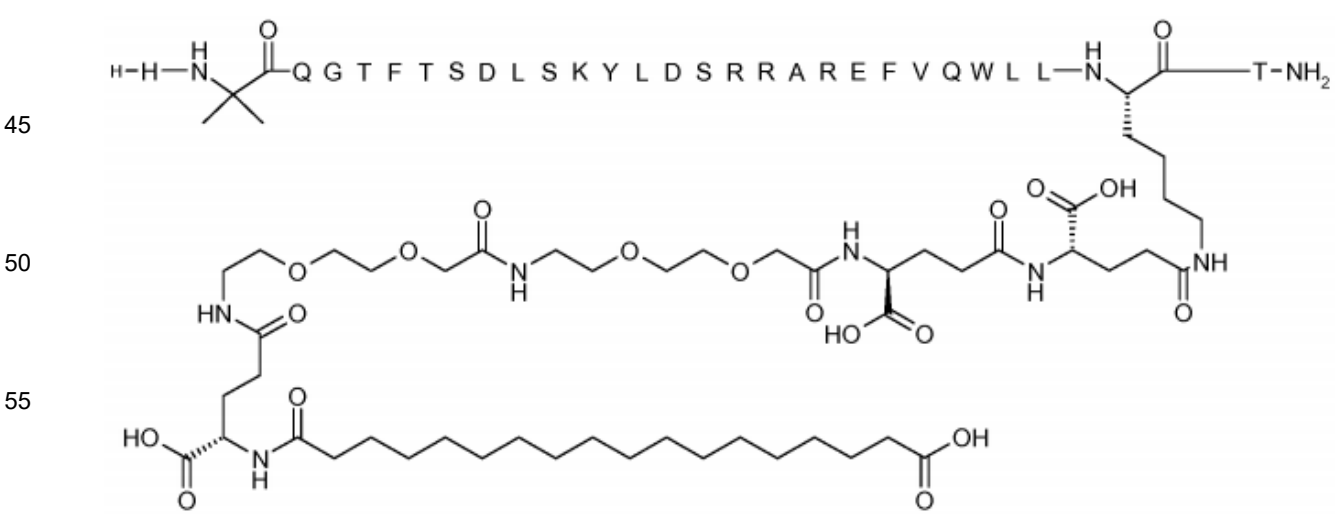
65



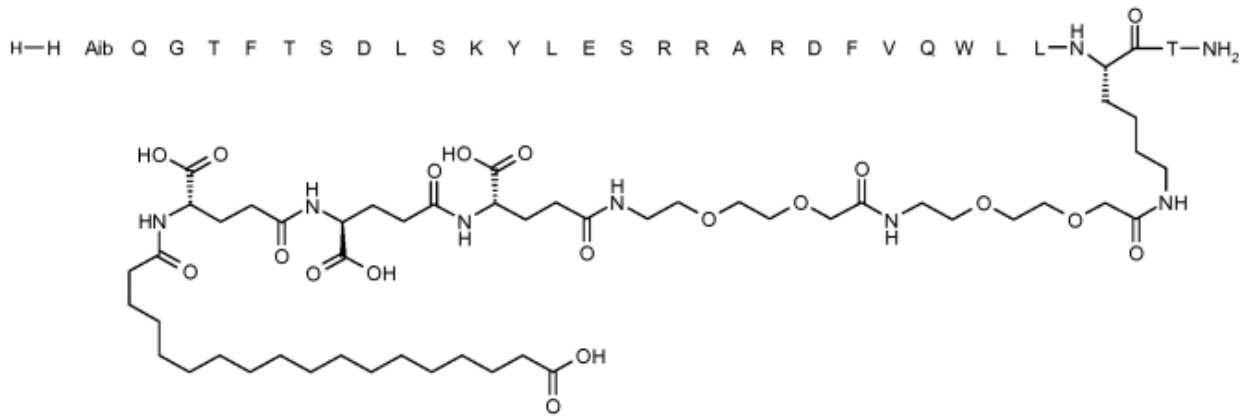
N^ε28-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[(4S)-4-carboxi-4-[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]a cetil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



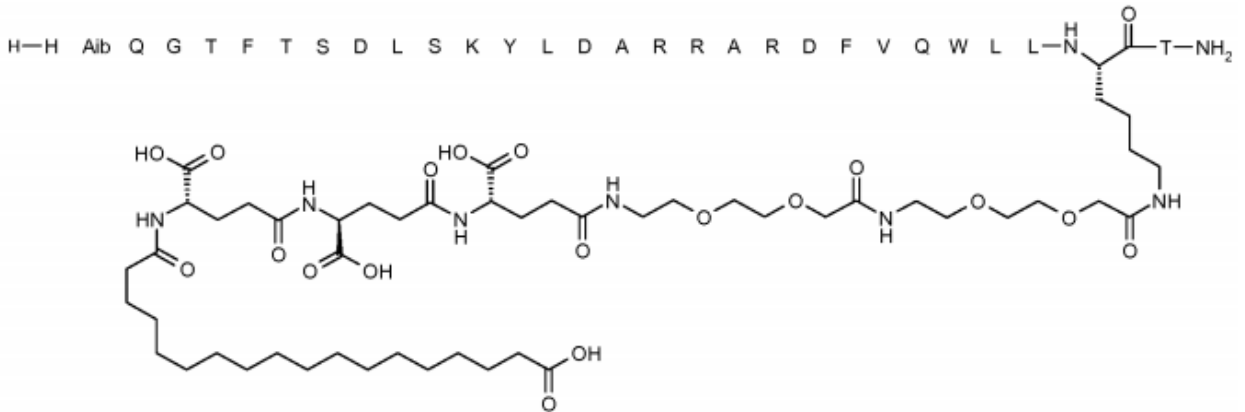
N^ε28-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[(4S)-4-carboxi-4-[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]a cetil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



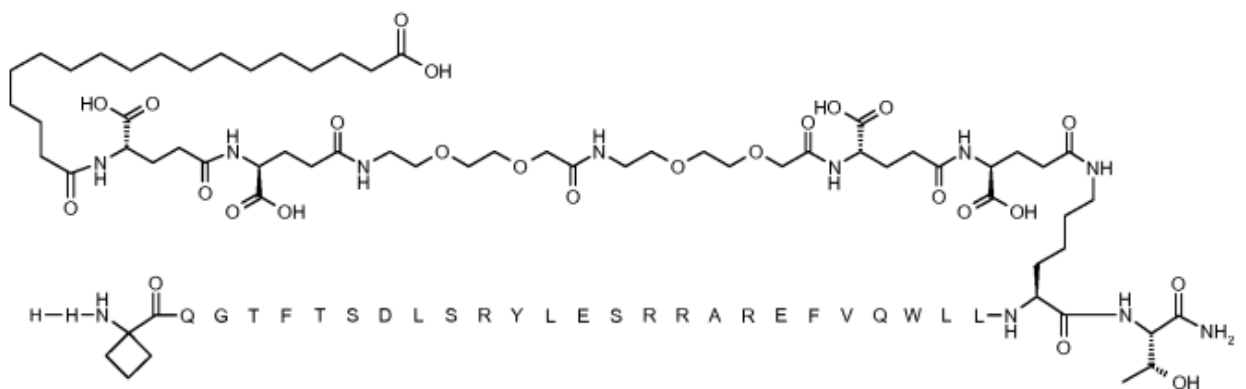
N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-carboxi-4-[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]a mino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



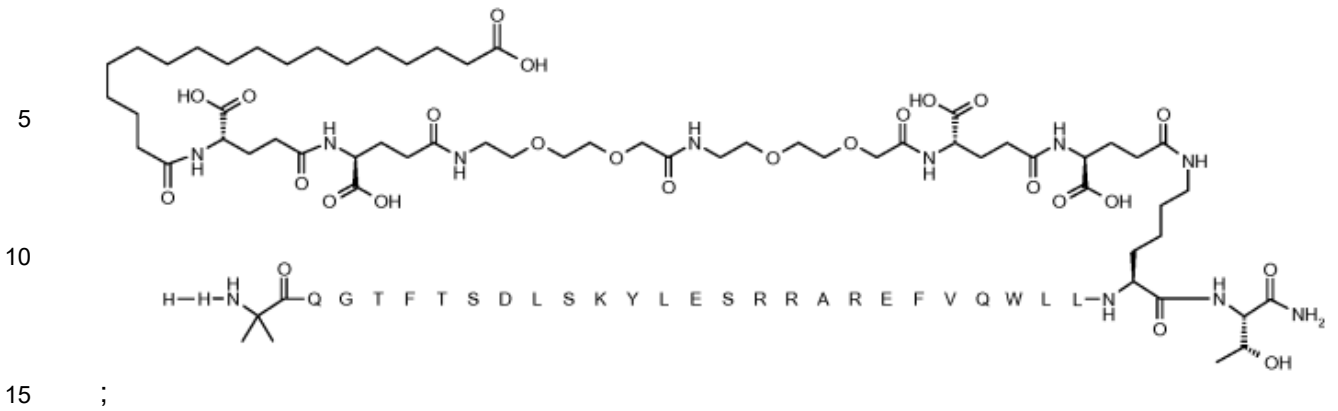
N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



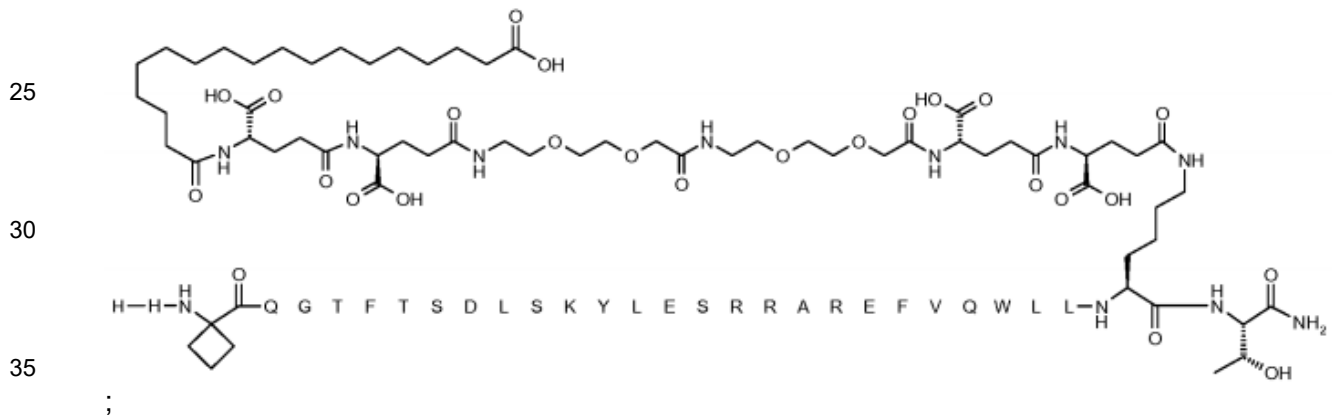
N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Ac2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



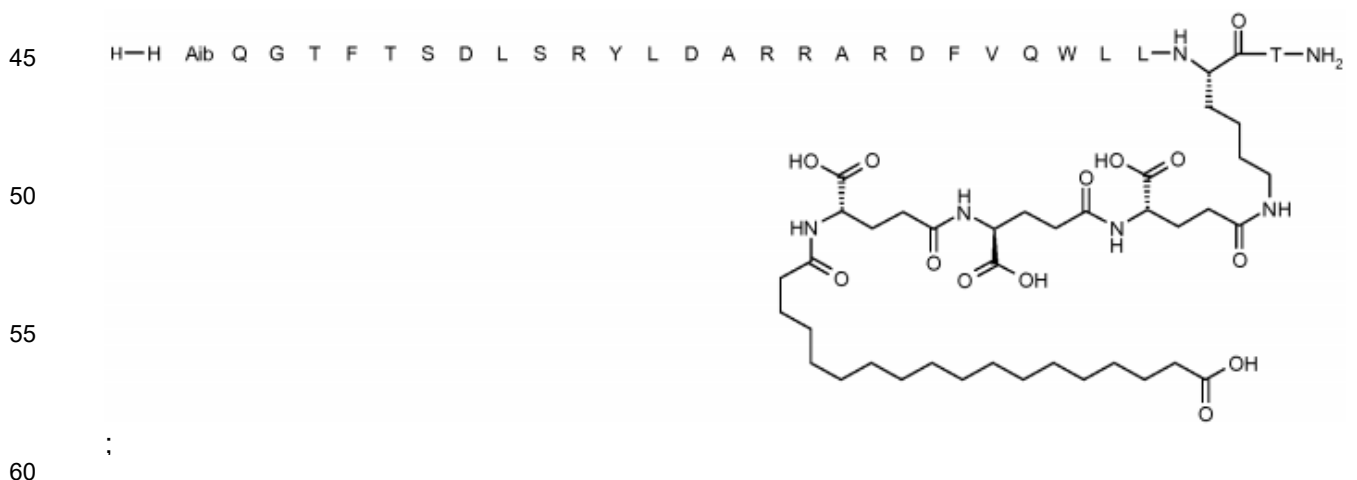
N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]a cetil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

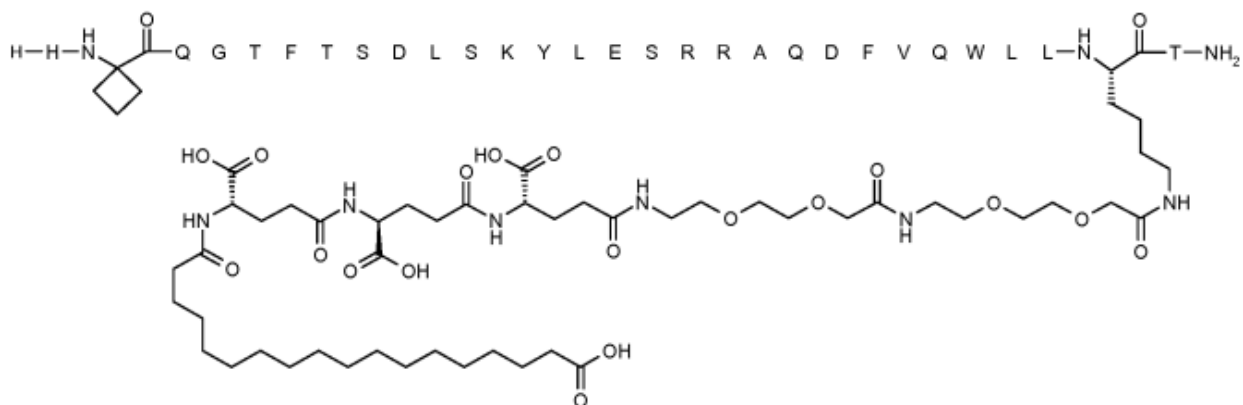


N^{ε28}-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]a cetil]-[Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



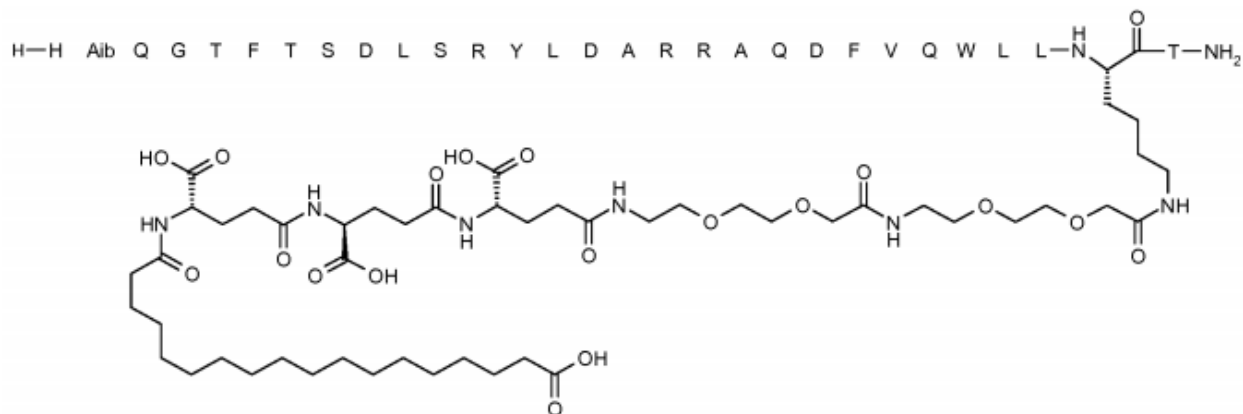
N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]a cetil]-[Acb2,Leu10,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

65



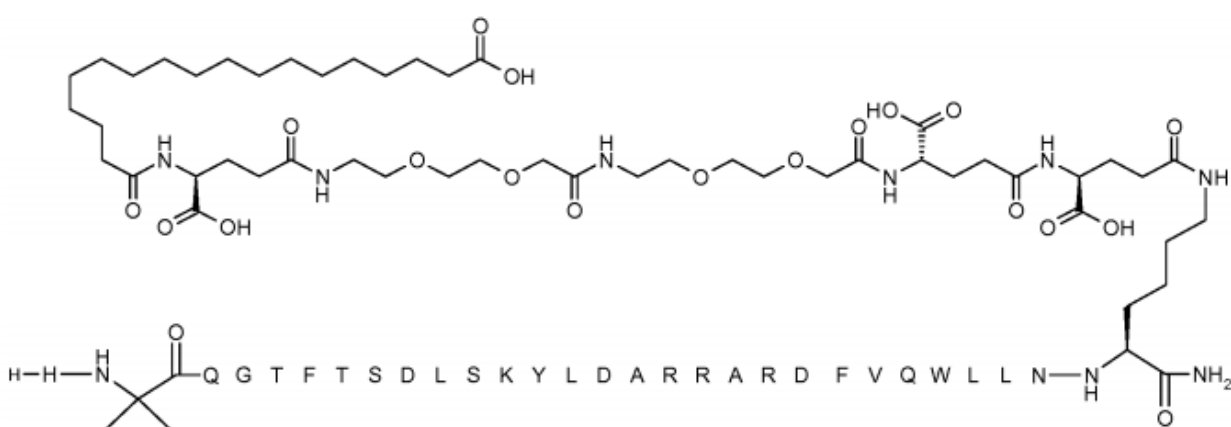
;

20 N^{ε28}-[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]a cetil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida



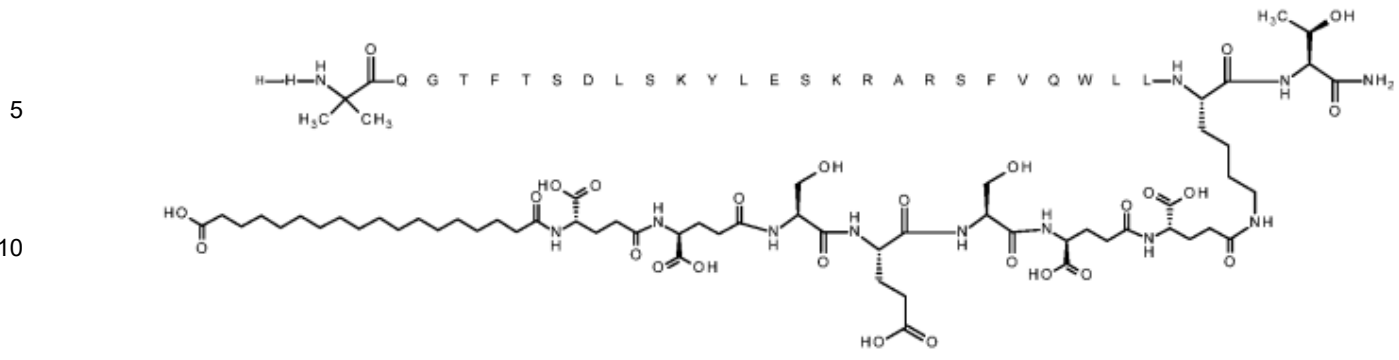
;

40 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil] amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29]-Glucagón amida

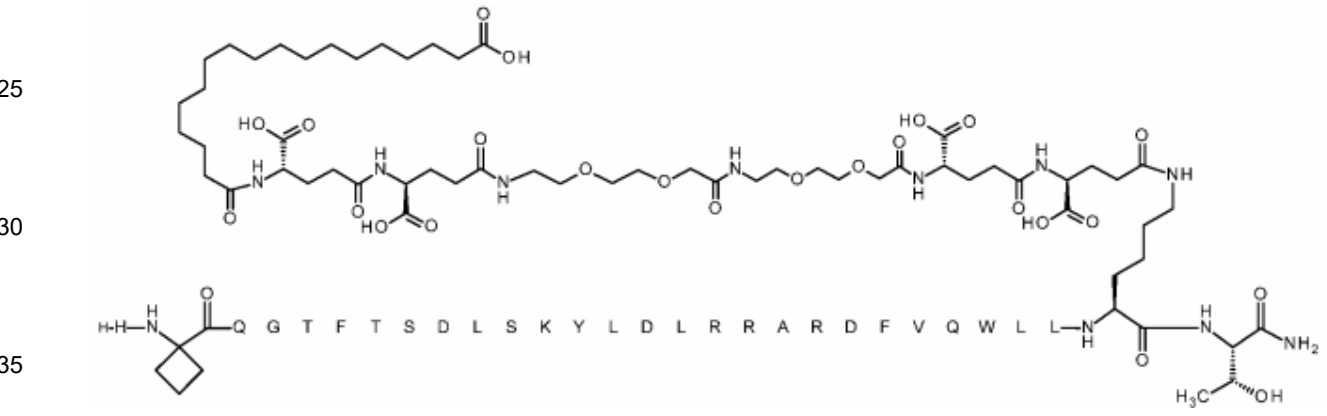


;

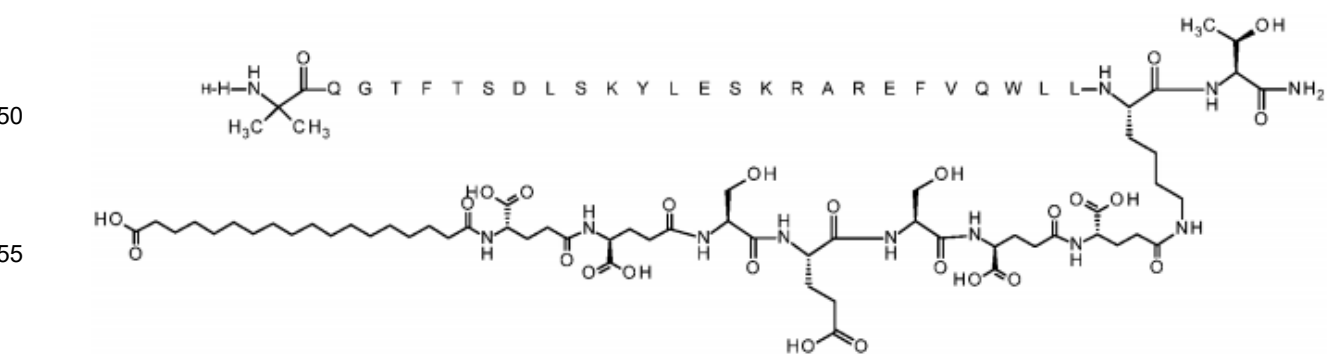
65 N^{ε29}-[(4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[[2-[2-[[4S)-4-carboxi-4-[[4S)-4-carboxi-4-17-carboxiheptadecanoilamino]butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil] amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29]-Glucagón amida



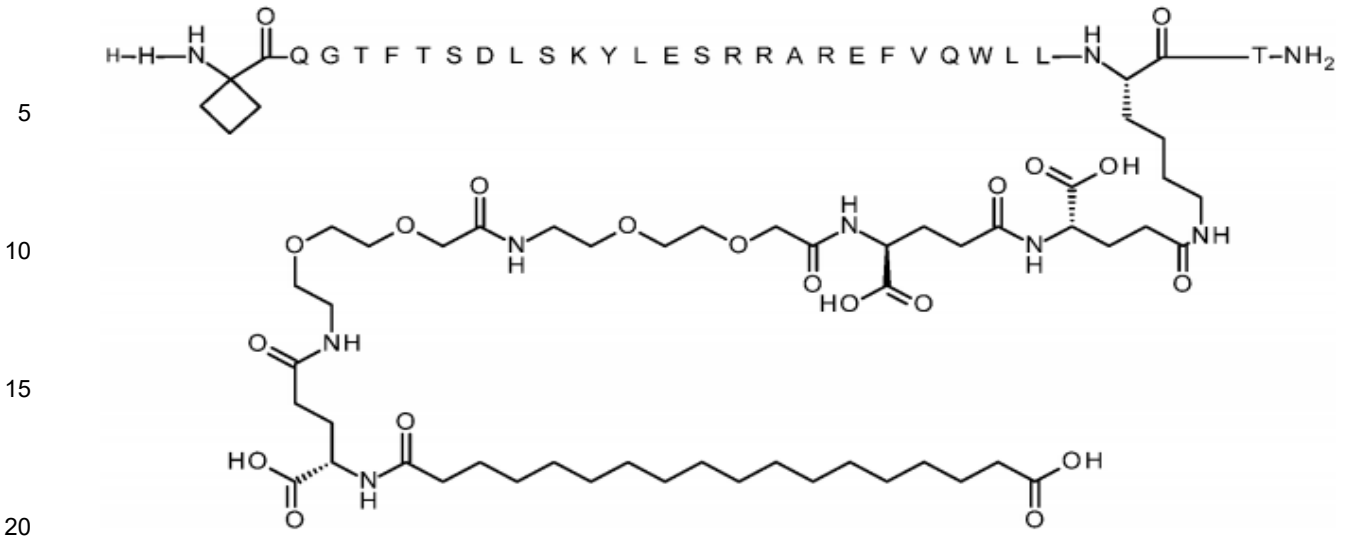
7. El derivado de glucagón de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[[[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida:



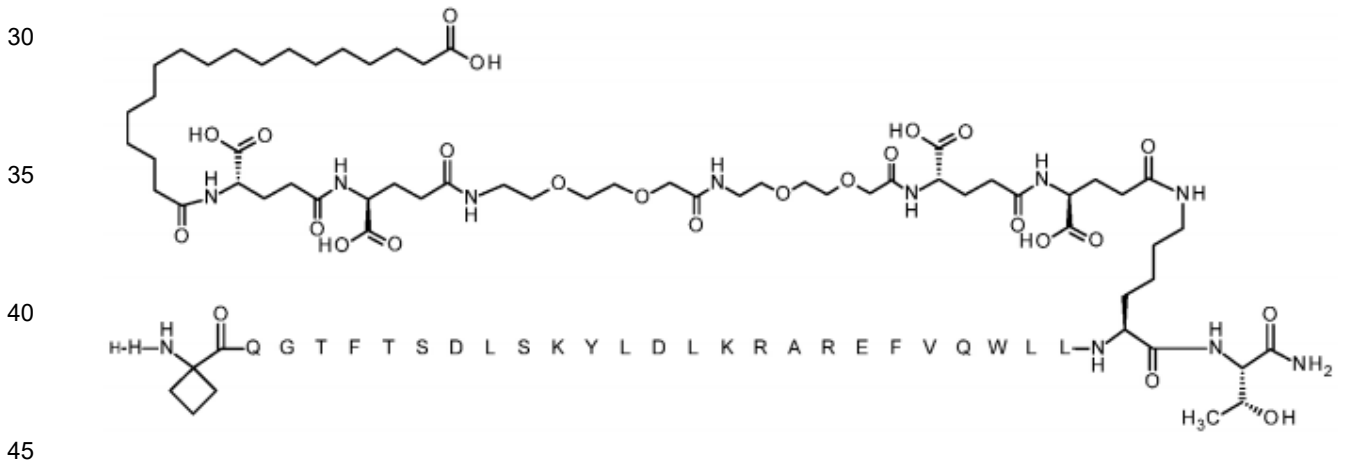
8. El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 1, en donde el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-4-carboxi-2-[[[(2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida:



9. El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 1, en donde el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[2-[2-[2-[[[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida:



10. El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 1, en donde el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida:

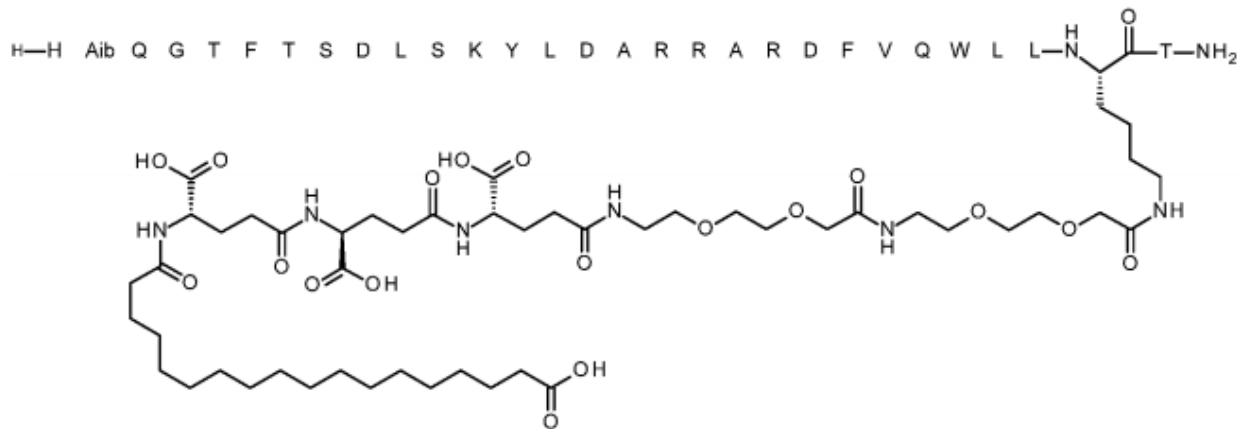


11. El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 1, en donde el derivado de glucagón es N^ε28-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]a cetil]-[Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida:

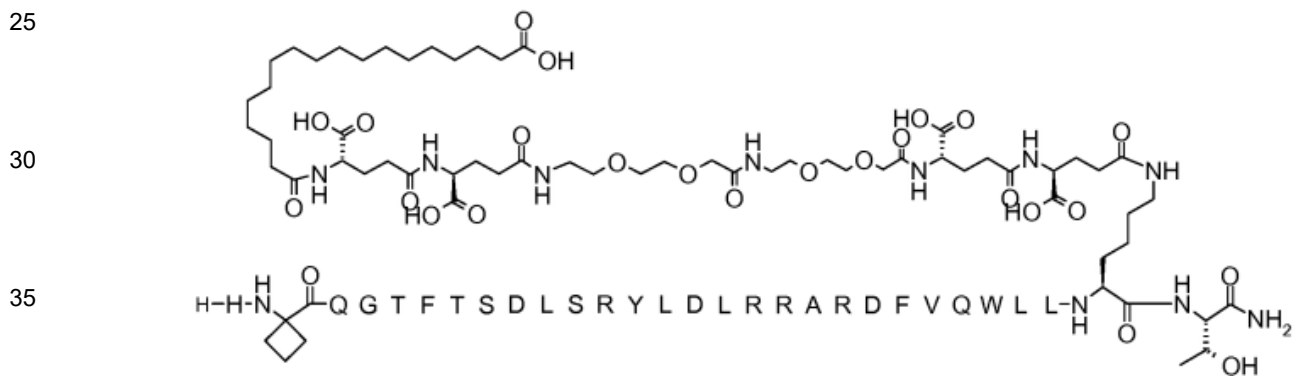
55

60

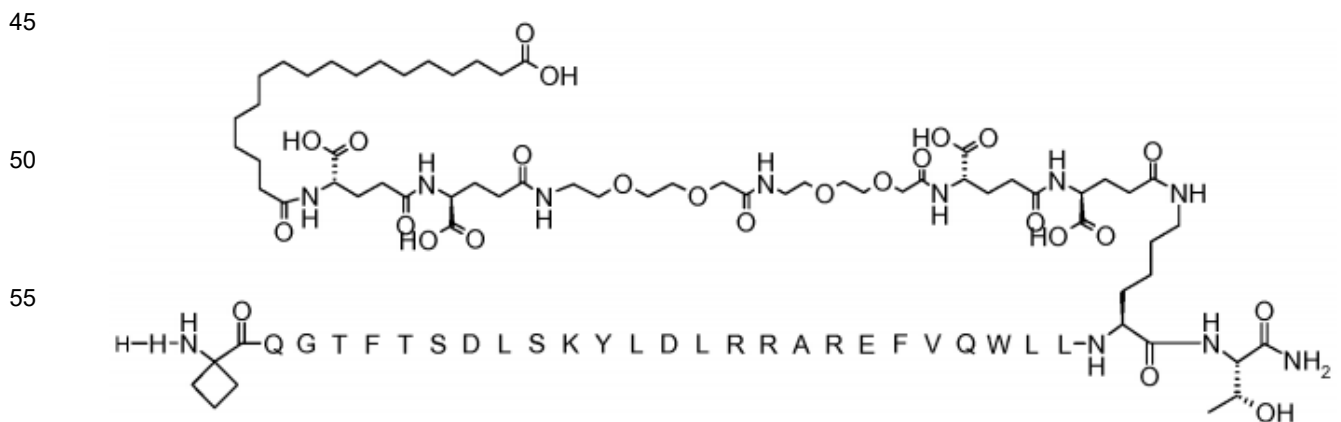
65



- 20 12. El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 1, en donde el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28]-Glucagón amida

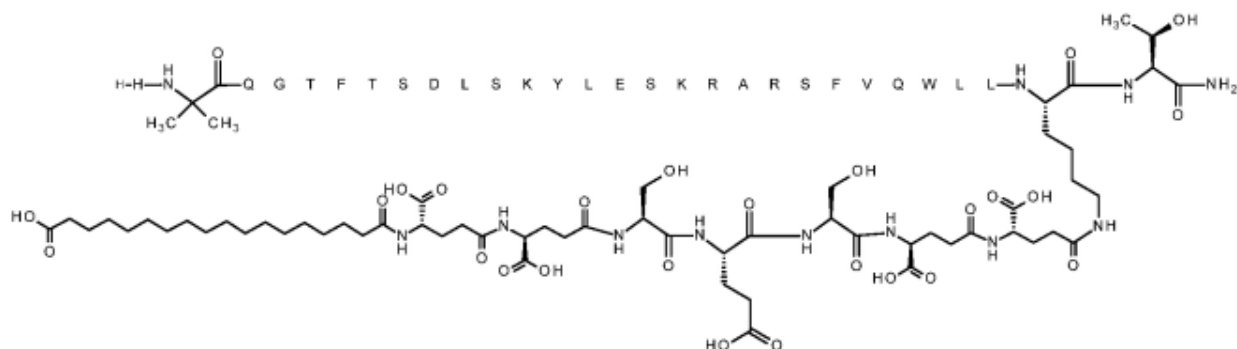


- 40 13. El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 1, en donde el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]-Glucagón amida



- 65 14. El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 1, en donde el derivado de glucagón es N^ε28-[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[2S)-2-[[2S)-4-carboxi-2-[[2S)-2-[[[(4S)-4-carboxi-4-[[[(4S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butanoil]amino]butanoil]amino]-3-hidroxiopropanoil]amino]butanoil]amino]-3-

hidroxipropanoil]amino]butanoil]amino]butanoil]-[Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28]-
Glucagón amida



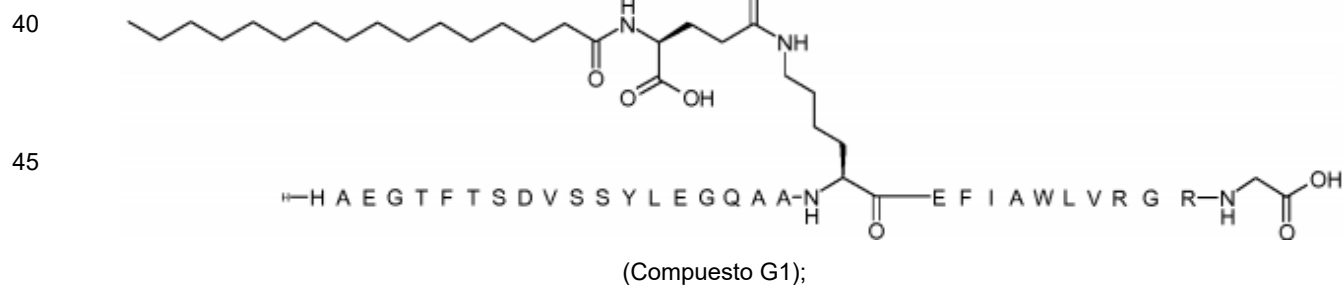
15. Un producto intermedio en forma de un péptido de glucagón que comprende una amida C-terminal y una cualquiera de las siguientes modificaciones en comparación con el glucagón (SEQ ID NO: 1):
- a) [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Leu27,Ser28];
 - b) [Aib2,Leu10,Arg20,Lys21,Leu27,Ser28];
 - c) [Aib2,Leu10,Arg20,Lys24,Leu27,Ser28];
 - d) [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Lys28];
 - e) [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29];
 - f) [Aib2,Leu10,Arg20,Leu27,Ser28];
 - g) [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Glu21,Leu27];
 - h) [Aib2,Leu10,Lys17,Ala18,Glu21,Leu27,Lys29];
 - i) [Aib2,Leu10,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 - j) [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Leu27];
 - k) [Aib2,Leu10,Thr16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29];
 - l) [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 - m) [Aib2,Leu10,Glu16,Lys20,Leu27,Ser28,Lys29];
 - n) [Aib2,Leu10,Lys16,Glu20,Leu27,Ser28,Lys29];
 - o) [Aib2,Leu10,Thr16,Arg24,Leu27,Ser28,Lys29];
 - p) [Acb2,Leu10,Glu15,Glu16,Arg20,Leu27,Lys28];
 - q) [Aib2,Leu10,Lys16,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];
 - r) [Aib2,Leu10,Lys16,Ala18,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];
 - s) [Aib2,Leu10,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27];
 - t) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - u) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 - v) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - w) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - x) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Ala18,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - y) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - z) [Aib2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - æ) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - Ø) [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Val27,Lys28,Gly29];
 - á) [Aib2,Leu10,Lys16,Glu21,Leu27];
 - aa) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - ee) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Lys28];
 - cc) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys16,Arg20,Glu21,Ala24,Leu27,Ser28];
 - dd) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - ee) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - ii) [Acb2,His3,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28];
 - gg) [Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - kk) [Aib2,His3,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28];
 - ii) [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 - jj) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 - kk) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys29];
 - ll) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - mm) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - nn) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
 - oo) [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];

- pp) [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];
- qq) [Acb2,Leu10,Arg12,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];
- rr) [Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- 5 ss) [Acb2,Leu10,Leu16,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- tt) [Acb2,Leu10,Leu16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- uu) [Acpr2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- vv) [Aib2,Leu10,Aib16,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- ww) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- xx) [Aib2,Leu10,Leu16,Leu27,Lys28];
- 10 yy) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- zz) [Aib2,Leu10,Leu16,Arg20,Leu27,Lys28];
- ææ) [Aib2,Leu10,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- ØØ) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Leu27,Lys28];
- åå) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28];
- 15 aaa) [Acb2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- bbb) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- ccc) [Acb2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- ddd) [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Arg20,Leu27,Lys28];
- eee) [Acb2,Leu10,Glu15,Leu27,Lys28];
- 20 fff) [Aib2,Leu10,Arg12,Ala16,Leu27,Lys28];
- ggg) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Lys29];
- hhh) [Aib2,Leu10,Ala16,Arg20,Leu27,Ser28,Lys29];
- iii) [Aib2,Leu10,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- jjj) [Aib2,Leu10,Arg12,Glu15,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28];
- 25 kkk) [Acb2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Glu21,Leu27,Lys28]; o
- lll) [Aib2,Leu10,Glu15,Lys17,Arg20,Ser21,Leu27,Lys28];

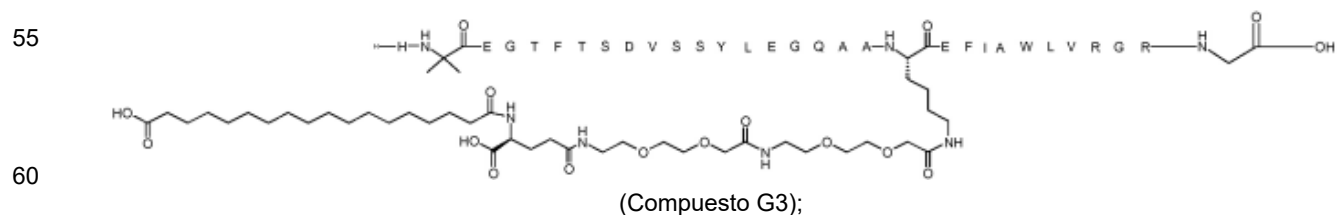
o una sal, amida, o éster aceptable farmacéuticamente de este.

- 30 16. El derivado de glucagón de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en combinación con un compuesto de GLP-1 o con un compuesto de insulina.
- 17. El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 16, en donde el compuesto de GLP-1 se selecciona del grupo que consiste en:

N-épsilon26-((S)-4-carboxi-4-hexadecanoilamino-butiril)[Arg34]GLP-1-(7-37)



y N-épsilon26-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-carboxi-4-(17-carboxiheptadecanoilamino)butirilamino]etoxi}etoxi)acetilamino]etoxi}etoxi)acetil][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37):



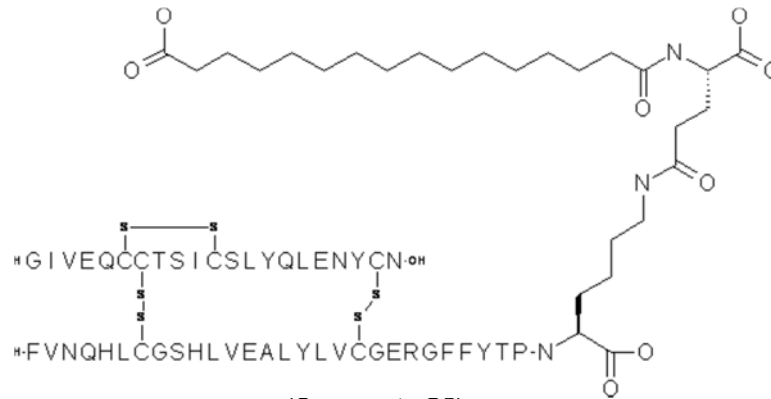
y sus sales, amidas, alquilos o ésteres aceptables farmacéuticamente de estos.

- 65 18. El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 16 o 17, en donde el compuesto de insulina es: N-épsilon-B29-[(S)-4-carboxi-4-(15-carboxipentadecanoilamino)butiril] desB30 insulina humana

5

10

15



(Compuesto G5).

19.

Una composición farmacéutica que comprende el derivado de glucagón como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-14 o 16-18 y opcionalmente uno o más excipientes aceptables farmacéuticamente.

20.

Un derivado de glucagón como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, opcionalmente en combinación con uno o más compuestos activos terapéuticamente adicionales, para su uso en medicina.

21.

El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 20, para su uso en el tratamiento de la obesidad, y/o en la reducción del peso corporal.

25

22. El derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 20, para su uso en el tratamiento o prevención de hiperglucemia, diabetes tipo 2, tolerancia a la glucosa alterada, y/o diabetes tipo 1.

30

23. El uso de un derivado de glucagón de conformidad con la reivindicación 20 para evitar el sobrepeso, y/o la indicación no terapéutica para reducir el peso corporal.