

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 768 601**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/605** (2006.01)

**A61K 38/26** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.09.2013 PCT/EP2013/069286**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.03.2014 WO14041195**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.09.2013 E 13765701 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2019 EP 2895505**

54 Título: **Análogos de glucagón**

30 Prioridad:

**17.09.2012 EP 12184744**

**17.09.2012 US 201261701952 P**

**14.03.2013 US 201361784294 P**

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

**23.06.2020**

73 Titular/es:

**ZEALAND PHARMA A/S (50.0%)**

**Sydmarken 11**

**2860 Søborg, DK y**

**BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL  
GMBH (50.0%)**

72 Inventor/es:

**TOLBORG, JAKOB LIND;**

**FOSGERAU, KELD;**

**NØRREGARD, PIA;**

**JUST, RASMUS;**

**RIBER, DITTE;**

**HAMPRECHT, DIETER WOLFGANG;**

**AUGUSTIN, ROBERT;**

**THOMAS, LEO y**

**RIST, WOLFGANG**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**Observaciones:**

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

ES 2 768 601 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Análogos de glucagón

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a análogos de glucagón y a su uso médico, por ejemplo en el tratamiento de la obesidad y el exceso de peso, la diabetes, y otros trastornos metabólicos.

**Antecedentes de la invención**

10 El pre-proglucagón es un polipéptido precursor de 158 aminoácidos que se procesa de manera diferencial en los tejidos para formar varios péptidos derivados de proglucagón relacionados estructuralmente, que incluyen glucagón (Glu), péptido similar a glucagón 1 (GLP-1), péptido similar a glucagón 2 (GLP-2), y oxintomodulina (OXM). Estas moléculas están implicadas en una amplia diversidad de funciones fisiológicas, que incluyen la homeostasis de glucosa, la secreción de insulina, el vaciamiento gástrico y el crecimiento intestinal, así como la regulación del consumo de alimentos.

15 El glucagón es un péptido de 29 aminoácidos que corresponde a los aminoácidos 53 a 81 del pre-proglucagón. La oxintomodulina (OXM) es un péptido de 37 aminoácidos que incluye la secuencia completa de 29 aminoácidos del glucagón con una prolongación carboxiterminal de octapéptido (aminoácidos 82 a 89 del pre-proglucagón, y que se denomina "péptido intermedio 1" o IP-1. El fragmento biológicamente activo principal de GLP-1 se produce en forma de un péptido amidado C-terminalmente, de 30 aminoácidos, que corresponde a los aminoácidos 98 a 127 del pre-proglucagón.

20 El glucagón ayuda a mantener el nivel de glucosa en la sangre uniéndose a los receptores de glucagón de los hepatocitos, lo que provoca que el hígado libere glucosa - almacenada en forma de glucógeno - por medio de la glucogenólisis. A medida que este almacenamiento se agota, el glucagón estimula al hígado para sintetizar más glucosa mediante la gluconeogénesis. Esta glucosa se libera en el torrente sanguíneo, lo que previene el desarrollo de hipoglucemia.

25 GLP-1 disminuye los niveles elevados de glucosa en sangre mejorando la secreción de insulina estimulada por la glucosa, y estimula la pérdida de peso principalmente por medio de la disminución del consumo de alimentos.

30 OXM se libera en la sangre en respuesta a la ingestión de alimentos, y en proporción al contenido calórico de la comida. Se ha demostrado que OXM inhibe el apetito e inhibe el consumo de alimentos en los seres humanos (Cohen et al, Journal of Endocrinology and Metabolism, 88, 4696-4701, 2003; documento WO 2003/022304). Además de esos efectos anorexígenos, que son similares a los de GLP-1, la OXM también debe afectar al peso corporal mediante otro mecanismo, ya que las ratas tratadas con oxintomodulina muestran menos aumento de peso corporal que las ratas alimentadas del mismo modo (Bloom, Endocrinology 2004, 145, 2687). El tratamiento de roedores obesos con OXM también mejora su tolerancia a la glucosa (Parlevliet et al, Am J Physiol Endocrinol Metab, 294, E142-7, 2008) e inhibe el aumento del peso corporal (documento WO 2003/022304).

35 OXM activa los receptores tanto de glucagón como de GLP-1, con una potencia dos veces mayor para el receptor de glucagón respecto del receptor de GLP-1, pero es menos potente que el glucagón y GLP-1 nativos en sus receptores respectivos. El glucagón humano también es capaz de activar ambos receptores, aunque con una preferencia intensa hacia el receptor de glucagón respecto del receptor de GLP-1. GLP-1, por otra parte, no es capaz de activar los receptores de glucagón. El mecanismo de acción de la oxintomodulina no se comprende bien. En particular, no se sabe si algunos de los efectos extrahepáticos de la hormona están mediados a través de los receptores de GLP-1 y glucagón, o a través de uno o más receptores sin identificar.

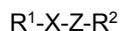
40 Se ha demostrado que otros péptidos se unen y activan los receptores de glucagón y de GLP-1 (Hjort et al, Journal of Biological Chemistry, 269, 30121-30124, 1994), e inhiben el aumento del peso corporal y reducen el consumo de alimentos (véanse, por ejemplo, los documentos WO 2006/134340, WO 2007/100535, WO 2008/10101, WO 2008/152403, WO 2009/155257, WO 2009/155258, WO2010/070252, WO2010/070253, WO2010/070255, WO2010/070251, WO2011/006497, WO2011/160630, WO2011/160633).

45 La obesidad es un problema de salud globalmente creciente que está asociado con diversas enfermedades, especialmente con la enfermedad cardiovascular (CVD), diabetes tipo 2, apnea del sueño obstructiva, ciertos tipos de cáncer, y osteoartritis. Como resultado, se ha descubierto que la obesidad reduce la esperanza de vida. Según proyecciones de 2005 de la Organización Mundial de la Salud, en todo el mundo hay 400 millones de adultos (edad > 15) clasificados como obesos. En los EE.UU., actualmente se cree que la obesidad es la segunda causa de muerte evitable después del tabaquismo.

50 El aumento de la obesidad conlleva un incremento de la diabetes, y aproximadamente un 90% de las personas con diabetes tipo 2 se pueden clasificar como obesas. En todo el mundo hay 246 millones de personas con diabetes, y se estima que en 2025 padecerán diabetes 380 millones de personas. Muchos tienen factores de riesgo cardiovasculares adicionales, que incluyen LDL y triglicéridos elevados/anormales y HDL baja.

**Compendio de la invención**

La invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula:



en la que

5  $R^1$  es H, alquilo  $C_{1-4}$ , acetilo, formilo, benzoilo o trifluoroacetilo;

$R^2$  es OH o  $NH_2$ ;

X es un péptido que consiste en la secuencia:

HSQGTFTSDYSKYLDSKAAEDFVEWLLRA (SEQ ID N°: 7)

10 y Z no está presente o es una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos independientemente seleccionados del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr y Orn;

y en la que una o más de las cadenas laterales de aminoácidos del péptido X o Z están conjugadas a un sustituyente lipófilo; o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

El compuesto de la invención puede tener la fórmula:

H-HSQGTFTSDYSKYLDSKAAEDFVEWLLRA- $NH_2$

15 o puede ser una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Una o más de las cadenas laterales de aminoácidos del péptido X o Z (cuando están presentes) está o están conjugadas con un sustituyente lipófilo.

Preferiblemente, una o más de las cadenas laterales de aminoácidos del péptido X están conjugadas con el sustituyente lipófilo.

20 Un sustituyente lipófilo puede tener la fórmula  $Z^1$ , en la que  $Z^1$  es un resto lipófilo conjugado (unido de manera covalente) directamente a la cadena lateral del residuo relevante de X o Z, o  $Z^1Z^2$  en la que  $Z^1$  es un resto lipófilo,  $Z^2$  es un espaciador, y  $Z^1$  está conjugado a la cadena lateral del residuo de X o Z por medio de  $Z^2$ .

En ciertas realizaciones, el péptido X o X-Z porta solamente un sustituyente lipófilo. Los sustituyentes lipófilos se describen con más detalle más adelante.

25 El sustituyente lipófilo puede estar conjugado a la cadena lateral de cualquier residuo adecuado. Un residuo de lisina puede ser especialmente adecuado, p.ej. un residuo de lisina en la posición 12 o 17.

Por tanto, el péptido X puede tener la fórmula:

HSQGTFTSDYSKYLDSK\*AAEDFVEWLLRA

en la que "\*" indica la posición de un sustituyente lipófilo.

30 El compuesto de la invención puede tener la fórmula:

H-HSQGTFTSDYSKYLDSK\*AAEDFVEWLLRA- $NH_2$

o puede ser una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En ciertas realizaciones, X tiene la fórmula:

HSQGTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAEDFVEWLLRA

35 El compuesto de la invención puede ser:

H-HSQGTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAEDFVEWLLRA- $NH_2$  (Compuesto 7), o puede ser una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 Para las secuencias peptídicas X o X-Z compuestas exclusivamente de aminoácidos naturales, se describe un ácido nucleico (que puede ser ADN o ARN) que codifica un péptido X o X-Z como se define en la presente memoria. También se describe un vector de expresión que comprende tal ácido nucleico, y una célula hospedadora que contiene tal ácido nucleico o vector de expresión. La célula hospedadora en general es capaz de expresar y opcionalmente secretar el péptido codificado X o X-Z.

Los compuestos de la invención son péptidos análogos de glucagón. Las referencias en la presente memoria a un péptido análogo de glucagón se deberían considerar como referencias a un compuesto de la invención o a un péptido X o X-Z, como lo requiera el contexto. Se debería considerar que la referencia a un compuesto de la invención incluye cualquier sal (p.ej. una sal de acetato o cloruro) o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, a menos que se indique de otra manera o se excluya por el contexto.

La invención proporciona una composición que comprende un compuesto de la invención como se define en la presente memoria (que incluye las sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, como ya se describió), mezclado con un vehículo. En las realizaciones preferidas, la composición es una composición farmacéutica, y el vehículo es un vehículo farmacéuticamente aceptable. El péptido análogo de glucagón puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable del análogo de glucagón.

Los compuestos descritos en la presente memoria son útiles, entre otros, en la prevención del aumento de peso o la estimulación de la pérdida de peso. "Prevención" significa inhibición o reducción en comparación con la ausencia de tratamiento, y no pretende implicar necesariamente el cese completo del aumento de peso. Los péptidos pueden provocar una disminución del consumo de alimentos y/o un gasto de energía incrementado, que da como resultado el efecto observado sobre el peso corporal. Independientemente de su efecto sobre el peso corporal, los compuestos de la invención pueden tener un efecto beneficioso sobre el control de la glucosa y/o sobre los niveles de colesterol circulante, y son capaces de reducir los niveles de LDL circulante e incrementar la proporción HDL/LDL. Por tanto, los compuestos de la invención se pueden usar para la terapia directa o indirecta de cualquier afección provocada o caracterizada por el exceso de peso corporal, tal como el tratamiento y/o la prevención de la obesidad, obesidad mórbida, inflamación asociada a la obesidad, enfermedad de la vesícula biliar asociada a la obesidad, apnea del sueño inducida por obesidad. También se pueden usar para la prevención de afecciones provocadas o caracterizadas por un control inadecuado de la glucosa o dislipidemia (p.ej. niveles elevados de LDL o proporción reducida de HDL/LDL), diabetes (especialmente diabetes tipo 2), síndrome metabólico, hipertensión, dislipidemia aterogénica, aterosclerosis, arteriosclerosis, cardiopatía coronaria, arteriopatía periférica, ictus o enfermedad microvascular. Su efecto en estas afecciones puede ser el resultado o estar asociado a su efecto sobre el peso corporal, o puede ser independiente del mismo.

La invención también proporciona un compuesto de la invención para el uso en un método de tratamiento médico, especialmente para el uso en un método de tratamiento de una afección como se describió anteriormente.

El compuesto de la invención se puede administrar como parte de una terapia de combinación con un agente para el tratamiento de la diabetes, obesidad, dislipidemia o hipertensión.

En tales casos, los dos agentes activos se pueden proporcionar juntos o por separado, y como parte de la misma formulación farmacéutica o como formulaciones diferentes.

Por tanto, el compuesto de la invención se puede usar en combinación con un agente anti-diabético que incluye, pero sin limitación, una biguanida (p.ej. metformina), una sulfonilurea, una meglitinida o glinida (p.ej. nateglinida), un inhibidor de DPP-IV, una glitazona, una insulina, o un análogo de insulina. Los ejemplos de análogos de insulina incluyen, pero sin limitación, Lantus™, Novorapid™, Humalog™, Novomix™, Actraphane HM™, Levemir™ y Apidra™.

El compuesto se puede usar además en combinación con un agente anti-obesidad que incluye, pero sin limitación, un agonista de receptor de péptido similar a glucagón 1, péptido YY o análogo del mismo, antagonista de receptor cannabinoide 1, inhibidor de lipasa, agonista de receptor de melanocortina 4, o antagonista de receptor de hormona concentradora de melanina 1.

El compuesto se puede usar además en combinación con un agente antihipertensivo que incluye, pero sin limitación, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, un bloqueante de receptor de angiotensina II, diurético, beta-bloqueante, o bloqueante de canales de calcio.

El compuesto se puede usar en combinación con un agente anti-dislipidemia que incluye, pero sin limitación, una estatina, un fibrato, una niacina o un inhibidor de la absorción de colesterol.

Por tanto, la invención proporciona además una composición o kit terapéutico que comprende un compuesto de la invención y, por ejemplo, un agente anti-diabético, agente anti-obesidad, agente anti-hipertensivo o agente anti-dislipidemia como se describió anteriormente. También se proporciona una composición o kit terapéutico para el uso en un método de tratamiento médico, especialmente para el tratamiento de una afección como se describió anteriormente.

El compuesto de la invención se puede producir mediante química sintética. Por lo tanto, la invención proporciona un método de síntesis de un compuesto de la invención.

Como ya se ha descrito, la memoria descriptiva describe ácidos nucleicos que codifican la secuencia peptídica X o X-Z, así como vectores de expresión que comprenden la secuencia de ácido nucleico anteriormente descrita (opcionalmente unida de manera operable a secuencias para dirigir su expresión), y células hospedadoras que contienen los ácidos nucleicos o los vectores de expresión. Preferiblemente, las células hospedadoras son capaces

de expresar y opcionalmente secretar el compuesto de la invención.

El compuesto de la invención se puede producir mediante un método que comprende cultivar las células hospedadoras en condiciones adecuadas para expresar la secuencia peptídica X o X-Z y purificar el compuesto así producido. Esto es especialmente útil cuando el péptido contiene solamente aminoácidos naturales.

5 Cuando el compuesto de la invención contiene uno o más aminoácidos que no son naturales, el método puede comprender expresar una secuencia peptídica que contiene una o más diferencias respecto de la secuencia X o X-Z, opcionalmente purificar el compuesto así producido, y añadir o modificar uno o más aminoácidos para producir un compuesto de la invención o un compuesto que comprende la secuencia de aminoácidos X o X-Z.

10 Cualquiera que sea el método que se use para producir el compuesto de la invención, puede comprender una o más etapas adicionales para modificar la secuencia X o X-Z, especialmente para introducir uno o más restos lipófilos y/o poliméricos, como se define en otra parte en esta memoria descriptiva.

### Descripción detallada de la invención

15 A lo largo de esta memoria descriptiva, se usan los códigos convencionales de una letra y tres letras para los aminoácidos naturales, así como los códigos de tres letras aceptados generalmente para otros aminoácidos, tales como Aib (ácido  $\alpha$ -aminoisobutírico), Hse (homoserina), Orn (ornitina), Dbu (ácido 2,4-diaminobutírico), Dpr (ácido 2,3-diaminopropanoico).

20 El glucagón es un péptido de 29 aminoácidos que corresponde a los aminoácidos 53 a 81 del pre-proglucagón, y tiene la secuencia 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 N°: 26). La oxintomodulina (OXM) es un péptido de 37 aminoácidos que incluye la secuencia completa de 29 aminoácidos de glucagón con una prolongación carboxiterminal de octapéptido (aminoácidos 82 a 89 de pre-proglucagón, que tiene la secuencia Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala (SEQ ID N°: 27) y se denomina "péptido intermedio 1" o IP-1; la secuencia completa de la oxintomodulina humana es por tanto 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-Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala) (SEQ ID N°: 28). El fragmento biológicamente activo principal de GLP-1 se produce en forma de un péptido amidado C-terminalmente, de 30 aminoácidos, que corresponde a los aminoácidos 98 a 127 del pre-proglucagón.

La expresión "glucagón nativo" se refiere, por tanto, al glucagón humano nativo que tiene la secuencia H-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-OH (SEQ ID N°: 26).

30 Se puede considerar que los aminoácidos de la secuencia X de los compuestos de la invención están numerados consecutivamente de 1 a 29 en la dirección convencional N-terminal a C-terminal. La referencia a una "posición" dentro de X se debería considerar, por lo tanto, como la referencia a las posiciones dentro del glucagón humano nativo y otras moléculas.

35 Un compuesto de la invención puede comprender una secuencia peptídica C-terminal Z de 1-20 aminoácidos, por ejemplo para estabilizar la conformación y/o la estructura secundaria del péptido análogo de glucagón, y/o para hacer que el péptido análogo de glucagón sea más resistente a la hidrólisis enzimática, p.ej. como se describe en el documento WO99/46283.

40 Cuando está presente, Z representa una secuencia peptídica de 1-20 residuos de aminoácidos, p.ej. en el intervalo de 1-15, más preferiblemente en el intervalo de 1-10, en particular en el intervalo de 1-7 residuos de aminoácidos, p.ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 residuos de aminoácidos, tal como 6 residuos de aminoácidos. Cada uno de los residuos de aminoácidos de la secuencia peptídica Z se puede seleccionar independientemente de Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu (ácido 2,4-diaminobutírico), Dpr (ácido 2,3-diaminopropanoico) y Orn (ornitina). Preferiblemente, los residuos de aminoácido se seleccionan de Ser, Thr, Tyr, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr y Orn, más preferiblemente se seleccionan exclusivamente de Glu, Lys, y Cys. Los aminoácidos anteriormente mencionados pueden tener una configuración D o L, que, en ciertas realizaciones, tienen una configuración L. Las secuencias especialmente preferidas de Z son secuencias de cuatro, cinco, seis o siete residuos de lisina consecutivos (es decir, Lys<sub>3</sub>, Lys<sub>4</sub>, Lys<sub>5</sub>, Lys<sub>6</sub> o Lys<sub>7</sub>), y especialmente cinco o seis residuos de lisina consecutivos. Otras secuencias ejemplares de Z se muestran en el documento WO 01/04156. De manera alternativa, el residuo C-terminal de la secuencia Z puede ser un residuo de Cys. Esto puede ayudar en la modificación (p.ej. PEGilación o conjugación a albúmina) del compuesto. 50 En tales realizaciones, la secuencia Z puede ser, por ejemplo, de una longitud de solamente un aminoácido (es decir, Z = Cys), o puede ser de una longitud de dos, tres, cuatro, cinco, seis o incluso más aminoácidos. Los otros aminoácidos sirven, por lo tanto, como espaciador entre el péptido X y el residuo de Cys terminal.

La secuencia peptídica Z no tiene más de un 25% de identidad de secuencia con la secuencia correspondiente de la porción de IP-1 de OXM humana (que tiene la secuencia Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala).

55 El "porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos" de una secuencia peptídica o polipeptídica dada con respecto a otra secuencia polipeptídica (p.ej. IP-1) se calcula como el porcentaje de residuos de aminoácido de la

5 secuencia peptídica dada que son idénticos con los residuos de aminoácido colocados correspondientemente en la secuencia correspondiente de ese otro polipéptido cuando los dos se alinean entre sí, introduciendo huecos para la alineación óptima, si es necesario. Los valores de % de identidad se pueden determinar mediante el uso de WU-BLAST-2 (Altschul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996)). WU-BLAST-2 usa varios parámetros de búsqueda, la mayoría de los cuales se fijan en los valores por defecto. Los parámetros ajustables se fijan con los siguientes valores: tramo de solapamiento = 1, fracción de solapamiento = 0,125, umbral de palabra (T) = 11. Se determina un valor de % de identidad de secuencia de aminoácidos mediante el número de residuos idénticos coincidentes determinado mediante WU-BLAST-2, dividido por el número total de residuos de la secuencia de referencia (los huecos introducidos por WU-BLAST-2 en la secuencia de referencia para maximizar el índice de alineación se ignoran), multiplicado por 100.

10 Por tanto, cuando Z se alinea de manera óptima con los 8 aminoácidos de IP-1, no tiene más de dos aminoácidos que sean idénticos con los aminoácidos correspondientes de IP-1.

En ciertas realizaciones, Z no está presente.

15 Una o más de las cadenas laterales de aminoácido del compuesto de la invención pueden estar conjugadas a un sustituyente lipófilo. El sustituyente lipófilo puede estar unido de manera covalente a un átomo de la cadena lateral de aminoácido, o de manera alternativa puede estar conjugado a la cadena lateral de aminoácido mediante un espaciador. Un sustituyente lipófilo puede estar conjugado a una cadena lateral de un aminoácido que es parte del péptido X, y/o a una cadena lateral de un aminoácido que es parte del péptido Z.

20 Sin desear limitarse a ninguna teoría particular, se cree que el sustituyente lipófilo se une a la albúmina del torrente sanguíneo, y por tanto protege a los compuestos de la invención de la degradación enzimática, y de ese modo se incrementa la semivida de los compuestos. También puede modular la potencia del compuesto, p.ej. con respecto al receptor de glucagón y/o al receptor de GLP-1.

25 En ciertas realizaciones, solamente una cadena lateral de aminoácido está conjugada a un sustituyente lipófilo. En otras realizaciones, dos cadenas laterales de aminoácido están conjugadas cada una a un sustituyente lipófilo. En realizaciones adicionales, tres o incluso más cadenas laterales de aminoácido están conjugadas cada una a un sustituyente lipófilo. Cuando un compuesto contiene dos o más sustituyentes lipófilos, pueden ser iguales o diferentes.

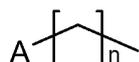
El sustituyente lipófilo puede comprender o consistir en un resto lipófilo Z<sup>1</sup> que puede estar unido de manera covalente directamente a un átomo de la cadena lateral de aminoácido, o de manera alternativa puede estar conjugado a la cadena lateral de aminoácido mediante un espaciador Z<sup>2</sup>.

30 El término "conjugado" se usa en la presente memoria para describir la unión física de un resto químico identificable a otro, y la relación estructural entre tales restos. No se debería considerar que implique ningún método particular de síntesis.

35 El resto lipófilo puede estar unido a la cadena lateral de aminoácido o al espaciador por medio de un éster, un sulfonil éster, un tioéster, una amida, un carbamato, una urea o una sulfonamida. Por lo tanto, se entenderá que preferiblemente el sustituyente lipófilo incluye un grupo acilo, un grupo sulfonilo, un átomo de N, un átomo de O o un átomo de S que forma parte del éster, sulfonil éster, tioéster, amida o sulfonamida. Preferiblemente, un grupo acilo del sustituyente lipófilo forma parte de una amida o éster con la cadena lateral de aminoácido o del espaciador.

40 El resto lipófilo puede incluir una cadena de hidrocarburo que tiene 4 a 30 átomos de C. Preferiblemente, tiene al menos 8 o 12 átomos de C, y preferiblemente tiene 24 átomos de C o menos, o 20 átomos de C o menos. La cadena de hidrocarburo puede ser lineal o ramificada y puede ser saturada o insaturada. Se entenderá que la cadena de hidrocarburo está sustituida preferiblemente con un resto que forma parte de la unión a la cadena lateral de aminoácido o al espaciador, por ejemplo un grupo acilo, un grupo sulfonilo, un átomo de N, un átomo de O o un átomo de S. Lo más preferiblemente, la cadena de hidrocarburo está sustituida con acilo, y por lo tanto la cadena de hidrocarburo puede ser parte de un grupo alcanilo, por ejemplo palmitoilo, caproilo, lauroilo, miristoilo o estearoilo.

45 Por lo tanto, el resto lipófilo puede tener la fórmula mostrada más adelante:



A puede ser, por ejemplo, un grupo acilo, un grupo sulfonilo, NH, N-alquilo, un átomo de O o un átomo de S, preferiblemente acilo. n es un número entero de 3 a 29, preferiblemente de 7 a 25, más preferiblemente 11 a 21, incluso más preferiblemente 15 a 19.

50 La cadena de hidrocarburo puede estar sustituida adicionalmente. Por ejemplo, puede estar sustituida adicionalmente con hasta tres sustituyentes seleccionados de NH<sub>2</sub>, OH y COOH, especialmente en el extremo libre de la molécula distal del espaciador o del péptido. Por ejemplo, puede comprender un grupo de ácido carboxílico libre.

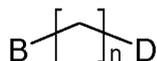
Si la cadena de hidrocarburo está sustituida adicionalmente, preferiblemente está sustituida adicionalmente con solamente un sustituyente. De manera alternativa o adicional, la cadena de hidrocarburo puede incluir un cicloalcano o heterocicloalcano, por ejemplo como se muestra más adelante:



- 5 Preferiblemente, el cicloalcano o heterocicloalcano es un anillo de seis miembros. Lo más preferiblemente, es piperidina.

De manera alternativa, el resto lipófilo se puede basar en un esqueleto de ciclopentanofenantreno, que puede estar parcialmente o completamente insaturado, o estar saturado. Los átomos de carbono del esqueleto pueden estar sustituidos cada uno con Me o OH. Por ejemplo, el sustituyente lipófilo puede ser colilo, desoxicolilo o litocolilo.

- 10 Como se mencionó anteriormente, el resto lipófilo puede estar conjugado a la cadena lateral de aminoácido mediante un espaciador. Cuando está presente, el espaciador está unido al resto lipófilo y a la cadena lateral de aminoácido. El espaciador puede estar unido al resto lipófilo y a la cadena lateral de aminoácido independientemente mediante un éster, un sulfonil éster, un tioéster, una amida, un carbamato, una urea o una sulfonamida. Por lo tanto, puede incluir dos restos seleccionados independientemente de acilo, sulfonilo, un átomo de N, un átomo de O o un átomo de S. El espaciador puede tener la fórmula:



- 20 en la que B y D se seleccionan cada uno independientemente de acilo, sulfonilo, NH, N-alquilo, un átomo de O y un átomo de S, preferiblemente de acilo y NH. Preferiblemente, n es un número entero de 1 a 10, preferiblemente de 1 a 5. El espaciador puede estar sustituido adicionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo C<sub>0-6</sub>, alquil C<sub>0-6</sub> amina, alquil C<sub>0-6</sub> hidroxilo y alquil C<sub>0-6</sub> carboxi.

- 25 De manera alternativa, el espaciador puede tener dos o más unidades repetitivas de la fórmula anterior. B, D y n se seleccionan cada uno independientemente para cada unidad repetitiva. Las unidades repetitivas adyacentes pueden estar unidas de manera covalente entre sí por medio de sus restos B y D respectivos. Por ejemplo, los restos B y D de las unidades repetitivas adyacentes pueden formar juntos un éster, un sulfonil éster, un tioéster, una amida o una sulfonamida. Las unidades B y D libres en cada extremo del espaciador están unidas a la cadena lateral de aminoácido y al resto lipófilo como se describió anteriormente.

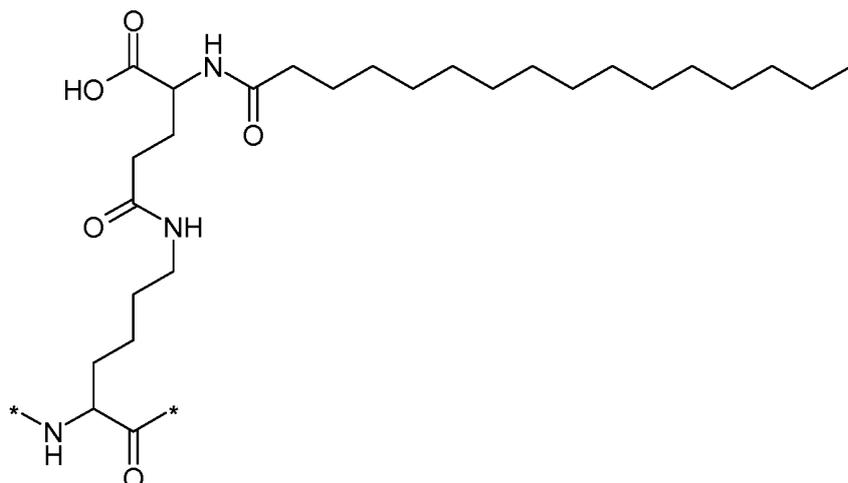
Preferiblemente, el espaciador tiene cinco o menos, cuatro o menos o tres o menos unidades repetitivas. Lo más preferiblemente, el espaciador tiene dos unidades repetitivas, o es una única unidad.

- 30 El espaciador (o una o más de las unidades repetitivas del espaciador, si tiene unidades repetitivas) puede ser, por ejemplo, un aminoácido natural o no natural. Se entenderá que para los aminoácidos que tienen cadenas laterales funcionalizadas, B y/o D pueden ser un resto de la cadena lateral del aminoácido. El espaciador puede ser cualquier aminoácido natural o no natural. Por ejemplo, el espaciador (o una o más de las unidades repetitivas del espaciador, si tiene unidades repetitivas) puede ser Gly, Pro, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Cys, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Gln, Asn, α-Glu, γ-Glu, Asp, Ser, Thr, Gaba, Aib, β-Ala, 5-aminopentanoilo, 6-aminohexanoilo, 7-aminoheptanoilo, 8-aminooctanoilo, 9-aminononanoilo o 10-aminodecanoilo.

Por ejemplo, el espaciador puede ser un único aminoácido seleccionado de γ-Glu, Gaba, β-Ala y α-Glu.

- 40 Un sustituyente lipófilo puede estar conjugado a cualquier cadena lateral de aminoácido de un compuesto de la invención. Preferiblemente, la cadena lateral de aminoácido incluye un grupo carboxi, hidroxilo, tiol, amida o amina, para formar un éster, un sulfonil éster, un tioéster, una amida o una sulfonamida con el sustituyente espaciador o lipófilo. Por ejemplo, el sustituyente lipófilo puede estar conjugado a Asn, Asp, Glu, Gln, His, Lys, Arg, Ser, Thr, Tyr, Trp, Cys o Dbu, Dpr u Orn. Preferiblemente, el sustituyente lipófilo está conjugado a Lys. Un aminoácido mostrado como Lys en las fórmulas proporcionadas en la presente memoria puede estar sustituido, p.ej., con Dbu, Dpr o Orn cuando se añade un sustituyente lipófilo.

- 45 Se muestra un ejemplo de un sustituyente lipófilo que comprende un resto lipófilo y un espaciador en la siguiente fórmula:



En ella, un residuo de Lys del compuesto de la presente invención está unido de manera covalente a  $\gamma$ -Glu (el espaciador) por medio de un resto amida. El palmitoilo (es decir, hexadecanoilo) está unido de manera covalente al espaciador de  $\gamma$ -Glu por medio de un resto amida, y por tanto se crea un grupo hexadecanoil-isoGlu.

- 5 De manera alternativa o adicional, una o más cadenas laterales de aminoácido del compuesto de la invención pueden estar conjugadas a un resto polimérico, por ejemplo, para incrementar la solubilidad y/o la semivida in vivo (p.ej. en el plasma) y/o la biodisponibilidad. También se sabe que tal modificación reduce el aclaramiento (p.ej. el aclaramiento renal) de las proteínas y péptidos terapéuticos.

10 El lector experto será consciente de las técnicas adecuadas que se pueden usar para llevar a cabo las reacciones de acoplamiento con el espaciador y el resto lipófilo mediante el uso de la metodología sintética general enumerada, p.ej., en "Comprehensive Organic Transformations, A Guide to Functional Group Preparations", 2ª edición, Larock, R. C.; Wiley-VCH: Nueva York, 1999. Tales transformaciones pueden tener lugar en cualquier etapa adecuada durante el proceso de síntesis.

15 El resto polimérico es preferiblemente hidrosoluble (anfífilico o hidrófilo), atóxico, y farmacéuticamente inerte. Los restos poliméricos adecuados incluyen polietilén glicol (PEG), homo- o co-polímeros de PEG, un polímero monometil-sustituido de PEG (mPEG), y polioxietilén glicerol (POG). Véase, por ejemplo, Int. J. Hematology 68:1 (1998); Bioconjugate Chem. 6:150 (1995); y Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Sys. 9:249 (1992).

20 Otros restos poliméricos adecuados incluyen poli-aminoácidos tales como poli-lisina, poli-ácido aspártico y poli-ácido glutámico (véase, por ejemplo, Gombotz, et al. (1995), Bioconjugate Chem., vol. 6 : 332-351; Hudecz, et al. (1992), Bioconjugate Chem., vol. 3, 49-57; Tsukada, et al. (1984), J. Natl. Cancer Inst., vol 73 : 721-729; y Pratesi, et al. (1985), Br. J. Cancer, vol. 52: 841-848).

El resto polimérico puede ser de cadena lineal o ramificada. Puede tener un peso molecular de 500-40.000 Da, por ejemplo 500-10.000 Da, 1000-5000 Da, 10.000-20.000 Da, o 20.000-40.000 Da.

25 Un compuesto de la invención puede comprender dos o más restos, en cuyo caso el peso molecular total de todos los restos estará en general en los intervalos proporcionados anteriormente.

El resto polimérico puede estar acoplado (mediante una unión covalente) a un grupo amino, carboxilo o tiol de una cadena lateral de aminoácido. Los ejemplos preferidos son el grupo tiol de los residuos de Cys y el grupo épsilon-amino de los residuos de Lys. También se pueden usar los grupos carboxilo de los residuos de Asp y Glu.

30 El lector experto será consciente de las técnicas adecuadas que se pueden usar para llevar a cabo la reacción de acoplamiento. Por ejemplo, se puede acoplar un resto de PEG que porta un grupo metoxi a un grupo tiol de Cys mediante una unión maleimido mediante el uso de reactivos comercialmente disponibles de Nektar Therapeutics. Véase también el documento WO 2008/101017, y las referencias citadas anteriormente, para detalles de la química adecuada.

#### Síntesis de péptidos

35 Los compuestos de la presente invención se pueden fabricar mediante métodos sintéticos habituales, sistemas de expresión recombinante, o cualquier otro método del estado de la técnica. Por tanto, los análogos de glucagón se pueden sintetizar de varias maneras, que incluyen, por ejemplo, un método que comprende:

(a) sintetizar el péptido por medio de una metodología en fase sólida o fase líquida, por etapas o mediante ensamblaje de fragmentos, y aislamiento y purificación del producto peptídico final; o

(b) expresar una construcción de ácido nucleico que codifica el péptido en una célula hospedadora, y recuperar el producto de expresión de la célula hospedadora o del medio de cultivo; o

(c) llevar a cabo la expresión in vitro sin células de una construcción de ácido nucleico que codifica el péptido, y recuperar el producto de expresión;

5 o cualquier combinación de los métodos de (a), (b), y (c) para obtener fragmentos del péptido, posteriormente ligar los fragmentos para obtener el péptido, y recuperar el péptido.

Se prefiere sintetizar los análogos de la invención por medio de la síntesis de péptidos en fase sólida o fase líquida. En este contexto, se hace referencia al documento WO 98/11125 y, entre muchos otros, Fields, GB et al., 2002, "Principles and practice of solid-phase peptide synthesis". En: Synthetic Peptides (2ª Edición), y los Ejemplos de la presente memoria.

Para la expresión recombinante, normalmente se insertarán los fragmentos de ácido nucleico relevantes en los vectores adecuados para formar vectores de clonación o expresión. Los vectores, dependiendo del propósito y del tipo de aplicación, pueden estar en forma de plásmidos, fagos, cósmidos, mini-cromosomas, o virus, pero también es un vector importante el ADN desnudo que se expresa solamente de manera transitoria en ciertas células. Los vectores preferidos de clonación y expresión (vectores plasmídicos) tienen la capacidad de replicación autónoma, y de ese modo se hace posible un número elevado de copias con el propósito de obtener una expresión de alto nivel o una replicación de alto nivel para la clonación posterior.

En resumen, un vector de expresión comprende las siguientes características en la dirección 5'→3' y en la unión operable: un promotor para controlar la expresión del fragmento de ácido nucleico, opcionalmente una secuencia de ácido nucleico que codifica un péptido líder que posibilita la secreción (en la fase extracelular o, cuando sea aplicable, en el periplasma), el fragmento de ácido nucleico que codifica el péptido de la invención, y opcionalmente una secuencia de ácido nucleico que codifica un terminador. Pueden comprender características adicionales, tales como marcadores seleccionables y orígenes de replicación. Cuando se utilizan vectores de expresión en cepas productoras o líneas celulares, se puede preferir que el vector sea capaz de integrarse en el genoma de la célula hospedadora. El experto está muy familiarizado con los vectores adecuados, y es capaz de diseñar uno según sus necesidades específicas.

Los vectores se usan para transformar las células hospedadoras para producir el compuesto de la invención. Tales células transformadas pueden ser células cultivadas o líneas celulares usadas para la propagación de los fragmentos de ácido nucleico y los vectores, o usadas para la producción recombinante de los péptidos de la invención.

30 Las células transformadas preferidas son microorganismos tales como bacterias [tales como la especie *Escherichia* (p.ej. *E. coli*), *Bacillus* (p.ej. *Bacillus subtilis*), *Salmonella*, o *Mycobacterium* (preferiblemente apatógenas, p.ej. *M. bovis* BCG), levaduras (p.ej., *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia pastoris*), y protozoos. De manera alternativa, las células transformadas se pueden obtener de un organismo multicelular, es decir, pueden ser una célula fúngica, una célula de insecto, una célula de alga, una célula vegetal, o una célula animal, tal como una célula de mamífero. Para el propósito de clonación y/o expresión optimizada, se prefiere que la célula transformada sea capaz de replicar el fragmento de ácido nucleico adecuado. Se pueden usar células que expresan el fragmento nucleico para la preparación a pequeña escala o gran escala de los péptidos de la invención.

Cuando se produce el péptido de la invención por medio de células transformadas, es adecuado, aunque en absoluto esencial, que el producto de expresión se secrete en el medio de cultivo.

40 Eficacia

La unión de los compuestos relevantes a los receptores de GLP-1 o glucagón (Glu) se puede usar como indicación de la actividad agonista, pero en general se prefiere usar un ensayo biológico que mide la señalización intracelular provocada por la unión del compuesto al receptor relevante. Por ejemplo, la activación del receptor de glucagón mediante un agonista de glucagón estimulará la formación de AMP cíclico (cAMP) celular. De forma similar, la activación del receptor de GLP-1 mediante un agonista de GLP-1 estimulará la formación de cAMP celular. Por tanto, se puede usar la producción de cAMP en las células adecuadas que expresan uno de estos dos receptores para monitorizar la actividad del receptor relevante. El uso de un par adecuado de tipos de células, que expresan cada uno un receptor pero no el otro, por lo tanto, se puede usar para determinar la actividad agonista hacia ambos tipos de receptores.

50 El experto será consciente de los formatos de ensayo adecuados, y se proporcionan ejemplos más adelante. El receptor de GLP-1 y/o el receptor de glucagón pueden tener la secuencia de los receptores que se describen en los ejemplos. Por ejemplo, los ensayos pueden emplear el receptor de glucagón humano (Glucagón-R) que tiene el número de acceso principal GI:4503947 y/o el receptor de péptido similar a glucagón humano 1 (GLP-1R) que tiene el número de acceso principal GI:166795283. (donde se haga referencia a secuencias de proteínas precursoras, por supuesto se debería entender que los ensayos pueden usar la proteína madura, que carece de la secuencia señal).

Los valores de  $CE_{50}$  se pueden usar como medida numérica de la potencia agonista en un receptor determinado. Un valor de  $CE_{50}$  es una medida de la concentración de un compuesto necesaria para alcanzar la mitad de la actividad máxima de ese compuesto en un ensayo particular. Así, por ejemplo, un compuesto que tiene una  $CE_{50}$ [GLP-1] inferior a la  $CE_{50}$ [GLP-1] de glucagón en un ensayo particular se puede considerar que tiene una potencia agonista hacia el receptor de GLP-1 mayor que el glucagón.

Los compuestos descritos en esta memoria descriptiva son en general agonistas dobles GluGLP-1, como se determina mediante la observación de que son capaces de estimular la formación de cAMP tanto en el receptor de glucagón como en el receptor de GLP-1. La estimulación de cada receptor se puede medir en ensayos independientes, y después se comparan entre sí.

- 10 Comparando el valor de  $CE_{50}$  para el receptor de GLP-1 ( $CE_{50}$  [GLP-1-R]) con el valor de  $CE_{50}$  para el receptor de Glucagón, ( $CE_{50}$  [Glucagón-R]) para un compuesto determinado, se puede calcular la selectividad relativa hacia GLP-1R como sigue:

$$\text{Selectividad relativa hacia GLP-1R [compuesto]} = (CE_{50}[\text{GLP-1R}]) / (CE_{50} [\text{Glucagón-R}])$$

- 15 El término " $CE_{50}$ " representa la concentración eficaz semimáxima, en general en un receptor particular, o a nivel de un marcador particular para la función del receptor, y puede referirse a una actividad inhibitoria o antagonista, dependiendo del contexto bioquímico específico.

- 20 Sin desear limitarse a ninguna teoría particular, la selectividad relativa de un compuesto puede permitir comparar directamente su efecto en el receptor de GLP-1 o de glucagón con su efecto sobre el otro receptor. Por ejemplo, cuanto mayor es la selectividad relativa hacia GLP-1 de un compuesto, más eficaz puede ser ese compuesto en el receptor de GLP-1 en comparación con el receptor de glucagón. En general, los resultados se comparan para los receptores de glucagón y de GLP-1 de la misma especie, p.ej. receptores de glucagón y GLP-1 humanos, o receptores de glucagón y GLP-1 murinos.

- 25 Los compuestos de la invención pueden tener una mayor selectividad relativa hacia GLP-1R que el glucagón humano, ya que para un nivel particular de actividad agonista de glucagón-R, el compuesto puede mostrar un nivel mayor de actividad agonista hacia GLP-1R (es decir, una potencia mayor en el receptor de GLP-1) que el glucagón. Se entenderá que la potencia absoluta de un compuesto particular en los receptores de glucagón y GLP-1 puede ser mayor, menor o aproximadamente igual a la del glucagón humano nativo, con tal de que se alcance la selectividad relativa adecuada hacia GLP-1R.

- 30 Sin embargo, los compuestos de esta invención pueden tener una  $CE_{50}$  [GLP-1R] inferior que el glucagón humano. Los compuestos pueden tener una  $CE_{50}$ [GLP-1-R] inferior que el glucagón mientras mantienen una  $CE_{50}$  [Glucagón-R] que es menor de 10 veces mayor que la del glucagón humano, menor de 5 veces mayor que la del glucagón humano, o menor de 2 veces mayor que la del glucagón humano.

- 35 Los compuestos de la invención pueden tener una  $CE_{50}$  [Glucagón-R] que es menor de dos veces la del glucagón humano. Los compuestos pueden tener una  $CE_{50}$  [Glucagón-R] que es menor de dos veces la del glucagón humano y tener una  $CE_{50}$  [GLP-1R] que es menor de la mitad que la del glucagón humano, menor de un quinto que la del glucagón humano, o menor de un décimo que la del glucagón humano.

La selectividad relativa hacia GLP-1R de los compuestos puede ser de entre 0,05 y 20. Por ejemplo, los compuestos pueden tener una selectividad relativa de 0,05-0,20, 0,1-0,30, 0,2-0,5, 0,3-0,7, o 0,5-1,0; 1,0-2,0, 1,5-3,0, 2,0-4,0 o 2,5-5,0; o 0,05-20, 0,075-15, 0,1-10, 0,15-5, 0,75-2,5 o 0,9-1,1.

- 40 En ciertas realizaciones, puede ser deseable que la  $CE_{50}$  de cualquier compuesto determinado hacia el Glucagón-R y GLP-1R, p.ej. hacia los receptores de glucagón y GLP-1 humanos, fuera menor de 1 nM.

#### Usos terapéuticos

Los compuestos de la invención pueden proporcionar opciones atractivas de tratamiento y/o prevención, entre otros, para la obesidad y las enfermedades metabólicas que incluyen diabetes, como se discute más adelante.

- 45 La diabetes comprende un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia resultante de defectos en la secreción de insulina, la acción de la insulina, o ambas. Los signos agudos de diabetes incluyen una producción excesiva de orina, una sed compensatoria resultante y un consumo incrementado de líquidos, visión borrosa, pérdida de peso injustificada, letargia, y cambios en el metabolismo energético. La hiperglucemia crónica de la diabetes está asociada con un daño a largo plazo, disfunción e insuficiencia de diversos órganos, en particular los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos. La diabetes se clasifica en diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 y diabetes gestacional en base a las características patogénicas.

La diabetes tipo 1 representa el 5-10% de los casos de diabetes, y está provocada por la destrucción autoinmunitaria de las células  $\beta$  pancreáticas que secretan insulina.

La diabetes tipo 2 representa un 90-95% de los casos de diabetes, y es el resultado de un grupo complejo de trastornos metabólicos. La diabetes tipo 2 es consecuencia de que la producción de insulina endógena se vuelve insuficiente para mantener los niveles de glucosa en plasma por debajo de los umbrales de diagnóstico.

La diabetes gestacional se refiere a cualquier grado de intolerancia a la glucosa identificado durante el embarazo.

- 5 La prediabetes incluye una glucosa alterada en ayunas y una tolerancia alterada a la glucosa, y se refiere a los estados que se dan cuando los niveles de glucemia se elevan, pero por debajo de los niveles que se establecen para el diagnóstico clínico de la diabetes.

10 Una gran proporción de personas con diabetes tipo 2 y pre-diabetes tienen un riesgo incrementado de morbilidad y mortalidad debido a la prevalencia elevada de factores de riesgo metabólicos adicionales, que incluyen obesidad abdominal (tejido graso excesivo alrededor de los órganos internos abdominales), dislipidemia aterogénica (trastornos de la grasa sanguínea que incluyen triglicéridos elevados, colesterol HDL bajo y/o colesterol LDL elevado, que promueven la formación de placas en las paredes arteriales), tensión arterial elevada (hipertensión), un estado protrombótico (p.ej. fibrinógeno elevado o inhibidor del activador de plasminógeno 1 en la sangre), y un estado proinflamatorio (p.ej., proteína C reactiva elevada en la sangre).

- 15 A la inversa, la obesidad confiere un riesgo incrementado de desarrollar pre-diabetes, diabetes tipo 2 así como, p.ej., ciertos tipos de cáncer, apnea del sueño obstructiva y enfermedad de la vesícula biliar.

20 La dislipidemia está asociada con un riesgo incrementado de enfermedad cardiovascular. La lipoproteína de alta densidad (HDL) tiene importancia clínica, ya que existe una correlación inversa entre las concentraciones plasmáticas de HDL y el riesgo de enfermedad aterosclerótica. La mayoría del colesterol almacenado en las placas ateroscleróticas se origina de las LDL, y por lo tanto las concentraciones elevadas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) está estrechamente asociada a la aterosclerosis. La proporción HDL/LDL es un indicador de riesgo clínico para la aterosclerosis y la aterosclerosis coronaria en particular.

25 El síndrome metabólico se caracteriza por un grupo de factores de riesgo metabólicos en una persona. Incluyen la obesidad abdominal (tejido graso excesivo alrededor de los órganos internos abdominales), dislipidemia aterogénica (trastornos de la grasa sanguínea que incluyen triglicéridos elevados, colesterol HDL bajo y/o colesterol LDL elevado, que promueven la formación de placas en las paredes arteriales), tensión arterial elevada (hipertensión), resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa, un estado protrombótico (p.ej. fibrinógeno elevado o inhibidor del activador de plasminógeno 1 en la sangre), y un estado proinflamatorio (p.ej., proteína C reactiva elevada en la sangre).

30 Los individuos con el síndrome metabólico tienen un riesgo incrementado de cardiopatía coronaria y otras enfermedades relacionadas con otras manifestaciones de arteriosclerosis (p.ej., ictus y enfermedad vascular periférica). Los factores de riesgo subyacentes dominantes para este síndrome parecen ser la obesidad abdominal.

35 Sin desear limitarse a ninguna teoría particular, se cree que los compuestos de la invención actúan como agonistas dobles tanto en el receptor de glucagón humano como en el receptor de GLP1 humano, abreviados en la presente memoria como agonistas dobles GluGLP-1. El agonista doble puede combinar el efecto del glucagón, p.ej. en el metabolismo de las grasas, con el efecto de GLP-1, p.ej. en los niveles de glucemia y el consumo de alimentos. Por lo tanto, pueden actuar para acelerar la eliminación del tejido adiposo excesivo, inducir una pérdida de peso sostenible, y mejorar el control glucémico. Los agonistas dobles GluGLP-1 también pueden actuar para reducir los factores de riesgo cardiovasculares, tales como el colesterol elevado, el colesterol LDL elevado o las proporciones de colesterol HDL/LDL bajas.

40 Los compuestos de la presente invención se pueden usar, por lo tanto, en un sujeto que lo necesita como agentes farmacéuticos para prevenir el aumento de peso, estimular la pérdida de peso, reducir el exceso de peso corporal o tratar la obesidad (p.ej. mediante el control del apetito, la alimentación, el consumo de alimentos, el consumo de calorías, y/o el gasto de energía), que incluye la obesidad mórbida, así como las enfermedades asociadas y afecciones de salud que incluyen, pero sin limitación, la inflamación asociada a obesidad, la enfermedad de la vesícula biliar asociada a obesidad y la apnea del sueño inducida por obesidad. Los compuestos de la invención también se pueden usar para el tratamiento de afecciones provocadas o asociadas con el control alterado de la glucosa, que incluyen el síndrome metabólico, la resistencia a la insulina, la intolerancia a la glucosa, pre-diabetes, glucosa incrementada en ayunas, diabetes tipo 2, hipertensión, aterosclerosis, arteriosclerosis, cardiopatía coronaria, arteriopatía periférica e ictus, en un sujeto que lo necesita. Algunas de estas afecciones pueden estar asociadas con la obesidad. Sin embargo, los efectos de los compuestos de la invención sobre estas afecciones pueden estar mediados completamente o en parte por medio de un efecto sobre el peso corporal, o pueden ser independientes del mismo.

45 El efecto sinérgico de los agonistas dobles de GluGLP-1 también puede dar como resultado la reducción de factores de riesgo cardiovasculares tales como el colesterol elevado y LDL elevadas, que puede ser completamente independiente de su efecto sobre el peso corporal.

55 La invención también proporciona un compuesto de la invención para el uso en un método de tratamiento médico, especialmente para el uso en un método de tratamiento de una afección como se describió anteriormente.

En un aspecto preferido, los compuestos descritos se pueden usar en el tratamiento de la diabetes, esp. la diabetes tipo 2.

En un aspecto no menos preferido, los compuestos descritos se pueden usar en la prevención del aumento de peso o la estimulación de la pérdida de peso.

- 5 En una realización específica, la presente invención proporciona un compuesto de la invención para el uso en un método de tratamiento de una afección provocada o caracterizada por el exceso de peso corporal, p.ej. el tratamiento y/o la prevención de la obesidad, obesidad mórbida, obesidad mórbida antes de cirugía, inflamación asociada a obesidad, enfermedad de la vesícula biliar asociada a obesidad, apnea del sueño inducida por obesidad, prediabetes, diabetes, esp. diabetes tipo 2, hipertensión, dislipidemia aterogénica, aterosclerosis, arteriosclerosis, cardiopatía coronaria, arteriopatía periférica, ictus o enfermedad microvascular en un individuo que lo necesita.

10 En otro aspecto, los compuestos descritos se pueden usar en un método de reducción de los niveles de LDL circulantes, y/o en el incremento de la proporción HDL/LDL.

En otro aspecto, los compuestos descritos se pueden usar en un método de reducción de los niveles de triglicéridos circulantes.

#### 15 Composiciones farmacéuticas

Los compuestos de la presente invención se pueden formular como composiciones farmacéuticas preparadas para el almacenamiento o la administración. Tal composición comprende en general una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, en la forma adecuada, en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 La cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención dependerá de la vía de administración, el tipo de mamífero a tratar, y las características físicas del mamífero específico considerado. Estos factores y su relación para la determinación de esta cantidad son muy conocidos para los expertos en la técnica médica. Esta cantidad y el método de administración se pueden adaptar para alcanzar una eficacia óptima, y pueden depender de factores tales como el peso, la dieta, la medicación concurrente y otros factores, bien conocidos para los expertos en las técnicas médicas. Los tamaños de las dosis y el régimen de dosificación más adecuado para el uso en humanos

25 pueden estar guiados por los resultados obtenidos mediante la presente invención, y se pueden confirmar en ensayos clínicos diseñados de manera adecuada. Los compuestos de la presente invención pueden ser especialmente útiles para el tratamiento de seres humanos.

30 Se puede determinar una dosis eficaz y un protocolo de tratamiento mediante medios convencionales, partiendo de una dosis baja en animales de laboratorio y después incrementando la dosis mientras se monitorizan los efectos, y también variando sistemáticamente el régimen de dosificación. Un médico puede tener en cuenta numerosos factores al determinar una dosis óptima para un sujeto concreto. El experto conoce tales consideraciones.

35 La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera de los vehículos farmacéuticos habituales. Los vehículos farmacéuticamente aceptables para el uso terapéutico se conocen bien en la técnica farmacéutica, y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). Por ejemplo, se puede usar solución salina estéril y solución salina tamponada con fosfato a un pH ligeramente ácido o fisiológico. Los agentes tamponadores del pH pueden ser fosfato, citrato, acetato, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS), ácido N-Tris(hidroximetil)metil-3-aminopropanosulfónico (TAPS), bicarbonato amónico, dietanolamina, histidina, que es un tampón preferido, arginina, lisina, o acetato, o mezclas de los mismos. La expresión abarca

40 adicionalmente cualquier agente enumerado en la Farmacopea de EE.UU. para el uso en animales, lo que incluye los seres humanos.

45 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal de cualquiera de los compuestos de la invención. Las sales incluyen las sales farmacéuticamente aceptables, tales como las sales de adición de ácido y las sales básicas. Los ejemplos de sales de adición de ácido incluyen las sales de hidrocloreuro, sales de citrato y sales de acetato. Los ejemplos de sales básicas incluyen las sales en las que el catión se selecciona de metales alcalinos, tales como sodio y potasio, metales alcalinotérreos, tales como calcio, e iones amonio  $^+N(R^3)_3(R^4)$ , en los que  $R^3$  y  $R^4$  designan independientemente alquilo  $C_{1-6}$  sustituido opcionalmente, alqueno  $C_{2-6}$  sustituido opcionalmente, arilo sustituido opcionalmente, o heteroarilo sustituido opcionalmente. Otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 17ª edición. Ed. Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, EE.UU., 1985, y ediciones más recientes, y en la Enciclopedia de Tecnología

50 Farmacéutica.

"Tratamiento" es una aproximación para obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. Para los fines de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero sin limitación, el alivio los síntomas, la disminución del grado de la enfermedad, un estado patológico estabilizado (es decir, sin empeoramiento), el retraso o la ralentización de la progresión de la enfermedad, la mejora o el alivio del estado patológico, y la remisión (parcial o total), ya sea detectable o indetectable. El "tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia, en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. El "tratamiento" es una intervención llevada a cabo con la intención de prevenir el desarrollo o alterar la patología de un trastorno. Por lo tanto, el "tratamiento" se

refiere tanto al tratamiento terapéutico como al profiláctico, o medidas preventivas en ciertas realizaciones. Los sujetos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya tienen el trastorno, así como aquellos en los que se va a prevenir el trastorno. Tratamiento significa inhibir o reducir un incremento de la patología o los síntomas (p.ej. el aumento de peso, la hiperglucemia) en comparación con la ausencia de tratamiento, y no significa necesariamente que implique un cese completo de la afección relevante.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en una forma farmacéutica unitaria. En tal forma, la composición se divide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma farmacéutica unitaria puede ser una preparación envasada, y el envase contiene cantidades discretas de las preparaciones, por ejemplo, comprimidos, cápsulas y polvos envasados en viales o ampollas. La forma farmacéutica unitaria también puede ser una cápsula, oblea, o comprimido, o puede ser el número adecuado de cualquiera de estas formas envasadas. Se puede proporcionar en una forma inyectable de dosis simple, por ejemplo en forma de una pluma de inyección. En ciertas realizaciones, las formas envasadas incluyen una etiqueta o prospecto con instrucciones para el uso. Las composiciones se pueden formular para cualquier vía adecuada y medio de administración. Los vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen los usados en formulaciones adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (que incluye bucal y sublingual), vaginal o parenteral (que incluye subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, y transdérmica). Las formulaciones se pueden presentar de manera conveniente en una forma farmacéutica unitaria y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica.

Los modos de administración subcutánea o transdérmica pueden ser especialmente adecuados para los compuestos descritos en la presente memoria.

Las composiciones de la invención se pueden mezclar o asociar adicionalmente, por ejemplo, por medio de interacciones covalentes, hidrófobas y electrostáticas, con un vehículo farmacológico, un sistema de administración de fármacos y un sistema avanzado de administración de fármacos para incrementar adicionalmente la estabilidad del compuesto, incrementar la biodisponibilidad, incrementar la solubilidad, disminuir los efectos adversos, llevar a cabo una cronoterapia muy conocida para los expertos en la técnica, e incrementar el cumplimiento del tratamiento por parte del paciente, o cualquier combinación de los mismos. Los ejemplos de vehículos, sistemas de administración de fármacos y sistemas avanzados de administración de fármacos incluyen, pero sin limitación, los polímeros, por ejemplo celulosa y derivados, polisacáridos, por ejemplo dextrano y derivados, almidón y derivados, poli(alcohol vinílico), polímeros de acrilato y metacrilato, ácido poliláctico y poliglicólico y copolímeros en bloque de los mismos, polietilén glicoles, proteínas portadoras, por ejemplo albúmina, geles, por ejemplo, sistemas termogelificantes, por ejemplo sistemas de copolímeros en bloque muy conocidos para los expertos en la técnica, micelas, liposomas, microesferas, nanopartículas, cristales líquidos y dispersiones de los mismos, fases L2 y dispersiones de las mismas, muy conocidas para los expertos en la técnica del comportamiento de fases en sistemas lípido-agua, micelas poliméricas, emulsiones múltiples, ciclodextrinas auto-emulsificantes, auto-microemulsificantes, y derivados de las mismas, y dendrímeros.

### 35 Terapia de combinación

Se puede administrar un compuesto o una composición de la invención como parte de una terapia de combinación con un agente para el tratamiento de la obesidad, hipertensión, dislipidemia o diabetes.

En tales casos, los dos agentes activos se pueden proporcionar juntos o por separado, y como parte de la misma formulación farmacéutica o como formulaciones diferentes.

Por tanto, un compuesto o composición de la invención se puede usar además en combinación con un agente anti-obesidad, que incluye, pero sin limitación, un agonista de receptor de péptido similar a glucagón 1, péptido YY o análogo del mismo, antagonista de receptor cannabinoide 1, inhibidor de lipasa, agonista de receptor de melanocortina 4, o antagonista de receptor de hormona concentradora de melanina 1.

Un compuesto o composición de la invención se puede usar en combinación con un agente anti-hipertensivo, que incluye, pero sin limitación, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, un bloqueante de receptor de angiotensina II, diuréticos, beta-bloqueante, o bloqueante de canales de calcio.

Un compuesto o composición de la invención se puede usar en combinación con un agente contra la dislipidemia, que incluye, pero sin limitación, una estatina, un fibrato, una niacina y/o un inhibidor de la absorción de colesterol.

Además, un compuesto o composición de la invención se puede usar en combinación con un agente anti-diabético, que incluye, pero sin limitación, una biguanida (p.ej. metformina), una sulfonilurea, una meglitinida o glinida (p.ej. nateglinida), un inhibidor de DPP-IV, una glitazona, un agonista de GLP-1 diferente, una insulina o un análogo de insulina. En una realización preferida, el compuesto o la sal del mismo se usan en combinación con insulina o un análogo de insulina, inhibidor de DPP-IV, sulfonilurea o metformina, especialmente sulfonilurea o metformina, para llevar a cabo un control glucémico adecuado. Los ejemplos de análogos de insulina incluyen, pero sin limitación, Lantus, Novorapid, Humalog, Novomix, y Actraphane HM, Levemir y Apidra.

**Ejemplos**

Ejemplo 1: Síntesis general de los análogos de glucagón

Se llevó a cabo una síntesis de péptidos en fase sólida (SPPS) en un sintetizador asistido por microondas mediante el uso de una estrategia Fmoc estándar en NMP sobre una resina de poliestireno (TentaGel S Ram). Se usó HATU como reactivo de acoplamiento junto con DIPEA como base. Se usó piperidina (20% en NMP) para la desprotección. Pseudoprolinas: Se usaron fmoc-Phe-Thr(ψMe,Mepro)-OH y Fmoc-Asp-Ser(ψMe,Mepro)-OH (adquirida de NovaBiochem) cuando fue aplicable.

Las abreviaturas empleadas son las siguientes:

	Boc:	terc-butiloxicarbonilo
10	ivDde:	1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)3-metil-butilo
	Dde:	1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)-etilo
	DCM:	diclorometano
	DMF:	<i>N,N</i> -dimetilformamida
	DIPEA:	diisopropiletilamina
15	EDT:	1,2-etanoditiol
	EtOH:	etanol
	Et <sub>2</sub> O:	dietil éter
	HATU:	<i>N</i> -óxido de hexafluorofosfato de <i>N</i> -[(dimetilamino)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol[4,5- <i>b</i> ]piridina-1-ilmetil]- <i>N</i> -metilmetanaminio
20	MeCN:	acetonitrilo
	NMP:	<i>N</i> -metilpirrolidona
	TFA:	ácido trifluoroacético
	TIS:	triisopropilsilano

*Escisión:*

25 El péptido bruto se escindió de la resina mediante tratamiento con un 95/2,5/2,5 % (v/v) de TFA/TIS/agua a temperatura ambiente (t.a.) durante 2 horas. Para los péptidos con una metionina en la secuencia, se usó una mezcla de 95/5 (v/v) de TFA/EDT. La mayoría del TFA se eliminó a presión reducida, y el péptido bruto se precipitó y se lavó con dietiléter y se dejó secar hasta un peso constante a temperatura ambiente.

30 Se sintetizaron los siguientes compuestos. El Compuesto 7 es un compuesto de la invención. Los otros compuestos proporcionan un contexto útil.

- H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHDFVEWLLS-OH (Compuesto 1)  
 H-HSQTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA-OH (Compuesto 2)  
 H-HSQTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHDFVEWLLRA-OH (Compuesto 3)  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAKDFIEWLLSA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 4)  
 35 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHDFVEWLESA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 5)  
 H-HSQTFTSDYSRYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAEDFVEWLLRA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 6)  
 H-HSQTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAEDFVEWLLRA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 7)  
 H-HSQTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHDFVEWLLS-NH<sub>2</sub> (Compuesto 8)  
 H-HSQTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHDFVEWLLR-OH (Compuesto 9)  
 40 H-HSQTFTSDYSKYLDE-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHEFVEWLESA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 10)  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(Hexadecanoil-isoGlu)-RAKDFIEWLLS-OH (Compuesto 11)

- H-HSQTFTSDYSRYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 12)  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA-OH (Compuesto 13)  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(Hexadecanoil-isoGlu)-RAKDFIEWLLSA-OH (Compuesto 14)  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 15)  
 5 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAEDFVEWLESA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 16)  
 H-H-Aib-HGTFTSDYSKYLEES-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAEFIEWLESA-OH (Compuesto 17)  
 H-HSHGTFTSDYSKYLEE-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHEFIEWLESA-OH (Compuesto 18)  
 H-H-Aib-HGTFTSDYSKYLEE-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHEFVEWLESA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 19)  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEE-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 20)  
 10 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEES-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAEDFIEWLESA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 21)  
 H-HSQTFTSDYSKYLEE-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 22)  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEES-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAHDFVEWLESA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 23)  
 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEES-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAEDFVEWLESA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 24)  
 H-H-DSer-QGTFTSDYSKYLDE-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH<sub>2</sub> (Compuesto 25)  
 15 Ejemplo 2: Síntesis general de análogos de glucagón acilados

Se sintetizó el esqueleto peptídico como se describió anteriormente para la síntesis general de los análogos de glucagón, con la excepción de que se aciló en la cadena lateral de un residuo de lisina con el péptido todavía unido a la resina y completamente protegido en los grupos de las cadenas laterales, excepto la épsilon-amina de la lisina a acilar. La lisina a acilar se incorporó con el uso de Fmoc-Lys(ivDde)-OH o Fmoc-Lys(Dde)-OH. El extremo N-terminal del péptido se protegió con un grupo Boc mediante el uso de Boc<sub>2</sub>O en NMP. Mientras el péptido todavía estaba unido a la resina, se escindió selectivamente el grupo protector ivDde mediante el uso de un 5 % de hidrato de hidrazina en NMP. La cadena lateral de lisina sin proteger se acopló después primero con un aminoácido espaciador como Fmoc-Glu-OtBu, que se desprotegió posteriormente con piperidina y se aciló con un ácido graso mediante el uso de una metodología de acoplamiento de péptidos estándar como se describió anteriormente. De manera alternativa, la histidina del extremo N-terminal se puede incorporar desde el principio como Boc-His(Boc)-OH. La escisión de la resina y la purificación se llevaron a cabo como se describió anteriormente.

#### Ejemplo 3: Ensayos de eficacia en el receptor de glucagón y el receptor de GLP-1

Se sintetizaron los cADNs que codifican el receptor de glucagón humano (Glucagón-R) (número de acceso principal P47871) o el receptor de péptido similar a glucagón 1 humano (GLP-1R) (número de acceso principal P43220), y se clonaron en un vector de expresión mamífero que contenía un marcador de resistencia a Zeocina.

Los vectores de expresión mamíferos que codificaban el Glucagón-R o el GLP-1-R se transfectaron en células de ovario de hámster chino (CHO) mediante el método Attractene. Se obtuvieron clones que expresaban de manera estable mediante selección con Zeocina (250 µg/mL) tras la dilución limitada de las células resistentes a la presión selectiva. Los clones de células que expresaban glucagón-R y GLP-1-R se recogieron, se propagaron y se ensayaron en los ensayos de eficacia de Glucagón-R y GLP-1-R como se describe más adelante. Se eligió un clon que expresaba glucagón-R y un clon que expresaba GLP-1-R para realizar el perfil de los compuestos.

Las células CHO que expresaban el glucagón humano-R, o GLP-1 humano-R se sembraron 24 horas antes del ensayo a 30.000 células por pocillo en placas de microtitulación de 96 pocillos en un cultivo en 100 µl de medio de cultivo. En el día del análisis, se eliminó el medio de cultivo y las células se lavaron una vez con 200 µl de tampón de ensayo (tampón de Krebs-Ringer - KRBH). El tampón se eliminó y las células se incubaron durante 15 min a temperatura ambiente en 10 µl de KRBH (KRBH + HEPES 10 mM, NaHCO<sub>3</sub> 5 mM, 0,1 % (v/v) de BSA) con IBMX 0,1 mM en agua desionizada que contenía concentraciones crecientes de los péptidos de ensayo. La reacción se detuvo mediante la adición del tampón de lisis (0,1 % p/v de BSA, HEPES 5 mM, 0,3 % v/v de Tween-20). Tras la lisis celular durante 10 min a temperatura ambiente, los lisados se transfirieron a placas de 384 pocillos y se añadieron 10 µl de la mezcla de microesferas aceptoras/donantes contenida en el kit de ensayo funcional de cAMP AlphaScreen™. Después de una hora de incubación a temperatura ambiente en la oscuridad, se determinó el contenido de cAMP aplicando el kit de ensayo funcional de cAMP AlphaScreen™ de Perkin-Elmer según las instrucciones del fabricante. Se calculó la CE<sub>50</sub> y las eficacias relativas en comparación con los compuestos de referencia (glucagón y GLP-1) aplicando el ajuste de curvas asistido por ordenador. La proporción GLP-1/glucagón se calcula como se definió anteriormente. Véanse las Tablas 1A y 1B.

Compuesto	CE50 hGCGR CHO-K1 [nM]	CE50 hGLP-1R CHO-K1 [nM]	Proporción GLP-1/ Glucagón
1	0,90	0,54	0,60
2	0,31	0,77	2,48
3	0,35	0,91	2,60
4	1,56	0,38	0,24
5	0,46	0,16	0,35
6	0,46	0,35	0,76
7	0,45	0,27	0,60
8	0,29	0,41	1,41
9	0,25	0,35	1,40
10	0,23	0,23	1,00
11	0,61	0,64	1,05
12	0,43	0,37	0,86
13	0,98	0,51	0,52
14	0,54	0,53	0,98
15	0,61	0,19	0,31
16	1,58	0,20	0,13

Tabla 1A

Compuesto	CE50 hGCGR CHO-K1 [nM]	CE50 hGLP-1R CHO-K1 [nM]	Proporción GLP-1/ Glucagón
17	0,05 nM	0,23 nM	4,6
18	0,14 nM	0,87 nM	6,2
19	0,08 nM	0,27 nM	3,38
20	0,68 nM	0,23 nM	0,34
21	1,32 nM	0,12 nM	0,09
22	0,10 nM	0,24 nM	2,40
23	0,25 nM	0,13 nM	0,52
24	0,92 nM	0,11 nM	0,12
25	0,16 nM	0,31 nM	1,94

Tabla 1B

5 Los dos grupos de compuestos se ensayaron en experimentos llevados a cabo mediante el uso del mismo protocolo en laboratorios diferentes.

Ejemplo 4: Actividad agonista en el receptor de GLP-1 endógeno

Se determinó la actividad agonista de los compuestos de ensayo en los receptores de GLP-1 endógenos mediante el uso de una línea celular de insulinoma murino. Se usó el cAMP intracelular como indicador de la activación del receptor.

## ES 2 768 601 T3

Las células se cultivaron durante 24 h a una densidad de 10.000 células/pocillo en una placa de 384 pocillos. El medio se eliminó, y se añadieron 10 µL de tampón KRBH (NaCl 130 mM, KCl 3,6 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5 mM, MgSO<sub>4</sub> 0,5 mM, CaCl<sub>2</sub> 1,5 mM) que contenía el compuesto de ensayo o GLP-1 (a concentraciones crecientes de 0,1 µM a 100 nM) o un control con disolvente (0,1% (v/v) de DMSO) a los pocillos durante 15 minutos a una temperatura de 26 °C.

- 5 El contenido de cAMP celular se mide mediante el uso del kit de ensayo funcional de cAMP AlphaScreen (Perkin Elmer). La medida se llevó a cabo mediante el uso del aparato Envision (PerkinElmer) según las recomendaciones del fabricante.

Todas las medidas se llevaron a cabo por cuadruplicado.

- 10 Los resultados se convirtieron en las concentraciones de cAMP mediante el uso de una curva patrón de cAMP preparada en tampón KRBH que contenía un 0,1% (v/v) de DMSO. Las curvas de cAMP resultantes se representaron como las concentraciones absolutas de cAMP (nM) respecto de log (concentración del compuesto de ensayo), y se analizaron mediante el uso del programa de ajuste de curvas XLfit.

Los parámetros calculados para describir tanto la potencia como la actividad agonista de cada compuesto de ensayo en los receptores de GLP-1 endógenos fueron:

- 15 pCE50 (valor logarítmico negativo de CE50, una concentración que da como resultado una elevación semimáxima de los niveles de cAMP, que refleja la potencia del compuesto de ensayo);

Porcentaje de control (%CTL) (% de elevación de cAMP para cada concentración de compuesto de ensayo normalizada basándose en la respuesta de cAMP máxima inducida por GLP-1 (100 %CTL)). Véase la Tabla 2.

Compuesto	CE50 GLP-1R (células de insulinoma murino) [nM]
1	1,47
2	1,41
3	1,06
4	0,95
5	0,54
6	1,14
7	0,84
8	0,95
9	1,02
10	0,33
11	1,01
12	1,62
13	1,06
14	0,72
15	0,30
16	0,33
17	0,89
18	0,99
19	0,33
20	0,27

21	0,30
22	0,35
23	0,31
24	0,33
25	0,41

Tabla 2.

Ejemplo 5: Actividad agonista en el receptor de glucagón endógeno

5 La actividad agonista de los compuestos de ensayo sobre el receptor de glucagón endógeno se determinó midiendo su efecto sobre la tasa de síntesis de glucógeno en hepatocitos de rata primarios. Tras la activación del receptor de glucagón, se espera una inhibición de la tasa de síntesis de glucógeno. La tasa de síntesis de glucógeno se determinó contando la cantidad de glucosa marcada radiactivamente incorporada en los almacenes celulares de glucógeno en un periodo de tiempo definido.

Se cultivaron hepatocitos de rata primarios a una densidad de 40.000 células/pocillo en una placa de 24 pocillos durante 24 horas a 37 °C y un 5% de CO<sub>2</sub>.

10 El medio se descartó y las células se lavaron con PBS. Después se añadieron 180 µL de tampón basado en KRBH que contenía un 0,1% de BSA y glucosa a una concentración de 22,5 mM a los pocillos, seguido del compuesto de ensayo y 40 µCi/ml de D-[U<sup>14</sup>C] glucosa (20 µL cada uno). La incubación continuó durante 3 horas.

Al final del periodo de incubación, se aspiró el tampón de incubación y las células se lavaron una vez con PBS helado antes de la lisis mediante incubación durante 30 min a temperatura ambiente con 100 µL de NaOH 1 mol/l.

15 Los lisados celulares se transfirieron a placas con filtro de 96 pocillos y el glucógeno se precipitó incubando las placas con filtro durante 120 min a 4 °C, seguido de lavado de las placas con filtro 4 veces con etanol helado (70%). Los precipitados resultantes se filtraron hasta sequedad, y se determinó la cantidad de <sup>14</sup>C-glucosa incorporada usando un contador de centelleo Topcount según las recomendaciones del fabricante.

20 Se incluyeron pocillos con controles de vehículo (0,1% (v/v) de DMSO en tampón KRBH) como referencia para la síntesis de glucógeno sin inhibir (100 %CTL). Los pocillos sin D-[U<sup>14</sup>C] glucosa añadida se incluyeron como controles para la señal de fondo inespecífica (restada de todos los valores). Se usó un péptido de glucagón endógeno como control positivo.

Todos los tratamientos se llevaron a cabo al menos por triplicado.

25 Los parámetros calculados para describir tanto la potencia como la actividad agonista de cada compuesto de ensayo sobre el receptor de glucagón endógeno son pCE50 y %CTL.

%CTL se determina calculando el porcentaje de CPM/pocillo en presencia del compuesto de ensayo en comparación con las CPM/pocillo del control de vehículo después de restar las CPM de fondo/pocillo:

$$[\text{CPM/pocillo}(\text{basal}) - \text{CPM/pocillo}(\text{muestra})] * 100 / [\text{CPM/pocillo}(\text{basal}) - \text{CPM/pocillo}(\text{control})]$$

30 Un activador del receptor de glucagón dará como resultado una inhibición de la tasa de síntesis de glucógeno, y proporcionará valores de %CTL entre 0%CTL (inhibición completa) y 100%CTL (sin inhibición observable).

Las curvas de actividad resultantes se representaron en forma de cuentas absolutas (unidad: cpm/muestra) respecto del log (concentración del compuesto de ensayo) y se analizaron mediante el uso del programa de ajuste de curvas XLfit.

pCE50 (valor logarítmico negativo de CE50) refleja la potencia del compuesto de ensayo.

Compuesto	CE50 GLP-1R hepat. de rata [nM]
1	0,13
1	0,02
2	0,43
3	0,16

4	0,35
5	0,03
6	2,87
7	1,92
8	1,10
9	0,37
10	0,04
12	0,24
13	0,67
14	0,10
15	0,17
16	1,85
17	0,18
18	0,18
19	0,06
20	0,39
21	3,40
22	0,28
23	1,32
24	6,15
25	0,15

Tabla 3.

Los términos  $CE_{50}$  y  $pCE_{50}$  citados con respecto a la activación de GLP-1R se podrían considerar igualmente como  $Cl_{50}$  y  $pCl_{50}$  con respecto a la síntesis de glucógeno.

Ejemplo 6: Estimación de los parámetros farmacocinéticos

- 5 Los parámetros farmacocinéticos de los compuestos de ensayo se determinaron tras la administración subcutánea e intravenosa a ratones C57Bl/6J.

10 Se obtuvieron ratones C57Bl/6J macho de 8 semanas de edad de Taconic (Dinamarca), que pesaron aproximadamente 20-25 g al llegar a la instalación de ensayo. Los ratones se enjaularon en jaulas estándar Europeas de tipo III con un ciclo de 12 horas de oscuridad y 12 horas de luz (luces encendidas a las 06:00). Se administró la dieta, Altromin 1324 (Altromin, Alemania), y agua a voluntad durante todo el periodo experimental. Los animales de 8-11 semanas se llevaron al laboratorio al menos 7 días antes del inicio del procedimiento experimental para asegurar una aclimatación adecuada. Después de tomar las muestras, los ratones se sacrificaron mediante dislocación cervical.

15 Los compuestos se disolvieron primero en un 0,096% de amoníaco acuoso a una concentración nominal de 2 mg/ml, y después se diluyeron hasta la concentración de dosificación deseada (4  $\mu$ M) en PBS estéril que contenía un tampón fosfato 25 mM, pH 7,4. Se proporcionaron inyecciones subcutáneas e intravenosas que correspondieron a 20 nmol/kg. Se administraron los agonistas dobles de GLP-1-glucagón en la región del cuello para la dosificación subcutánea, y por medio de una vena lateral de la cola para la dosificación intravenosa.

20 Se recogieron muestras de sangre (250  $\mu$ l) del plexo periorbital en los puntos temporales de 0,5, 2, 4, 6, 12, 16, 20, 24 h para la administración subcutánea, y 10, 30 min, 3, 6, 12, 18, 24 h para la administración intravenosa en tubos de  $K_3$ EDTA helados, y se centrifugaron durante 5 minutos a 4 °C en los 20 minutos desde la toma de las muestras. El plasma (>100  $\mu$ l) se separó en tubos Micronic helados, se congeló inmediatamente, y se mantuvo a -70 °C hasta que se analizó la concentración plasmática del compuesto de GLP-1-glucagón respectivo mediante el uso de LC-MS/MS.

Los perfiles de concentración plasmática individual-tiempo se analizaron mediante una aproximación no compartimental en WinNonLin v6.3 (Pharsight Inc, Mountain View, Calif., EE.UU.), y se determinaron los parámetros farmacocinéticos resultantes. Véase la Tabla 4.

Compuesto	SC				IV	
	Tiempo de residencia medio (h)	Biodisponibilidad (%)	Tmax (h)	Semivida terminal (h)	Aclaramiento (L/h/kg)	Semivida terminal (h)
1	12,6	52	4	6,2	0,0102	5,2
2	11,2	59	4	5,1	0,0111	5,0
3	9,8	52	6	3,9	0,0115	4,1
4	12,5	53	4	6,4	0,0111	7,4
5	7,6	81	4	3,8	0,0111	4,0
6	10,6	47	4	4,3	0,0094	3,7
7	12,8	75	4	8,6	0,0132	5,5
8	8,1	42	4	4,1	0,0077	3,9
9	4,7	34	2	2,9	0,0383	0,9
10	6,5	80	2	3,7	0,0213	3,0
11	12,5	64	4	5,0	0,0094	3,9
12	8,3	43	6	4,3	0,0135	4,1
13	14,7	76	4	8,6	0,0089	6,3
14	12,2	64	4	6,1	0,0135	6,2
15	17,4	97	6	10,5	0,0077	6,0
16	7,5	80	2	5,0	0,0187	4,8

Tabla 4.

5 Ejemplo 7: Ensayo de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) en ratones C57BL/6J

Se sometió a ayuno a ratones C57BL/6J macho durante 10 h antes de recibir una inyección rápida de glucosa oral de 2 g/kg de peso corporal. Los péptidos se disolvieron en solución salina tamponada con fosfato 25 mM, y se administraron a una dosis de 10 nmol/kg de peso corporal mediante inyección subcutánea 4 h antes de la inyección rápida de glucosa. Los animales de control recibieron una inyección de vehículo solamente. El tamaño de los grupos fue de 7 animales por grupo. Se obtuvo una muestra de sangre pre-dosis y otra pre-glucosa (0 min) mediante extracción de sangre en la cola, y se midió la glucosa sanguínea con un glucómetro. Se obtuvieron muestras adicionales de sangre de la cola para medir la glucosa sanguínea 15 min, 30 min, 60 min, 90 min y 120 min tras la exposición a glucosa. La fluctuación de glucosa se cuantificó calculando el área total bajo la curva (ABC) de glucosa en sangre-tiempo entre 0 min y 120 min. El cálculo del ABC se realizó mediante la regla trapezoidal sin corrección del valor inicial. Los datos se presentan como la media  $\pm$  E.E.M. Se llevaron a cabo comparaciones estadísticas mediante ANOVA unidireccional seguido de la prueba post hoc de Tukey. Se usó vehículo solo como control. Véase la Tabla 5.

Compuesto	ABC (% Ctrl)
1	66
2	66
3	70
4	65
5	46

6	50
7	57
8	50
9	57
10	46
11	61
12	56
13	55
14	59
15	42
16	44

Tabla 5.

Ejemplo 8: Efectos sub-crónicos de los agonistas de acción doble en los receptores de Glucagón-GLP-1 sobre la obesidad en ratones C57BL/6J obesos inducidos por la dieta

5 Se mantuvieron ratones C57BL/6J macho (Taconic A/S, Dinamarca) de una edad de 5 semanas en un ciclo luz-  
 oscuridad de 12:12 horas con una dieta elevada en grasas (60% de la energía total de la grasa, D12492, Research  
 Diet Inc.) durante 20 semanas. Todos los ratones (2 por jaula) se trataron después simuladamente durante una semana  
 para aclimatar a los animales a la manipulación y las inyecciones. Posteriormente, los ratones se estratificaron según  
 10 la masa de grasa corporal (medida mediante la técnica de resonancia magnética) y el peso corporal en 9 grupos (n=9-  
 12). Los animales se trataron después dos veces al día con inyecciones subcutáneas (5 ml/kg) de vehículo (tampón  
 fosfato 25 mM, pH 7,4) o las sustancias de ensayo (5 nmol/kg por administración, en una cantidad equivalente de  
 vehículo) durante un total de 31 días. Las inyecciones diarias se proporcionaron al inicio y al final de la fase de luz. El  
 peso corporal, el consumo de alimentos y de agua se determinaron diariamente a lo largo del estudio. Los datos se  
 15 presentan en la Tabla 6 en forma del cambio de peso corporal medio ± E.E.M. El E.E.M. se define como el error  
 estándar de la media, y se calculó mediante el uso de la fórmula: E.E.M. = DE / raíz cuadrada (n), donde DE es la  
 desviación estándar y n el número de observaciones (en este caso animales/grupo).

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el uso del programa Graph Pad Prism versión 5. Los parámetros  
 medidos se compararon mediante el uso de ANOVA unidireccional, seguido de la prueba de comparación múltiple de  
 Dunnett. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a  $p < 0,05$ .

Grupo de Tratamiento	Cambio del peso corporal medio (%)	EEM	Significación de la diferencia frente al grupo de vehículo
Vehículo	4,8	1,3	
Liraglutida	-2,3	1,5	**
Compuesto 2	-5,1	1,9	***
Compuesto 7	-8,7	1,5	***
Compuesto 14	-9,5	1,1	***
Compuesto 15	-10,9	1,6	***
Compuesto 16	-12,2	1,1	***

\*\* -  $p < 0.01$ , \*\*\* -  $p < 0.001$  frente al vehículo

20 Tabla 6.

LISTA DE SECUENCIAS

- <110> Zealand Pharma A/S Boehringer Ingelheim International GmbH
- <120> Análogos de glucagón
- 5 <130> GRF/FP6921837
- <150> EP 12184744.6  
<151> 17-09-2012
- 10 <150> US 61/701,952  
<151> 17-09-2012
- <150> US 61/784,294  
<151> 14-03-2013
- 15 <160> 46
- <170> PatentIn versión 3.3
- 20 <210> 1  
<211> 28  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial
- 25 <220>  
<223> Constructo sintético: Péptido X de la reivindicación 1
- <220>
- 30 <221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Aib
- <220>
- 35 <221> SITIO  
<222> (16)..(16)  
<223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)
- <220>
- 40 <221> SITIO  
<222> (16)..(16)  
<223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en Reivindicación 14
- <400> 1  
His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
1 5 10 15
- Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser  
20 25
- 45 <210> 2  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial
- 50 <220>  
<223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1
- <220>
- 55 <221> SITIO  
<222> (16)..(16)  
<223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)
- 60 <220>

<221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

5 <400> 2  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala  
 20 25

<210> 3  
 <211> 29  
 10 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 2

15

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

20

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

25

<400> 3  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Ala  
 20 25

<210> 4  
 30 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 40 <223> Aib

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

45

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

50

<400> 4

ES 2 768 601 T3

His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Leu Ser Ala  
 20 25

5 <210> 5  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

20 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

25 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en Reivindicación 14

<400> 5  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

30 <210> 6  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

40 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

45 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

<400> 6  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Ala  
 20 25

50 <210> 7  
 <211> 29  
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

5

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

10

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en Reivindicación 14

15

<400> 7  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Ala  
 20 25

<210> 8  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

30

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en Reivindicación 14

35

<400> 8  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser  
 20 25

<210> 9  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

50

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

55

ES 2 768 601 T3

<400> 9  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg  
 20 25

5 <210> 10  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 15 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 20 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

<400> 10  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Glu Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

25 <210> 11  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 35 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> SITIO  
 40 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

<220>  
 <221> SITIO  
 45 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

<400> 11  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Leu Ser  
 20 25

50 <210> 12  
 <211> 29

<212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 10 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 15 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

<400> 12  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Ser  
 1                    5                    10                    15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala  
                   20                    25

20 <210> 13  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 2

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 30 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> SITIO  
 35 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

<220>  
 <221> SITIO  
 40 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

<400> 13  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1                    5                    10                    15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala  
                   20                    25

45 <210> 14  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 2

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 55 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 5 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 10 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

<400> 14  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Leu Ser Ala  
 15 20 25

<210> 15  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 20 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 3

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

30 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

35 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

40 <400> 15  
 His Ala Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

<210> 16  
 <211> 29  
 45 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 6

50 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

55 <220>  
 <221> SITIO

<222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

5 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

<400> 16  
 10 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

15 <210> 17  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 25 <223> Aib

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 30 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

<220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 35 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

<400> 17  
 His Ala His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Ser  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala Glu Glu Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

40 <210> 18  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

<220>  
 <221> SITIO  
 50 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

<220>  
 <221> SITIO  
 55 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

<400> 18  
 His Ser His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Glu Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

5 <210> 19  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 1

15 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

20 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

25 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en Reivindicación 14

<400> 19  
 His Ala His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Glu Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

30 <210> 20  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 8

40 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

45 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

50 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

<400> 20  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25

<210> 21  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 8  
 <220>  
 10 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib  
 <220>  
 15 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)  
 <220>  
 20 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14  
 <400> 21  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Ser  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala Glu Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 25 20 25  
 <210> 22  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 30 <213> Secuencia Artificial  
 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 8  
 35 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)  
 40 <220>  
 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14  
 45 <400> 22  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 20 25  
 50 <210> 23  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 55 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido C en la reivindicación 8  
 <220>  
 <221> MOD\_RES

- <222> (2)..(2)  
<223> Aib
- <220>  
5 <221> SITIO  
<222> (16)..(16)  
<223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)
- <220>  
10 <221> SITIO  
<222> (16)..(16)  
<223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14
- <400> 23  
His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Ser  
1 5 10 15
- Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
15 20 25
- <210> 24  
<211> 29  
<212> PRT  
20 <213> Secuencia Artificial
- <220>  
<223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 8
- 25 <220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Aib
- 30 <220>  
<221> SITIO  
<222> (16)..(16)  
<223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)
- 35 <220>  
<221> SITIO  
<222> (16)..(16)  
<223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14
- 40 <400> 24  
His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Ser  
1 5 10 15
- Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
20 25
- <210> 25  
<211> 29  
45 <212> PRT  
<213> Secuencia Artificial
- <220>  
<223> Constructo sintético: Péptido C de la reivindicación 8
- 50 <220>  
<221> SITIO  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa is D-Ser
- 55 <220>  
<221> SITIO

<222> (16)..(16)  
 <223> Posición de un sustituyente lipófilo o polimérico (reivindicación 12)

<220>  
 5 <221> SITIO  
 <222> (16)..(16)  
 <223> Lys(Hexadecanoil-isoGlu) en la reivindicación 14

<400> 25  
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala  
 10 20 25

<210> 26  
 <211> 29  
 <212> PRT  
 15 <213> Homo sapiens

<400> 26  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr  
 20 25

20 <210> 27  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

25 <400> 27  
 Lys Arg Asn Arg Asn Asn Ile Ala  
 1 5

<210> 28  
 <211> 37  
 30 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 28  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn  
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala  
 35

35 <210> 29  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1

<220>  
 45 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

ES 2 768 601 T3

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (29).. (48)  
 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr y Orn  
 5

<400> 29  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
  
 Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Xaa Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30  
  
 Xaa  
 35 40 45  
 10

<210> 30  
 <211> 49  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 15

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1  
  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (30)..(49)  
 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn  
 20

<400> 30  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
  
 Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30  
  
 Xaa  
 35 40 45  
 25

Xaa  
  
 <210> 31  
 <211> 49  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 30

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1  
 35

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib  
 40

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (30)..(49)  
 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn  
 45

ES 2 768 601 T3

<400> 31  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Leu Ser Ala Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30

Xaa  
 35 40 45

Xaa

5

<210> 32  
 <211> 49  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1

15

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

20

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (30)..(49)  
 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn

25

<400> 32  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30

Xaa  
 35 40 45

Xaa

30

<210> 33  
 <211> 49  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

35

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1

40

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (30)..(49)  
 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn

ES 2 768 601 T3

<400> 33  
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Ser

1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Ala Xaa Xaa Xaa  
20 25 30

Xaa  
35 40 45

Xaa

5

<210> 34  
<211> 49  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

10

<220>  
<223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1

15

<220>  
<221> VARIANTE  
<222> (30)..(49)  
<223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn

20

<400> 34  
His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
1 5 10 15

Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Ala Xaa Xaa Xaa  
20 25 30

Xaa  
35 40 45

Xaa

25

<210> 35  
<211> 48  
<212> PRT  
<213> Secuencia Artificial

30

<220>  
<223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1

35

<220>  
<221> VARIANTE  
<222> (29).. (48)  
<223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn

<400> 35

ES 2 768 601 T3

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Xaa Xaa Xaa Xaa  
20 25 30

Xaa  
35 40 45

<210> 36

<211> 48

5 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

10 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1

<220>

<221> VARIANTE

<222> (29).. (48)

15 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn

<400> 36

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Arg Xaa Xaa Xaa Xaa  
20 25 30

Xaa  
35 40 45

20 <210> 37

<211> 49

<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1

<220>

30 <221> VARIANTE

<222> (30)..(49)

<223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn

35 <400> 37

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
1 5 10 15

Lys Ala Ala His Glu Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa  
20 25 30

Xaa  
35 40 45

Xaa

<210> 38  
 <211> 48  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 5  
 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1  
 <220>  
 10 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib  
 <220>  
 15 <221> VARIANTE  
 <222> (29).. (48)  
 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn  
 20 <400> 38  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Lys Arg Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Leu Ser Xaa Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30  
 Xaa  
 35 40 45  
 25 <210> 39  
 <211> 49  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial  
 <220>  
 30 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (30)..(49)  
 35 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn  
 <400> 39  
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala His Asp Phe Val Glu Trp Leu Leu Ser Ala Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30  
 Xaa  
 35 40 45  
 40 Xaa  
 <210> 40  
 <211> 49  
 <212> PRT  
 45 <213> Secuencia Artificial  
 <220>

<223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 5 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

<220>  
 <221> VARIANTE  
 10 <222> (30)..(49)  
 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn

15 <400> 40  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala Lys Asp Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30  
 Xaa  
 35 40 45  
 Xaa

<210> 41  
 <211> 49  
 20 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 6

25 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

30 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (30)..(49)  
 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn

35 <400> 41  
 His Ala Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala Glu Asp Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30  
 Xaa  
 35 40 45  
 Xaa

40 <210> 42  
 <211> 49  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1

5 <220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib

10 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (30)..(49)  
 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn

15 <400> 42  
 His Ala His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Ser  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala Glu Glu Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30  
 Xaa  
 35 40 45

20 Xaa

<210> 43  
 <211> 49  
 <212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1

30 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (30)..(49)  
 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and Orn

35 <400> 43  
 His Ser His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala His Glu Phe Ile Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30  
 Xaa  
 35 40 45

Xaa

40 <210> 44  
 <211> 49  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>  
 <223> Constructo sintético: Péptido X-Z de la reivindicación 1

ES 2 768 601 T3

<220>  
 <221> MOD\_RES  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Aib  
 5  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (30)..(49)  
 <223> Puede estar presente o ausente. Si está presente, representa una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos  
 10 seleccionadas independientemente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr and  
 Orn  
 <400> 44  
 His Ala His Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Glu Glu  
 1 5 10 15  
 Lys Ala Ala His Glu Phe Val Glu Trp Leu Glu Ser Ala Xaa Xaa Xaa  
 20 25 30  
 Xaa  
 35 40 45  
 Xaa  
 15  
 <210> 45  
 <211> 477  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 20  
 <400> 45  
 Met Pro Pro Cys Gln Pro Gln Arg Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Leu Ala Cys Gln Pro Gln Val Pro Ser Ala Gln Val Met Asp Phe Leu  
 20 25 30  
 Phe Glu Lys Trp Lys Leu Tyr Gly Asp Gln Cys His His Asn Leu Ser  
 35 40 45  
 Leu Leu Pro Pro Pro Thr Glu Leu Val Cys Asn Arg Thr Phe Asp Lys  
 50 55 60  
 Tyr Ser Cys Trp Pro Asp Thr Pro Ala Asn Thr Thr Ala Asn Ile Ser  
 65 70 75 80  
 Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp His His Lys Val Gln His Arg Phe Val  
 85 90 95  
 Phe Lys Arg Cys Gly Pro Asp Gly Gln Trp Val Arg Gly Pro Arg Gly  
 100 105 110  
 Gln Pro Trp Arg Asp Ala Ser Gln Cys Gln Met Asp Gly Glu Glu Ile  
 115 120 125

ES 2 768 601 T3

Glu Val Gln Lys Glu Val Ala Lys Met Tyr Ser Ser Phe Gln Val Met  
 130 135 140

Tyr Thr Val Gly Tyr Ser Leu Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu  
 145 150 155 160

Ala Ile Leu Gly Gly Leu Ser Lys Leu His Cys Thr Arg Asn Ala Ile  
 165 170 175

His Ala Asn Leu Phe Ala Ser Phe Val Leu Lys Ala Ser Ser Val Leu  
 180 185 190

Val Ile Asp Gly Leu Leu Arg Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Ile Gly Asp  
 195 200 205

Asp Leu Ser Val Ser Thr Trp Leu Ser Asp Gly Ala Val Ala Gly Cys  
 210 215 220

Arg Val Ala Ala Val Phe Met Gln Tyr Gly Ile Val Ala Asn Tyr Cys  
 225 230 235 240

Trp Leu Leu Val Glu Gly Leu Tyr Leu His Asn Leu Leu Gly Leu Ala  
 245 250 255

Thr Leu Pro Glu Arg Ser Phe Phe Ser Leu Tyr Leu Gly Ile Gly Trp  
 260 265 270

Gly Ala Pro Met Leu Phe Val Val Pro Trp Ala Val Val Lys Cys Leu  
 275 280 285

Phe Glu Asn Val Gln Cys Trp Thr Ser Asn Asp Asn Met Gly Phe Trp  
 290 295 300

Trp Ile Leu Arg Phe Pro Val Phe Leu Ala Ile Leu Ile Asn Phe Phe  
 305 310 315 320

Ile Phe Val Arg Ile Val Gln Leu Leu Val Ala Lys Leu Arg Ala Arg  
 325 330 335

Gln Met His His Thr Asp Tyr Lys Phe Arg Leu Ala Lys Ser Thr Leu  
 340 345 350

Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Val His Glu Val Val Phe Ala Phe Val  
 355 360 365

Thr Asp Glu His Ala Gln Gly Thr Leu Arg Ser Ala Lys Leu Phe Phe  
 370 375 380

ES 2 768 601 T3

Asp Leu Phe Leu Ser Ser Phe Gln Gly Leu Leu Val Ala Val Leu Tyr  
385 390 395 400

Cys Phe Leu Asn Lys Glu Val Gln Ser Glu Leu Arg Arg Arg Trp His  
405 410 415

Arg Trp Arg Leu Gly Lys Val Leu Trp Glu Glu Arg Asn Thr Ser Asn  
420 425 430

His Arg Ala Ser Ser Ser Pro Gly His Gly Pro Pro Ser Lys Glu Leu  
435 440 445

Gln Phe Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gln Asp Ser Ser Ala Glu Thr Pro  
450 455 460

Leu Ala Gly Gly Leu Pro Arg Leu Ala Glu Ser Pro Phe  
465 470 475

<210> 46

<211> 463

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

Met Ala Gly Ala Pro Gly Pro Leu Arg Leu Ala Leu Leu Leu Leu Gly  
1 5 10 15

Met Val Gly Arg Ala Gly Pro Arg Pro Gln Gly Ala Thr Val Ser Leu  
20 25 30

Trp Glu Thr Val Gln Lys Trp Arg Glu Tyr Arg Arg Gln Cys Gln Arg  
35 40 45

Ser Leu Thr Glu Asp Pro Pro Pro Ala Thr Asp Leu Phe Cys Asn Arg  
50 55 60

Thr Phe Asp Glu Tyr Ala Cys Trp Pro Asp Gly Glu Pro Gly Ser Phe  
65 70 75 80

Val Asn Val Ser Cys Pro Trp Tyr Leu Pro Trp Ala Ser Ser Val Pro  
85 90 95

Gln Gly His Val Tyr Arg Phe Cys Thr Ala Glu Gly Leu Trp Leu Gln  
100 105 110

Lys Asp Asn Ser Ser Leu Pro Trp Arg Asp Leu Ser Glu Cys Glu Glu  
115 120 125

10

ES 2 768 601 T3

Ser Lys Arg Gly Glu Arg Ser Ser Pro Glu Glu Gln Leu Leu Phe Leu  
 130 135 140

Tyr Ile Ile Tyr Thr Val Gly Tyr Ala Leu Ser Phe Ser Ala Leu Val  
 145 150 155 160

Ile Ala Ser Ala Ile Leu Leu Gly Phe Arg His Leu His Cys Thr Arg  
 165 170 175

Asn Tyr Ile His Leu Asn Leu Phe Ala Ser Phe Ile Leu Arg Ala Leu  
 180 185 190

Ser Val Phe Ile Lys Asp Ala Ala Leu Lys Trp Met Tyr Ser Thr Ala  
 195 200 205

Ala Gln Gln His Gln Trp Asp Gly Leu Leu Ser Tyr Gln Asp Ser Leu  
 210 215 220

Ser Cys Arg Leu Val Phe Leu Leu Met Gln Tyr Cys Val Ala Ala Asn  
 225 230 235 240

Tyr Tyr Trp Leu Leu Val Glu Gly Val Tyr Leu Tyr Thr Leu Leu Ala  
 245 250 255

Phe Ser Val Leu Ser Glu Gln Trp Ile Phe Arg Leu Tyr Val Ser Ile  
 260 265 270

Gly Trp Gly Val Pro Leu Leu Phe Val Val Pro Trp Gly Ile Val Lys  
 275 280 285

Tyr Leu Tyr Glu Asp Glu Gly Cys Trp Thr Arg Asn Ser Asn Met Asn  
 290 295 300

Tyr Trp Leu Ile Ile Arg Leu Pro Ile Leu Phe Ala Ile Gly Val Asn  
 305 310 315 320

Phe Leu Ile Phe Val Arg Val Ile Cys Ile Val Val Ser Lys Leu Lys  
 325 330 335

Ala Asn Leu Met Cys Lys Thr Asp Ile Lys Cys Arg Leu Ala Lys Ser  
 340 345 350

Thr Leu Thr Leu Ile Pro Leu Leu Gly Thr His Glu Val Ile Phe Ala  
 355 360 365

Phe Val Met Asp Glu His Ala Arg Gly Thr Leu Arg Phe Ile Lys Leu  
 370 375 380

ES 2 768 601 T3

Phe Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ser Phe Gln Gly Leu Met Val Ala Ile  
385 390 395 400

Leu Tyr Cys Phe Val Asn Asn Glu Val Gln Leu Glu Phe Arg Lys Ser  
405 410 415

Trp Glu Arg Trp Arg Leu Glu His Leu His Ile Gln Arg Asp Ser Ser  
420 425 430

Met Lys Pro Leu Lys Cys Pro Thr Ser Ser Leu Ser Ser Gly Ala Thr  
435 440 445

Ala Gly Ser Ser Met Tyr Thr Ala Thr Cys Gln Ala Ser Cys Ser  
450 455 460

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:  
 $R^1-X-Z-R^2$   
 En la que
- 5  $R^1$  es H, alquilo  $C_{1-4}$ , acetilo, formilo, benzoilo o trifluoroacetilo;  
 $R^2$  es OH o  $NH_2$ ;  
 X es un péptido que consiste en la secuencia:  
 HSQGTFTSDYSKYLDSKAAEDFVEWLLRA (SEQ ID N°: 7)
- 10 Z no está presente o es una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos independientemente seleccionados del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr y Orn;  
 y en la que una o más de las cadenas laterales de aminoácidos del péptido X o Z están conjugadas opcionalmente a un sustituyente lipófilo;  
 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. Un compuesto según la reivindicación 1 que tiene la fórmula:
- 15  $H-HSQGTFTSDYSKYLDSKAAEDFVEWLLRA-NH_2$   
 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.
3. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo según la reivindicación 1, en el que el péptido X tiene la fórmula:  
 $HSQGTFTSDYSKYLDSK^*AAEDFVEWLLRA$
- 20 en la que "\*" indica la posición de un sustituyente lipófilo.
4. Un compuesto según la reivindicación 3 que tiene la fórmula:  
 $H-HSQGTFTSDYSKYLDSK^*AAEDFVEWLLRA-NH_2$   
 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo,  
 en la que "\*" indica la posición de un sustituyente lipófilo.
- 25 5. Un compuesto según la reivindicación 3 en el que el péptido X tiene la fórmula:  
 $HSQGTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAEDFVEWLLRA$ .
6. Un compuesto según la reivindicación 5 que tiene la fórmula:  
 $H-HSQGTFTSDYSKYLDS-K(Hexadecanoil-isoGlu)-AAEDFVEWLLRA-NH_2$  (Compuesto 7) o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 30 7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 mezclado con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
8. Un compuesto o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para el uso en un método de tratamiento médico.
- 35 9. Un compuesto o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para el uso en un método para prevenir el aumento de peso o para estimular la pérdida de peso.
10. Un compuesto o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para el uso en un método para reducir los niveles de LDL circulantes, y/o para incrementar la proporción HDL/LDL.
- 40 11. Un compuesto o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para el uso en un método de tratamiento de una afección provocada o caracterizada por el exceso de peso corporal.

- 5 12. Un compuesto o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para el uso en un método de prevención o tratamiento de la obesidad, obesidad mórbida, obesidad mórbida antes de cirugía, inflamación asociada a obesidad, enfermedad de la vesícula biliar asociada a obesidad, apnea del sueño inducida por obesidad, diabetes, síndrome metabólico, hipertensión, dislipidemia aterogénica, aterosclerosis, arteriosclerosis, cardiopatía coronaria, arteriopatía periférica, ictus o enfermedad microvascular.
13. Un compuesto o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en el que el compuesto se administra como parte de una terapia de combinación junto con un agente para el tratamiento de la diabetes, obesidad, dislipidemia o hipertensión.
- 10 14. Un compuesto o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso según la reivindicación 13 en el que
- (a) el agente para el tratamiento de la diabetes es una biguanida (p.ej. metformina), una sulfonilurea, una meglitinida o glinida (p.ej. nateglinida), un inhibidor de DPP-IV, una glitazona, un agonista de GLP-1 diferente, una insulina o un análogo de insulina;
- 15 (b) el agente para el tratamiento de la obesidad es un agonista de receptor de péptido similar a glucagón 1, agonista de receptor de péptido YY o análogo del mismo, antagonista de receptor cannabinoide 1, inhibidor de lipasa, agonista de receptor de melanocortina 4, o antagonista de receptor de hormona concentradora de melanina 1;
- (c) el agente para el tratamiento de la hipertensión es un inhibidor de la enzima convertora de angiotensina, bloqueante de receptor de angiotensina II, diurético, beta-bloqueante, o bloqueante de canales de calcio; o
- 20 (d) el agente para el tratamiento de la dislipidemia es una estatina, un fibrato, una niacina y/o un inhibidor de la absorción de colesterol.