

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 897 480**

(51) Int. Cl.:

C07K 14/47	(2006.01)	A61P 3/10	(2006.01)
A61K 38/04	(2006.01)	C07K 14/575	(2006.01)
A61K 38/17	(2006.01)	C07K 16/24	(2006.01)
A61K 38/22	(2006.01)		
A61K 45/06	(2006.01)		
A61K 47/68	(2007.01)		
A61P 3/00	(2006.01)		
A61P 3/04	(2006.01)		
A61P 3/06	(2006.01)		
A61P 3/08	(2006.01)		

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.10.2017 PCT/US2017/058455**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **03.05.2018 WO18081370**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.10.2017 E 17864112 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.09.2021 EP 3532486**

(54) Título: **Compuestos de péptido tirosina tirosina cílicos acoplados a anticuerpos como moduladores de receptores de neuropéptidos**

(30) Prioridad:

27.10.2016 US 201662413586 P
27.10.2016 US 201662413613 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.03.2022

(73) Titular/es:

JANSSEN PHARMACEUTICA NV (100.0%)
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse, BE

(72) Inventor/es:

MACIELAG, MARK;
MACIELAG, MARK;
PATCH, RAYMOND J.;
ZHANG, RUI;
CASE, MARTIN A.;
RANGWALA, SHAMINA M.;
LEONARD, JAMES N.;
CAMACHO, RAUL, C.;
HUNTER, MICHAEL J.;
D'AQUINO, KATHARINE E.;
EDWARDS, WILSON;
SWANSON, RONALD V.;
JIAN, WENYING;
ZHANG, YUE-MEI;
WALL, MARK y
CHI, ELLEN

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 897 480 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de péptido tirosina tirosina cílicos acoplados a anticuerpos como moduladores de receptores de neuropéptidos

5 CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se dirige de manera general a nuevos conjugados de péptido tirosina tirosina (PYY) cíclico acoplado a anticuerpos, que son moduladores del receptor del neuropéptido Y2. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas y métodos de uso de las mismas. Los nuevos compuestos acoplados a anticuerpos son útiles para prevenir, tratar o mejorar enfermedades y trastornos, como obesidad, diabetes tipo 2, síndrome metabólico, resistencia a la insulina y dislipidemia, entre otros.

10 REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

15 Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos Nº 62/413.613, presentada el 27 de octubre de 2016, y de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos Nº 62/413.586 presentada el 27 de octubre de 2016.

20 REFERENCIA A LISTADO DE SECUENCIAS PRESENTADO POR VÍA ELECTRÓNICA

25 Esta solicitud contiene un listado de secuencias, que se presenta electrónicamente a través de EFS-Web como una lista de secuencias con formato ASCII con un nombre de archivo "PRD3436 Sequence Listing" y una fecha de creación del 23 de octubre de 2017, y tiene un tamaño de 135 kb. El listado de secuencias presentado a través de EFS-Web es parte de la memoria descriptiva y se incorpora en la presente como referencia en su totalidad. En el caso de cualquier inconsistencia con respecto a las estructuras para las SEQ ID NO: 1-156 entre la información descrita en la presente y el Listado de Secuencias enviado electrónicamente a través de EFS-Web con un nombre de archivo "PRD3436 Sequence Listing", prevalecerá la información contenida en la presente.

30 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

35 Los receptores del neuropéptido Y (NPY) son activados por un grupo estrechamente relacionado de agonistas peptídicos denominados "familia NPY" que tienen diferentes afinidades para cada subtipo de receptor. NPY, péptido tirosina-tirosina (PYY) y polipéptido pancreático (PP), todos de 36 aminoácidos de longitud, son agonistas de la familia de receptores NPY. NPY es un neurotransmisor, sintetizado, coalmacenado y liberado con norepinefrina y epinefrina. NPY es uno de los péptidos más abundantes y ampliamente distribuidos en el sistema nervioso central (SNC) de humanos y roedores y se expresa en áreas del cerebro relacionadas con la alimentación y el estrés. En el sistema nervioso periférico, las neuronas que contienen NPY son predominantemente simpáticas. PYY se sintetiza y libera predominantemente por células endocrinas intestinales. La escisión de NPY y PYY por la serinoproteasa endotelial, di-peptidil peptidasa IV (DPP-IV), genera NPY₃₋₃₆ y PYY₃₋₃₆ que son ligandos selectivos para los subtipos Y2 e Y5 de la familia de receptores NPY. El PP se encuentra principalmente en las células de los islotes pancreáticos distintas de las que almacenan insulina, glucagón o somatostatina.

40 45 Hasta la fecha se han identificado cinco receptores de NPY distintos, cuatro de los cuales se consideran relevantes para la fisiología humana. Los receptores Y1, Y2 e Y5 se unen preferentemente a NPY y PYY, mientras que el receptor Y4 se une preferentemente a PP. Los receptores Y2 e Y5 también son activados de manera potente por NPY₃₋₃₆ y PYY₃₋₃₆. En general, la familia de ligandos de NPY posee selectividad variable para cada una de las isoformas del receptor de NPY, y se ha informado con anterioridad que PYY₃₋₃₆ tiene selectividad de modesta a robusta para la isoforma Y2. Cada uno de estos receptores está acoplado a la inhibición de la adenilato ciclase a través de Gai sensible a la toxina pertussis.

50 55 60 65 PYY se secreta de las células L endocrinas en respuesta a los alimentos y, en particular, después de la ingestión de grasas. PYY₁₋₃₆ predomina en el estado de ayuno, siendo PYY₃₋₃₆ la forma principal que se encuentra posprandialmente en humanos, con concentraciones EN plasma correlacionadas negativamente con el número de calorías consumidas. Se ha demostrado que PYY₃₋₃₆ reduce la ingesta de alimentos en humanos, monos, ratas, conejos y ratones (Batterham RL et al. Nature 8 de agosto de 2002; 418(6898):650-4; Batterham RL et al. N Engl J Med, 4 de septiembre de 2003; 349(10):941-8; Challis BG et al., Biochem Biophys Res Commun, 28 de noviembre de 2003; 311(4):915-9). Se cree que los efectos anorexigénicos de PYY₃₋₃₆ están mediados por Y2, basándose en la unión preferencial a este receptor y la pérdida de la eficacia de la alimentación en ratones deficientes en Y2 (Batterham RL, et al. Nature, 8 de agosto de 2002; 418(6898) 650-4). La inyección intraarcuata de PYY3-36 reduce la ingesta de alimentos en ratas y ratones (Batterham et al. Nature, 8 de agosto de 2002; 418(6898):650-4), lo que sugiere que la participación de los receptores Y2 hipotalámicos puede mediar estos efectos. También se ha demostrado que los efectos agudos en la alimentación se traducen en efectos dependientes de la dosis sobre el peso corporal en ratones *ob/ob*, ratones DIO y ratones Zucker *faf/faf* (Pittner RA et al. Int J Obes relat Metab Disord agosto de 2004; 28(8):963 -71). Además, también se ha demostrado que PYY₃₋₃₆ mejora la eliminación de glucosa

mediada por insulina y la sensibilidad a la insulina en roedores DIO (Vrang N et al., Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol Agosto; 291(2):R367-75). La cirugía bariátrica da como resultado un aumento de la inmunorreactividad de PYY circulante (le Roux CW et al., Ann Surg enero 2006; 243(1); 108-14), que parece desempeñar un papel en la pérdida de peso posoperatoria.

Dado su papel en el control del apetito y la ingesta de alimentos, así como sus efectos antisecretores y proabsorbentes en el tracto gastrointestinal de los mamíferos, PYY₃₋₃₆ puede ser eficaz en el tratamiento de la obesidad y afecciones asociadas, así como en una serie de trastornos gastrointestinales. Sin embargo, la utilidad terapéutica del propio PYY₃₋₃₆ como agente de tratamiento está limitada por su rápido metabolismo y la corta vida media circulante resultante (Torang et al., Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 310:R866-R874 (2016)). La WO2015/197735 divulga complejos de PYY-anticuerpo y una vida media aumentada del péptido.

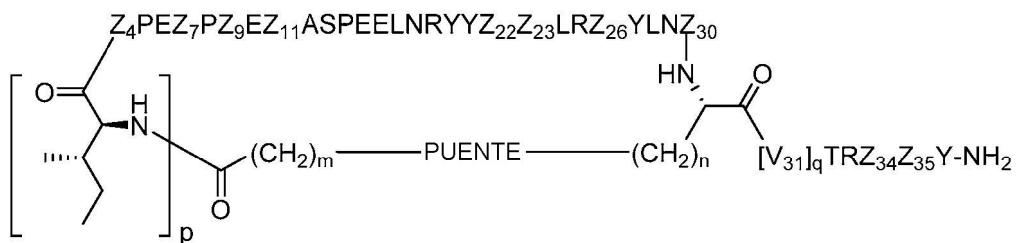
Por tanto, es deseable obtener un análogo de PYY o un derivado del mismo con una estabilidad metabólica y un perfil farmacocinético mejorados con respecto a PYY₃₋₃₆. Tales derivados, con una vida media prolongada *in vivo*, proporcionarían modulación del receptor Y2 con mayor duración de acción, haciéndolos adecuados como agentes terapéuticos para sujetos con necesidad de dicha modulación.

El análisis anterior se presenta únicamente para proporcionar una mejor comprensión de la naturaleza de los problemas a los que se enfrenta la técnica y no debe interpretarse de ninguna manera como una admisión del estado de la técnica ni la cita de cualquier referencia en la presente debe interpretarse como una admisión de que tal referencia constituye "estado de la técnica" a la presente solicitud.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

En un aspecto general, la invención se refiere a nuevos compuestos de péptido tirosina tirosina cílicos (PYY) acoplados a anticuerpos, que son moduladores del receptor del neuropéptido Y2.

En la presente se proporcionan conjugados que comprenden un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno del mismo acoplado a un péptido PYY cíclico, en donde el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o un derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



Formula I

en donde

p es 0 o 1;
m es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

n es 1, 2, 3 o 4;

q es 0 o 1; siempre que q sea 1 solo cuando Z₃₀ esté ausente;

PUENTE es -Ph-CH₂-S-, -triazolilo-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S, -NHC(O)- o -CH₂S-;

Z₄ es K, A, E, S o R;

Z₇ es A o K;

Z₉ es G o K;

Z₁₁ es D o K;

Z₂₂ es A o K;

Z₂₃ es S o K;

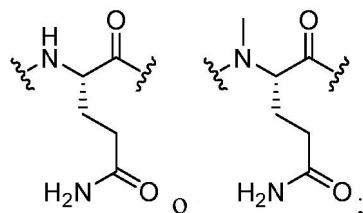
Z₂₆ es A o H;

Z₃₀ es L, W, ausente o K;

siempre que Z₃₀ esté ausente sólo cuando q sea 1;

Z₃₄ es

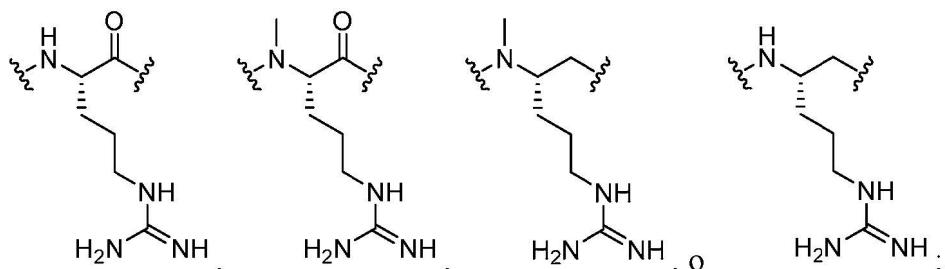
5



10

Z35 es

15



20

25

en donde el derivado es el compuesto de Fórmula I que se modifica mediante uno o más procesos seleccionados del grupo que consiste de amidación, glicosilación, carbamilación, sulfatación, fosforilación, ciclación, lipidación y pegilación. En ciertas realizaciones, el péptido PYY cíclico es un compuesto de Fórmula I o un derivado del péptido PYY cíclico de Fórmula I que se modifica mediante uno o más procesos seleccionados del grupo que consiste de amidación, lipidación y pegilación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30

En ciertas realizaciones, el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o el derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

p es 0 o 1;

m es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

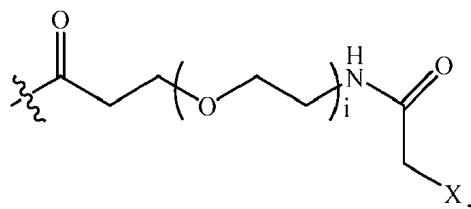
n es 1, 2, 3 o 4;

q es 0 o 1; siempre que q sea 1 solo cuando Z₃₀ esté ausente;PUENTE es -Ph-CH₂-S-, -triazolilo-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH₂-,-(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)- o -CH₂S-;Z₄ es K, A, E, S o R;

40

Z₇ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con

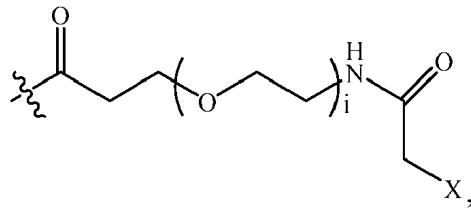
45



50

en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl;
Z₉ es G o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con

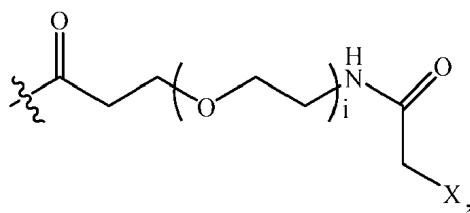
55



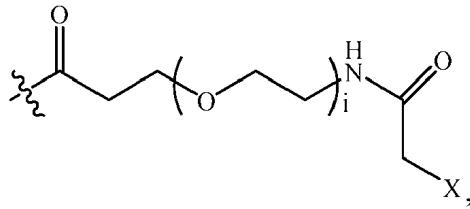
60

en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl;
Z₁₁ es D o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con

65

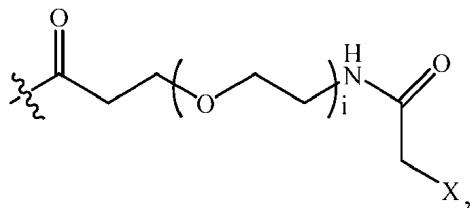


10 en donde i es un número entero de 0 a 24, y $X = \text{Br}, \text{I} \text{ o } \text{Cl}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I}, \text{ o } -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl};$
 Z_{22} es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



20

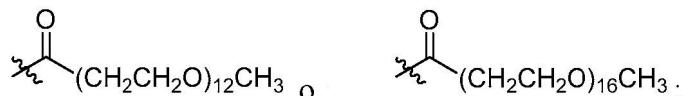
en donde i es un número entero de 0 a 24, y $X = \text{Br}, \text{I} \text{ o } \text{Cl}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I}, \text{ o } -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl};$
 Z_{23} es S o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



35

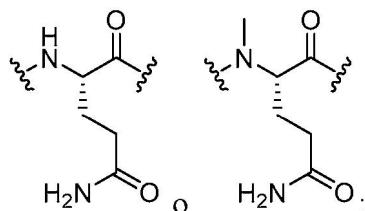
en donde i es un número entero de 0 a 24, y $X = \text{Br}, \text{I} \text{ o } \text{Cl}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I}, \text{ o } -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl};$
 Z_{26} es A o H;
 Z_{30} es L o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con

40



Z_{34} es

45



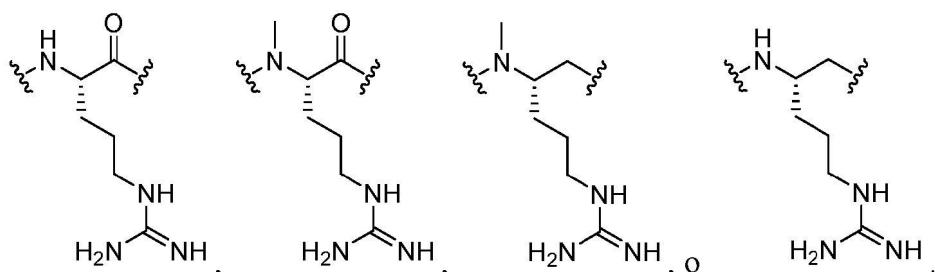
50

55

y
 Z_{35} es

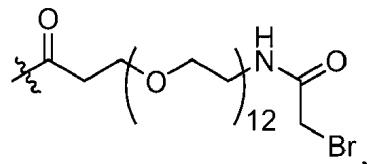
60

65

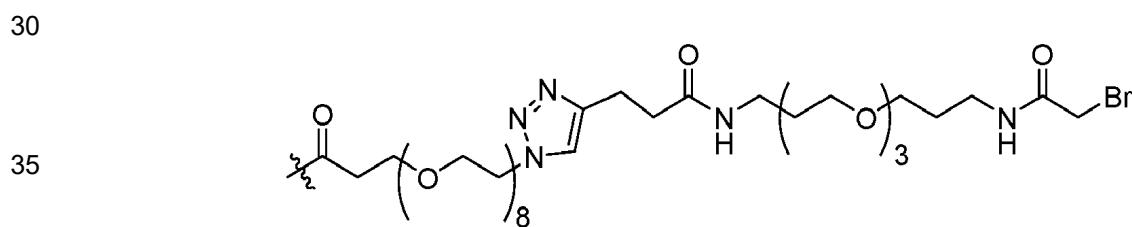
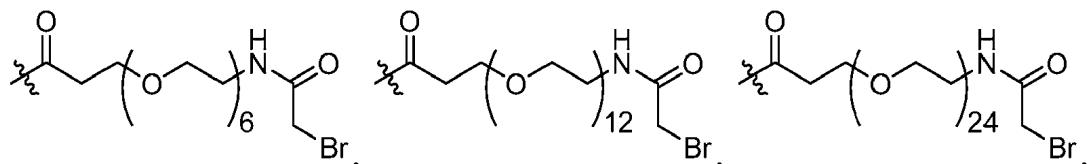


En ciertas realizaciones, el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o el derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

- 5 p es 0 o 1;
 m es 0, 1, 2, 3 o 5;
 n es 1, 2 o 4;
 q es 0 o 1; siempre que q pueda ser 1 solo cuando Z₃₀ esté ausente;
 10 PUENTE es -Ph-CH₂-S-, -triazolilo-, -NHC(O)CH₂S-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)-, o -CH₂S-;
 Z₄ es K, A, E, S o R;
 Z₇ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



- 20 Z₉ es G o K,
 Z₁₁ es D o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



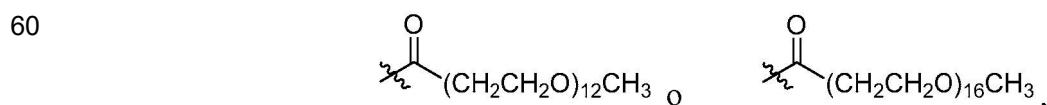
- 40 -C(O)CH₂Br, Z₂₂ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



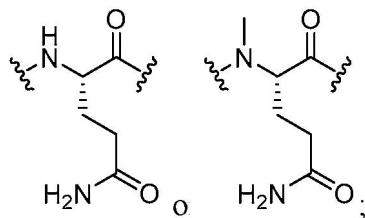
- Z₂₃ es S o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



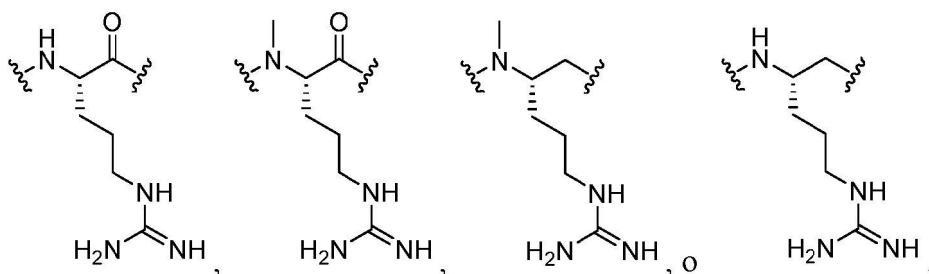
- Z₂₆ es A o H,
 Z₃₀ es L o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



- 65 Z34 es



10 Z35 es



En ciertas realizaciones, el péptido PYY cíclico se selecciona del grupo que consiste de las SEQ ID NO: 1, 73-100 y 147-156, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 En ciertas realizaciones, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo está covalentemente enlazado al péptido PYY cíclico en un residuo de lisina del péptido PYY cíclico mediante un conector. El conector puede comprender, por ejemplo, un conector seleccionado del grupo que consiste de polietilenglicol (PEG)8-triazolil-CH₂CH₂CO-PEG4, una cadena de PEG de 2-24 unidades de PEG, una cadena de alquilo que contiene 2-10 átomos de carbono, (Gly_jSer)_u donde j = 1-4, (AlaPro)_u donde u = 1-10, y un enlace.

30 En ciertas realizaciones, solo uno de Z₇, Z₉, Z₁₁, Z₂₂ y Z₂₃ en la Fórmula I es lisina, y la lisina está enlazada covalentemente a un residuo de cisteína manipulado del anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo a través del conector.

35 También se proporcionan conjugados que comprenden un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno del mismo acoplado a un péptido PYY cíclico, en donde el conjugado comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste de las SEQ ID NO: 102-127 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde mAb representa el anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión al antígeno del mismo, y]₂ representa que 1 o 2 del péptido PYY cíclico están covalentemente conjugados con el mAb.

40 En ciertas realizaciones, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una región determinante de la complementariedad de cadena pesada 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, y una región determinante de la complementariedad de cadena ligera 1 (LCDR1), LCDR2 y LCDR3, que tiene las secuencias polipeptídicas de la SEQ ID NO: 141, 142, 143, 144, 145 y 146, respectivamente. En ciertas realizaciones, el anticuerpo monoclonal aislado comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 137, y un dominio variable de cadena ligera (VL) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 139. En ciertas realizaciones, el anticuerpo monoclonal aislado comprende además una porción Fc. En ciertas realizaciones, el anticuerpo monoclonal aislado comprende una cadena pesada (HC) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 138 y una cadena ligera que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 140.

45 También se proporcionan conjugados que comprenden un anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo acoplado a un péptido PYY cíclico, en donde el anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región determinante de la complementariedad de cadena pesada 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, y una región determinante de la complementariedad de cadena ligera 1 (LCDR1), LCDR2 y LCDR3, que tiene las secuencias polipeptídicas de la SEQ ID NO: 141, 142, 143, 144, 145, y 146, respectivamente, preferiblemente el anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 137, y un dominio variable de cadena ligera (VL) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 138 y una cadena ligera (LC) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 140; el péptido PYY cíclico comprende una secuencia polipeptídica seleccionada del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 1, 73-100 y 147-156, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo se conjuga con el péptido PYY cíclico en el residuo 7, 9, 11, 22 o 23 del péptido PYY cíclico, preferiblemente en el residuo de lisina 11 del péptido PYY cíclico, directamente o mediante un conector.

5 También se proporcionan métodos para producir los conjugados de la invención. Los métodos comprenden hacer reaccionar un electrófilo, preferiblemente bromoacetamida o maleimida, introducido en una cadena lateral del péptido PYY cíclico, preferiblemente la cadena lateral de un residuo lisina del péptido PYY cíclico, con el grupo sulfhidrilo del residuo de cisteína de la SEQ ID NO: 143 del anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, creando de este modo un enlace covalente entre el péptido PYY cíclico y el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo.

10 También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden los conjugados de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable.

15 También se proporcionan métodos para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno en un sujeto con necesidad de ello, en donde dicha enfermedad o trastorno se selecciona del grupo que consiste de obesidad, diabetes tipo I o tipo II, síndrome metabólico, resistencia a la insulina, tolerancia a la glucosa alterada, hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, hipoglucemia debida a hiperinsulinismo congénito (CHI), dislipidemia, aterosclerosis, nefropatía diabética y otros factores de riesgo cardiovascular como hipertensión y factores de riesgo cardiovasculares relacionados con niveles no controlados de colesterol y/o lípidos, osteoporosis, inflamación, enfermedad del hígado graso alcohólico (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad renal y ecema. Los métodos comprenden administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de las composiciones farmacéuticas de la invención.

20 También se proporcionan métodos para reducir la ingesta de alimentos en un sujeto con necesidad de ello. Los métodos comprenden administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de la composición farmacéutica de la invención.

25 También se proporcionan métodos para modular la actividad del receptor Y2 en un sujeto con necesidad de ello. Los métodos comprenden administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de la composición farmacéutica de la invención.

30 En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica se administra mediante una inyección. En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica se administra en combinación con por lo menos un agente antidiabético. El agente antidiabético puede ser, por ejemplo, un modulador del receptor del péptido 1 similar al glucagón. En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica se administra en combinación con liraglutida.

35 También se proporcionan kits que comprenden los conjugados de la invención, preferiblemente que comprenden además una liraglutida y un dispositivo para inyección.

40 También se proporcionan métodos para producir las composiciones farmacéuticas de la invención. Los métodos comprenden combinar el conjugado con un portador farmacéuticamente aceptable para obtener la composición farmacéutica.

45 Los aspectos, características y ventajas adicionales de la presente invención se apreciarán mejor tras la lectura de la siguiente descripción detallada de la invención y las reivindicaciones.

45 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

50 El resumen anterior, así como la siguiente descripción detallada de las realizaciones preferidas de la presente solicitud, se entenderán mejor cuando se lean junto con los dibujos adjuntos. Debe entenderse, sin embargo, que la solicitud no se limita a las realizaciones precisas mostradas en los dibujos.

55 **Fig. 1:** Muestra una estrategia general de conjugación de péptido-mAb de acuerdo con una realización de la invención. X representa un electrófilo introducido en una cadena lateral de un péptido terapéutico, como bromoacetamida o maleimida, que reacciona en el sitio específicamente con el grupo sulfhidrilo del residuo Cys manipulado en una CDR de un mAb que extiende la vida media, creando un enlace covalente entre el péptido y mAb.

Fig. 2: Resumen de residuos de CDR seleccionados para sustitución en PH9H5_VH (SEQ ID NO: 129) y en PH9L3_VL (SEQ ID NO: 128). Los residuos sustituidos con Cys están en negrita y subrayados.

Fig. 3: Farmacocinética del compuesto 1 en ratones obesos inducidos por dieta (DIO).

Fig. 4: Farmacocinética del compuesto 1 en monos cynomolgus.

Fig. 5: Ingesta de alimento en ratones DIO tratados con el compuesto 1: dosificación aguda.

Fig. 6: Pérdida de peso en ratones DIO tratados con el compuesto 1: dosificación aguda.

Fig. 7: Ingesta de alimentos en ratones DIO tratados con el compuesto 1: dosificación crónica.

Fig. 8: Pérdida de peso en ratones DIO tratados con el compuesto 1: dosificación crónica.

Fig. 9: Pérdida de peso en ratones DIO tratados con el compuesto 1 en combinación con liraglutida: dosificación crónica.

Fig. 10: Muestra un gráfico que muestra la ingesta de alimentos semanal media durante 3 semanas antes de comenzar con liraglutida, 1 semana de tratamiento con liraglutida y 2 semanas después de la administración de liraglutida. Está indicada la reducción porcentual de la ingesta semanal media de alimentos del tratamiento frente a la media de referencia de 3 semanas.

Figs. 11A-11D: Muestra gráficos que demuestran el efecto del compuesto 1 con la adición de liraglutida sobre la glucosa, la insulina y los triglicéridos en macacos rhesus obesos. La Fig. 11A muestra un gráfico que demuestra el efecto de la monoterapia del compuesto 1 (PYY) y la terapia combinada con liraglutida (PYY+Lira) sobre los niveles de glucosa. La Fig. 11B muestra un gráfico que demuestra el efecto de la monoterapia del compuesto 1 (PYY) y la terapia combinada con liraglutida (PYY+Lira) sobre los niveles de insulina. La Fig. 11C muestra un gráfico que demuestra el efecto de la monoterapia del compuesto 1 (PYY) y la terapia combinada con liraglutida (PYY+Lira) sobre HOMA-IR. La Fig. 11D muestra un gráfico que demuestra el efecto de la monoterapia del compuesto 1 (PYY) y la terapia combinada con liraglutida (PYY+Lira) sobre los niveles de triglicéridos.

Figs. 12A-12D: Muestra gráficos del efecto del compuesto 1 con la adición de liraglutida sobre el colesterol y las enzimas hepáticas en macacos rhesus obesos. La Fig. 12A muestra un gráfico que demuestra el efecto de la monoterapia del compuesto 1 (PYY) y la terapia combinada con liraglutida (PYY+Lira) sobre los niveles de colesterol. La Fig. 12B muestra un gráfico que demuestra el efecto de la monoterapia del compuesto 1 (PYY) y la terapia combinada con liraglutida (PYY+Lira) sobre los niveles de HDL. La Fig. 12C muestra un gráfico que demuestra el efecto de la monoterapia del compuesto 1 (PYY) y la terapia combinada con liraglutida (PYY+Lira) sobre los niveles de ALT. La Fig. 12D muestra un gráfico que demuestra el efecto de la monoterapia del compuesto 1 (PYY) y la terapia combinada con liraglutida (PYY+Lira) sobre los niveles de AST.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La invención está definida por las reivindicaciones. Cualquier materia que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solamente con propósitos informativos. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Por otro lado, ciertos términos usados en la presente tienen los significados que se establecen en la memoria descriptiva.

Debe tenerse en cuenta que, como se usa en la presente y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno" y "el" incluyen la referencia en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

A menos que se indique lo contrario, cualquier valor numérico, como una concentración o un intervalo de concentración descrito en la presente, debe entenderse como modificado en todos los casos por el término "aproximadamente". Por tanto, un valor numérico incluye típicamente el ±10% del valor indicado. Por ejemplo, una concentración de 1 mg/ml incluye de 0,9 mg/ml a 1,1 mg/ml. De igual manera, un intervalo de concentración del 1% al 10% (p/v) incluye del 0,9% (p/v) al 11% (p/v). Como se usa en la presente, el uso de un intervalo numérico incluye expresamente todos los subintervalos posibles, todos los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo, incluyendo los números enteros dentro de tales intervalos y fracciones de los valores a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

A menos que se indique lo contrario, debe entenderse que el término "por lo menos" que precede a una serie de elementos se refiere a todos los elementos en la serie. Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar, usando únicamente experimentación rutinaria, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descritas en la presente. Se pretende que tales equivalentes estén incluidos en la invención.

Como se usa en la presente, se entenderá que los términos "comprende", "que comprende", "incluye", "que incluye", "tiene", "que tiene", "contiene" o "que contiene", o cualquier otra variación de los mismos, implica la inclusión de un número entero o grupo de números enteros indicados, pero no la exclusión de ningún otro número entero o grupo de números enteros y se pretende que no sean exclusivos o estén abiertos. Por ejemplo, una composición, una mezcla, un proceso, un método, un artículo o un aparato que comprende una lista de elementos no se limita necesariamente solo a esos elementos, sino que puede incluir otros elementos no enumerados expresamente o inherentes a dicha composición, mezcla, proceso, método, artículo o aparato. Además, a menos que se indique expresamente lo contrario, "o" se refiere a un o inclusivo y no a un o exclusivo. Por ejemplo, una condición A o B se satisface por cualquiera de los siguientes: A es cierto (o está presente) y b es falso (o no está presente), A es falso (o no está presente) y B es cierto (o está presente), y tanto A como B son ciertos (o están presentes).

También debe entenderse que los términos "alrededor de", "aproximadamente", "generalmente", "sustancialmente" y términos similares, usados en la presente cuando se refieren a una dimensión o característica

de un componente de la invención preferida, indican que la dimensión/característica descrita no es un límite o parámetro estricto y no excluye variaciones menores de los mismos que sean funcionalmente iguales o similares, como entendería un experto en la técnica. Como mínimo, tales referencias que incluyen un parámetro numérico incluirían variaciones que, usando principios matemáticos e industriales aceptados en la técnica (por ejemplo, redondeo, medición u otros errores sistemáticos, tolerancias de fabricación, etc.), no variarían el dígito menos significativo.

Los términos "idéntico" o "porcentaje de identidad", en el contexto de dos o más secuencias de ácidos nucleicos o polipéptidos (por ejemplo, secuencias de polipéptidos PYY₃₋₃₆ cíclicos, secuencias de cadenas ligeras o pesadas de anticuerpos), se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje específico de residuos de aminoácidos o nucleótidos que son iguales, cuando se comparan y alinean para una correspondencia máxima, según se miden usando uno de los siguientes algoritmos de comparación de secuencias o mediante inspección visual usando métodos conocidos en la técnica en vista de la presente divulgación.

Para la comparación de secuencias, típicamente una secuencia actúa como secuencia de referencia, con la que se comparan las secuencias de prueba. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y de referencia se introducen en un ordenador, se designan coordenadas de subsecuencia, si es necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencia. Luego, el algoritmo de comparación de secuencias calcula el porcentaje de identidad de secuencia para la secuencia o secuencias de prueba con respecto a la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa designados.

El alineación óptimo de secuencias para comparación puede realizarse, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de Smith & Waterman, Adv. Apl. Math. 2:482 (1981), mediante el algoritmo de alineación por homología de Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970), mediante el método de búsqueda de similitud de Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988), mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), o mediante inspección visual (ver generalmente, Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel et al., Eds., Current Protocols, una empresa conjunta entre Greene Publishing Associates, Inc. y John Wiley & Sons, Inc., (Suplemento de 1995) (Ausubel)).

Los ejemplos de algoritmos que son adecuados para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y similitud de secuencia son los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, que se describen en Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410 y Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402, respectivamente. El software para realizar análisis BLAST está disponible públicamente a través del National Center for Biotechnology Information.

Una indicación adicional de que dos secuencias de ácidos nucleicos o polipéptidos son sustancialmente idénticos es que el polipéptido codificado por el primer ácido nucleico es inmunológicamente reactivo cruzado con el polipéptido codificado por el segundo ácido nucleico, como se describe a continuación. Por tanto, un polipéptido es típicamente sustancialmente idéntico a un segundo polipéptido, por ejemplo, cuando los dos péptidos difieren solo por sustituciones conservadoras. Otra indicación de que dos secuencias de ácidos nucleicos son sustancialmente idénticas es que las dos moléculas hibridan entre sí en condiciones rigurosas, como se describe a continuación.

Como se usa en la presente, "sujeto" significa cualquier animal, preferiblemente un mamífero, lo más preferible un humano. El término "mamífero", como se usa en la presente, abarca cualquier mamífero. Los ejemplos de mamíferos incluyen, pero no se limitan a, vacas, caballos, ovejas, cerdos, gatos, perros, ratones, ratas, conejos, cobayas, monos, seres humanos, etc., más preferiblemente un humano.

El término "administrar" con respecto a los métodos de la invención, significa un método para prevenir, tratar o mejorar terapéutica o profilácticamente un síndrome, trastorno o enfermedad como se describe en la presente mediante el uso de un conjugado de la invención o una forma, composición o medicamento del mismo. Tales métodos incluyen administrar una cantidad eficaz de dicho conjugado, una forma, composición o medicamento del mismo en diferentes momentos durante el curso de una terapia o concurrentemente en una forma de combinación. Debe entenderse que los métodos de la invención abarcan todos los regímenes de tratamiento terapéutico conocidos.

El término "cantidad eficaz" significa la cantidad de conjugado activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o medicinal en un sistema tisular, animal o humano, que está buscando un investigador, veterinario, doctor médico u otro practicante clínico, que incluye prevenir, tratar o mejorar un síndrome, trastorno o enfermedad que se está tratando, o los síntomas de un síndrome, trastorno o enfermedad que se está tratando.

Como se usa en la presente, se pretende que el término "composición" abarque un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de combinaciones de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

Como se usa en la presente, el término "acoplado" se refiere a la unión o conexión de dos o más objetos entre sí. Cuando se hace referencia a compuestos químicos o biológicos, acoplado puede referirse a una conexión covalente entre dos o más compuestos químicos o biológicos. A modo de ejemplo no limitativo, un anticuerpo de la invención puede acoplarse con un péptido de interés para formar un péptido acoplado a anticuerpo. Puede formarse un péptido acoplado a un anticuerpo mediante reacciones químicas específicas diseñadas para conjugar el anticuerpo con el péptido. En ciertas realizaciones, un anticuerpo de la invención puede acoplarse covalentemente con un péptido de la invención a través de un conector. El conector puede, por ejemplo, conectarse primero covalentemente al anticuerpo o al péptido, luego conectarse covalentemente al péptido o al anticuerpo.

Como se usa en la presente, el término "conector" se refiere a un módulo químico que comprende una cadena covalente o atómica que une covalentemente un anticuerpo con el péptido. El conector puede incluir, por ejemplo, pero no se limita a, un conector peptídico, un conector de hidrocarburo, un conector de polietilenglicol (PEG), un conector de polipropilenglicol (PPG), un conector de polisacárido, un conector de poliéster, un conector híbrido que consiste de PEG y un heterociclo incrustado, y una cadena de hidrocarburo.

Como se usa en la presente, el término "conjuguado" se refiere a un anticuerpo o un fragmento del mismo acoplado covalentemente a una fracción farmacéuticamente activa. El término "conjuguado con" se refiere a un anticuerpo o un fragmento del mismo de la invención enlazado covalentemente o conectado covalentemente a una fracción farmacéuticamente activa, preferiblemente un péptido terapéutico, directa o indirectamente a través de un conector. A modo de ejemplo no limitativo, el anticuerpo puede ser un anticuerpo monoclonal de la invención y la fracción farmacéuticamente activa puede ser un péptido terapéutico, como un péptido PYY cíclico de interés.

Las secuencias de péptidos descritas en la presente se escriben de acuerdo con la convención habitual en la que la región N-terminal del péptido está a la izquierda y la región C-terminal está a la derecha. Aunque se conocen formas isoméricas de los aminoácidos, es la forma L del aminoácido la que se representa a menos que se indique expresamente lo contrario.

Anticuerpos

En un aspecto general, la invención se refiere a un nuevo anticuerpo, que ha sido manipulado para no ser dirigido y contener un residuo de cisteína capaz de usarse para conjugar químicamente (es decir, acoplar) una fracción farmacéuticamente activa, como un péptido terapéutico (por ejemplo, un péptido PYY cíclico), de una manera específica de sitio, de tal manera que el péptido acoplado al anticuerpo tenga una vida media extendida/aumentada en comparación con el péptido solo. Como se usa en la presente, el término "no dirigido" en el contexto de un anticuerpo se refiere a un anticuerpo que no se une específicamente a ningún objetivo *in vivo*. Como se usa en la presente, un anticuerpo que "se une específicamente a un objetivo" se refiere a un anticuerpo que se une a un antígeno objetivo, con una KD de 1×10^{-8} M o menos, preferiblemente 5×10^{-9} M o menos, 1×10^{-9} M o menos, 5×10^{-10} M o menos, o 1×10^{-10} M o menos. El término "KD" se refiere a la constante de disociación, que se obtiene a partir de la proporción de Kd a Ka (es decir, Kd/Ka) y se expresa como una concentración molar (M). Los valores de KD para anticuerpos pueden determinarse usando métodos en la técnica a la vista de la presente divulgación. Por ejemplo, la KD de un anticuerpo puede determinarse usando resonancia de plasmiones superficiales, como usando un sistema biosensor, por ejemplo, un sistema Biacore®, o usando tecnología de interferometría de biocapa, como un sistema Octet RED96. Cuanto menor sea el valor de la KD de un anticuerpo, mayor será la afinidad de que el anticuerpo se una a un antígeno objetivo.

Los anticuerpos monoclonales, completos o un fragmento de los mismos, pueden usarse como una fracción que prolonga la vida media. Los anticuerpos monoclonales son proteínas bien estudiadas que se han utilizado y caracterizado para usos *in vivo* y, como tales, los mecanismos que permiten su vida media prolongada *in vivo* y los mecanismos para su eliminación *in vivo* son bien entendidos. Además, la separación espacial y la presentación de los dos "brazos" del anticuerpo monoclonal pueden ser ventajosas para la presentación bivalente eficaz de una fracción terapéutica (es decir, un péptido terapéutico). Se han desarrollado agentes terapéuticos en los que las toxinas u otros fármacos de molécula pequeña se enlanzan químicamente con un anticuerpo monoclonal, pero típicamente utilizan un anticuerpo monoclonal que se une a un antígeno específico y dirige el conjugado anticuerpo-fármaco a un tejido/célula de interés, que expresa preferentemente el antígeno, y típicamente el fármaco/molécula pequeña se une al anticuerpo de una manera que no afecta a la unión del antígeno del anticuerpo.

Para conjugados de péptido-mAb terapéuticos, no se desea la unión específica del antígeno por el anticuerpo monoclonal que prolonga la vida media. Debido a esto, se usa un par de dominios variables (V) de cadena pesada (HC) y cadena ligera (LC) que no se espera que se una específicamente a ningún objetivo para preparar el anticuerpo monoclonal no dirigido, habilitado para el acoplamiento de la invención. Para obtener un anticuerpo monoclonal no dirigido, habilitado para el acoplamiento, se manipula un residuo de cisteína en una de las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de un anticuerpo no dirigido seleccionado. La fracción farmacéuticamente activa (por ejemplo, péptido/compuesto terapéutico) puede contener la fracción química apropiada para permitir la conjugación de la fracción farmacéuticamente activa con la fracción de cisteína manipulada del anticuerpo monoclonal no dirigido. En la Figura 1 se muestra una estrategia de conjugación general

de péptido-anticuerpo monoclonal de acuerdo con una realización de la invención.

El término "anticuerpos" como se usa en la presente se entiende en un sentido amplio e incluye anticuerpos monoclonales no humanos (por ejemplo, murina, rata), humanos, adaptados a humanos, humanizados y quiméricos, fragmentos de anticuerpos, anticuerpos biespecíficos o multiespecíficos, anticuerpos diméricos, tetraméricos o multiméricos y anticuerpos de cadena sencilla.

Las cadenas ligeras de anticuerpos de cualquier especie de vertebrado pueden asignarse a uno de dos tipos claramente distintos, concretamente, kappa (κ) y lambda (λ), en base a las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. Por consiguiente, los anticuerpos de la invención pueden contener un dominio constante de cadena ligera kappa o lambda. De acuerdo con realizaciones particulares, los anticuerpos de la invención incluyen regiones constantes de cadena pesada y/o ligera de anticuerpos humanos o de ratón. Además de los dominios constantes pesados y ligeros, los anticuerpos contienen una región de unión a antígeno que está compuesta por una región variable de cadena ligera y una región variable de cadena pesada, cada una de las cuales contiene tres dominios (es decir, regiones determinantes de la complementariedad 1-3; (CDR1, CDR2 y CDR3)). A los dominios de la región variable de la cadena ligera se hace referencia alternativamente como LCDR1, LCDR2 y LCRD3, y a los dominios de región variable de cadena pesada se hace referencia alternativamente como HCDR1, HCRD2, y HCDR3.

Las inmunoglobulinas pueden asignarse a cinco clases principales, concretamente, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de la cadena pesada. La IgG es el más estable de los cinco tipos de inmunoglobulinas y tiene una vida media en suero en humanos de aproximadamente 23 días. IgA e IgG se subclasifican además como los isotipos IgA₁, IgA₂, IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄. Cada una de las cuatro subclases de IgG tiene diferentes funciones biológicas conocidas como funciones efectoras. Estas funciones efectoras generalmente están mediadas por la interacción con el receptor Fc (FcγR) o por la unión de C1q y la fijación del complemento. La unión a FcγR puede llevar a una citólisis mediada por células dependiente de anticuerpos, mientras que la unión a factores del complemento puede llevar a una lisis celular mediada por el complemento. Un anticuerpo de la invención utilizado por su capacidad para prolongar la vida media de un péptido terapéutico tiene una función efectora mínima o nula, pero conserva su capacidad para unirse a FcRn, cuya unión puede ser un medio principal por el cual los anticuerpos tienen una vida media prolongada *in vivo*.

En una realización, la invención se refiere a un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región variable de la cadena ligera que tiene secuencias del gen V de la línea germinal de Ig completamente humanas, y una región variable de la cadena pesada que tiene secuencias del gen V de la línea germinal de Ig completamente humanas, excepto HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo no se une específicamente a ningún antígeno humano *in vivo*. En ciertas realizaciones, la invención se refiere a un conjugado que comprende un anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región variable de cadena ligera que tiene secuencias del gen V de la línea germinal de Ig completamente humanas, y una región variable de la cadena pesada que tiene secuencias del gen V de la línea germinal de Ig completamente humana, excepto HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143 y una fracción farmacéuticamente activa (por ejemplo, un péptido PYY cíclico de la invención) conjugado a la misma, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo no se une específicamente a ningún antígeno humano *in vivo*. En la presente divulgación, con respecto a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una realización de la invención, la frase "un conjugado que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y una fracción farmacéuticamente activa conjugada con el mismo" se usa indistintamente con la frase "un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo conjugado con una fracción farmacéuticamente activa".

Como se usa en la presente, el término "fragmento de unión a antígeno" se refiere a un fragmento de anticuerpo como, por ejemplo, un diacuerpo, un Fab, un Fab', un F(ab')₂, un fragmento Fv, un fragmento Fv estabilizado con disulfuro (dsFv), un (dsFv)₂, un dsFv biespecífico (dsFv-dsFv'), un diacuerpo estabilizado con disulfuro (diacuerpo ds), una molécula de anticuerpo de cadena sencilla (scFv), un anticuerpo de dominio único (sdab) un dímero scFv (diacuerpo bivalente), un anticuerpo multiespecífico formado a partir de una porción de un anticuerpo que comprende una o más CDR, un anticuerpo de dominio único camelizado, un nanocuerpo, un anticuerpo de dominio, un anticuerpo de dominio bivalente o cualquier otro fragmento de anticuerpo que se une a un antígeno pero no comprende una estructura de anticuerpo completa. Un fragmento de unión a antígeno es capaz de unirse al mismo antígeno al que se une el anticuerpo original o un fragmento de anticuerpo original. De acuerdo con realizaciones particulares, el fragmento de unión a antígeno comprende una región variable de cadena ligera, una región constante de cadena ligera y un segmento Fd (es decir, parte de la cadena pesada que está incluida en el fragmento Fab). De acuerdo con otras realizaciones particulares, el fragmento de unión a antígeno comprende Fab y F(ab').

Como se usa en la presente, el término "anticuerpo de cadena sencilla" se refiere a un anticuerpo de cadena sencilla convencional en el campo, que comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera conectada por un péptido corto de aproximadamente 15 a aproximadamente 20

aminoácidos.. Como se usa en la presente, el término "anticuerpo de dominio único" se refiere a un anticuerpo de dominio único convencional en el campo, que comprende una región variable de cadena pesada y una región constante de cadena pesada o que comprende solo una región variable de cadena pesada.

5 La frase "anticuerpo aislado o fragmento de anticuerpo" se refiere a un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigenicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a un antígeno objetivo está sustancialmente libre de anticuerpos que no se unen específicamente al antígeno objetivo). Además, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o productos químicos.

10 Una región variable de anticuerpo consiste de una región "marco" interrumpida por tres "sitios de unión a antígeno". Los sitios de unión a antígeno se definen usando varios términos: (i) Regiones determinantes de la complementariedad (CDR), tres en el VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) y tres en el VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), se basan en la variabilidad de secuencia. (Wu y Kabat J Exp Med 132:211-50, 1970; Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5^a Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991) (ii) "Regiones hipervariables", "HVR" o "HV", tres en el VH (H1, H2, H3) y tres en el VL (L1, L2, L3), se refieren a las regiones de los dominios variables de un anticuerpo. que son hipervariables en estructura según se define por Chothia y Lesk (Chothia y Lesk Mol Biol 196:901-17, 1987). Otros términos incluyen "IMGT-CDR" (Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003) y "Specificity Determining Residue Usage" (SDRU) (Almagro Mol Recognit 17:132-43, 2004). La base de datos International ImMunoGeneTics (IMGT) (http://www_mgt_org) proporciona una numeración y una definición estandarizadas de los sitios de unión a antígeno. La correspondencia entre las delineaciones de CDR, HV e IMGT se describe en Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003.

15 El "marco" o "secuencias del marco" son las secuencias restantes de una región variable distintas de las definidas como sitios de unión a antígeno. Como los sitios de unión a antígeno pueden definirse mediante varios términos como se ha descrito anteriormente, la secuencia exacta de aminoácidos de un marco depende de cómo se definió el sitio de unión al antígeno.

20 En una realización de la invención, un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que tiene la LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145 y SEQ ID NO: 146, respectivamente, y una región variable de cadena pesada que tiene la HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 142 y SEQ ID NO: 143, respectivamente.

25 En otra realización, el anticuerpo aislado comprende además una región Fc derivada de la región Fc de IgG4 humana. La región Fc de IgG4 humana tiene una capacidad reducida para unirse a FcγR y factores del complemento en comparación con otros subtipos de IgG. Preferiblemente, la región Fc contiene la región Fc de IgG4 humana que tiene sustituciones que eliminan la función efectora. Por tanto, un anticuerpo aislado comprende además una región Fc que tiene una región Fc de IgG4 humana modificada que contiene una o más de las siguientes sustituciones: sustitución de prolina por glutamato en el residuo 233, alanina o valina por fenilalanina en el residuo 234 y alanina o glutamato por leucina en el residuo 235 (numeración de EU, Kabat, E.A. et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5^a Ed. U.S. Dept. of Health and Human Services, Bethesda, Md., Nº de publicación NIH 91-3242). La eliminación del sitio de glicosilación N-enlazado en la región Fc de IgG4 sustituyendo Asn por Ala en el residuo 297 (numeración EU) es otra manera de garantizar que se elimine la actividad efectora residual.

30 Preferiblemente, un anticuerpo de la invención existe como dímeros unidos entre sí por enlaces disulfuro y varias interacciones no covalentes. Por tanto, la porción Fc útil para el anticuerpo de la invención puede ser la región Fc de IgG4 humana que contiene una sustitución, como serina por prolina en la posición 228 (numeración EU), que estabiliza la formación de dímeros de cadena pesada y previene la formación de medias cadenas de Fc de IgG4.

35 En otra realización, se elimina el residuo de Lys C-terminal en la cadena pesada, como se ve comúnmente en los anticuerpos monoclonales producidos recombinantemente.

40 "Anticuerpo humano" se refiere a un anticuerpo que tiene regiones variables de cadena ligera y pesada en las que tanto el marco como los sitios de unión al antígeno se derivan de secuencias de origen humano. Si el anticuerpo contiene una región constante, la región constante también se deriva de secuencias de origen humano.

45 El anticuerpo humano comprende regiones variables de cadena pesada o ligera que se "derivan de" secuencias de origen humano si las regiones variables del anticuerpo se obtienen de un sistema que usa inmunoglobulina de línea germinal humana o genes de inmunoglobulina reorganizados. Tales sistemas incluyen bibliotecas de genes de inmunoglobulina humana presentadas en fagos, y animales transgénicos no humanos como ratones que portan loci de inmunoglobulina humana como se describe en la presente. El "anticuerpo humano" puede contener diferencias de aminoácidos cuando se compara con la línea germinal humana o secuencias de inmunoglobulina reorganizadas debido, por ejemplo, a mutaciones somáticas de origen natural o la introducción

intencionada de sustituciones en el marco o sitios de unión al antígeno. Típicamente, "anticuerpo humano" es por lo menos aproximadamente un 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93 %, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntico en la secuencia de aminoácidos a una secuencia de aminoácidos codificada por una línea germinal humana o gen de inmunoglobulina reordenado. En algunos casos, el "anticuerpo humano" puede contener secuencias de marco de consenso derivadas de análisis de secuencias de marco humano, por ejemplo, como se describe en Knappik et al., J Mol Biol 296:57-86, 2000), o HCDR3 sintética incorporada en bibliotecas de genes de inmunoglobulina humana presentadas en fagos, por ejemplo, como se describe en Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010 y la Publicación de Patente Internacional Nº WO2009/085462). Los anticuerpos en los que los sitios de unión al antígeno se derivan de una especie no humana no se incluyen en la definición de "anticuerpo humano".

Los anticuerpos humanizados aislados pueden ser sintéticos. Los anticuerpos humanos, aunque se derivan de secuencias de inmunoglobulinas humanas, pueden generarse usando sistemas como la presentación en fagos que incorporan CDR sintéticas y/o marcos sintéticos, o pueden someterse a mutagénesis in vitro para mejorar las propiedades de los anticuerpos, lo que da como resultado anticuerpos que no existen de forma natural dentro el repertorio de la línea germinal de anticuerpos humano in vivo.

El término "anticuerpo recombinante" como se usa en la presente, incluye todos los anticuerpos que se preparan, expresan, crean o aislan por medios recombinantes, como anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico o transcromosómico para genes de inmunoglobulina humana o un hibridoma preparado a partir del mismo, anticuerpos aislados de una célula huésped transformada para expresar el anticuerpo, anticuerpos aislados de una biblioteca de anticuerpos combinatoria recombinante y anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias de genes de inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN, o anticuerpos que se generan in vitro usando intercambio de brazos Fab.

El término "anticuerpo monoclonal", como se usa en la presente, se refiere a una preparación de moléculas de anticuerpos de una composición molecular individual. Los anticuerpos monoclonales de la invención pueden elaborarse mediante el método de hibridoma, tecnología de presentación en fagos, tecnología de clonación de genes de linfocitos individuales, o mediante métodos de ADN recombinante. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales pueden producirse mediante un hibridoma que incluye una célula B obtenida de un animal transgénico no humano, como un ratón o rata transgénicos, que tiene un genoma que comprende un transgén de cadena pesada y un transgén de cadena ligera humanos.

En ciertas realizaciones, el término "mAb" se refiere a un anticuerpo monoclonal que tiene una secuencia de cadena pesada variable (VH) que comprende la SEQ ID NO: 137 y una secuencia de cadena ligera variable (VL) que comprende la SEQ ID NO: 139. En ciertas realizaciones, el mAb es un anticuerpo monoclonal completamente humano que tiene una secuencia de cadena pesada (HC) que comprende la SEQ ID NO: 138 y una secuencia de cadena ligera (LC) que comprende la SEQ ID NO: 140. En ciertas realizaciones, el residuo de lisina en la posición 446 de la SEQ ID NO: 138 está opcionalmente ausente.

Como se usa en la presente, el término "anticuerpo químérico" se refiere a un anticuerpo en el que la secuencia de aminoácidos de la molécula de inmunoglobulina se deriva de dos o más especies. La región variable de las cadenas ligera y pesada a menudo corresponde a la región variable de un anticuerpo derivado de una especie de mamífero (por ejemplo, ratón, rata, conejo, etc.) que tiene la especificidad, afinidad y capacidad deseadas, mientras que las regiones constantes corresponden a las secuencias de un anticuerpo derivado de otra especie de mamífero (por ejemplo, humano) para evitar provocar una respuesta inmune en esa especie.

Como se usa en la presente, el término "anticuerpo multiespecífico" se refiere a un anticuerpo que comprende una pluralidad de secuencias de dominio variable de inmunoglobulina, en donde una primera secuencia de dominio variable de inmunoglobulina de la pluralidad tiene especificidad de unión para un primer epítopo o comprende secuencias de línea germinal que carecen de cualquier especificidad de unión conocida y una segunda secuencia de dominio variable de inmunoglobulina de la pluralidad tiene especificidad de unión para un segundo epítopo o comprende secuencias de línea germinal que carecen de cualquier especificidad de unión conocida, y en donde el primer y/o el segundo dominio variable de inmunoglobulina incluye opcionalmente una fracción farmacéuticamente activa conjugada (por ejemplo, un péptido terapéutico). En una realización, el primer y el segundo epítopos están en el mismo antígeno, por ejemplo, la misma proteína (o subunidad de una proteína multimérica). En una realización, el primer y el segundo epítopos se superponen o se superponen sustancialmente. En una realización, el primer y el segundo epítopos no se superponen o no se superponen sustancialmente. En una realización, el primer y el segundo epítopos están en diferentes antígenos, por ejemplo, las diferentes proteínas (o diferentes subunidades de una proteína multimérica). En una realización, el primer y el segundo dominios variables de inmunoglobulina incluyen la misma fracción farmacéuticamente activa conjugada. En una realización, el primer y el segundo dominios variables de inmunoglobulina incluyen diferentes fracciones farmacéuticamente activas. En una realización, solo el primer dominio variable de inmunoglobulina incluye una fracción farmacéuticamente activa conjugada. En una realización, solo el segundo dominio variable de inmunoglobulina incluye una fracción

farmacéuticamente activa conjugada. En una realización, un anticuerpo multiespecífico comprende un tercer, cuarto o quinto dominio variable de inmunoglobulina. En una realización, un anticuerpo multiespecífico es una molécula de anticuerpo biespecífico, un anticuerpo inespecífico o una molécula de anticuerpo tetraespecífico.

5 Como se usa en la presente, el término "anticuerpo biespecífico" se refiere a un anticuerpo multiespecífico que se une a no más de dos epítopos o dos antígenos y/o comprende dos fracciones farmacéuticamente activas conjugadas (por ejemplo, la misma fracción farmacéuticamente activa o una diferente). Un anticuerpo biespecífico se caracteriza por una primera secuencia de dominio variable de inmunoglobulina que tiene especificidad de unión para un primer epítopo o comprende secuencias de línea germinal que carecen de cualquier especificidad de unión conocida y una segunda secuencia de dominio variable de inmunoglobulina que tiene especificidad de unión para un segundo epítopo o comprende secuencias de línea germinal que carecen de cualquier especificidad de unión conocida, y en donde el primer y/o el segundo dominio variable de inmunoglobulina incluyen opcionalmente una fracción farmacéuticamente activa conjugada. En una realización, el primer y el segundo epítopos están en el mismo antígeno, por ejemplo, la misma proteína (o subunidad de una proteína multimérica). En una realización, el primer y el segundo epítopos se superponen o se superponen sustancialmente. En una realización, el primer y el segundo epítopos se encuentran en diferentes antígenos, por ejemplo, las diferentes proteínas (o diferentes subunidades de una proteína multimérica). En una realización, el primer y el segundo dominios variables de inmunoglobulina incluyen la misma fracción farmacéuticamente activa conjugada. En una realización, el primer y el segundo dominios variables de inmunoglobulina incluyen diferentes fracciones farmacéuticamente activas. En una realización, solo los primeros dominios variables de inmunoglobulina incluyen una fracción farmacéuticamente activa conjugada. En una realización, solo el segundo dominio variable de inmunoglobulina incluye una fracción farmacéuticamente activa conjugada. En una realización, un anticuerpo biespecífico comprende una primera secuencia de dominio variable de cadena pesada y una secuencia de dominio variable de cadena ligera que tienen especificidad de unión para un primer epítopo o comprenden secuencias de línea germinal que carecen de cualquier especificidad de unión conocida y una segunda secuencia de dominio variable de cadena pesada y secuencia de dominio variable de cadena ligera que tiene especificidad de unión para un segundo epítopo o comprenden secuencias de la línea germinal que carecen de cualquier especificidad de unión conocida, y en donde el primer y/o el segundo dominio variable de cadena pesada incluye opcionalmente una fracción farmacéuticamente activa conjugada. En una realización, el primer y el segundo dominios variables de cadena pesada incluyen la misma fracción farmacéuticamente activa conjugada. En una realización, el primer y el segundo dominios variables de cadena pesada incluyen diferentes fracciones farmacéuticamente activas conjugadas. En una realización, solo el primer dominio variable de cadena pesada incluye una fracción farmacéuticamente activa conjugada. En una realización, solo el segundo dominio variable de cadena pesada incluye una fracción farmacéuticamente activa conjugada.

10

15

20

25

30

35

40

"Anticuerpo de longitud completa", como se usa en la presente, se refiere a un anticuerpo que tiene dos cadenas pesadas de anticuerpo de longitud completa y dos cadenas ligeras de anticuerpo de longitud completa. Una cadena pesada (HC) de anticuerpo de longitud completa consiste de dominios variables y constantes de cadena pesada bien conocidos VH, CH1, CH2 y CH3. Una cadena ligera (LC) de anticuerpo de longitud completa consiste de dominios variables y constantes de cadena ligera bien conocidos VL y CL. El anticuerpo de longitud completa puede carecer de lisina C-terminal (K) en una o ambas cadenas pesadas.

El término "brazo Fab" o "media molécula" se refiere a una pareja de cadena pesada-cadena ligera que se une específicamente a un antígeno.

45 Pueden generarse anticuerpos biespecíficos de longitud completa, por ejemplo, usando intercambio de brazos Fab (o intercambio de mitad de molécula) entre dos anticuerpos bivalentes monoespecíficos mediante la introducción de sustituciones en la interfaz de CH3 de la cadena pesada en cada mitad de molécula para favorecer la formación de heterodímeros de dos medias moléculas de anticuerpo que tienen una especificidad distinta o *in vitro* en un entorno libre de células o usando coexpresión. La reacción de intercambio de brazos Fab es el resultado de una reacción de isomerización de enlaces disulfuro y de una disociación-asociación de dominios de CH3. Se reducen los enlaces disulfuro de cadena pesada en las regiones bisagra de los anticuerpos monoespecíficos originales. Las cisteínas libres resultantes de uno de los anticuerpos monoespecíficos originales forman un enlace disulfuro entre cadenas pesadas con residuos de cisteína de una segunda molécula de anticuerpo monoespecífico original y simultáneamente los dominios de CH3 de los anticuerpos originales se liberan y reforman mediante disociación-asociación. Los dominios de CH3 de los brazos Fab pueden manipularse para favorecer la heterodimerización sobre la homodimerización. El producto resultante es un anticuerpo biespecífico que tiene dos brazos Fab o medias moléculas, cada una de las cuales puede unirse a un epítopo distinto.

50

55

60 "Homodimerización", como se usa en la presente, con respecto a los anticuerpos, se refiere a una interacción de dos cadenas pesadas que tienen secuencias de aminoácidos de CH3 idénticas. "Homodímero", como se usa en la presente, con respecto a los anticuerpos, se refiere a un anticuerpo que tiene dos cadenas pesadas con secuencias de aminoácidos de CH3 idénticas.

65 "Heterodimerización", como se usa en la presente, con respecto a los anticuerpos, se refiere a una interacción de dos cadenas pesadas que tienen secuencias de aminoácidos de CH3 no idénticas. "Heterodímero",

como se usa en la presente, con respecto a los anticuerpos, se refiere a un anticuerpo que tiene dos cadenas pesadas con secuencias de aminoácidos de CH3 no idénticas.

Puede usarse la estrategia "botón en agujero" (ver, por ejemplo, Publicación Internacional de PCT Nº WO 2006/028936) para generar anticuerpos biespecíficos de longitud completa. Brevemente, los aminoácidos seleccionados que forman la interfaz de los dominios de CH3 en IgG humana se pueden mutar en posiciones que afectan a las interacciones del dominio de CH3 para promover la formación de heterodímeros. Un aminoácido con una cadena lateral pequeña (agujero) se introduce en una cadena pesada de un anticuerpo que se une específicamente a un primer antígeno y un aminoácido con una cadena lateral grande (botón) se introduce en una cadena pesada de un anticuerpo que se une específicamente a un segundo antígeno. Despues de la coexpresión de los dos anticuerpos, se forma un heterodímero como resultado de la interacción preferencial de la cadena pesada con un "agujero" con la cadena pesada con un "botón". Las parejas de sustituciones de CH3 ejemplares forman un botón y un agujero son (expresadas como posición modificada en el primer dominio de CH3 de la primera cadena pesada/posición modificada en el segundo dominio de CH3 de la segunda cadena pesada): T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S y T366W/T366S_L368A_Y407V.

Pueden usarse otras estrategias como promover la heterodimerización de la cadena pesada usando interacciones electrostáticas mediante la sustitución de residuos cargados positivamente en una superficie de CH3 y residuos cargados negativamente en una segunda superficie de CH3, como se describe en la patente de la Publicación de Patente de Estados Unidos Nº US2010/0015133; Publicación de Patente de Estados Unidos Nº US2009/0182127; Publicación de Patente de Estados Unidos Nº US2010/028637 o la Publicación de Patente de Estados Unidos Nº US2011/0123532. En otras estrategias, puede promoverse la heterodimerización mediante las siguientes sustituciones (expresadas como posición modificada en el primer dominio de CH3 de la primera cadena pesada/posición modificada en el segundo dominio de CH3 de la segunda cadena pesada): L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V_K409F, Y407A/T366A_K409F, o T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W como se describe en la Publicación de Patente de Estados Unidos Nº US2012/0149876 o la Publicación de Patente de Estados Unidos Nº US2013/0195849.

Además de los métodos descritos anteriormente, los anticuerpos biespecíficos pueden generarse *in vitro* en un entorno libre de células introduciendo mutaciones asimétricas en las regiones de CH3 de dos anticuerpos homodiméricos monoespecíficos y formando el anticuerpo heterodimérico biespecífico a partir de dos anticuerpos homodiméricos monoespecíficos originales en condiciones reductoras para permitir isomerización del enlace disulfuro de acuerdo con los métodos descritos en la Publicación de Patente Internacional Nº WO2011/131746. En los métodos, el primer anticuerpo bivalente monoespecífico y el segundo anticuerpo bivalente monoespecífico se manipula para que tengan ciertas sustituciones en el dominio de CH3 que promueven la estabilidad del heterodímero; los anticuerpos se incuban juntos en condiciones reductoras suficientes para permitir que las cisteínas de la región bisagra experimenten la isomerización de los enlaces disulfuro; generando de este modo el anticuerpo biespecífico mediante intercambio de brazos Fab. Las condiciones de incubación pueden restaurarse óptimamente a no reductoras. Ejemplos de agentes reductores que pueden usarse son 2-mercaptopropilamina (2-MEA), ditiotreitol (DTT), ditioeritritol (DTE), glutatión, tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP), L-cisteína y beta-mercaptopropano, preferiblemente un agente reductor seleccionado del grupo que consiste de: 2-mercaptopropilamina, ditiotreitol y tris(2-carboxietil)fosfina. Por ejemplo, puede usarse incubación durante por lo menos 90 min a una temperatura de por lo menos 20° C en presencia de por lo menos 2-MEA 25 mM o en presencia de por lo menos ditiotreitol 0,5 mM a un pH de 5-8, por ejemplo un pH de 7,0 7,4.

La numeración de los residuos de aminoácidos en la región constante del anticuerpo a lo largo de la memoria descriptiva se realiza de acuerdo con el índice EU como se describe en Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5^a Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991), a menos que se indique explícitamente lo contrario.

Conjugados

En otro aspecto general, la invención se refiere a un conjugado que comprende un anticuerpo de la invención conjugado covalentemente con una fracción farmacéuticamente activa, como un péptido terapéutico sintético (por ejemplo, un péptido PYY cíclico), de una manera específica de sitio, de tal manera que el péptido acoplado al anticuerpo tiene una vida media prolongada/aumentada en comparación con el péptido solo. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas y métodos de uso de los mismos. Los conjugados son útiles para prevenir, tratar o mejorar enfermedades o trastornos, como obesidad, diabetes tipo 2, síndrome metabólico (es decir, síndrome X), resistencia a la insulina, tolerancia a la glucosa alterada (por ejemplo, intolerancia a la glucosa), hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, hipoglucemia debida a hiperinsulinismo congénito (CHI), dislipidemia, aterosclerosis, nefropatía diabética, y otros factores de riesgo cardiovascular como hipertensión y factores de riesgo cardiovasculares relacionados con niveles no controlados de colesterol y/o lípidos, osteoporosis, inflamación, enfermedad del hígado graso alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH),

enfermedad renal y eccema, entre otros.

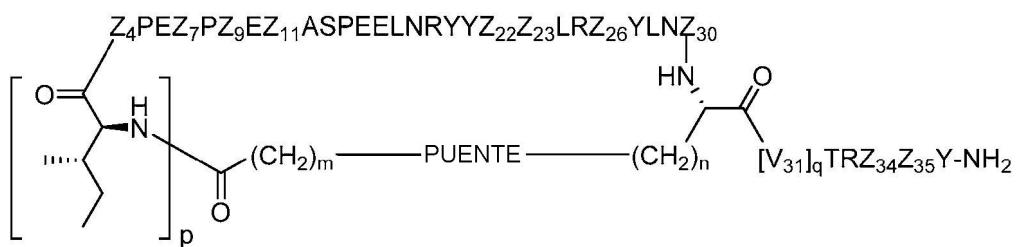
En ciertas realizaciones, el anticuerpo de la invención se modifica para comprender por lo menos una sustitución de residuos de cisteína que es capaz de conjugarse con la fracción farmacéuticamente activa para prolongar/aumentar la vida media de la fracción farmacéuticamente activa. En ciertas realizaciones, la por lo menos una sustitución de residuos de cisteína está comprendida en una región determinante de la complementariedad del anticuerpo. En ciertas realizaciones, la por lo menos una sustitución de residuos de cisteína está en una región determinante de la complementariedad de cadena pesada (HCDR). En ciertas realizaciones, la por lo menos una sustitución de residuos de cisteína está en una HCDR3, en donde la HCDR3 comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143. En ciertas realizaciones, el anticuerpo que comprende una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143 tienen por lo menos una sustitución de cisteína adicional que es capaz de conjugarse con una fracción farmacéuticamente activa.

En ciertas realizaciones, la fracción farmacéuticamente activa puede comprender un conector. El conector puede modificarse químicamente para permitir la conjugación del anticuerpo con la fracción farmacéuticamente activa. El conector puede incluir, por ejemplo, pero no se limita a, un conector peptídico, un conector de hidrocarburo, un conector de polietilenglicol (PEG), un conector de polipropilenglicol (PPG), un conector de polisacárido, un conector de poliéster, un conector híbrido que consiste de PEG y un heterociclo incrustado, o una cadena de hidrocarburos. Los conectores de PEG pueden comprender, por ejemplo, 2-24 unidades de PEG.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo monoclonal de la invención se conjuga con uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis fracciones farmacéuticamente activas (por ejemplo, péptidos terapéuticos) de interés. En realizaciones preferidas, el anticuerpo monoclonal no dirigido se conjuga con dos fracciones farmacéuticamente activas de interés. En ciertas realizaciones en las que el anticuerpo monoclonal se conjuga con por lo menos dos fracciones farmacéuticamente activas de interés, las fracciones farmacéuticamente activas de interés pueden ser la misma fracción farmacéuticamente activa o pueden ser diferentes fracciones farmacéuticamente activas.

Los métodos para conjugar anticuerpos de la invención con las fracciones farmacéuticamente activas de la invención son conocidos en la técnica. Brevemente, los anticuerpos de la invención pueden reducirse con un agente reductor (por ejemplo, TCEP (tris(2-carboxietil)fosfina), purificar (por ejemplo, mediante adsorción de proteína A o filtración en gel) y conjugarse con la fracción farmacéuticamente activa (por ejemplo, proporcionando un péptido liofilizado al anticuerpo reducido en condiciones que permitan la conjugación). Despues de la reacción de conjugación, el conjugado puede purificarse mediante cromatografía de intercambio iónico o cromatografía de interacción hidrófoba (HIC) con un paso de purificación final de adsorción de proteína A. En ciertas realizaciones, los anticuerpos de la invención pueden purificarse antes de reducirlos usando métodos de HIC. Para una descripción más detallada de los métodos de conjugación, ver, Dennler et al., Antibodies 4:197-224 (2015).

En la presente se proporcionan conjugados que comprenden un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno del mismo acoplado a un péptido PYY ciclico, en donde el péptido PYY ciclico está representado por la Fórmula I o un derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



Formula I

en donde

p es 0 o 1;

m es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

n es 1, 2, 3 o 4;

q es 0 o 1; siempre que q sea 1 solo cuando ₃₀ esté ausente;

PUENTE es -Ph-CH₂-S-, -triazolil-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)- o -CH₂S-;

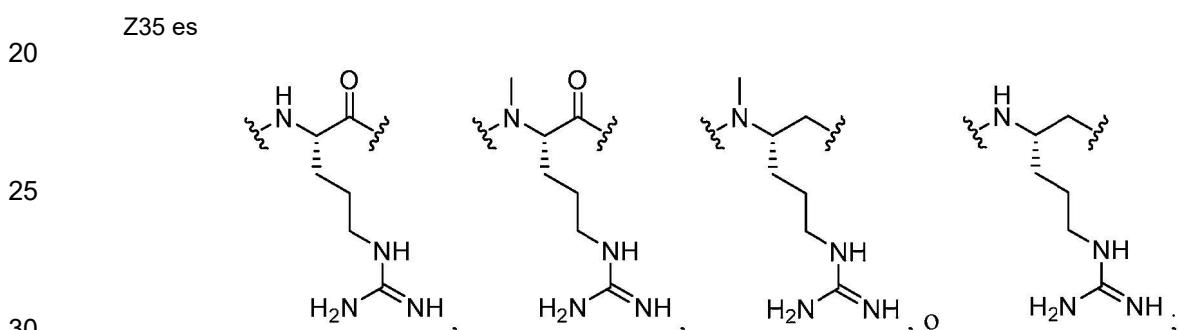
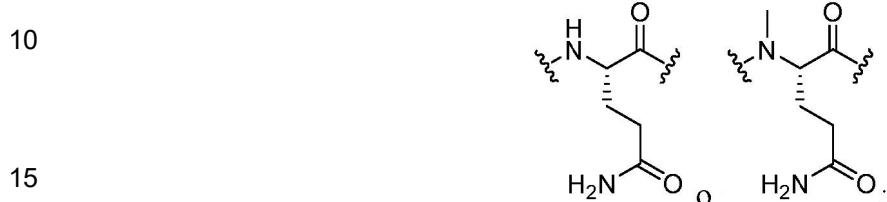
Z₄ es K, A, E, S o R;

Z₇ es A o K;

Z₉ es G o K;

Z₁₁ es D o K;

5
 Z_{22} es A o K;
 Z_{23} es S o K;
 Z_{26} es A o H;
 Z_{30} es L, W, ausente o K;
siempre que Z_{30} esté ausente sólo cuando q sea 1;
 Z_{34} es

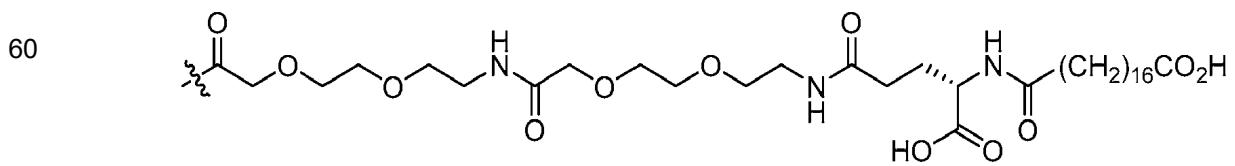
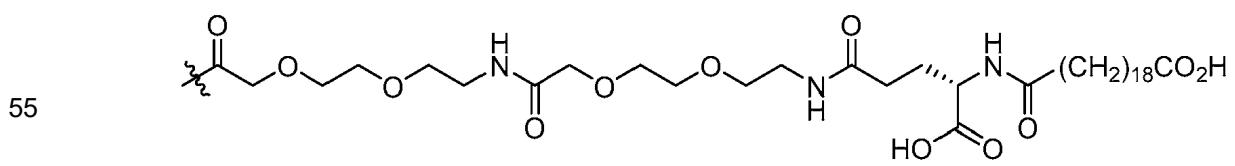


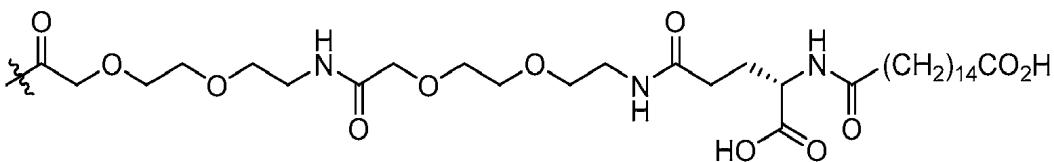
35
en donde el derivado es el compuesto de Fórmula I que se modifica mediante uno o más procesos seleccionados del grupo que consiste de amidación, glicosilación, carbamilación, sulfatación, fosforilación, ciclación, lipidación y pegilación

40 En ciertas realizaciones, el péptido PYY cíclico es un derivado del péptido PYY cíclico de Fórmula I que se modifica mediante uno o más procesos seleccionados del grupo que consiste de amidación, lipidación y pegilación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

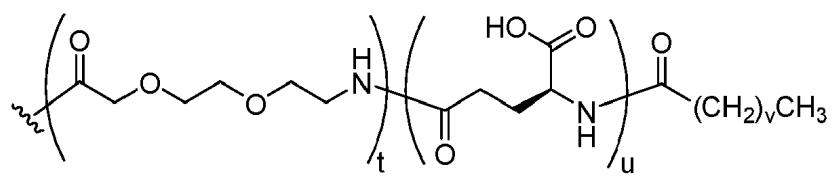
45 En ciertas realizaciones, el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o el derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

p es 0 o 1;
m es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;
n es 1, 2, 3 o 4;
q es 0 o 1; siempre que q sea 1 solo cuando Z_{30} esté ausente;
PUENTE es -Ph-CH₂-S-, -triazolil-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)-, o -CH₂S-;
 Z_4 es K, A, E, S o R;
 Z_7 es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



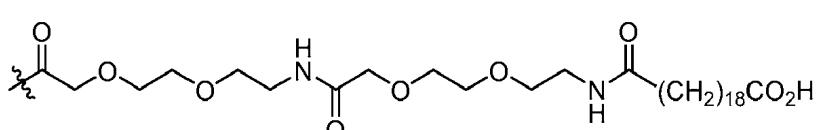
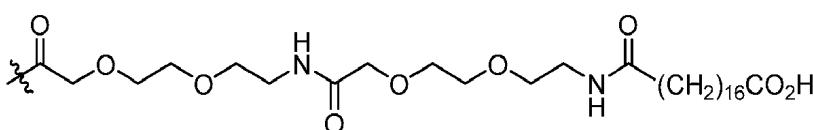
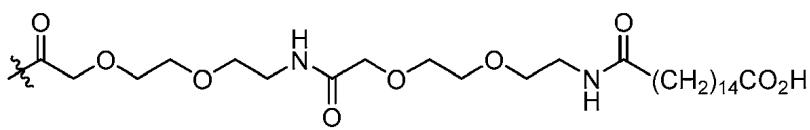
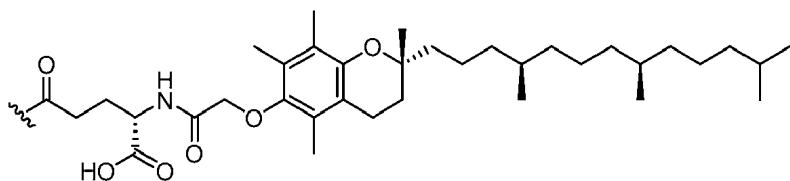
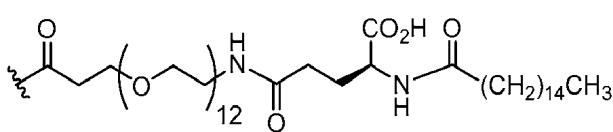
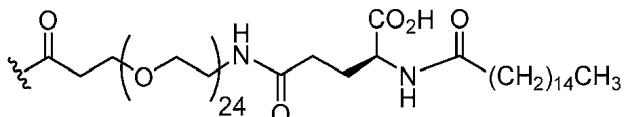


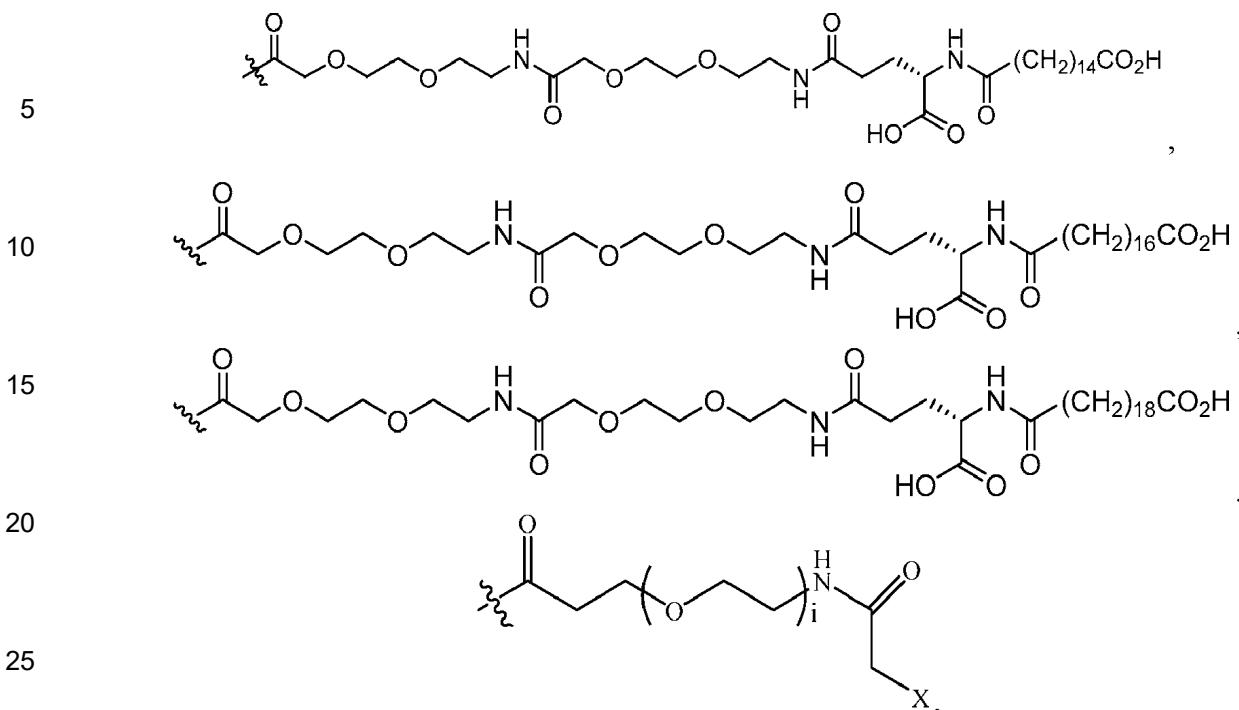
en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, $-C(O)CH_2Br$, $-C(O)CH_2I$, o $-C(O)CH_2Cl$; Z₉ es G o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



en donde t es 0, 1 o 2;

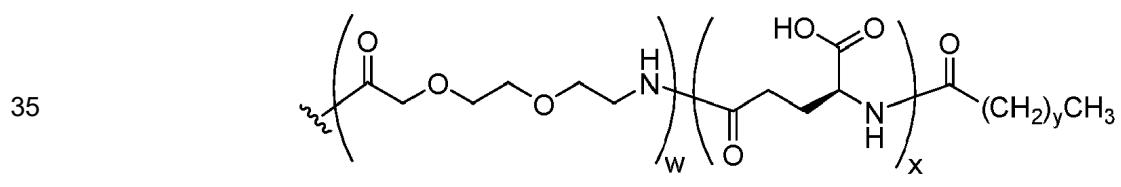
u es 0 o 1; y
 v es 14, 16 o 18;





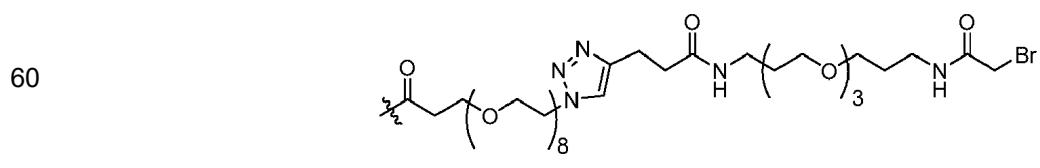
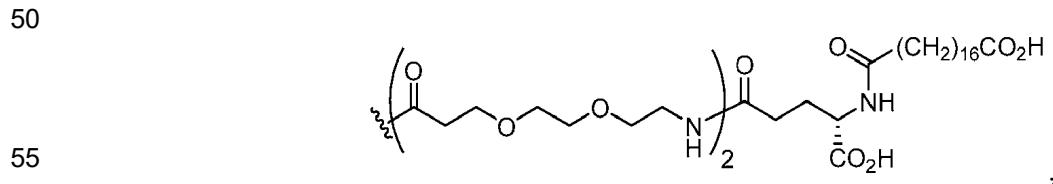
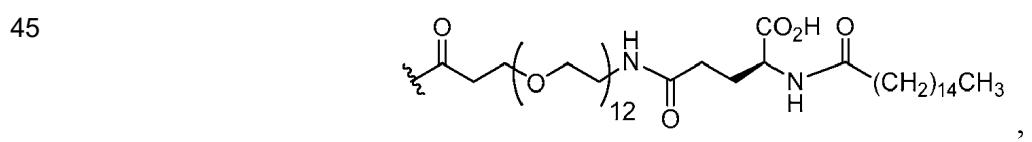
en donde i es un número entero de 0 a 24, y $X = \text{Br}$, I o Cl , $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I}$, o $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$;

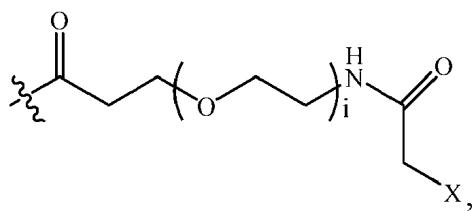
30 Z_{11} es D o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



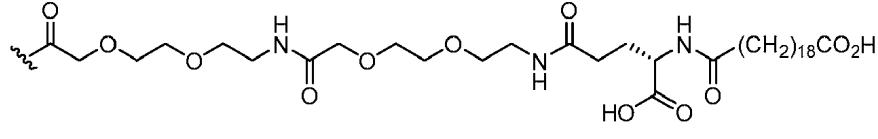
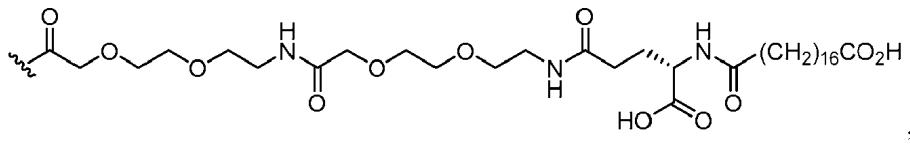
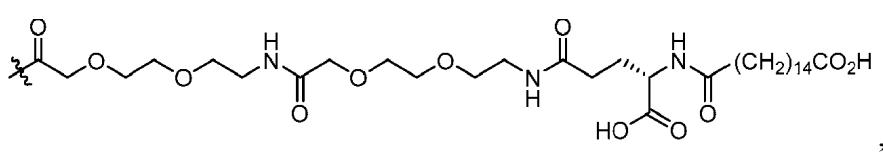
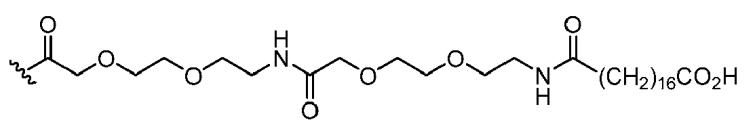
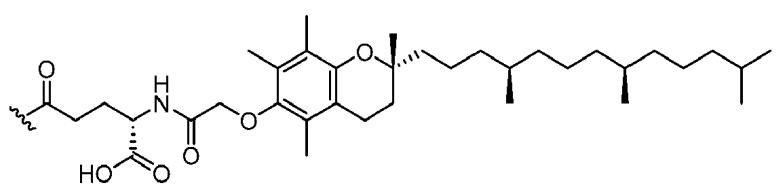
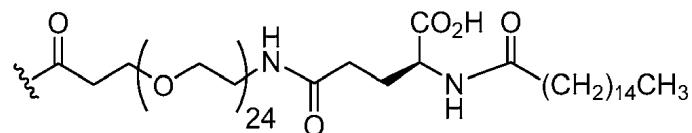
40 en donde w es 0, 1, 2 o 4;

x es 0 o 1; y
y es 14, 16 o 18;



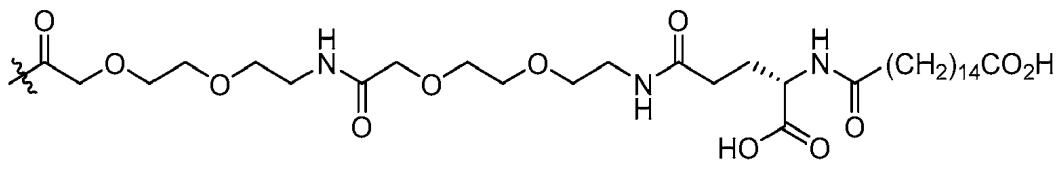


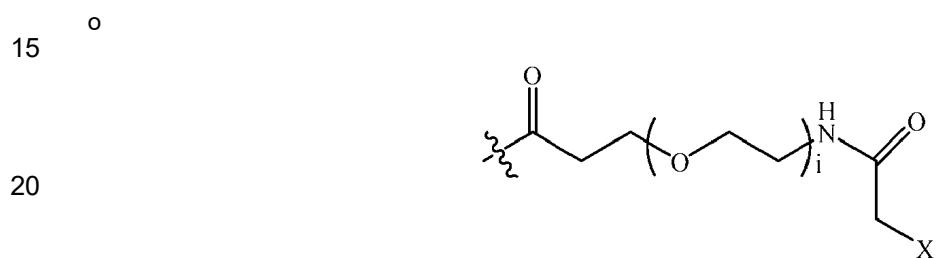
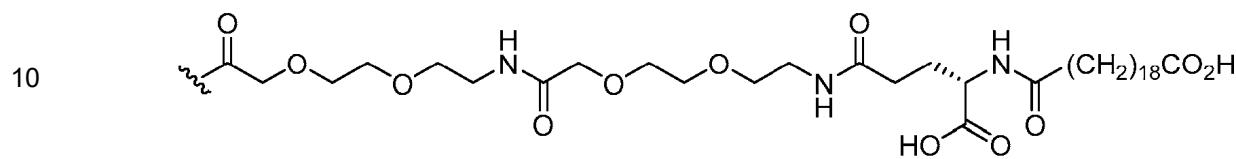
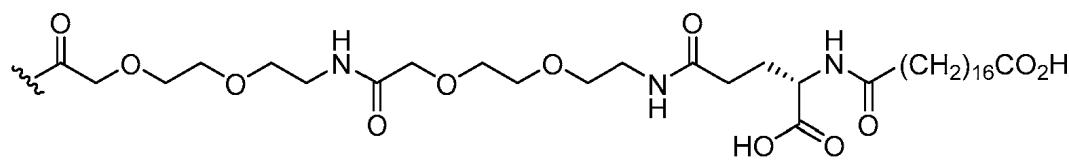
10 en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl,



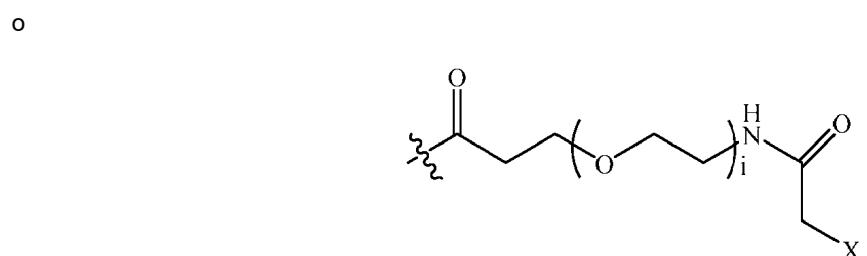
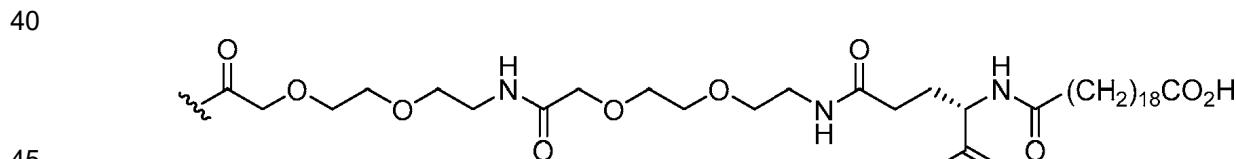
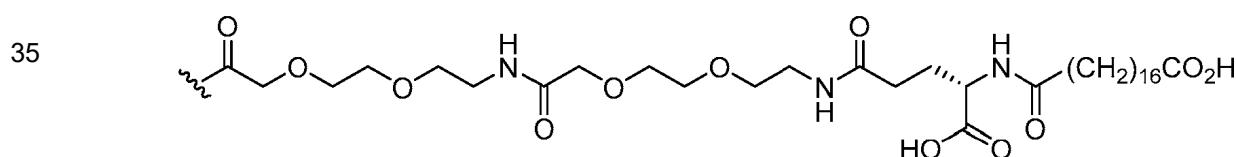
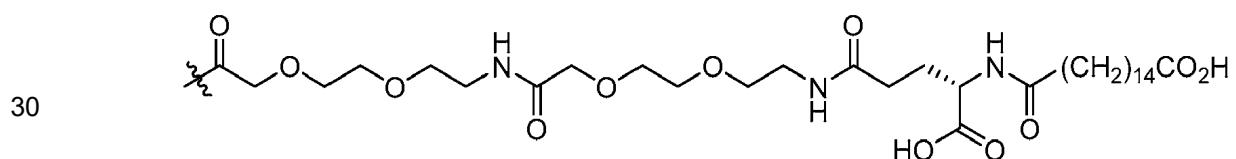
50 -C(O)CH₂I, -C(O)CH₂Cl o -C(O)CH₂Br;

Z₂₂ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con

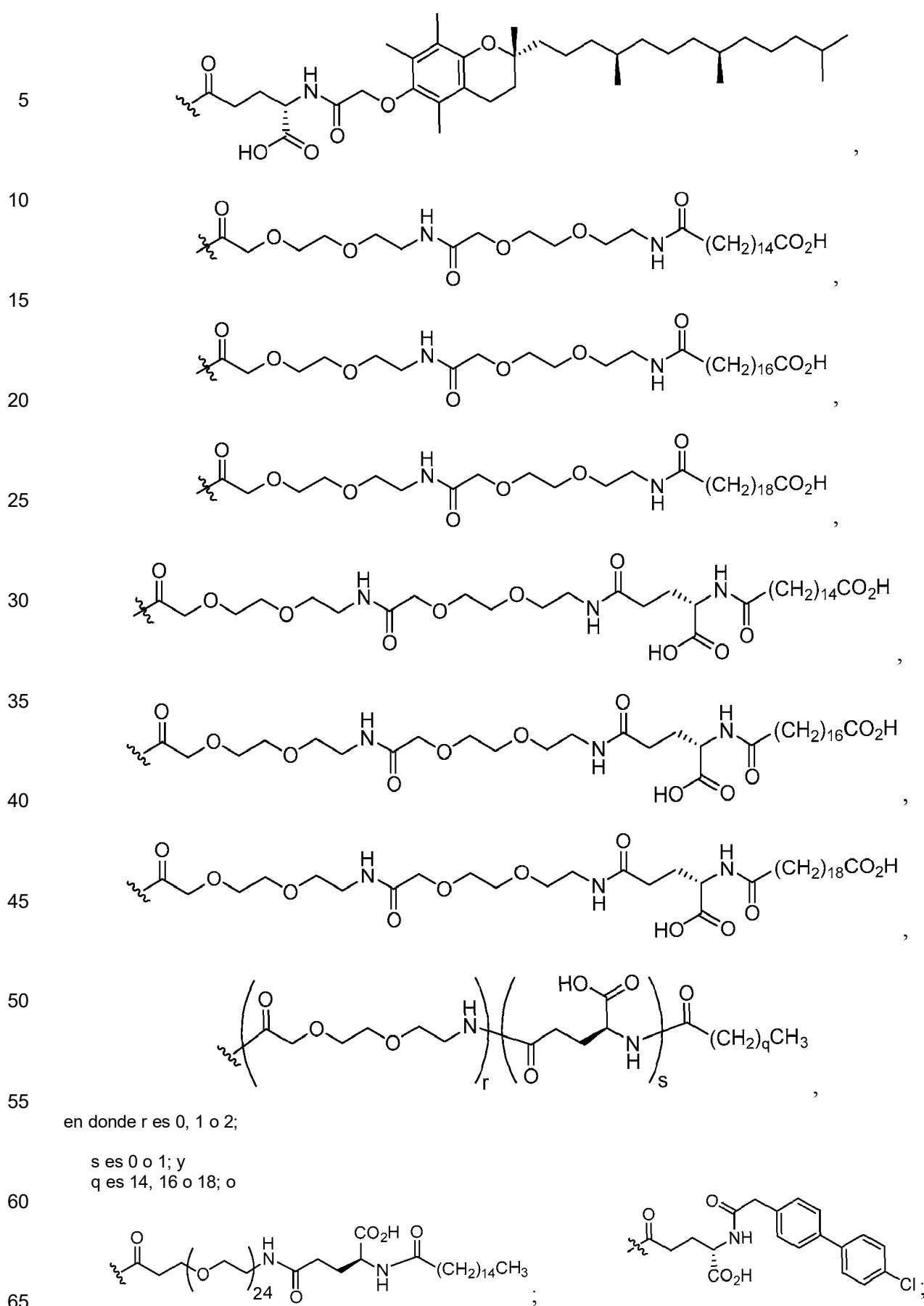


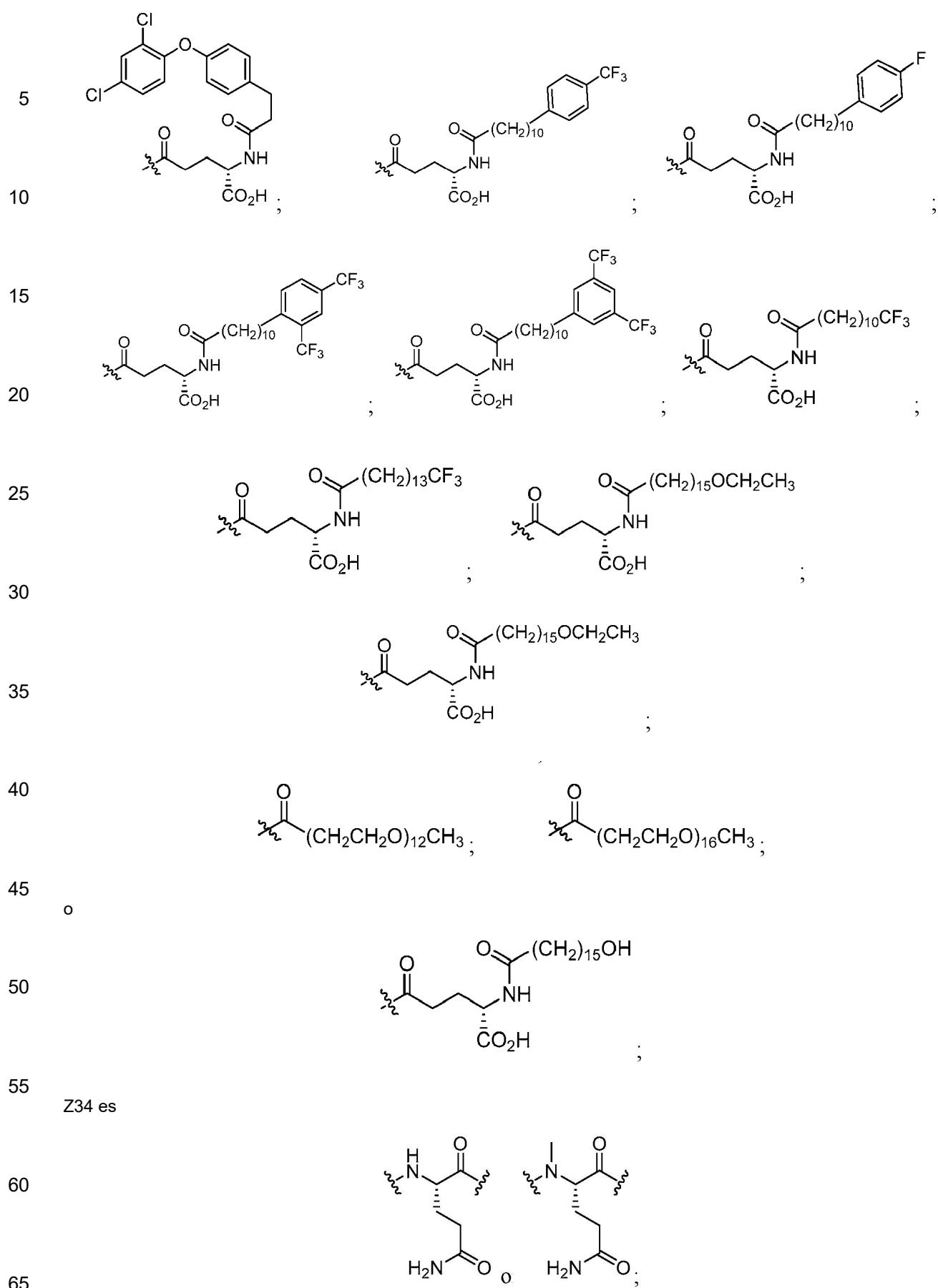


25 en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl; Z₂₃ es S o K; en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con

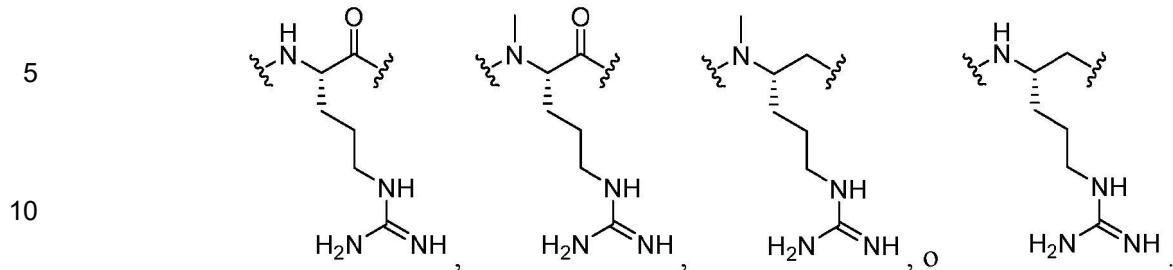


en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl; Z₂₆ es A o H; Z₃₀ es L, W, ausente o K, siempre que Z₃₀ esté ausente solo cuando q sea 1, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con





Z35 es



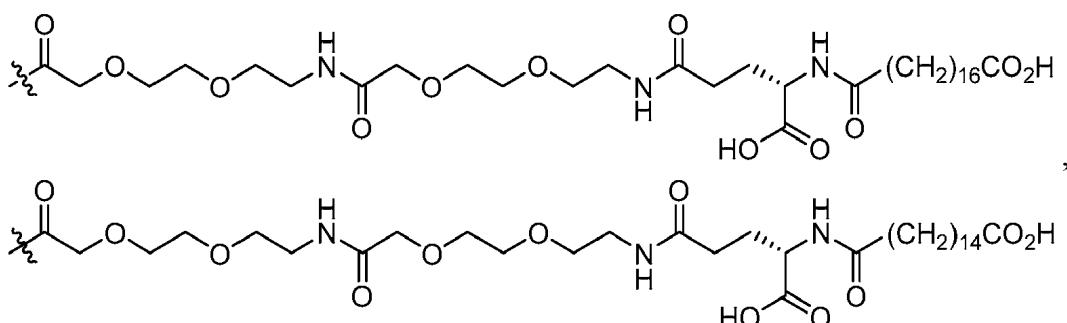
En ciertas realizaciones, el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o el derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

p es 0 o 1;
 m es 0, 1, 2, 3 o 5;
 n es 1, 2 o 4;

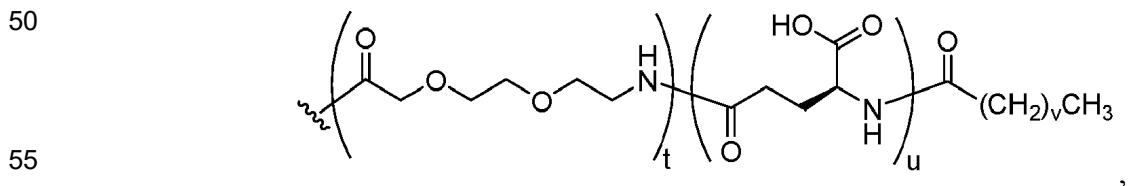
q es 0 o 1; siempre que q sea 1 solo cuando Z₃₀ esté ausente;
 PUENTE es -Ph-CH₂-S-, -triazolil-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)-, o CH₂S-;

Z_4 es K, A, E, S o R;

Z₇ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



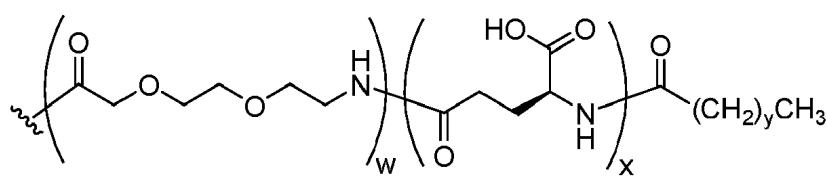
Z_9 es G o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



en donde t es 0;

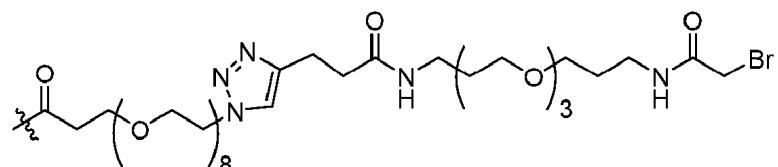
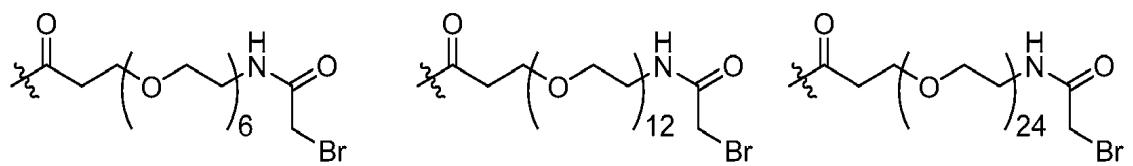
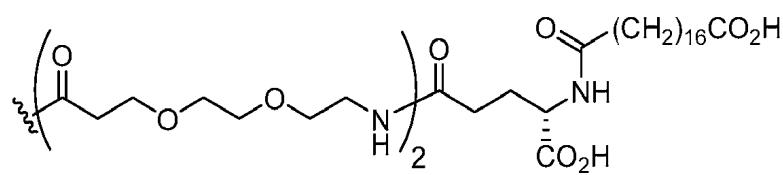
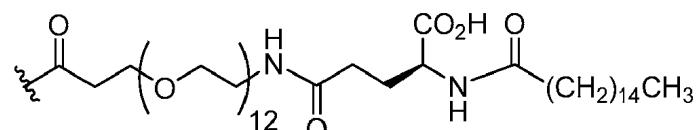
60 u es 1; y
v es 14;

Z_{11} es D o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con

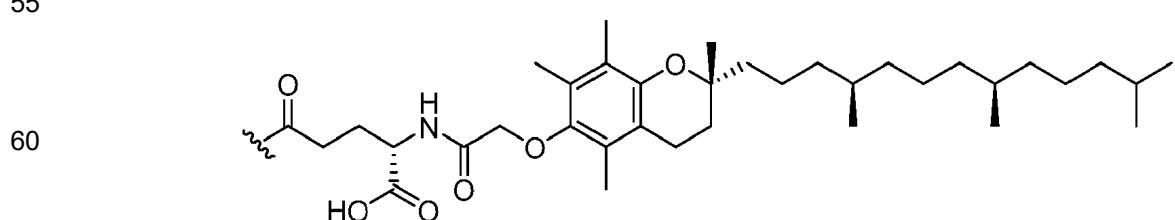
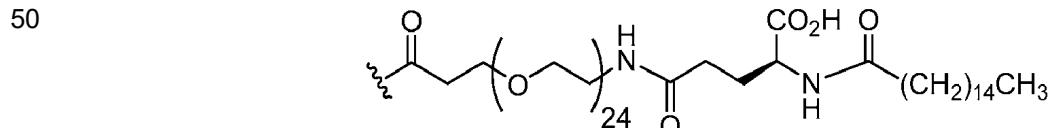
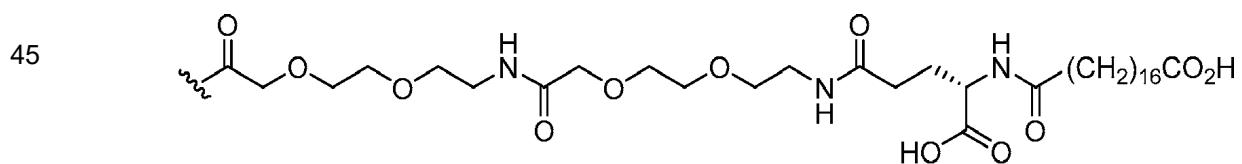


en donde w es 0 o 4;

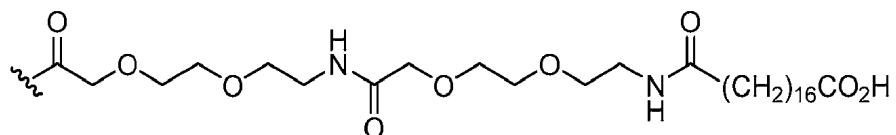
10 x es 1; y
y es 14;



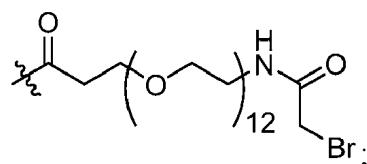
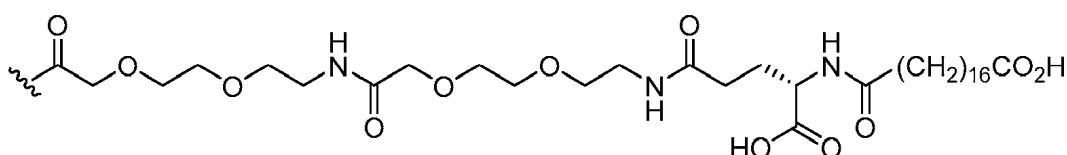
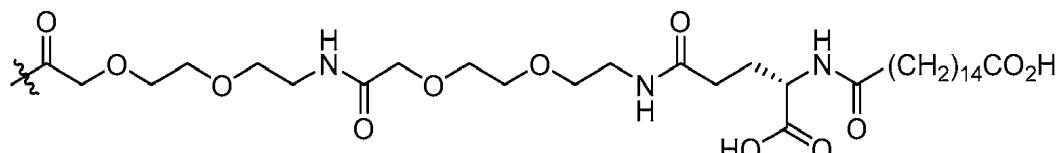
-C(O)CH₂Br,



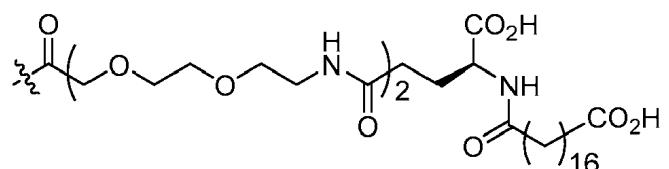
65



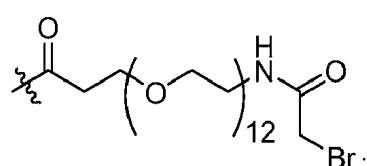
Z₂₂ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



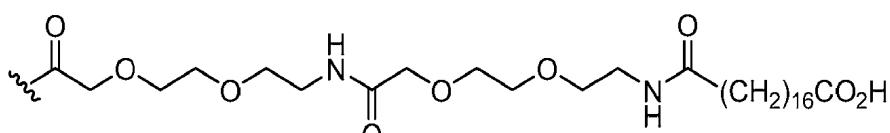
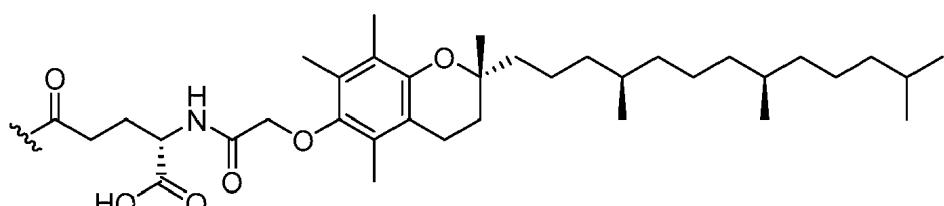
Z₂₃ es S o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con

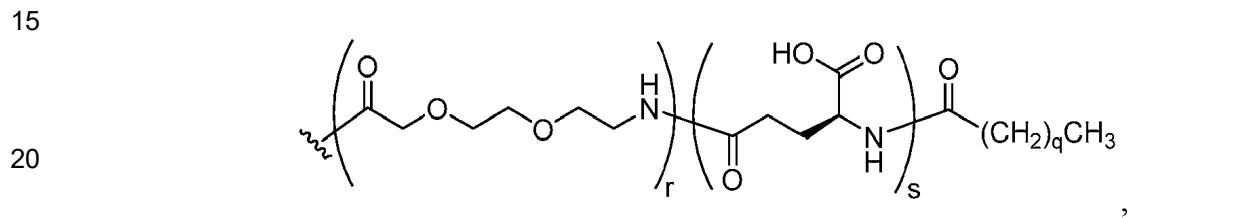
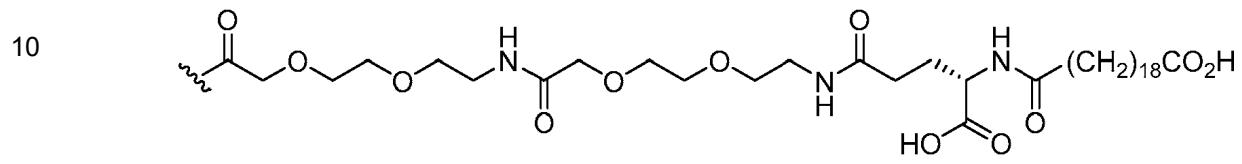
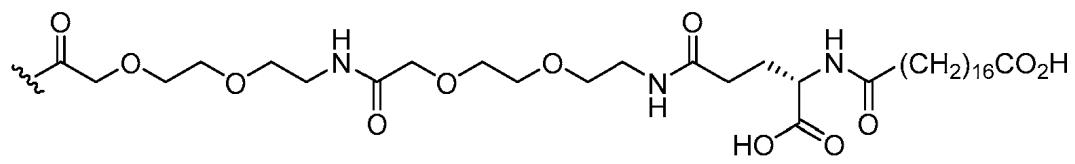


o

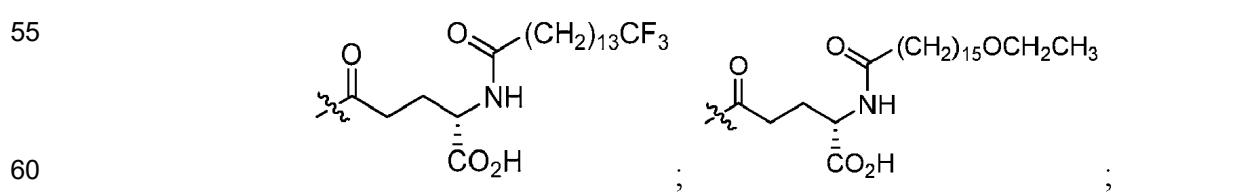
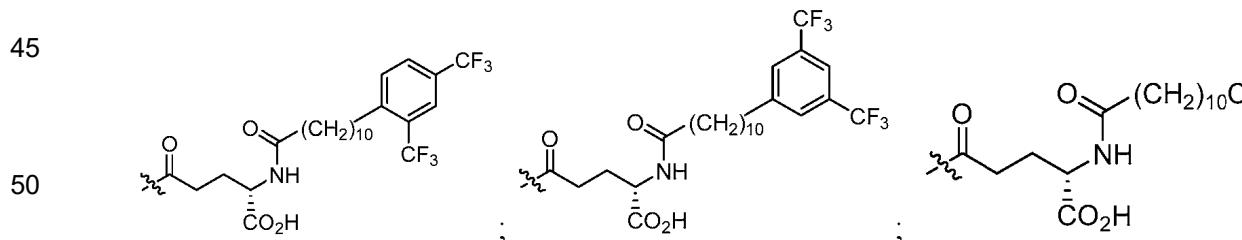
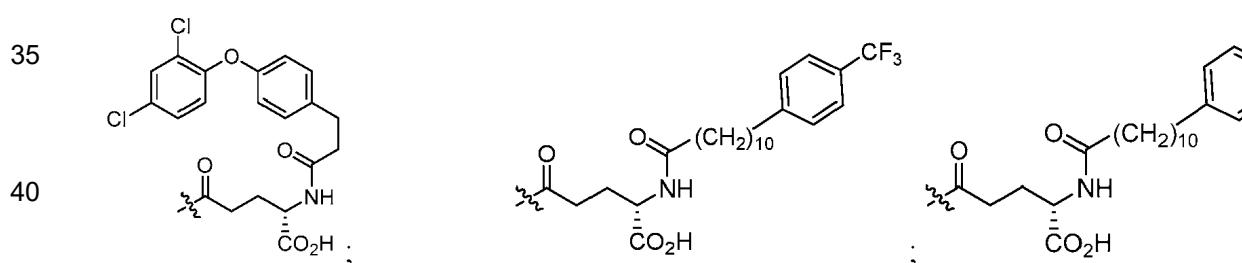
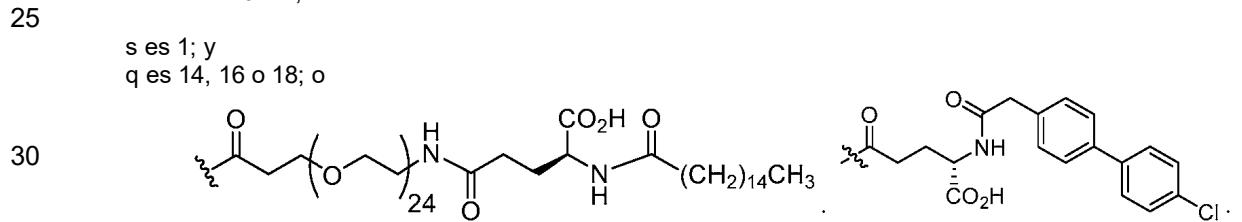


50 Z₂₆ es A o H;
Z₃₀ es L o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con

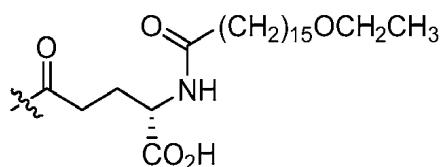




en donde r es 0 o 2;



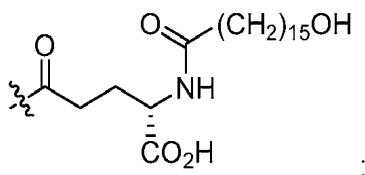
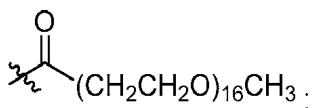
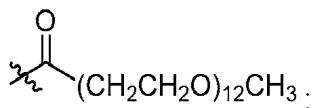
5



;

10

15

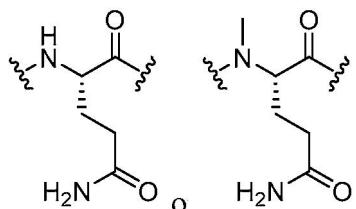


;

 Z_{34} es

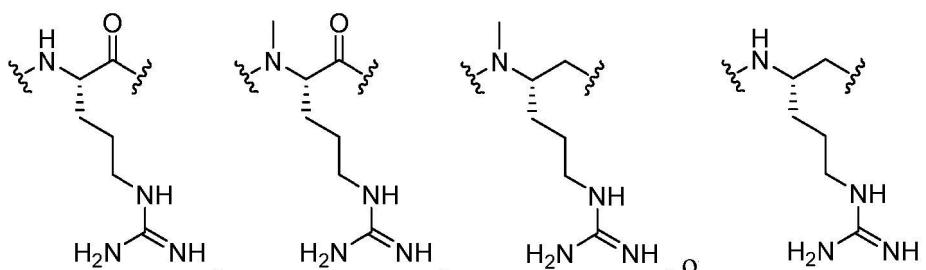
20

25

 Z_{35} es

30

35



40

45

En ciertas realizaciones, un conjugado comprende un anticuerpo monoclonal o un fragmento del mismo conjugado con un péptido PYY cíclico, en donde el péptido PYY cíclico se selecciona del grupo que consiste de las SEQ ID NO: 1-100 y las SEQ ID NO: 147-156. En una realización preferida, el conjugado comprende un anticuerpo monoclonal o un fragmento del mismo conjugado con un péptido PYY cíclico, en donde el péptido PYY cíclico se selecciona del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 1, las SEQ ID NO: 73-100 y las SEQ NO: ID: 147-156.

50

55

60

65

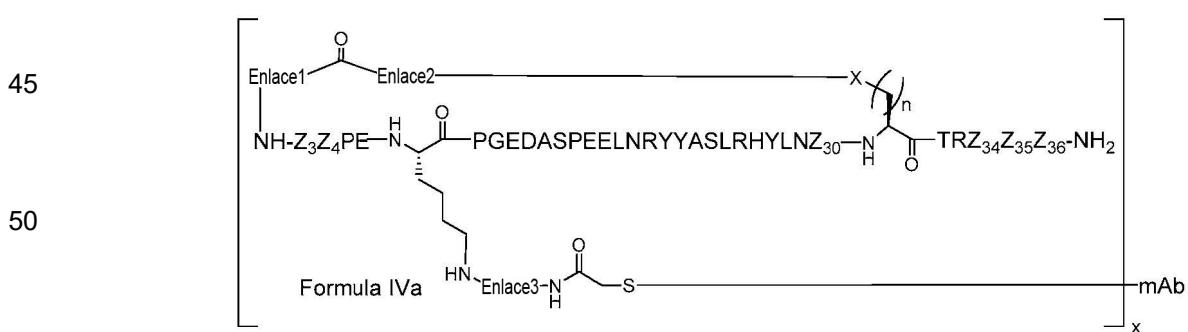
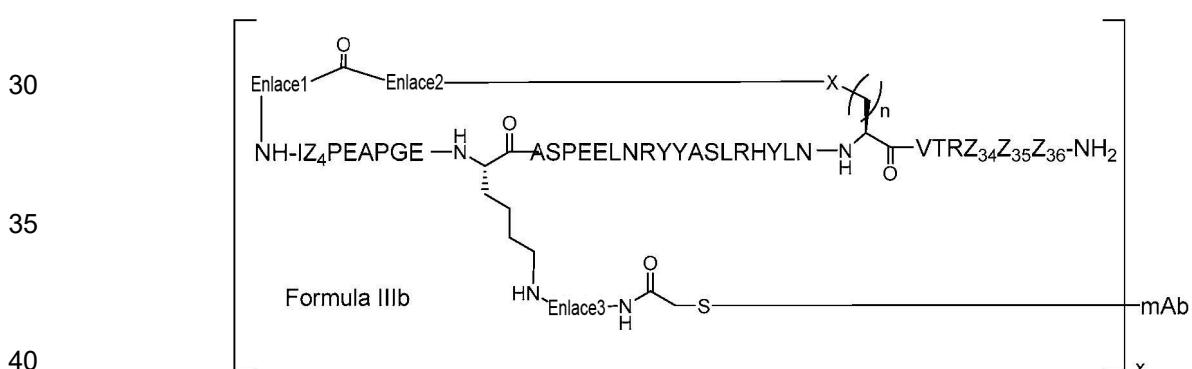
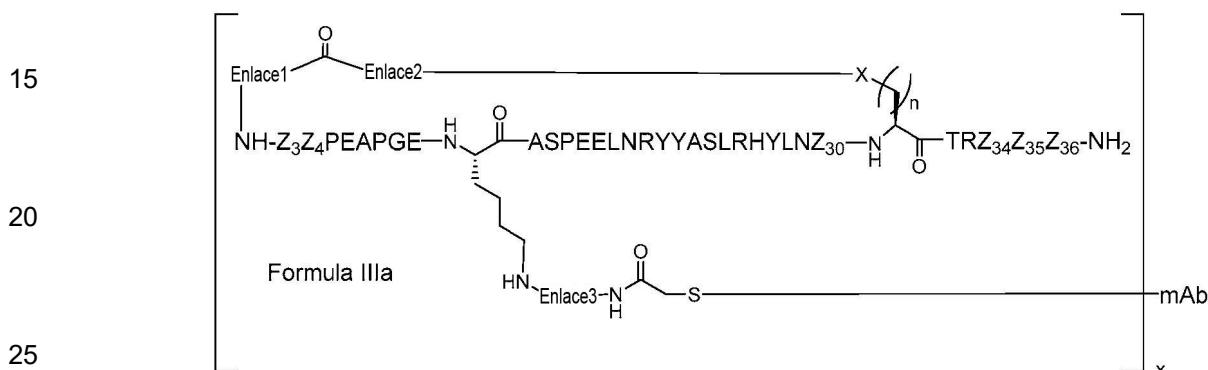
En ciertas realizaciones, un anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo está enlazado covalentemente al péptido PYY cíclico en un residuo de lisina del péptido PYY cíclico mediante un conector. El conector puede comprender, por ejemplo, un conector seleccionado del grupo que consiste de polietilenglicol (PEG)8-triazolil-CH₂CH₂CO-PEG4, una cadena de PEG de 2-24 unidades de PEG, una cadena de alquilo que contiene 2-10 átomos de carbono, (Gly₄Ser)_j en donde j = 1-4, (AlaPro)_u en donde u = 1-10, o un enlace.

Un anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una realización de la invención puede conjugarse con un péptido PYY cíclico en una o más posiciones de aminoácidos del PYY cíclico, como el residuo de aminoácido 4, 7, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 30 o 31 del PYY usando métodos conocidos en la técnica. La numeración de los residuos de aminoácidos sigue a la de hPYY₃₋₃₆. En ciertas realizaciones, solo uno de Z₇, Z₉, Z₁₁, Z₂₂ y Z₂₃ en la Fórmula I es lisina, y la lisina está enlazada covalentemente a un residuo de cisteína manipulado del anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo a través del conector. En una realización preferida, un anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una realización de la invención se conjuga con un péptido PYY cíclico en el residuo 11 del PYY cíclico. En otra realización preferida, se introduce un electrófilo, como bromoacetamida o maleimida, en una cadena lateral de un PYY cíclico, como la cadena lateral amino de una lisina en el residuo 11 del PYY cíclico, y el electrófilo reacciona en el sitio específicamente con el grupo sulfhidrilo del residuo Cys manipulado en una CDR, preferiblemente HCDR3, del anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo, creando de este modo un enlace covalente entre el péptido PYY cíclico y el anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo. Más

preferiblemente, el péptido PYY cíclico se selecciona del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 1, las SEQ ID NO: 73-100 y las SEQ ID NO: 147-156. En una realización, el electrófilo se introduce directamente en la cadena lateral de un PYY cíclico. En otra realización, el electrófilo se introduce en la cadena lateral de un PYY cíclico indirectamente a través de un conector.

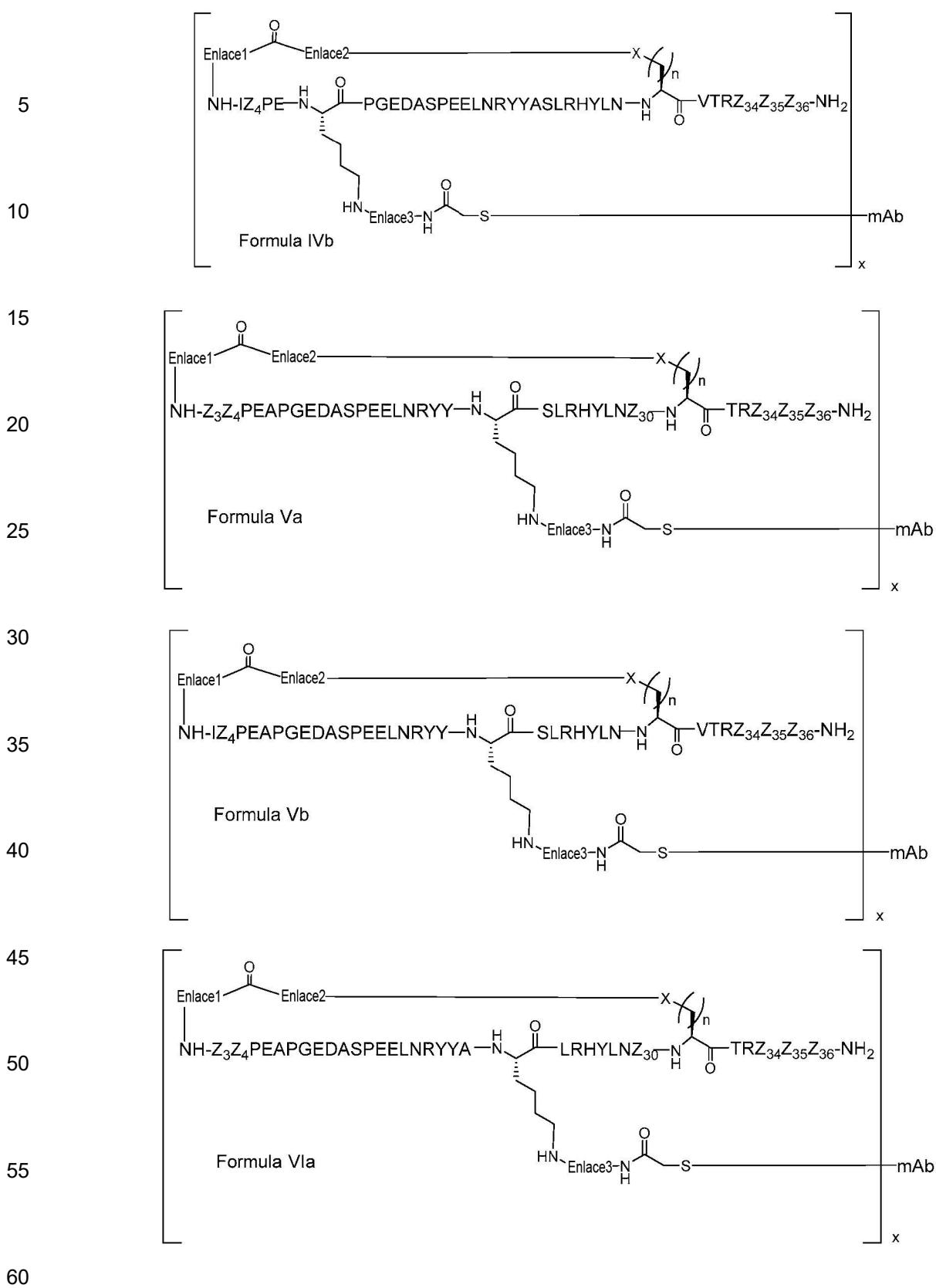
5 También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden los conjugados de la invención y que comprenden además un portador farmacéuticamente aceptable.

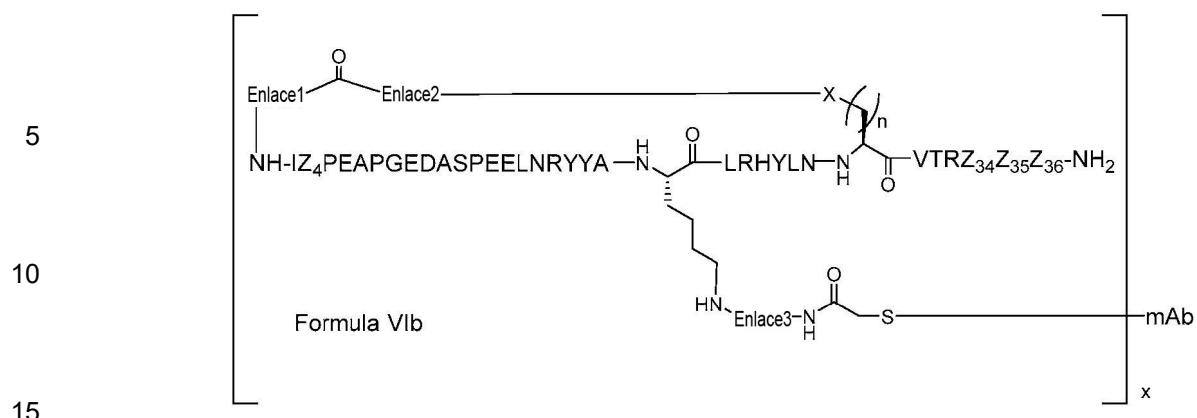
10 También se proporcionan conjugados que comprenden un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno del mismo acoplado a un péptido PYY cíclico, en donde los conjugados están representados por la Fórmula IIIa-b, IVa-b, Va-b y/o VIa-b, respectivamente.



60

65





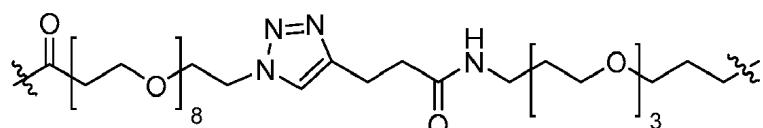
En las fórmulas IIIa-b, IVa-b, Va-b y VIa-b,

20 x puede ser, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o 6, preferiblemente 2.
el enlace 1 puede ser, por ejemplo, G, β A, -COCH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂NH-, γ -aminobutanoilo, GG, -CO(CH₂)_mSCH₂- (siempre que cuando el enlace 2 =-NH-, m=1, 2) o un enlace;
el enlace 2 puede ser, por ejemplo, -CH₂-, bencilo, etiltriazolilo, -NH- o un enlace;
n puede ser, por ejemplo, 1, 2 o 3;

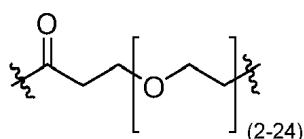
25 X puede ser, por ejemplo, -S- o -CH₂-;
Z₃ puede ser, por ejemplo, I o un enlace;
Z₄ puede ser, por ejemplo, K, S, o R;
Z₃₀ puede ser, por ejemplo, L, W, K (mPEG16) o K (mPEG12);
Z₃₄ puede ser, por ejemplo, Q, en donde dicho Q está opcionalmente N-metilado en el nitrógeno de alfa-amida;

30 Z₃₅ puede ser, por ejemplo, R, en donde dicho R está opcionalmente N-metilado en el nitrógeno de alfa-amida, o R está descarbonilado dando como resultado un enlace psi-(Z₃₅Z₃₆) amida, o R está tanto N-metilado en el nitrógeno de alfa-amida y descarbonilado dando como resultado un enlace psi-(Z₃₅Z₃₆) amida;
Z₃₆ puede ser, por ejemplo, Y (Tyr), Cha (β -ciclohexilalanina), Aic (ácido 2-aminoindano-2-carboxílico) o F (Phe), en donde dicho F está opcionalmente para-sustituido con fluoro (4-F-Phe), cloro (4-Cl-Phe), Bromo (4-Br-Phe), yodo (4-I-Phe), amino (4-NH₂-Phe); y

35 el enlace 3 puede comprender, por ejemplo, cualquiera de las siguientes amidaciones de la cadena lateral de lisina: (PEG)₈-triazolil-CH₂CH₂CO-PEG4 (incluyendo



), una cadena PEG de 2-24 unidades de PEG (incluyendo



), una cadena de alquilo que contiene 2-10 átomos de carbono (incluyendo

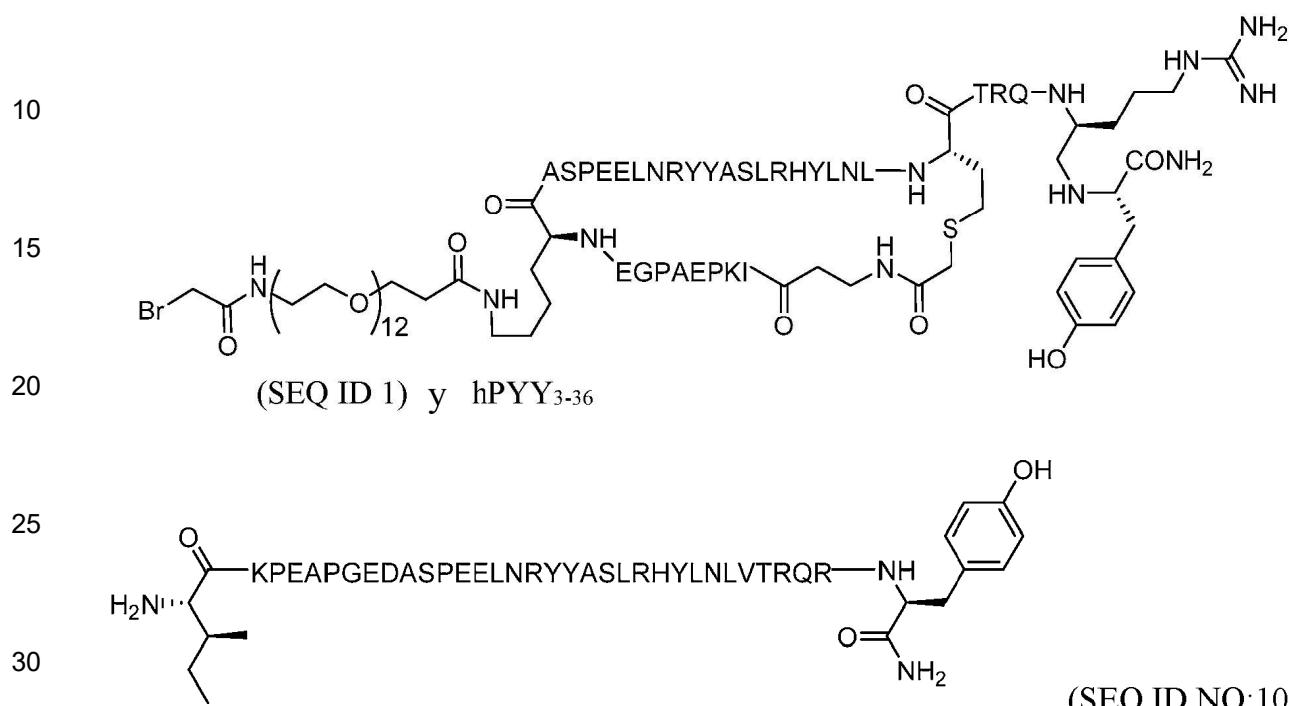


), (Gly_jSer)_i en donde $j = 1-4$, (AlaPro_u)_i donde $u = 1-10$, o-NH-Enlace 3- puede ser reemplazado por un enlace.

60 También se proporciona un conjugado que comprende un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno del mismo (mAb) acoplado a un péptido PYY cíclico (cPYY) mediante un conector (L): cPYY-L₂-mAb, en donde el conjugado comprende una secuencia PYY cíclica seleccionada del grupo que consiste de las SEQ ID NO: 102-127 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el mAb representa un anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una realización de la invención, y L₂ representa que 1 o 2 del péptido PYY cíclico se coniuga covalentemente con el mAb.

65

También se proporcionan en la presente análogos cíclicos N-terminales a la cadena lateral de PYY que muestran por lo menos un 70%, 75% 80%, 85%, 90%, 95% o 99% de identidad de secuencia con PYY₃₋₃₆ humano (hPYY₃₋₃₆). Como ejemplo de un método para la determinación de la identidad de secuencia entre dos análogos, los dos péptidos



están alineados. La identidad de secuencia del análogo con respecto a hPYY₍₃₋₃₆₎ viene dada por el número total de residuos alineados menos el número de residuos diferentes (es decir, el número de residuos idénticos alineados) dividido por el número total de residuos en hPYY₃₋₃₆. En este ejemplo, los diferentes residuos son D11 que se ha intercambiado por un K11 sustituido, seguido de V31 que se ha intercambiado por hC31, y finalmente R35 se ha descarbonilado. Por consiguiente, en dicho ejemplo la identidad de secuencia es (34-3)/34 X 100.

40 Péptidos PYY cílicos

PYY₃₋₃₆ es una hormona endógena secretada por las células L en el intestino distal que actúa como agonista del receptor Y2 para inhibir la ingesta de alimentos. Dado su papel en el control del apetito y la ingesta de alimentos, así como sus efectos antisecretores y proabsorbentes en el tracto gastrointestinal de los mamíferos, PYY₃₋₃₆ puede ser eficaz en el tratamiento de la obesidad y afecciones asociadas, así como en una serie de trastornos gastrointestinales. Sin embargo, la utilidad terapéutica del propio PYY₃₋₃₆ como agente de tratamiento está limitada por su rápido metabolismo y su corta vida media circulante. Por tanto, la presente invención se dirige generalmente a conjugados de PYY₃₋₃₆ modificados, que prolongan la vida media del péptido PYY₃₋₃₆ y reduce el metabolismo del péptido *in vivo*.

50 En ciertas realizaciones de la invención, los péptidos PYY₃₋₃₆ modificados son péptidos PYY cílicos. Los términos "péptido PYY cílico", "análogo de PYY₃₋₃₆ cílico" y "análogo de péptido PYY₃₋₃₆ cílico" pueden usarse de manera intercambiable. Ejemplos de péptidos PYY cílicos que pueden usarse en los conjugados se describen en la Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 62/413.613, presentada el 27 de octubre de 2016 y la Solicitud de Patente de Estados Unidos titulada "Cyclic peptide tyrosine tyrosine compounds as modulators of neuropeptide receptors", presentada el mismo día que esta solicitud con el número de expediente del representante PRD3411.

55 Como se usa en la presente, se pretende que el término "NTSC-PYY" describa análogos cílicos N-terminales a la cadena lateral de PYY.

60 Las secuencias de péptidos descritas en la presente se escriben de acuerdo con la convención habitual en la que la región N-terminal del péptido está a la izquierda y la región C-terminal está a la derecha. Aunque se conocen formas isoméricas de los aminoácidos, es la forma L del aminoácido la que se representa a menos que se indique expresamente lo contrario. Por conveniencia al describir las moléculas de esta invención, se usan abreviaturas convencionales y no convencionales para varios aminoácidos (códigos tanto de una sola como de tres letras) y fracciones funcionales. Estas abreviaturas son familiares para los expertos en la técnica, pero para mayor

claridad se enumeran a continuación: A = Ala = alanina; R = Arg = arginina; N = Asn = asparagina; D = Asp = ácido aspártico; β A = β Ala = beta-alanina; C = Cys = cisteína; hC = hCys = homocisteína; E = Glu = ácido glutámico; Q = Gln = glutamina; G = Gly = glicina; H = His = histidina; I = Ile = isoleucina; L = Leu = leucina; K = Lys = lisina; Nle = norleucina; F = Phe = fenilalanina; P = Pro = prolina; S = Ser = serina; T = Thr = treonina; W = Trp = triptófano; Y = Tyr = tirosina y V = Val = valina.

Por conveniencia, la convención de numeración de residuos de aminoácidos usada para nombrar los péptidos NTSC-PYY de la presente invención sigue la de hPYY₃₋₃₆. Los reemplazos de aminoácidos específicos que se han introducido en los péptidos NTSC-PYY, con respecto a los residuos nativos en las posiciones correspondientes en hPYY₃₋₃₆, se indican mediante el código de aminoácidos apropiado, seguido de la posición de la sustitución. Por tanto, "S4" en el péptido NTSC-PYY se refiere a un péptido en el que la serina ha reemplazado al residuo de lys4 nativo correspondiente de hPYY₃₋₃₆. De manera similar, "hC31" en el péptido NTSC-PYY se refiere a un péptido en el que la homocisteína ha reemplazado al residuo val31 nativo correspondiente de hPYY₃₋₃₆. Los reemplazos de aminoácidos adicionales que se producen dentro de los péptidos NTSC-PYY se describen de acuerdo con esta convención y serán reconocidos como tales por un experto en la técnica.

También por conveniencia, la convención de nomenclatura usada para los péptidos NTSC-PYY de la presente invención incorpora los residuos amino implicados en el ciclo junto con el grupo o grupos de enlace entre ellos en una dirección de izquierda a derecha, comenzando desde el residuo N-terminal implicado en el ciclo. En todos los casos, el residuo de aminoácido N-terminal del ciclo se une mediante su funcionalidad α -amino al grupo de enlace, que a su vez se conecta con el residuo de la cadena lateral del aminoácido en la posición 31 del péptido NTSC-PYY. Por lo tanto, "ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31)" se usa para describir el ciclo de un péptido NTSC-PYY en el que la funcionalidad α -amino de Ile3 se acila con un residuo de ácido *meta-toluico*, cuyo grupo metilo está enlazado adicionalmente por medio de un enlace tioéter a la cadena lateral de un residuo hCys31. De manera similar, "ciclo-(K4-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31)" se usa para describir el ciclo de un péptido NTSC-PYY, en el que se ha eliminado el residuo Ile3 nativo y cuya funcionalidad α -amino (ahora N-terminal) de lys4 está acilada por un grupo 3-acetamidopropanoilo, cuyo carbono acetamido metíleno está conectado a la cadena lateral de un residuo hCys31 por medio de un enlace tioéter.

Pueden incorporarse residuos de lisina en varias posiciones de la secuencia de hPYY₃₋₃₆ para proporcionar un asa funcional conveniente para una derivatización adicional. Los residuos de lisina pueden modificarse para acoplarse al anticuerpo monoclonal ya sea directa o indirectamente. En un acoplamiento indirecto al anticuerpo monoclonal, el residuo de lisina puede modificarse para que comprenda un conector que permitirá que el péptido PYY cíclico se acople al anticuerpo monoclonal. Un experto en la técnica reconocerá que los ortólogos relacionados también podrían emplearse eficazmente como tales y se contemplan en la presente.

El término "K(γ -Glu)", que aparece en la secuencia del péptido, representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ϵ -amino de la cadena lateral ha sido acilado por el grupo γ -carboxilo del ácido glutámico.

El término "K(γ -Glu-Pal (palmitoilo))" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ϵ -amino de la cadena lateral ha sido acilado por el grupo γ -carboxilo del ácido N-hexadecan-1-oilglutámico.

El término "K (γ -Glu-Stear (estearoilo))" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ϵ -amino de la cadena lateral ha sido acilado por el grupo γ -carboxilo del ácido N-octadecan-1-oilglutámico.

El término "K (γ -Glu-Arach (araquidoilo))" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ϵ -amino de la cadena lateral ha sido acilado por el grupo γ -carboxilo del ácido N-dodecan-1-oilglutámico.

El término "K (OEG) (8-amino-3,6-dioxaoctanoilo)" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ϵ -amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico.

El término "(OEG)₂" representa dos unidades de OEG enlazadas entre sí en sucesión mediante un enlace amida (es decir, ácido 17-amino-10-oxo-3,6,12,15-tetraoxa-9-azaheptadecanoico).

El término "K(OEG)₂" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ϵ -amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido 17-amino-10-oxo-3,6,12,15-tetraoxa-9-azaheptadecanoico.

El término "K((OEG)₂- γ -Glu" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ϵ -amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido (22S)-22-amino-10,19-dioxo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazatricosanodioico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

El término, "K((OEG)₂- γ -Glu-Stear)" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ϵ -amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido (22S)-10,19-dioxo-22-estearamido-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazatricosanodioico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

El término, "K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ε-amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido (21S)-9,18,23-trioxo-2,5,11,14-tetraoxa-8,17,22-triazanonatriacontano-1,21,39-tricarboxílico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

5 De manera similar, el término "K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₈CO₂H)" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ε-amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido (21S)-9,18,23-trioxo-2,5,11,14-tetraoxa-8,17,22-triazahentetracontano-1,21,41-tricarboxílico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

10 El término, "K((OEG)₂-COC₁₆CO₂H)" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ε-amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido 10,19-dioxo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazahexatriacontanodioico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

15 El término "K(PEG24-AcBr)" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ε-amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido N-bromoacetil-75-amino-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73-tetracosaoxapentaheptacontanoico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

20 El término "K(PEG12-AcBr)" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ε-amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido N-bromoacetil-39-amino-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37-dodecaoxanonatriacontanoico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

25 El término "K(PEG6-AcBr)" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ε-amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido N-bromoacetil-3-[17-amino-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadec-1-il)oxi]-propanoico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

30 El término "K(PEG8-triazolil-CH₂CH₂CO-PEG4-AcBr)" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ε-amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido 27-[4-[2-[3-[2-[3-(N-bromoacetilamino)propoxi]etoxi]etoxi]propilaminocarbonil]etil]tetrazol-1-il]-4,7,10,13,16,19,22,25-octaoxaheptacosanoico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

35 El término "K(mPEG16)" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ε-amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido 4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49-hexadecaoxapentacontanoico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

40 El término "K(mPEG12)" representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ε-amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido 4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37-dodecaoxoctatriacontanoico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

45 El término "VitE" representa una unidad de α-tocoferolilo en la molécula.

40 El término "AcVitE" representa una unidad de α-tocoferolilo cuyo grupo fenólico lleva una funcionalidad metilenilcarboxi enlazada a éter.

45 El término K-γ-Glu-AcVitE "representa un residuo de lisinilo cuyo grupo ε-amino de la cadena lateral ha sido acilado por ácido (2-(((2R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il)oxi)acetil)-L-glutámico a través de su funcionalidad de ácido γ-carboxílico.

50 Muchos de los compuestos/conjugados de la presente invención incorporan un enlace amida reducido entre el residuo C-terminal de la secuencia, Y36, y su residuo adyacente, R35. Este enlace amida reducido está representado por el término "psi-(R35, Y36)".

55 Varios residuos de aminoácidos que comprenden ciertas secuencias de la presente invención contienen grupos α-amino que han sido metilados. Por tanto, los términos "N-Me-Q34" o "N-Me-R35" representan glutamina α-N-metilada en la posición 34 de una secuencia, y arginina α-N-metilada en la posición 35 de una secuencia, respectivamente.

60 El término "N-Me-Q34, psi-(R35, Y36)" en una descripción de secuencia se refiere a una secuencia que contiene tanto un residuo de α-metilglutamina en la posición 34 como un enlace amida reducido entre los residuos R35 e Y36.

65 De manera similar, el término "N-Me-R35, psi-(R35, Y36)" en una descripción de secuencia se refiere a una secuencia que contiene un residuo de α-metilarginina en la posición 35, así como un enlace amida reducido entre este residuo e Y36.

65 Fracciones que prolongan la vida media

Además del anticuerpo de la presente invención o un fragmento de unión a antígeno del mismo, los conjugados de la invención pueden incorporar una o más fracciones para extender la vida media de la fracción farmacéuticamente activa (por ejemplo, el péptido PYY cíclico), por ejemplo mediante interacción covalente. Otras fracciones ejemplares que prolongan la vida media incluyen, pero no se limitan a, albúmina, variantes de albúmina, proteínas y/o dominios de unión a albúmina, transferrina y fragmentos y análogos de los mismos. Las fracciones adicionales que prolongan la vida media que pueden incorporarse en los conjugados de la invención incluyen, por ejemplo, moléculas de polietilenglicol (PEG), como PEG5000 o PEG20.000, ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos de diferentes longitudes de cadena, por ejemplo, laurato, miristato, estearato, araquidato, behenato, oleato, araquidonato, ácido octanodioico, ácido tetradecanodioico, ácido octadecanodioico, ácido docosanodioico y similares, polilisina, octano, carbohidratos (dextrans, celulosa, oligo- o polisacáridos) para las propiedades deseadas. Estas fracciones pueden ser fusiones directas con las secuencias codificantes del andamiaje proteico y pueden generarse mediante técnicas estándar de clonación y expresión. Alternativamente, pueden usarse métodos de acoplamiento químico bien conocidos para unir las fracciones a conjugados de la invención producidos químicamente y recombinantemente.

Puede añadirse una fracción pegilo, por ejemplo, a las moléculas peptídicas de la invención incorporando un residuo de cisteína al extremo C-terminal de la molécula y uniendo un grupo pegilo a la cisteína usando métodos bien conocidos.

Las moléculas de péptidos de la invención que incorporan fracciones adicionales pueden compararse en cuanto a funcionalidad mediante varios ensayos bien conocidos. Por ejemplo, las actividades biológicas o farmacocinéticas de un péptido terapéutico de interés, solo o en un conjugado de acuerdo con la invención, pueden probarse usando ensayos *in vitro* o *in vivo* conocidos y compararse.

Composiciones farmacéuticas

En otro aspecto general, la invención se refiere a una composición farmacéutica, que comprende los conjugados y compuestos de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable. El término "composición farmacéutica" como se usa en la presente significa un producto que comprende un conjugado de la invención junto con un portador farmacéuticamente aceptable. Los conjugados y compuestos de la invención y las composiciones que los comprenden también son útiles en la fabricación de un medicamento para aplicaciones terapéuticas mencionadas en la presente.

Como se usa en la presente, el término "portador" se refiere a cualquier excipiente, diluyente, carga, sal, tampón, estabilizante, solubilizante, aceite, lípido, vesícula que contiene lípidos, microesferas, encapsulación liposomal u otro material bien conocido en la técnica para su uso en formulaciones farmacéuticas. Se entenderá que las características del portador, excipiente o diluyente dependerán de la vía de administración para una aplicación particular. Como se usa en la presente, el término "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material no tóxico que no interfiere con la eficacia de una composición de acuerdo con la invención o la actividad biológica de una composición de acuerdo con la invención. De acuerdo con realizaciones particulares, a la vista de la presente divulgación, en la invención puede usarse cualquier portador farmacéuticamente aceptable para su uso en una composición farmacéutica de anticuerpos.

Las sales ácidas/aniómicas farmacéuticamente aceptables para su uso en la invención incluyen, y no se limitan a, acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bitartrato, bromuro, edetato de calcio, camsilato, carbonato, cloruro, citrato, diclorhidrato, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, glicceptato, gluconato, glutamato, glicollarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaftoato, yoduro, isetonato, lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, pamoato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, tanato, tartrato, teoclato, tosilato y trietioduro. Los ácidos orgánicos o inorgánicos también incluyen, pero no se limitan a, ácido yodhídrico, perclórico, sulfúrico, fosfórico, propiónico, glicólico, metanosulfónico, hidroxietanosulfónico, óxalico, 2-naftalenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclohexanosulfámico, sacárico o trifluoroacético.

Las sales básicas/catiómicas farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, aluminio, 2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol (también conocido como tris(hidroximetil)aminometano, trometano o "TRIS"), amoniaco, benzatina, t-butilamina, calcio, cloroprocaína, colina, ciclohexilamina, dietanolamina, etilendiamina, litio, L-lisina, magnesio, meglumina, N-metil-D-glucamina, piperidina, potasio, procaína, quinina, sodio, trietanolamina o zinc.

En algunas realizaciones de la invención, se proporcionan formulaciones farmacéuticas que comprenden los conjugados de la invención en una cantidad de aproximadamente 0,001 mg/ml a aproximadamente 100 mg/ml, de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml o de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 25 mg/ml. La formulación farmacéutica puede tener un pH de aproximadamente 3,0 a

aproximadamente 10, por ejemplo de aproximadamente 3 a aproximadamente 7, o de aproximadamente 5 a aproximadamente 9. La formulación puede comprender además por lo menos un ingrediente seleccionado del grupo que consiste de un sistema tampón, conservantes, agentes de tonicidad, agentes quelantes, estabilizantes y surfactantes.

5 La formulación de ingredientes farmacéuticamente activos con portadores farmacéuticamente aceptables es conocida en la técnica, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (por ejemplo, 21^a edición (2005) y cualquier edición posterior). Los ejemplos no limitativos de ingredientes adicionales incluyen: tampones, diluyentes, solventes, agentes reguladores de la tonicidad, conservantes, estabilizantes y agentes quelantes.
10 Pueden usarse uno o más portadores farmacéuticamente aceptables para formular las composiciones farmacéuticas de la invención.

15 En una realización de la invención, la composición farmacéutica es una formulación líquida. Un ejemplo preferido de una formulación líquida es una formulación acuosa, es decir, una formulación que comprende agua. La formulación líquida puede comprender una solución, una suspensión, una emulsión, una microemulsión, un gel y similares. Una formulación acuosa comprende típicamente por lo menos un 50% p/p de agua, o por lo menos un 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o por lo menos un 95% p/p de agua.

20 En una realización, la composición farmacéutica puede formularse como un inyectable que puede inyectarse, por ejemplo, mediante un dispositivo de inyección (por ejemplo, una jeringuilla o una bomba de infusión). La inyección puede administrarse por vía subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa, por ejemplo.

25 En otra realización, la composición farmacéutica es una formulación sólida, por ejemplo, una composición liofilizada o secada por pulverización, que puede usarse tal cual, o cuando el médico o el paciente añaden solventes y/o diluyentes antes de su uso. Las formas de dosificación sólidas pueden incluir comprimidos, como comprimidos y/o comprimidos recubiertos y cápsulas (por ejemplo, cápsulas de gelatina duras o blandas). La composición farmacéutica también puede estar en forma de bolsitas, grageas, polvos, gránulos, comprimidos oblongos o polvos para reconstitución, por ejemplo.

30 Las formas de dosificación pueden ser de liberación inmediata, en cuyo caso pueden comprender un portador soluble o dispersable en agua, o pueden ser de liberación retardada, liberación sostenida o liberación modificada, en cuyo caso pueden comprender polímeros insolubles en agua que regulan la tasa de disolución de la forma de dosificación en el tracto gastrointestinal.

35 En otras realizaciones, la composición farmacéutica puede administrarse por vía intranasal, intrabucal o sublingual.

40 El pH en una formulación acuosa puede estar entre pH 3 y pH 10. En una realización de la invención, el pH de la formulación es de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 9,5. En otra realización de la invención, el pH de la formulación es de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 7,0.

45 En otra realización de la invención, la composición farmacéutica comprende un tampón. Los ejemplos no limitativos de tampones incluyen: arginina, ácido aspártico, bicina, citrato, hidrogenofosfato disódico, ácido fumárico, glicina, glicilglicina, histidina, lisina, ácido maleico, ácido málico, acetato de sodio, carbonato de sodio, dihidrogenofosfato de sodio, fosfato de sodio, succinato, ácido tartárico, tricina y tris(hidroximetil)-aminometano y mezclas de los mismos. El tampón puede estar presente individualmente o en el agregado, en una concentración de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. Las composiciones farmacéuticas que comprenden cada uno de estos tampones específicos constituyen realizaciones alternativas de la invención.

50 En otra realización de la invención, la composición farmacéutica comprende un conservante. Los ejemplos no limitativos de tampones incluyen: cloruro de bencetonio, ácido benzoico, alcohol bencílico, bronopol, 4-hidroxibenzoato de butilo, clorobutanol, clorocresol, clorohexidina, clorfenesina, o-cresol, m-cresol, p-cresol, 4-hidroxibenzoato de etilo, imidurea, 4-hidroxibenzoato de metilo, fenol, 2-fenoxietanol, 2-feniletanol, 4-hidroxibenzoato de propilo, deshidroacetato de sodio, tiomerosal y mezclas de los mismos. El conservante puede estar presente individualmente o en el agregado, en una concentración de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. Las composiciones farmacéuticas que comprenden cada uno de estos conservantes específicos constituyen realizaciones alternativas de la invención.

60 En otra realización de la invención, la composición farmacéutica comprende un agente isotónico. Los ejemplos no limitativos de la realización incluyen una sal (como cloruro de sodio), un aminoácido (como glicina, histidina, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptófano y treonina), un alditol (como glicerol, 1,2-propanodiol propilenglicol), 1,3-propanodiol y 1,3-butanodiol), polietilenglicol (por ejemplo, PEG400) y mezclas de los mismos. Otro ejemplo de un agente isotónico incluye un azúcar. Los ejemplos no limitativos de azúcares pueden ser mono-,
65

di- o polisacáridos, o glucanos solubles en agua que incluyen, por ejemplo, fructosa, glucosa, manosa, sorbosa, xilosa, maltosa, lactosa, sacarosa, trehalosa, dextrano, pululano, dextrina, ciclodextrina, alfa y beta-HPCD, almidón soluble, almidón de hidroxietilo y carboximetilcelulosa de sodio. Otro ejemplo de un agente isotónico es un alcohol de azúcar, en el que el término "alcohol de azúcar" se define como un hidrocarburo C(4-8) que tiene por lo menos un grupo -OH. Los ejemplos no limitativos de alcoholes de azúcar incluyen manitol, sorbitol, inositol, galactitol, dulcitol, xilitol y arabitol. Las composiciones farmacéuticas que comprenden cada agente isotónico enumerado en este párrafo constituyen realizaciones alternativas de la invención. El agente isotónico puede estar presente individualmente o en el agregado, en una concentración de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml, por ejemplo de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. Las composiciones farmacéuticas que comprenden cada uno de estos agentes isotónicos específicos constituyen realizaciones alternativas de la invención.

En otra realización de la invención, la composición farmacéutica comprende un agente quelante. Los ejemplos no limitativos de agentes quelantes incluyen ácido cítrico, ácido aspártico, sales de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y mezclas de los mismos. El agente quelante puede estar presente individualmente o en el agregado, en una concentración de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. Las composiciones farmacéuticas que comprenden cada uno de estos agentes quelantes específicos constituyen realizaciones alternativas de la invención.

En otra realización de la invención, la composición farmacéutica comprende un estabilizante. Los ejemplos no limitativos de estabilizantes incluyen uno o más inhibidores de agregación, uno o más inhibidores de oxidación, uno o más surfactantes y/o uno o más inhibidores de proteasa.

En otra realización de la invención, la composición farmacéutica comprende un estabilizante, en donde dicho estabilizante es carboxi-/hidroxicelulosa y derivados de la misma (como HPC, HPC-SL, HPC-L y HPMC), ciclodextrinas, 2-metiltioetanol, polietilenglicol (como PEG 3350), alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona, sales (como cloruro de sodio), sustancias que contienen azufre como monotioglicerol) o ácido tioglicólico. El estabilizante puede estar presente individualmente o en el agregado, en una concentración de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. Las composiciones farmacéuticas que comprenden cada uno de estos estabilizantes específicos constituyen realizaciones alternativas de la invención.

En realizaciones adicionales de la invención, la composición farmacéutica comprende uno o más surfactantes, preferiblemente un surfactante, por lo menos un surfactante o dos surfactantes diferentes. El término "surfactante" se refiere a cualquier molécula o ion que se componga de una parte soluble en agua (hidrófila) y una parte soluble en grasa (lipófila). El surfactante puede seleccionarse, por ejemplo, del grupo que consiste de surfactantes aniónicos, surfactantes catiónicos, surfactantes no iónicos y/o surfactantes zwiterónicos. El surfactante puede estar presente individualmente o en el agregado, en una concentración de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. Las composiciones farmacéuticas que comprenden cada uno de estos surfactantes específicos constituyen realizaciones alternativas de la invención.

En una realización adicional de la invención, la composición farmacéutica comprende uno o más inhibidores de proteasas, como, por ejemplo, EDTA y/o ácido clorhídrico (HCl) de benzamidina. El inhibidor de proteasas puede estar presente individualmente o en el agregado, en una concentración de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. Las composiciones farmacéuticas que comprenden cada uno de estos inhibidores de proteasas específicos constituyen realizaciones alternativas de la invención.

La composición farmacéutica de la invención puede comprender una cantidad de una base de aminoácidos suficiente para disminuir la formación de agregados del polipéptido durante el almacenamiento de la composición. El término "base de aminoácidos" se refiere a uno o más aminoácidos (como metionina, histidina, imidazol, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptófano, treonina) o análogos de los mismos. Cualquier aminoácido puede estar presente en su forma de base libre o en su forma de sal. Puede estar presente cualquier estereoisómero (es decir, L, D o una mezcla de los mismos) de la base de aminoácidos. La base de aminoácidos puede estar presente individualmente o en combinación con otras bases de aminoácidos, en una concentración de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml, por ejemplo de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. Las composiciones farmacéuticas que comprenden cada uno de estas bases de aminoácidos específicas constituyen realizaciones alternativas de la invención.

También es evidente para un experto en la técnica que la dosis terapéuticamente eficaz para los conjugados de la presente invención o una composición farmacéutica de los mismos variará dependiendo del efecto deseado. Por lo tanto, un experto en la técnica puede determinar fácilmente las dosificaciones óptimas a administrar y variarán con el conjugado particular usado, el modo de administración, la concentración de la preparación y el avance del estado patológico. Además, los factores asociados con el sujeto particular que se está tratando, incluyendo la edad, el peso, la dieta del sujeto y el momento de administración, darán como resultado la necesidad de ajustar la dosis a un nivel terapéutico apropiado.

5 Para todas las indicaciones, los conjugados de la invención se administran preferiblemente de manera periférica a una dosis de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 5 mg por día en dosis individuales o divididas (por ejemplo, una dosis individual puede dividirse en 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 subdosis), o de aproximadamente 0,01 µg/kg a aproximadamente 500 µg/kg por dosis, más preferiblemente de aproximadamente 0,05 µg/kg a aproximadamente 250 µg/kg, lo más preferible por debajo de aproximadamente 50 µg/kg. Las dosificaciones en estos intervalos variarán con la potencia de cada agonista, por supuesto, y un experto en la técnica las determinará fácilmente. Las dosificaciones anteriores son, por tanto, ejemplares del caso medio. Por supuesto, puede haber casos individuales en los que se ameriten intervalos de dosificación más altos o más bajos, y estos están dentro del alcance de esta invención.

10 15 En ciertas realizaciones, los conjugados de la invención se administran a una dosis de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 5 mg, o a una dosis de aproximadamente 0,01 µg/kg a aproximadamente 500 µg/kg, más preferiblemente a una dosis de aproximadamente 0,05 µg/kg a aproximadamente 250 µg/kg, lo más preferible a una dosis inferior a aproximadamente 50 µg/kg con una dosis de un segundo agente terapéutico (por ejemplo, liraglutida) a una dosis de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 5 mg, o a una dosis de aproximadamente 0,01 µg/kg a aproximadamente 500 µg/kg, más preferiblemente a una dosis de aproximadamente 0,05 µg/kg a aproximadamente 250 µg/kg, lo más preferible a una dosis inferior a aproximadamente 50 µg/kg.

20 25 30 Las sales farmacéuticamente aceptables de los conjugados de la invención incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario que se forman a partir de ácidos o bases inorgánicos u orgánicos. Ejemplos de tales sales de adición de ácido incluyen acetato, adipato, benzoato, bencenosulfonato, citrato, canforato, dodecilsulfato, clorhidrato, bromhidrato, lactato, maleato, metanosulfonato, nitrato, oxalato, pivalato, propionato, succinato, sulfato y tartrato. Las sales básicas incluyen sales de amonio, sales de metales alcalinos como sales de sodio y potasio, sales de metales alcalinotérreos como sales de calcio y magnesio, sales con bases orgánicas como sales de diciclohexilamino y sales con aminoácidos como arginina. Además, los grupos que contienen nitrógeno básico pueden cuaternizarse con, por ejemplo, haluros de alquilo.

35 40 45 50 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse por cualquier medio que logre su propósito pretendido. Los ejemplos incluyen la administración por vía parenteral, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, transdérmica, bucal u ocular. La administración puede ser por vía oral. Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los conjugados activos en forma soluble en agua, por ejemplo, sales solubles en agua, soluciones ácidas, soluciones alcalinas, soluciones de dextrosa-agua, soluciones de carbohidratos isotónicas y complejos de inclusión de ciclodextrina.

55 60 65 La presente invención también abarca un método para elaborar una composición farmacéutica que comprende mezclar un portador farmacéuticamente aceptable con cualquiera de los conjugados de la presente invención. Además, la presente invención incluye composiciones farmacéuticas elaboradas mezclando uno o más portadores farmacéuticamente aceptables con cualquiera de los conjugados de la presente invención.

60 65 70 75 80 Además, los conjugados de la presente invención pueden tener una o más formas cristalinas polimorfas o amorfas y, como tales, se pretende que estén incluidos en el alcance de la invención. Además, los conjugados pueden formar solvatos, por ejemplo con agua (es decir, hidratos) o solventes orgánicos comunes. Como se usa en la presente, el término "solvato" significa una asociación física de los conjugados de la presente invención con una o más moléculas de solvente. Esta asociación física implica grados variables de enlaces iónicos y covalentes, incluyendo enlaces de hidrógeno. En ciertos casos, el solvato podrá aislarse, por ejemplo, cuando se incorporen una o más moléculas de solvente en la red cristalina del sólido cristalino. Se pretende que el término "solvato" abarque tanto solvatos en fase de solución como solvatos aislables. Los ejemplos no limitativos de solvatos adecuados incluyen etanolatos, metanolatos y similares.

75 80 85 90 Se pretende que la presente invención incluya dentro de su alcance polimorfos y solvatos de los conjugados de la presente invención. Por tanto, en los métodos de tratamiento, el término "administrar" abarcará los medios para tratar, mejorar o prevenir un síndrome, trastorno o enfermedad descritos en la presente con los conjugados de la presente invención o un polimorfo o solvato de los mismos.

85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820 1825 1830 1835 1840 1845 1850 1855 1860 1865 1870 1875 1880 1885 1890 1895 1900 1905 1910 1915 1920 1925 1930 1935 1940 1945 1950 1955 1960 1965 1970 1975 1980 1985 1990 1995 2000 2005 2010 2015 2020 2025 2030 2035 2040 2045 2050 2055 2060 2065 2070 2075 2080 2085 2090 2095 2100 2105 2110 2115 2120 2125 2130 2135 2140 2145 2150 2155 2160 2165 2170 2175 2180 2185 2190 2195 2200 2205 2210 2215 2220 2225 2230 2235 2240 2245 2250 2255 2260 2265 2270 2275 2280 2285 2290 2295 2300 2305 2310 2315 2320 2325 2330 2335 2340 2345 2350 2355 2360 2365 2370 2375 2380 2385 2390 2395 2400 2405 2410 2415 2420 2425 2430 2435 2440 2445 2450 2455 2460 2465 2470 2475 2480 2485 2490 2495 2500 2505 2510 2515 2520 2525 2530 2535 2540 2545 2550 2555 2560 2565 2570 2575 2580 2585 2590 2595 2600 2605 2610 2615 2620 2625 2630 2635 2640 2645 2650 2655 2660 2665 2670 2675 2680 2685 2690 2695 2700 2705 2710 2715 2720 2725 2730 2735 2740 2745 2750 2755 2760 2765 2770 2775 2780 2785 2790 2795 2800 2805 2810 2815 2820 2825 2830 2835 2840 2845 2850 2855 2860 2865 2870 2875 2880 2885 2890 2895 2900 2905 2910 2915 2920 2925 2930 2935 2940 2945 2950 2955 2960 2965 2970 2975 2980 2985 2990 2995 3000 3005 3010 3015 3020 3025 3030 3035 3040 3045 3050 3055 3060 3065 3070 3075 3080 3085 3090 3095 3100 3105 3110 3115 3120 3125 3130 3135 3140 3145 3150 3155 3160 3165 3170 3175 3180 3185 3190 3195 3200 3205 3210 3215 3220 3225 3230 3235 3240 3245 3250 3255 3260 3265 3270 3275 3280 3285 3290 3295 3300 3305 3310 3315 3320 3325 3330 3335 3340 3345 3350 3355 3360 3365 3370 3375 3380 3385 3390 3395 3400 3405 3410 3415 3420 3425 3430 3435 3440 3445 3450 3455 3460 3465 3470 3475 3480 3485 3490 3495 3500 3505 3510 3515 3520 3525 3530 3535 3540 3545 3550 3555 3560 3565 3570 3575 3580 3585 3590 3595 3600 3605 3610 3615 3620 3625 3630 3635 3640 3645 3650 3655 3660 3665 3670 3675 3680 3685 3690 3695 3700 3705 3710 3715 3720 3725 3730 3735 3740 3745 3750 3755 3760 3765 3770 3775 3780 3785 3790 3795 3800 3805 3810 3815 3820 3825 3830 3835 3840 3845 3850 3855 3860 3865 3870 3875 3880 3885 3890 3895 3900 3905 3910 3915 3920 3925 3930 3935 3940 3945 3950 3955 3960 3965 3970 3975 3980 3985 3990 3995 4000 4005 4010 4015 4020 4025 4030 4035 4040 4045 4050 4055 4060 4065 4070 4075 4080 4085 4090 4095 4100 4105 4110 4115 4120 4125 4130 4135 4140 4145 4150 4155 4160 4165 4170 4175 4180 4185 4190 4195 4200 4205 4210 4215 4220 4225 4230 4235 4240 4245 4250 4255 4260 4265 4270 4275 4280 4285 4290 4295 4300 4305 4310 4315 4320 4325 4330 4335 4340 4345 4350 4355 4360 4365 4370 4375 4380 4385 4390 4395 4400 4405 4410 4415 4420 4425 4430 4435 4440 4445 4450 4455 4460 4465 4470 4475 4480 4485 4490 4495 4500 4505 4510 4515 4520 4525 4530 4535 4540 4545 4550 4555 4560 4565 4570 4575 4580 4585 4590 4595 4600 4605 4610 4615 4620 4625 4630 4635 4640 4645 4650 4655 4660 4665 4670 4675 4680 4685 4690 4695 4700 4705 4710 4715 4720 4725 4730 4735 4740 4745 4750 4755 4760 4765 4770 4775 4780 4785 4790 4795 4800 4805 4810 4815 4820 4825 4830 4835 4840 4845 4850 4855 4860 4865 4870 4875 4880 4885 4890 4895 4900 4905 4910 4915 4920 4925 4930 4935 4940 4945 4950 4955 4960 4965 4970 4975 4980 4985 4990 4995 5000 5005 5010 5015 5020 5025 5030 5035 5040 5045 5050 5055 5060 5065 5070 5075 5080 5085 5090 5095 5100 5105 5110 5115 5120 5125 5130 5135 5140 5145 5150 5155 5160 5165 5170 5175 5180 5185 5190 5195 5200 5205 5210 5215 5220 5225 5230 5235 5240 5245 5250 5255 5260 5265 5270 5275 5280 5285 5290 5295 5300 5305 5310 5315 5320 5325 5330 5335 5340 5345 5350 5355 5360 5365 5370 5375 5380 5385 5390 5395 5400 5405 5410 5415 5420 5425 5430 5435 5440 5445 5450 5455 5460 5465 5470 5475 5480 5485 5490 5495 5500 5505 5510 5515 5520 5525 5530 5535 5540 5545 5550 5555 5560 5565 5570 5575 5580 5585 5590 5595 5600 5605 5610 5615 5620 5625 5630 5635 5640 5645 5650 5655 5660 5665 5670 5675 5680 5685 5690 5695 5700 5705 5710 5715 5720 5725 5730 5735 5740 5745 5750 5755 5760 5765 5770 5775 5780 5785 5790 5795 5800 5805 5810 5815 5820 5825 5830 5835 5840 5845 5850 5855 5860 5865 5870 5875 5880 5885 5890 5895 5900 5905 5910 5915 5920 5925 5930 5935 5940 5945 5950 5955 5960 5965 5970 5975 5980 5985 5990 5995 6000 6005 6010 6015 6020 6025 6030 6035 6040 6045 6050 6055 6060 6065 6070 6075 6080 6085 6090 6095 6100 6105 6110 6115 6120 6125 6130 6135 6140 6145 6150 6155 6160 6165 6170 6175 6180 6185 6190 6195 6200 6205 6210 6215 6220 6225 6230 6235 6240 6245 6250 6255 6260 6265 6270 6275 6280 6285 6290 6295 6300 6305 6310 6315 6320 6325 6330 6335 6340 6345 6350 6355 6360 6365 6370 6375 6380 6385 6390 6395 6400 6405 6410 6415 6420 6425 6430 6435 6440 6445 6450 6455 6460 6465 6470 6475 6480 6485 6490 6495 6500 6505 6510 6515 6520 6525 6530 6535 6540 6545 6550 6555 6560 6565 6570 6575 6580 6585 6590 6595 6600 6605 6610 6615 6620 6625 6630 6635 6640 6645 6650 6655 6660 6665 6670 6675 6680 6685 6690 6695 6700 6705 6710 6715 6720 6725 6730 6735 6740 6745 6750 6755 6760 6765 6770 6775 6780 6785 6790 6795 6800 6805 6810 6815 6820 6825 6830 6835 6840 6845 6850 6855 6860 6865 6870 6875 6880 6885 6890 6895 6900 6905 6910 6915 6920 6925 6930 6935 6940 6945 6950 6955 6960 6965 6970 6975 6980 6985 6990 6995 7000 7005 7010 7015 7020 7025 7030 7035 7040 7045 7050 7055 7060 7065 7070 7075 7080 7085 7090 7095 7100 7105 7110 7115 7120 7125 7130 7135 7140 7145 7150 7155 7160 7165 7170 7175 7180 7185 7190 7195 7200 7205 7210 7215 7220 7225 7230 7235 7240 7245 7250 7255 7260 7265 7270 7275 7280 7285 7290 7295 7300 7305 7310 7315 7320 7325 7330 7335 7340 7345 7350 7355 7360 7365 7370 7375 7380 7385 7390 7395 7400 7405 7410 7415 7420 7425 7430 7435 7440 7445 7450 7455 7460 7465 7470 7475 7480 7485 7490 7495 7500 7505 7510 7515 7520 7525 7530 7535 7540 7545 7550 7555 7560 7565 7570 7575 7580 7585 7590 7595 7600 7605 7610 7615 7620 7625 7630 7635 7640 7645 7650 7655 7660 7665 7670 7675 7680 7685 7690 7695 7700 7705 7710 7715 7720 7725 7730 7735 7740 7745 7750 7755 7760 7765 7770 7775 7780 7785 7790 7795 7800 7805 7810 7815 7820 7825 7830 7835 7840 7845 7850 7855 7860 7865 7870 7875 7880 7885 7890 7895 7900 7905 7910 7915 7920 7925 7930 7935 7940 7945 7950 7955 7960 7965 7970 7975 7980 7985 7990 7995 8000 8005 8010 8015 8020 8025 8030 8035 8040 8045 8050 8055 8060 8065 8070 8075 8080 8085 8090 8095 8100 8105 8110 8115 8120 8125 8130 8135 8140 8145 8150 8155 8160 8165 8170 8175 8180 8185 8190 8195 8200 8205 8210 8215 8220 8225 8230 8235 8240 8245 8250 8255 8260 8265 8270 8275 8280 8285 8290 8295 8300 8305 8310 8315 8320 8325 8330 8335 8340 8345 8350 8355 8360 8365 8370 8375 8380 8385 8390 8395 8400 8405 8410 8415 8420 8425 8430 8435 8440 8445 8450 8455 8460 8465 8470 8475 8480 8485 8490 8495 8500 8505 8510 8515 8520 8525 8530 8535 8540 8545 8550 8555 8560 8565 8570 8575 8580 8585 8590 8595 8600 8605 8610 8615 8620 8625 8630 8635 8640 8645 8650 8655 8660 8665 8670 8675 8680 8685 8690 8695 8700 8705 8710 8715 8720 8725 8730 8735 8740 8745 8750 8755 8760 8765 8770 8775 8780 8785 8790 8795 8800 8805 8810 8815 8820 8825 8830 8835 8840 8845 8850 8855 8860 8865 8870 8875 8880 8885 8890 8895 8900 8905 8910 8915 8920 8925 8930 8935 8940 8945 8950 8955 8960 8965 8970 8975 8980 8985 8990 8995 9000 9005 9010 9015 9020 9025 9030 9035 9040 9045 9050 9055 9060 9065 9070 9075 9080 9085 9090 9095 9100 9105 9110 9115 9120 9125 9130 9135 9140 9145 9150 9155 9160 9165 9170 9175 9180 9185 9190 9195 9200 9205 9210 9215 9220 9225 9230 9235 9240 9245 9250 9255 9260 9265 9270 9275 9280 9285 9290 9295 9300 9305 9310 9315 9320 9325 9330 9335 9340 9345 9350 9355 9360 9365 9370 9375 9380 9385 9390 9395 9400 9405 9410 9415 9420 9425 9430 9435 9440 9445 9450 9455 9460 9465 9470 9475 9480 9485 9490 9495 9500 9505 9510 9515 9520 9525 9530 9535 9540 9545 9550 9555 9560 9565 9570 9575 9580 9585 9590 9595 9600 9605 9610 9615 9620 9625 9630 9635 9640 9645 9650 9655 9660 9665 9670 9675 9680 9685 9690 9695 9700 9705 9710 9715 9720 9725 9730

Además, se pretende que dentro del alcance de la presente invención, cualquier elemento, en particular cuando se menciona en relación con los conjugados de la invención, comprenderá todos los isótopos y mezclas isotópicas de dicho elemento, ya sean de origen natural o sintético, ya sea con abundancia natural o en forma isotópicamente enriquecida. Por ejemplo, una referencia al hidrógeno incluye dentro de su alcance ^1H , ^2H (D) y ^3H (T). De manera similar, las referencias al carbono y al oxígeno incluyen dentro de su alcance respectivamente ^{12}C , ^{13}C y ^{14}C y ^{16}O y ^{18}O . Los isótopos pueden ser radiactivos o no radiactivos. Los conjugados radiomarcados de la invención pueden comprender un isótopo radiactivo seleccionado del grupo de ^3H , ^{11}C , ^{18}F , ^{122}I , ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br y ^{82}Br . Preferiblemente, el isótopo radiactivo se selecciona del grupo de ^3H , ^{11}C y ^{18}F .

5
10

Algunos conjugados de la presente invención pueden existir como atropisómeros. Los atropisómeros son estereoisómeros resultantes de la rotación impedida alrededor de enlaces simples donde la barrera de deformación estérica a la rotación es lo suficientemente alta como para permitir el aislamiento de los confórmeros. Debe entenderse que todos estos confórmeros y mezclas de los mismos están incluidos dentro del alcance de la presente invención.

15

Cuando los conjugados de acuerdo con esta invención tienen por lo menos un estereocentro, pueden existir por consiguiente como enantiómeros o diastereómeros. Debe entenderse que todos estos isómeros y mezclas de los mismos están incluidos dentro del alcance de la presente invención.

20

Cuando los procesos para la preparación de los conjugados de acuerdo con la invención dan lugar a mezclas de estereoisómeros, estos isómeros pueden separarse mediante técnicas convencionales como cromatografía preparativa. Los conjugados pueden prepararse en forma racémica, o los enantiómeros individuales pueden prepararse o mediante síntesis enantioespecífica o mediante resolución. Los conjugados pueden, por ejemplo, resolverse en sus componentes enantiómeros mediante técnicas estándar, como la formación de parejas diastereoméricas mediante la formación de sales con un ácido ópticamente activo, como el ácido (-)-di-p-toluoil-D-tartárico y/o ácido (+)-di-p-toluoil-L-tartárico seguido de cristalización fraccionada y regeneración de la base libre. Los conjugados también pueden resolverse mediante la formación de ésteres o amidas diastereoméricas, seguido de separación cromatográfica y eliminación del auxiliar quiral. Alternativamente, los conjugados pueden resolverse usando una columna quiral mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) o SFC. En algunos casos, pueden existir rotámeros de conjugados que son observables por ^1H RMN que llevan a multipletes complejos e integración de picos en el espectro de ^1H RMN.

25

30

35

Durante cualquiera de los procesos para la preparación de los conjugados de la presente invención, puede ser necesario y/o deseable proteger grupos sensibles o reactivos en cualquiera de las moléculas en cuestión. Esto puede lograrse por medio de grupos protectores convencionales, como los descritos en Protective Groups in Organic Chemistry, ed. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; y T.W. Greene & PGM Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, 1991. Los grupos protectores pueden eliminarse en una etapa posterior conveniente usando métodos conocidos en la técnica.

40

Métodos de uso

45

La presente invención está dirigida a un método para prevenir, tratar o mejorar un síndrome, trastorno o enfermedad mediado por el receptor Y2 en un sujeto con necesidad de ello, que comprende administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de un conjugado, compuesto o composición farmacéutica de la invención.

50

La presente invención también proporciona un método para prevenir, tratar, retrasar la aparición o mejorar un trastorno, enfermedad o afección o uno o más síntomas de dicho trastorno, enfermedad o afección en un sujeto con necesidad de ello, que comprende administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de un conjugado, compuesto o composición farmacéutica de la invención.

55

De acuerdo con realizaciones particulares, la enfermedad, trastorno o afección se selecciona del grupo que consiste de obesidad, diabetes de tipo I o II, síndrome metabólico (es decir, síndrome X), resistencia a la insulina, tolerancia alterada a la glucosa (por ejemplo, intolerancia a la glucosa), hiperglucemias, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, hipoglucemias debidas a hiperinsulinismo congénito (CHI), dislipidemia, aterosclerosis, nefropatía diabética y otros factores de riesgo cardiovascular como hipertensión y factores de riesgo cardiovascular relacionados con niveles de colesterol y/o lípidos no controlados, osteoporosis, inflamación, enfermedad de hígado graso no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad renal y/o eccema.

60

De acuerdo con realizaciones particulares, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a la cantidad de terapia que es suficiente para lograr uno, dos, tres, cuatro o más de los siguientes efectos: (i) reducir o mejorar la gravedad de la enfermedad, trastorno o condición a tratar o un síntoma asociado con el mismo; (ii) reducir la duración de la enfermedad, trastorno o afección a tratar, o un síntoma asociado con el mismo; (iii) prevenir la progresión de la enfermedad, trastorno o afección a tratar, o un síntoma asociado con el mismo; (iv) provocar la regresión de la enfermedad, trastorno o afección a tratar, o un síntoma asociado con el mismo; (v) prevenir el

65

desarrollo o la aparición de la enfermedad, trastorno o afección a tratar, o un síntoma asociado con el mismo; (vi) prevenir la reaparición de la enfermedad, trastorno o afección a tratar, o un síntoma asociado con el mismo; (vii) reducir la hospitalización de un sujeto que tiene la enfermedad, trastorno o afección a tratar, o un síntoma asociado con el mismo; (viii) reducir la duración de la hospitalización de un sujeto que tiene la enfermedad, trastorno o afección a tratar, o un síntoma asociado con el mismo; (ix) aumentar la supervivencia de un sujeto con la enfermedad, trastorno o afección a tratar, o un síntoma asociado con el mismo; (xi) inhibir o reducir la enfermedad, trastorno o afección a tratar, o un síntoma asociado con el mismo en un sujeto; y/o (xii) potenciar o mejorar los efectos profilácticos o terapéuticos de otra terapia.

10 La cantidad o dosificación terapéuticamente eficaz puede variar de acuerdo con varios factores, como la enfermedad, trastorno o afección a tratar, los medios de administración, el sitio objetivo, el estado fisiológico del sujeto (incluyendo, por ejemplo, edad, peso corporal, salud), si el sujeto es un humano o un animal, otros medicamentos administrados y si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. Las dosificaciones de tratamiento se titulan óptimamente para optimizar la seguridad y la eficacia.

15 Como se usa en la presente, se pretende que los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieran todos a una mejora o reversión de por lo menos un parámetro físico medible relacionado con la enfermedad, trastorno o afección, que no es necesariamente discernible en el sujeto, pero puede ser discernible en el sujeto. Los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento" también pueden referirse a provocar la regresión, prevenir la progresión o por lo menos ralentizar la progresión de la enfermedad, trastorno o afección. En una realización particular, "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a un alivio, prevención del desarrollo o aparición, o reducción en la duración de uno o más síntomas asociados con la enfermedad, trastorno o afección. En una realización particular, "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a la prevención de la recurrencia de la enfermedad, trastorno o afección. En una realización particular, "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a un aumento en la supervivencia de un sujeto que tiene la enfermedad, trastorno o afección. En una realización particular, "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a la eliminación de la enfermedad, trastorno o afección en el sujeto.

30 En una realización, la invención proporciona un método para prevenir, tratar, retrasar la aparición o mejorar la obesidad, o uno o más síntomas de obesidad en un sujeto con necesidad de ello, el método comprendiendo administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad de un conjugado, compuesto o composición farmacéutica de la invención. En algunas realizaciones, el peso corporal de un sujeto se reduce, por ejemplo, entre aproximadamente un 0,01% y aproximadamente un 0,1%, entre aproximadamente un 0,1% y aproximadamente un 0,5%, entre aproximadamente un 0,5% y aproximadamente un 1%, entre aproximadamente un 1% y aproximadamente un 5%, entre aproximadamente un 2% y aproximadamente un 3%, entre aproximadamente un 5% y aproximadamente un 10%, entre aproximadamente un 10% y aproximadamente un 15%, entre aproximadamente un 15% y aproximadamente un 20%, entre aproximadamente un 20% y aproximadamente un 25%, entre aproximadamente un 25% y aproximadamente un 30%, entre aproximadamente un 30% y aproximadamente un 35%, entre aproximadamente un 35% y aproximadamente un 40%, entre aproximadamente un 40% y aproximadamente un 45%, o entre aproximadamente un 45% y aproximadamente un 50%, con respecto al peso corporal de un sujeto antes de la administración de cualquiera de los conjugados, compuestos, composiciones farmacéuticas, formas o medicamentos de la invención descrita en la presente, o en comparación con los sujetos de control que no reciben cualquiera de los conjugados, compuestos, composiciones, formas, medicamentos o combinaciones de la invención descrita en la presente.

45 En algunas realizaciones, la reducción en el peso corporal se mantiene durante aproximadamente 1 semana, durante aproximadamente 2 semanas, durante aproximadamente 3 semanas, durante aproximadamente 1 mes, durante aproximadamente 2 meses, durante aproximadamente 3 meses, durante aproximadamente 4 meses, durante aproximadamente 5 meses, durante aproximadamente 6 meses, durante aproximadamente 7 meses, durante aproximadamente 8 meses, durante aproximadamente 9 meses, durante aproximadamente 10 meses, durante aproximadamente 11 meses, durante aproximadamente 1 año, durante aproximadamente 1,5 años, durante aproximadamente 2 años, durante aproximadamente 2,5 años, durante aproximadamente 3 años, durante aproximadamente 3,5 años, durante aproximadamente 4 años, durante aproximadamente 4,5 años, durante aproximadamente 5 años, durante aproximadamente 6 años, durante aproximadamente 7 años, durante aproximadamente 8 años, durante aproximadamente 9 años, durante aproximadamente 10 años, durante aproximadamente 15 años, o durante aproximadamente 20 años, por ejemplo.

60 La presente invención proporciona un método para prevenir, tratar, retrasar la aparición o mejorar un síndrome, trastorno o enfermedad, o uno o más síntomas de dicho síndrome, trastorno o enfermedad en un sujeto con necesidad de ello, en donde dicho síndrome, trastorno o enfermedad se selecciona del grupo que consiste de obesidad, diabetes tipo I o tipo II, síndrome metabólico (es decir, síndrome X), resistencia a la insulina, tolerancia alterada a la glucosa (por ejemplo, intolerancia a la glucosa), hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, hipoglucemia debida a hiperinsulinismo congénito (CHI), dislipidemia, aterosclerosis, nefropatía diabética y otros factores de riesgo cardiovascular como hipertensión y factores de riesgo cardiovascular relacionados con niveles no controlados de colesterol y/o lípidos, osteoporosis, inflamación, enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad renal y eccema, que comprende administrar al sujeto

con necesidad de ello una cantidad eficaz de un conjugado, compuesto o composición farmacéutica de la invención.

Como se usa en la presente, síndrome metabólico se refiere a un sujeto que tiene uno o más de los siguientes: azúcar en sangre alta (por ejemplo, azúcar en sangre alta en ayunas), presión arterial alta, niveles anormales de colesterol (por ejemplo, niveles bajos de HDL), niveles anormales de triglicéridos (por ejemplo, triglicéridos altos), cintura grande (es decir, circunferencia de la cintura), aumento de grasa en el área abdominal, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, niveles elevados de proteína C reactiva (es decir, un estado proinflamatorio) e inhibidor 1 del activador del plasminógeno en plasma y niveles de fibrinógeno aumentados (es decir, un estado protrombótico).

La presente invención proporciona un método para reducir la ingesta de alimentos en un sujeto con necesidad de ello, el método comprendiendo administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de un conjugado, compuesto o composición farmacéutica de la invención. En algunas realizaciones, la ingesta de alimentos de un sujeto se reduce, por ejemplo, entre aproximadamente un 0,01% y aproximadamente un 0,1%, entre aproximadamente un 0,1% y aproximadamente un 0,5%, entre aproximadamente un 0,5% y aproximadamente un 1%, entre aproximadamente un 1% y aproximadamente un 5%, entre aproximadamente un 2% y aproximadamente un 3%, entre aproximadamente un 5% y aproximadamente un 10%, entre aproximadamente un 10% y aproximadamente un 15%, entre aproximadamente un 15% y aproximadamente un 20%, entre aproximadamente un 20% y aproximadamente un 25%, entre aproximadamente un 25% y aproximadamente un 30%, entre aproximadamente un 30% y aproximadamente un 35%, entre aproximadamente un 35% y aproximadamente un 40%, entre aproximadamente un 40% y aproximadamente un 45%, o entre aproximadamente un 45% y aproximadamente un 50%, con respecto a la ingesta de alimentos de un sujeto antes de la administración de cualquiera de los conjugados, compuestos, composiciones, formas, medicamentos o combinaciones de la invención descrita en la presente, o en comparación con los sujetos de control que no reciben cualquiera de los conjugados, compuestos, composiciones, formas, medicamentos o combinaciones de la invención descrita en la presente.

En algunas realizaciones, la reducción en la ingesta de alimentos se mantiene durante aproximadamente 1 semana, durante aproximadamente 2 semanas, durante aproximadamente 3 semanas, durante aproximadamente 1 mes, durante aproximadamente 2 meses, durante aproximadamente 3 meses, durante aproximadamente 4 meses, durante aproximadamente 5 meses, durante aproximadamente 6 meses, durante aproximadamente 7 meses, durante aproximadamente 8 meses, durante aproximadamente 9 meses, durante aproximadamente 10 meses, durante aproximadamente 11 meses, durante aproximadamente 1 año, durante aproximadamente 1,5 años, durante aproximadamente 2 años, durante aproximadamente 2,5 años, durante aproximadamente 3 años, durante aproximadamente 3,5 años, durante aproximadamente 4 años, durante aproximadamente 4,5 años, durante aproximadamente 5 años, durante aproximadamente 6 años, durante aproximadamente 7 años, durante aproximadamente 8 años, durante aproximadamente 9 años, durante aproximadamente 10 años, durante aproximadamente 15 años, o durante aproximadamente 20 años, por ejemplo.

La presente invención proporciona un método para reducir la hemoglobina glucosilada (A1C) en un sujeto con necesidad de ello, el método comprendiendo administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de un conjugado, compuesto o composición farmacéutica de la invención. En algunas realizaciones, la A1C de un sujeto se reduce, por ejemplo, entre aproximadamente un 0,001% y aproximadamente un 0,01%, entre aproximadamente un 0,01% y aproximadamente un 0,1%, entre aproximadamente un 0,1% y aproximadamente un 0,2%, entre aproximadamente un 0,2% y aproximadamente un 0,3%, entre aproximadamente un 0,3% y aproximadamente un 0,4%, entre aproximadamente un 0,4% y aproximadamente un 0,5%, entre aproximadamente un 0,5% y aproximadamente un 1%, entre aproximadamente un 1% y aproximadamente un 1,5%, entre aproximadamente un 1,5% y aproximadamente un 2%, entre aproximadamente un 2% y aproximadamente un 2,5%, entre aproximadamente un 2,5% y aproximadamente un 3%, entre aproximadamente un 3% y aproximadamente un 4%, entre aproximadamente un 4% y aproximadamente un 5%, entre aproximadamente un 5% y aproximadamente un 6%, entre aproximadamente un 6% y aproximadamente un 7%, entre aproximadamente un 7% y aproximadamente un 8%, entre aproximadamente un 8% y aproximadamente un 9%, o entre aproximadamente un 9% y aproximadamente un 10%, con respecto a la A1C de un sujeto antes de la administración de cualquiera de los conjugados, compuestos, composiciones, formas, medicamentos o combinaciones de la invención descrita en la presente, o en comparación con los sujetos de control que no reciben cualquiera de los conjugados, compuestos, composiciones, formas, medicamentos o combinaciones de la invención descrita en la presente.

En otras realizaciones, se proporcionan métodos para reducir los niveles de glucosa en sangre en ayunas en un sujeto con necesidad de ello, los métodos comprendiendo administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de un conjugado, compuesto o composición farmacéutica de la invención. Los niveles de glucosa en sangre en ayunas pueden reducirse a menos de aproximadamente 140 a aproximadamente 150 mg/dl, menos de aproximadamente 140 a aproximadamente 130 mg/dl, menos de aproximadamente 130 a aproximadamente 120 mg/dl, menos de aproximadamente 120 a aproximadamente 110 mg/dl, menos de aproximadamente 110 a aproximadamente 100 mg/dl, menos de aproximadamente 100 a aproximadamente 90 mg/dl, o menos de aproximadamente 90 a aproximadamente 80 mg/dl, con respecto a los niveles de glucosa en sangre en ayunas de un sujeto antes de la administración de cualquiera de los conjugados, compuestos, composiciones, formas,

medicamentos o combinaciones de la invención descrita en la presente, o en comparación con los sujetos de control que no reciben cualquiera de los conjugados, compuestos, composiciones, formas, medicamentos o combinaciones de la invención descrita en la presente.

5 La presente invención proporciona un método para modular la actividad del receptor Y2 en un sujeto con necesidad de ello, el método comprendiendo administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de un conjugado, compuesto o composición farmacéutica de la invención. Como se usa en la presente, "modular" se refiere a aumentar o disminuir la actividad del receptor.

10 En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de un conjugado o compuesto de la invención o una forma, composición o medicamento del mismo se administra a un sujeto con necesidad de ello una vez al día, dos veces al día, tres veces al día, cuatro veces al día, cinco veces al día, seis veces al día, siete veces al día u ocho veces al día. En otras realizaciones, una cantidad eficaz de un conjugado o compuesto de la invención o una forma, composición o medicamento del mismo se administra a un sujeto con necesidad de ello una vez cada dos días, una vez a la semana, dos veces a la semana, tres veces a la semana, cuatro veces a la semana, cinco veces a la semana, seis veces a la semana, dos veces al mes, tres veces al mes o cuatro veces al mes.

15 Otra realización de la invención comprende un método para prevenir, tratar, retrasar la aparición o mejorar una enfermedad, trastorno o síndrome, o uno o más síntomas de cualquiera de dichas enfermedades, trastornos o síndromes en un sujeto con necesidad de ello, el método comprendiendo administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de un conjugado, compuesto o composición farmacéutica de la invención en una terapia de combinación. En ciertas realizaciones, la terapia de combinación es un segundo agente terapéutico. En ciertas realizaciones, la terapia de combinación es una terapia quirúrgica.

20 25 Como se usa en la presente, el término "en combinación", en el contexto de la administración de dos o más terapias a un sujeto, se refiere al uso de más de una terapia.

30 35 Como se usa en la presente, terapia de combinación se refiere a administrar a un sujeto con necesidad de ello uno o más agentes terapéuticos adicionales, o una o más terapias quirúrgicas, concurrentemente con una cantidad eficaz de un conjugado o compuesto de la invención o una forma, composición o medicamento del mismo. En algunas realizaciones, el uno o más agentes terapéuticos o terapias quirúrgicas adicionales pueden administrarse el mismo día que una cantidad eficaz de un conjugado de la invención, y en otras realizaciones, el uno o más agentes terapéuticos o terapias quirúrgicas adicionales pueden administrarse en la misma semana o el mismo mes que una cantidad eficaz de un conjugado o compuesto de la invención.

40 45 En ciertas realizaciones, en donde la enfermedad o trastorno se selecciona del grupo que consiste de obesidad, diabetes tipo II, síndrome metabólico, resistencia alterada a la insulina y dislipidemia, el segundo agente terapéutico puede ser un agente antidiabético. En ciertas realizaciones, el agente antidiabético puede ser un modulador del receptor del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1).

50 55 La presente invención también contempla prevenir, tratar, retrasar la aparición o mejorar cualquiera de las enfermedades, trastornos, síndromes o síntomas descritos en la presente en un sujeto con necesidad de ello con una terapia de combinación que comprende administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de un conjugado, compuesto o composición farmacéutica de la invención, en combinación con uno o más de los siguientes agentes terapéuticos: un inhibidor de la dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4) (por ejemplo, sitagliptina, saxagliptina, linagliptina, alogliptina, etc.); un agonista del receptor de GLP-1 (por ejemplo, agonistas del receptor de GLP-1 de acción corta como exenatida y lixisenatida; agonistas del receptor de GLP-1 de acción intermedia como liraglutida; agonistas del receptor de GLP-1 de acción prolongada como exenatida de liberación prolongada, albiglutida, dulaglutida); inhibidores del cotransportador-2 de sodio-glucosa (SGLT-2) (por ejemplo, canagliflozin, dapagliflozin, empagliflozin, etc.); secuestrantes de ácidos biliares (por ejemplo, colesevelam, etc.); agonistas del receptor de dopamina (por ejemplo, bromocriptina de liberación rápida); biguanidas (por ejemplo, metformina, etc.); insulina; oxintomodulina; sulfonilureas (por ejemplo, clorpropamida, glimepirida, glipizida, gliburida, glibenclamida, glibornurida, glisoxepida, gliclopiramida, tolazamida, tolbutamida, acetohexamida, carbutamida, etc.); y tiazolidinedionas (por ejemplo, pioglitazona, rosiglitazona, lobeglitazona, ciglitazona, darglitazona, englitazona, netoglitazona, rivoglitazona, troglitazona, etc.). En algunas realizaciones, la dosis del agente o agentes terapéuticos adicionales se reduce cuando se administra en combinación con un conjugado o compuesto de la invención. En algunas realizaciones, cuando se usa en combinación con un conjugado o compuesto de la invención el agente o agentes terapéuticos adicionales pueden usarse en dosis más bajas que cuando se usa cada uno por sí solo.

60 65 En ciertas realizaciones, en las que la enfermedad o trastorno se selecciona del grupo que consiste de obesidad, diabetes tipo I o tipo II, síndrome metabólico (es decir, síndrome X), resistencia a la insulina, tolerancia alterada a la glucosa (por ejemplo, Intolerancia a la glucosa), hiperglucemias, hiperinsulinemia., hipertrigliceridemia, hipoglucemias debida a hiperinsulinismo congénito (CHI), dislipidemia, aterosclerosis, nefropatía diabética y otros factores de riesgo cardiovascular como hipertensión y factores de riesgo cardiovascular relacionados con niveles no controlados de colesterol y/o lípidos, osteoporosis, inflamación, enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD),

esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad renal y eccema, el segundo agente terapéutico puede ser liraglutida.

5 La presente invención contempla prevenir, tratar, retrasar la aparición o mejorar cualquiera de las enfermedades, trastornos, síndromes o síntomas descritos en la presente en un sujeto con necesidad de ello, con una terapia de combinación que comprende administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de un conjugado, compuesto o composición farmacéutica de la invención en combinación con una terapia quirúrgica. En ciertas realizaciones, la terapia quirúrgica puede ser cirugía bariátrica (por ejemplo, cirugía de bypass gástrico, como cirugía de bypass gástrico Roux-en-Y; gastrectomía de manguito; cirugía de banda gástrica ajustable; derivación biliopancreática con cruce duodenal; balón intragástrico; plicatura gástrica; y combinaciones de los mismos).

10

15 En realizaciones en las que uno o más agentes terapéuticos o terapias quirúrgicas adicionales se administran el mismo día que una cantidad eficaz de un conjugado o compuesto de la invención, el conjugado o compuesto de la invención puede administrarse antes, después o simultáneamente con el agente terapéutico o la terapia quirúrgica adicionales. El uso del término "en combinación" no restringe el orden en el que se administran las terapias a un sujeto. Por ejemplo, puede administrarse una primera terapia (por ejemplo, una composición descrita en la presente) antes de (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 16 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas antes), concomitantemente con o después de (por ejemplo, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 16 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas después) de la administración de una segunda terapia a un sujeto.

20

EJEMPLOS

SÍNTESIS

30 Los compuestos o conjugados de la presente invención pueden sintetizarse de acuerdo con los métodos sintéticos generales conocidos por los expertos en la técnica. La siguiente descripción de la síntesis es con propósitos ejemplares y de ninguna manera se pretende que sea un límite de la invención.

35 Los análogos o derivados de PYY cíclico de NTSC (NTSC-PYY) de esta invención pueden sintetizarse mediante una variedad de procedimientos convencionales conocidos para la formación de enlaces peptídicos sucesivos entre aminoácidos, y se llevan a cabo preferentemente mediante síntesis de péptidos en fase sólida (SPPS), como se describe de manera general por Merrifield (J. Am. Chem. Soc., 1963, 85, 2149-2154), usando un sintetizador de péptidos automatizado, síntesis de banco tradicional o una combinación de ambos enfoques. Los procedimientos convencionales para la síntesis de péptidos implican la condensación entre el grupo amino libre de un residuo de aminoácido, cuyas otras funcionalidades reactivas se han protegido adecuadamente, y el grupo carboxilo libre de otro aminoácido, cuyas funcionalidades reactivas también se han protegido adecuadamente.

40 Ejemplos de agentes de condensación que se utilizan típicamente para la formación de enlaces peptídicos incluyen diisopropilcarbodiimida (DIC) con o sin 1-hidroxibenztriazol (HOBT) o ciano(hidroxiimino)acetato de etilo (Oxyma Pure), hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilaminio (HBTU), hexafluorofosfato de 2-(1H-7-azabenztriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrame, tilaminio (HATU), hexafluorofosfato de 2-(6-cloro-1H-benztriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilaminio (HCTU), hexafluorofosfato de 1-ciano-2-etoxi-2-oxoetilideneaminoxy-tris-pirrolidino-fosfonio (PyOxim), tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1iy1)-1,1,3,3-tetrametilaminio (TBTU), hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidino-fosfonio (Py-BroP), y similares.

45

50 La metodología de síntesis de péptidos automatizada puede llevarse a cabo a temperatura ambiente (ta), o a temperaturas elevadas, preferiblemente mediante la aplicación de calentamiento por microondas, como se describe por Yu (J. Org. Chem., 1992, 57, 4781-4784) y como lo refinó más recientemente Palasek (J. Pept. Sci., 2007, 13, 143-148).

55 Los compuestos de la presente invención (amidas C-terminales) pueden prepararse convenientemente usando la metodología de aminoácidos protegidos con N- α -FMOC (9-fluorenilmetiloxicarbonilo), mediante la cual se acopla el extremo terminal carboxi de un aminoácido protegido con N- α -FMOC adecuadamente protegido sobre una resina en fase sólida convencional que usa un agente de acoplamiento adecuado. Las resinas en fase sólida convencionales adecuadas comercialmente disponibles incluyen resina Rink amide MBHA, resina Rink amide AM, resina Tentagel S RAM, resina FMOC-PAL-PEG PS, resina de amida SpheriTide Rink, resina ChemMatrix Rink, resina de amida Sieber, resina TG Sieber y similares. El aminoácido FMOC unido a resina puede desprotegerse mediante exposición a piperidina al 20% en N,N-dimetilformamida (DMF) o 1-metil-2-pirrolidona (NMP), cuyo tratamiento sirve para eliminar selectivamente el grupo protector FMOC. Luego, se acoplan y desprotegen secuencialmente aminoácidos protegidos con FMOC adicionales, generando de este modo el péptido protegido unido a resina deseado. En ciertos casos, puede ser necesario utilizar un grupo protector ortogonalmente reactivo para otra amina en la secuencia del péptido que resistiría las condiciones de desprotección de FMOC. En tales casos pueden usarse eficazmente grupos protectores como 4-metiltritil (Mtt) o 4-metoxitritil (Mmt), ambos

60

65

5 pudiéndose eliminar mediante tratamientos de ácido trifluoroacético (TFA)/diclorometano (DCM) al 1%, o preferiblemente aliloxicarbonilo (aloc; que puede eliminarse mediante tratamiento con $Pd(PPh_3)_4$ (tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0))/ $PhSiH_3$ (fenilsilano)), 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohex-1-iliden)etilo (Dde; que puede eliminarse mediante tratamiento con 2-3% de hidrazina/DMF) y 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohex-1-iliden)-3-metilbutilo (ivDde; que puede eliminarse mediante tratamiento con 2-3% de hidrazina/DMF).

10 En las metodologías sintéticas de péptidos convencionales, las cadenas laterales reactivas de los alfa-aminoácidos se protegen generalmente a lo largo de la síntesis con grupos protectores adecuados para hacerlas inertes a los protocolos de acoplamiento y desprotección. Aunque en la técnica se conocen múltiples grupos protectores para las cadenas laterales de aminoácidos, en la presente los siguientes grupos protectores son los más preferidos: terc-butilo (t-Bu) para serina, treonina, ácido glutámico, ácido aspártico y tirosina; trítilo (Trt) para asparagina, glutamina, cisteína, homocisteína e histidina; terc-butiloxicarbonilo (Boc) para triptófano y el grupo ϵ -amino de lisina; y 2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo (Pbf) para arginina. Estos grupos protectores se eliminan mediante un tratamiento con ácido fuerte, como con altas concentraciones de ácido trifluoroacético (TFA).

15 Una vez completado el SPPS, el péptido protegido de cadena lateral unido a resina se desprotege y se escinde concomitantemente de la resina usando un cóctel de escisión que consiste predominantemente de (TFA) junto con varias combinaciones de captadores de carbocatión, como triisopropilsilano (TIPS), agua, fenol y anisol. El péptido sólido bruto se aísla luego mediante precipitación del filtrado de péptido/cóctel con éter frío. En el caso especial de péptidos protegidos unidos a resina de Sieber, la escisión del péptido protegido de la resina puede efectuarse ventajosamente tras un tratamiento repetido con TFA al 1-2% en DCM sin provocar desprotecciones de la cadena lateral. Una vez aislado, pueden realizarse manipulaciones adicionales del péptido protegido en reacciones en fase de solución. Finalmente, el péptido protegido puede desprotegerse globalmente usando un tratamiento separado con el cóctel de escisión y precipitarse como se ha descrito con anterioridad. El péptido bruto obtenido de este modo se disuelve luego a baja concentración (aproximadamente, <4 mg/ml) en un sistema solvente en gran parte acuoso (ac) que contiene un cosolvente orgánico como acetonitrilo o etanol. Tras elevar el pH de la solución a >5, el péptido experimenta entonces una reacción de ciclación intramolecular para formar el correspondiente análogo bruto de NTSC PYY de la presente invención. Los análogos de NTSC PYY formados de este modo pueden purificarse usando técnicas de purificación generalmente conocidas en la técnica. Un método preferido de purificación de péptidos usado en la presente es la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) en fase inversa. Luego, los péptidos purificados se caracterizan mediante cromatografía líquida/espectrometría de masas (LC/MS).

20 Se entiende que los siguientes ejemplos y realizaciones descritos en la presente son solo con propósitos ilustrativos y que varias modificaciones o cambios a la luz de los mismos serán sugestivos para los expertos en la técnica y deben incluirse dentro del espíritu y alcance de esta solicitud y el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente citadas en la presente se incorporan aquí como referencia en su totalidad para todos los propósitos.

40 ESQUEMAS GENERALES

45 Un procedimiento sintético general para la síntesis de péptidos NTSC-PYY de amida C-terminal se describe en la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos Nº 62/413.613, presentada el 27 de octubre de 2016 y la Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº _____, titulada "Cyclic peptide tyrosine tyrosine compounds as modulators of neuropeptide receptors", presentada el mismo día que esta solicitud con el expediente de representante Nº PRD3411. El contenido de ambas aplicaciones se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

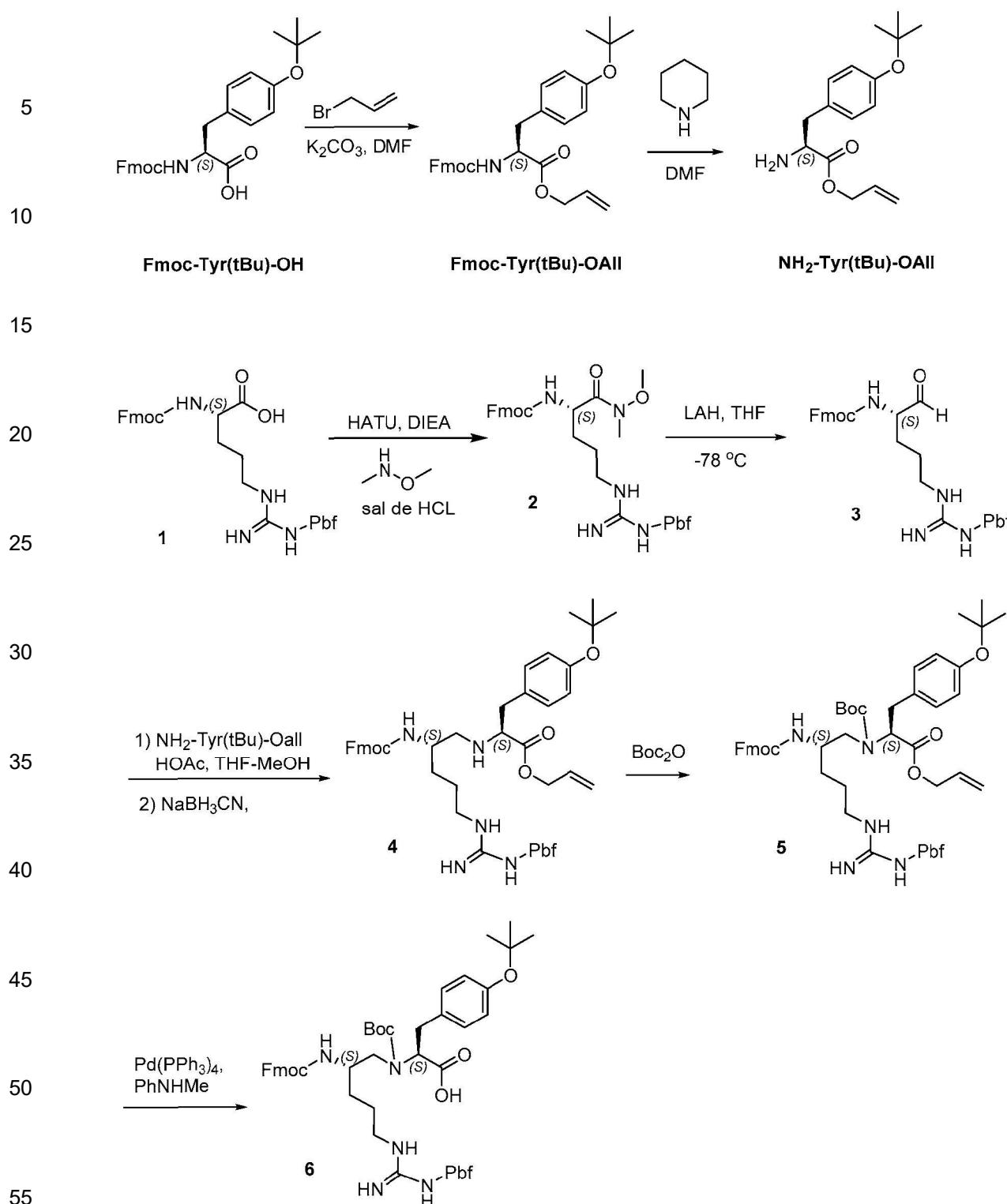
Ejemplo 1: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 1

50

55

60

65

Esquema 14. Síntesis de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-(N-Boc)Tyr(tBu)]-OH1. Síntesis de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-(N-Boc)Tyr(tBu)]-OH

A. Síntesis de H2N-Tyr(tBu)-OAll

A una solución enfriada con hielo de Fmoc-Tyr(tBu)-O (69 g, 150,15 mmol) y K2CO3 (62 g, 445,36 mmol) en DMF (500 ml) se le añadió bromuro de alilo (72 g, 595,16 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 3 h. Luego se añadió hielo/agua (1 l) y la mezcla se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se secaron

(Na₂SO₄) y se concentraron a presión reducida para proporcionar Fmoc-Tyr(tBu)-OAll como un aceite amarillo. A una solución enfriada con hielo de Fmoc-Tyr(tBu)-OAll (70 g, 140,1 mmol) en DMF (600 ml) se le añadió piperidina (150 ml) gota a gota durante un período de 20 min. Después de 3 h, la solución de la reacción se vertió en agua/hielo (1 l) y se extrajo con EtOAc (2 x 2l). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a presión reducida. El residuo obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, eluyendo con EtOAc/éter de petróleo (10:1) para proporcionar 34 g de H₂N-Tyr(tBu)-OAll como un aceite amarillo.

B. Síntesis de F Síntesis de Fmoc-Arg(Pbf)-N(Me)OMe (2)

A una mezcla enfriada con hielo de Fmoc-Arg(Pbf)-OH (1) (64,8 g, 99,88 mmol), clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (20 g, 206,2 mmol) y HATU (57 g, 149,91 mmol) en DCM (500 ml) se le añadió DIEA (52 g, 402,2 mmol) gota a gota durante un período de 10 min, y la mezcla resultante se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. Luego, la reacción se vertió en agua/hielo (1 l) y se extrajo con DCM (1 l). Los extractos orgánicos se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a presión reducida para proporcionar 70 g de Fmoc-Arg(Pbf)-N(Me)OMe (2) crudo como un sólido amarillo, que se usó sin purificación adicional.

C. Síntesis de Fmoc-Arg(Pbf)-CHO (3)

A una solución enfriada (-78° C) de LAH en THF (1M, 107 ml, 0,107 mmol) bajo una atmósfera inerte de nitrógeno, se le añadió a través de una cánula una solución enfriada (-50° C) de Fmoc-Arg(Pbf)-N(Me)OMe (2) (50 g, 72,3 mmol) en THF (100 ml) gota a gota durante un período de 1 h. Después de agitar a -78° C durante 5 h, la mezcla se vertió en una solución de HCl 1N (300 ml) y se añadió HCl 1N adicional según fue necesario para ajustar el pH a 4 y luego se extrajo con EtOAc (2 x 2 l). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a presión reducida para proporcionar 45 g de Fmoc-Arg(Pbf)-CHO (3) bruto como un sólido amarillo, que se usó sin purificación adicional.

D. Síntesis de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-Tyr(tBu)]-OAll (4)

A una solución enfriada con hielo de Fmoc-Arg(Pbf)-CHO (3) del paso C (45 g, 71,12 mmol) y H₂N-Tyr(tBu)-OAll del paso A (32 g, 115,37 mmol) en THF (200 ml), MeOH (200 ml) y HOAc (15 ml) se le añadió cianoborohidruro de sodio (18,0 g, 286,4 mmol) en porciones durante un período de 30 min, y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se inactivó mediante la adición de solución de NaHCO₃ acuosa saturada (500 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 2 l). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice eluyendo con EtOAc/éter de petróleo (10:1) para proporcionar 40 g de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-Tyr(tBu)]-OAll (4) como un sólido amarillo.

E. Síntesis de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OAll (5)

A una solución de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-Tyr(tBu)-OAll] (4) (53 g, 59,28 mmol) en MeCN (240 ml) se le añadió dicarbonato de di-terc-butilo (20 g, 91,3 mmol) y la solución resultante se agitó a 50° C durante la noche. Después, la mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice eluyendo con EtOAc/éter de petróleo (1:1) para proporcionar 32 g de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OAll (5) como un sólido amarillo.

F. Síntesis de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH (6)

A una solución enfriada (-30° C) de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OAll (5) (32 g, 32 mmol) en DCM (600 ml) bajo una atmósfera inerte de nitrógeno se le añadió Pd(PPh₃)₄ (3,0 g, 4,33 mmol), seguido de la adición gota a gota de N-metilanilina (10 g, 93 mmol) durante un período de 30 min. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice eluyendo con EtOAc/éter de petróleo (1:1) para proporcionar 26,8 g de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH (6) como un sólido amarillo. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7.75-7.77 (2H, m), 7.59-7.60 (2H, m), 7.32-7.33 (4H, m), 7.09-7.11 (2H, m), 6.87-7.00 (2H, m), 4.27-4.50 (3H, m), 3.30-3.50 (4H, m), 3.02-3.23 (3H, m), 2.75-2.98 (3H, m), 2.57 (3H, s), 2.48 (3H, s), 2.00 (3H,s), 1.31-1.41 (28H, m). LC/MS (ES, m/z): mass calcd. for C₅₂H₆₇N₅O₁₀S: 953.46, found: 954.55 [M+H]⁺.

2. Carga del dipéptido Fmoc-*psi*-(R35-N(Boc)-Y36) sobre resina Sieber

En un recipiente de reacción de microondas fritado (suministrado por CEM Corporation), se trató resina NovaSyn TG Sieber (suministrada por Novabiochem) (0,2 mmol) con piperidina al 20% en DMF (10 ml) y se calentó a 50° C durante 2,5 min en un reactor de microondas CEM. Se drenó la reacción y se lavó la resina con DMF y se trató de nuevo con piperidina al 20% en DMF a 50° C durante 5 min en un reactor de microondas CEM. Después de drenar y lavar la resina con DMF, se repitió una vez más el tratamiento de desprotección. Luego, la resina se trató

con una solución de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-(N-Boc)Tyr(tBu)]-OH obtenida anteriormente (3-5 eq.), HATU (2,75-4,8 eq.) y DIEA (6-10 eq.) en DMF (4 ml) y se mezclaron a t a durante 6 a 24 h. La mezcla se drenó y la resina se lavó extensamente con DMF y luego se tapó mediante tratamiento con Ac₂O al 20% en DMF (5 ml) en condiciones de microondas a 50° C durante 5 min. La reacción se drenó y la resina se lavó extensamente con DMF y DCM.

5 **3. Síntesis de Fmoc-βA-IKPEAPGEK(Alloc)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC)TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber**

10 Se realizaron extensiones de aminoácidos sobre la resina Sieber (*psi*-R35, Y36) precargada (0,2 mmol) en un sintetizador de péptidos de microondas CEM Liberty Blue. Los aminoácidos estándar protegidos con α-Fmoc se acoplaron doblemente en un exceso de 3,8 veces con respecto a la carga de resina inicial a 50° C durante 15 min usando HBTU/DIEA como agentes de acoplamiento. Se acopló doblemente Fmoc-Arg(Pbf)-OH usando un protocolo de dos etapas: 25 min a t a seguido de 15 min a 50° C, y se acopló doblemente Fmoc-His(Trt)-OH usando un protocolo de dos etapas: 4 min a t a seguido de 8 min a 50° C.

15 **4. Síntesis de Fmoc-βA-IKPEAPGEK(NH₂)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber: desprotección Al-loc**

20 La resina resultante anterior se trató con una solución de fenilsilano (25 eq.) en DCM desoxigenado (10 ml). Después de agitar durante ~2 min, se añadió una solución de Pd(PPh₃)₄ (0,5 eq.) en DCM (10 ml) y la mezcla de resina se agitó durante 30 min bajo argón. Se drenó la reacción y se lavó la resina con DCM desoxigenado. La desprotección se repitió con reactivos nuevos, después de lo cual se drenó la reacción y la resina se lavó extensamente con DCM y DMF.

25 **5. Síntesis de Fmoc-βA-IKPEAPGEK(NH-dPEG₁₂-NHFmoc)ASPEELNRYY ASL-RHYLNL(hC)TRQ(*psi*-R35Y36) - Resina Sieber: acoplamiento de ácidos N-Fmoc dPEG₁₂ carboxílicos en 11K**

30 El péptido-resina Sieber desprotegido con Alloc anterior se trató con una solución del ácido N-Fmoc-dPEG12-carboxílico (5 eq), HBTU (4,8 eq.) Y DIEA (10 eq.) en DMF (7 ml) en un reactor de microondas CEM a 50° C durante 15 min, momento en el que la reacción mostró una prueba de Kaiser negativa. La reacción se drenó y la resina se lavó extensamente con DMF y DCM.

35 **6. Síntesis de BrCH₂COHN-βA-IKPEAPGEK(NH-dPEG₁₂-NHCOCH₂Br)ASPEEL NRYYASL-RHYLNL(hC)TRQ(*psi*-R35Y36)- Resina Sieber: bis-bromoacetilación en βA y dPEG₁₂**

40 La resina anterior se sometió a desprotección con Fmoc usando piperidina al 20% nueva en DMF a 50° C durante 5 min en un reactor de microondas CEM. La desprotección se repitió dos veces. El péptido-resina desprotegido con Fmoc obtenido de este modo se trató con una solución de anhídrido bromoacético (20 eq.) en DMF (5 ml) en un reactor de microondas CEM a 50° C durante 10 min, momento en el cual la reacción mostró una prueba Kaiser negativa. La reacción se drenó y la resina se lavó extensamente con DMF y DCM y luego se secó.

45 **7. Síntesis de BrCH₂COHN-βA-IKPEAPGEK(NH-dPEG₁₂-NHCOCH₂Br)ASPEEL NRYYASL-RHYLNL(hC)TRQ(*psi*-R35Y36)-CONH₂: escisión de la resina y desprotección global**

50 La resina seca se trató con una solución de TFA al 1,5% en DCM (10 ml) y se mezcló durante 5 a 10 min, luego se filtró. Este tratamiento se repitió nueve veces adicionales usando un cóctel nuevo para cada tratamiento. Luego, los filtrados combinados se combinaron y se concentraron para proporcionar el péptido protegido bruto como una espuma amarilla. Esta espuma se trató con 20 ml de cóctel de escisión (TFA/fenol/H₂O/TIPS = 88/5/5/2) a temperatura ambiente durante 2,5 h y luego se concentró bajo una corriente de nitrógeno hasta un volumen de ~2,5 ml., luego se añadió éter frío (40 ml) para precipitar el péptido. La mezcla se centrifugó (5 min; 5000 rpm) y se decantó. Este proceso se repitió 2 veces más para dar el péptido crudo como un polvo blanquecino.

55 Alternativamente, la resina se trató con un cóctel de escisión sin tratamiento previo con TFA al 1-2% en DCM para proporcionar el péptido completamente desprotegido.

60 **8. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 1: procedimiento de ciclación A y purificación**

65 El péptido bruto anterior se disolvió en MeCNagua al 50% desoxigenado (5-10 mg/ml), se añadió opcionalmente EDTA (1 mM). Luego, se elevó el pH de la solución de la reacción a aproximadamente 8 mediante la adición de solución de NaHCO₃ al 7,5% p/v. La solución resultante se agitó a t a durante de 0,5 a 2,5 h, y luego se acidificó a pH <1 mediante la adición de TFA. Luego, la solución se concentró a presión reducida a t a hasta aproximadamente la mitad del volumen original (~24 ml). La solución resultante se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa. Las purificaciones se realizaron en un sistema de purificación personal Gilson HPLC 2020 usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm). La fase móvil consistía de un gradiente de elución de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial de B al 20% hasta una concentración final de B al 50% durante 36 min. La detección de UV

se monitorizó a 220 y 254 nm. Las fracciones que contenían el producto se analizaron mediante HPLC analítica en un sistema de HPLC Agilent 1100 usando el mismo tipo de columna anterior (4,6 x 250 mm, 5 µm). Las fracciones puras se combinaron y luego se liofilizaron para dar el producto como un sólido similar al algodón. CMS: 1225.5 (M+4H)/4, 1633.4 (M+3H)/3 y 2450.0 (M+2H)/2 para el pico del producto a 12.27 min (LC: columna Atlantis T3 C18, 5 um, 4.6 x 250 mm, 1,0 ml/min, gradiente del 15-60%)

Ejemplo 2: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 2

1. Síntesis de $H_2N\text{-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-Resina PEG}$

La resina de peptídilo protegida se sintetizó usando la estrategia Fmoc como se ha descrito anteriormente en un sintetizador de péptidos de microondas CEM Liberty Blue usando resinas de amida Rink de baja carga, preferiblemente, resina Fmoc-PAL-PEG PS (ca., 0,16-0,2 meq/g, suministrada por Applied Biosystems) en una escala de 0,1 mmol, como se muestra en el Esquema 1. Se acoplaron aminoácidos estándar protegidos con Fmoc en un exceso de 5 veces con respecto a la carga de resina usando DIC/Oxyma como agentes de acoplamiento y una temperatura de reacción de aproximadamente 90° C durante 4 min. Fmoc-Arg(Pbf)-OH se acopló doblemente a 90° C durante 4 min cada uno y Fmoc-His(Trt)-OH se acopló usando un protocolo de dos etapas: 4 min a ta seguido de 8 min a 50° C. Se llevaron a cabo desprotecciones de Fmoc individuales usando piperidina al 20% en DMF (solución de desprotección) a 90°C durante 1,5 min.

2. Síntesis de $m\text{-BrCH}_2\text{PhCOHN\text{-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-Resina PEG}}$

El péptido-resina desprotegido con Fmoc (0,1 mmol) anterior se trató con una solución de ácido *m*-bromometilbenzoico (20 eq.) y DIC (10 eq.) en DMF (4 ml) en un reactor de microondas a 75° C durante 15 min, momento en el que se determinó generalmente que la reacción se había completado, según una prueba de ninhidrina de Kaiser (Kaiser, et al., Anal. Biochem., 1970, 34, 595-598). En los casos en los que se determinó que el acoplamiento era incompleto, se repitió el acoplamiento con reactivos nuevos. La reacción se drenó y la resina se lavó extensamente con DMF y DCM.

3. Síntesis de $m\text{-BrCH}_2\text{PhCOHN\text{-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-CONH}_2$: desprotección y escisión de la resina

La resina de arriba se trató luego con un cóctel de escisión (10 ml/escala de 0,1 mmol) que consistía de TFA/agua/fenol/TIPS (88:5:5:2) y se calentó en un reactor de microondas a 38° C durante 40 min., luego se filtró. La resina se lavó con TFA y los filtrados combinados se concentraron bajo una corriente de nitrógeno hasta un volumen de aproximadamente 2,5 ml y el péptido se precipitó mediante la adición de éter dietílico frío (40 ml). La suspensión de péptido/éter se centrifugó y la capa de éter se decantó. El sedimento de péptidos se resuspendió en éter, se centrifugó y se decantó, y este proceso se repitió por tercera vez. El péptido bruto obtenido de este modo se secó bajo una suave corriente de nitrógeno.

4. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 2: procedimiento de ciclación A y purificación

El péptido bruto anterior se disolvió en MeCN/agua desoxigenado (MeCN al 60%) a una concentración de ≤4 mg/ml. Luego, se elevó el pH de la solución de péptido a aprox. 7-9 mediante la adición de NH₄Ac acuoso (200 mM, pH 8,4) y la solución resultante se agitó a ta hasta que se hubo completado la ciclación, según LCMS (típicamente, 3-4 h). La mezcla de la reacción de ciclación se acidificó a pH 1,5-3 mediante la adición de TFA, y la solución se concentró para eliminar la mayor parte del cosolvente orgánico hasta un punto en el que se produjo un ligero enturbiamiento. Se volvió a añadir una cantidad mínima de MeCN según fuera necesario para hacer la mezcla homogénea y la solución resultante se purificó luego directamente mediante HPLC preparativa en múltiples inyecciones usando una columna C18 Varian Pursuit XRs C18 (21x250 mm, 100Å, 5 µm). La fase móvil consistía de eluciones en gradiente de tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial de B al 20% hasta una concentración final de B al 40% durante 45 min. La detección de UV se monitorizó a 220 y 254 nm. Las fracciones que contenían el producto se analizaron mediante HPLC analítica en un sistema de HPLC Agilent 1100 usando una columna apropiada. Las fracciones puras se combinaron, se concentraron para eliminar la mayor parte de la fase orgánica y luego se liofilizaron.

Ejemplo 3: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 3

1. Síntesis de $(H_2N)\text{-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL-(azido-norLeu)-TRQRYPAL-Resina PEG}$

El péptido unido a resina se preparó a una escala de 0,1 mmol según el método descrito en el Ejemplo 2, paso 1, sustituyendo Fmoc-azidonorLeu-OH en lugar de Fmoc-hCys(trt)-OH en la posición 31.

2. Síntesis de $(HCCH(CH_2)_2\text{CONH})\text{-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL-(azido-norLeu)-TRQRYPAL-Resina PEG}$

Se acopló ácido 4-pentinoico sobre la resina anterior en condiciones de microondas usando un protocolo DIC/HOBT (75° C, 10 min). La reacción se drenó y la resina se lavó extensamente con DMF y DCM.

5 **3. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL-(azido-norLeu)-TRQRYPAL-CONH₂**

La resina anterior se trató con 10 ml de cóctel de escisión que consistía de TFA/Dodt/H₂O/TIS (92,5:2,5:2,5:2,5) en condiciones de microondas (38° C, 40 min). Se drenó la reacción y se lavó la resina con TFA (10 ml). El filtrado combinado se concentró luego bajo una corriente de nitrógeno hasta un volumen de ~2,5 ml. 10 Luego se añadió éter frío (40 ml) para precipitar el péptido y la mezcla se centrifugó (5 min; 5000 rpm) y se decantó. Este proceso se repitió 2 veces más para dar el péptido bruto como un polvo blanquecino.

15 **4. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 3**

15 Preparar 7 mg de CuSO₄ en 2 ml de H₂O desoxigenada. Preparar 30 mg de TBTA en 5,4 ml de EtOH y 0,6 ml de MeCN. Premezclar 0,94 ml de solución de CuSO₄ y 4,8 ml de solución de TBTA. Preparar 30 mg de ascorbato de Na en 3 ml de H₂O desoxigenada.

20 A una solución del péptido bruto que contenía azido del paso 3 (100 mg) en 20 ml de agua desoxigenada se le añadió la solución de CuSO₄/TBTA premezclada seguido de 2,4 ml de solución de ascorbato de Na (la solución se volvió inmediatamente lechosa). La mezcla se calentó a 40°C y se agitó durante 1,5 h, momento en el que el análisis LCMS indicó una reacción completa. La mezcla se diluyó hasta ~40 ml con agua (TFA al 0,1%); la mezcla se centrifugó y el sobrenadante se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa. Las purificaciones se realizaron usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (21 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a 35° C. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial de 10% de B hasta una concentración intermedia de 18% de B (21 mpm) y luego a una concentración final del 33% de B (10,5 mpm) durante 35 min. La detección de UV se monitorizó a 220 y 254 nm. Las fracciones que contenían el producto se analizaron mediante HPLC analítica en un sistema de HPLC Agilent 1100 usando el mismo tipo de columna anterior (4,6 x 250 mm, 5 µm). Las fracciones pures se combinaron y luego se liofilizaron para dar el producto como un sólido similar al algodón.

30 **Ejemplo 4: Síntesis del análogo de PYY cíclico**

35 **SEQ ID NO: 41. Síntesis de (Dde)K(NH₂)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-Resina PEG**

35 El péptido unido a resina se preparó usando el método descrito en el **Ejemplo 2**, paso 1.

40 **2. Síntesis de (Dde)K(NH-Glu-(OtBu)NH₂)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-Resina PEG**

40 Se acopló Fmoc-Glu-OtBu (5 eq.) sobre la resina anterior en condiciones de microondas usando métodos de acoplamiento de DIC/Oxyma (90° C, 6 min; dc). La resina se drenó y se lavó con DMF. Luego se llevó a cabo la desprotección de Fmoc usando piperidina al 20% en DMF usando un protocolo de 3 etapas (75° C durante 0,5 min; 75° C durante 3 min; 75° C durante 3 min) con lavados de DMF en cada etapa.

45 **3. Síntesis de (Dde)K(NH-Glu-(OtBu)NH-Pal)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-Resina PEG**

45 Se acopló ácido palmítico (5 eq.) sobre la resina anterior en condiciones de microondas usando métodos de acoplamiento de DIC/Oxyma (90°C, 5 min). La resina se drenó y se lavó abundantemente con DMF y DCM.

50 **4. Síntesis de (H₂N)K(NH-Glu-(OtBu)NH-Pal)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-Resina PEG**

50 Después de lavar la resina anterior con DMF, se trató con una solución de hidrazina al 2% en DMF (6 ml/0,1 mmol de resina) a ta durante 5 min, luego se drenó y se lavó con DMF. El tratamiento se repitió 5 veces más.

55 **5. Síntesis de (H₂N)IKPEAPGEK(NH-Glu-(OtBu)NH-Pal)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-Resina PEG**

55 Los acoplamientos de aminoácidos restantes se llevaron a cabo usando el método descrito en el **Ejemplo 2**, paso 1.

60 **6. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 4**

60 El resto de la síntesis se llevó a cabo usando los métodos descritos en el **Ejemplo 2**, pasos 2-4. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XRS C18 (21 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1%

en MeCN) que variaba desde el 23% de B hasta una concentración intermedia del 33% de B (21 mpm) durante 5 min, y luego a una concentración final del 48% de B (10,5 mpm) durante 55 min.

Ejemplo 5: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 5

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** sustituyendo ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en lugar de ácido palmitico en el paso 3. La purificación del producto se realizó usando una columna Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 35% de B hasta una concentración intermedia del 45% de B (21 mpm) durante 5 min, y luego a una concentración final del 60% de B (10,5 mpm) durante 60 min.

Ejemplo 6: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 6

1. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(Dde)-(azido-norLeu)-TRQRY-PAL-Resina PEG

El péptido unido a resina se preparó como se describe en el Ejemplo 3, paso 1, sustituyendo Fmoc-Lys (Dde)-OH en lugar de Fmoc-Leu-OH en la posición 30 e incorporando el ácido 4-pentinoico (acoplado doble) en este paso en la posición 2, siguiendo a Fmoc-Ile-OH en la posición 3.

2. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(NH₂)-(azido-norLeu)- TRQRY-PAL-Resina PEG

La resina anterior se trató con hidrazina al 3% en DMF (8 ml/escala de 0,1 mmol) durante 5 min a ta y luego la mezcla se drenó y se lavó con DMF. Este procedimiento se repitió aproximadamente 5x, después de lo cual la resina se lavó extensamente con DMF y luego con DCM.

3. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(NH- γ -Glu-AcVitE)-(azido-norLeu)-TRQRY-PAL-Resina PEG

Se acopló Fmoc-Glu-OtBu sobre la resina anterior usando el protocolo de acoplamiento descrito en el **Ejemplo 2**, paso 1 con un tiempo de acoplamiento de 5 min. La resina se desprotegió mediante tratamiento con piperidina al 20% en DMF usando un protocolo de microondas de 3 etapas (75° C, 0,5 min; 75° C, 3 min; 75° C, 3 min), después de lo cual la resina se lavó extensamente con DMF y DCM. Luego, se acopló ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) a la resina usando el mismo procedimiento usado para acoplar Fmoc-Glu-OtBu.

4. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(NH- γ -Glu-AcVitE)-(azido-norLeu)-TRQRY-CONH₂

La escisión y precipitación del péptido de la resina anterior se llevó a cabo usando el procedimiento descrito en el **Ejemplo 3**, paso 3.

5. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 6

El compuesto del título se preparó usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 3, paso 4. La purificación del producto se realizó en una columna Varian Pursuit XRs C8 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) a 35° C. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 35% de B hasta una concentración intermedia del 48% de B (21 mpm) durante 5 min, y luego a una concentración final * del 63% de B (10,5 mpm) durante 40 min.

Ejemplo 7: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 7

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** con el residuo de K(NH- γ -Glu-Pal) instalado en la posición 9 en lugar de la posición 11. La purificación del producto se realizó usando una columna Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 23% de B hasta una concentración intermedia del 43% de B (21 mpm) y luego a una concentración final del 43% de B (10,5 mpm) durante 40 min. Las fracciones que contenían productos impuros se volvieron a purificar en una columna Waters T3 C18 (250 x 19 mm, 100Å, 5 μ m) a ta usando un gradiente desde una concentración inicial del 25% de B hasta una concentración intermedia del 35% de B (21 mpm) y luego a una concentración final del 45% de B (10,5 mpm) durante 80 min.

Ejemplo 8: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 8

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** con el residuo de K(NH- γ -Glu-Pal) instalado en la posición 30 en lugar de la posición 11. La purificación del producto se realizó usando una columna Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) a 35° C. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 21% de B hasta una concentración intermedia del 31% de B (21 mpm) y luego a una concentración final del 41% de B (10,5 mpm) durante 40 min. Las fracciones que contenían productos impuros se volvieron a purificar en una columna Waters T3 C18 (250 x 19 mm, 100Å, 5 μ m) a ta usando un gradiente desde una concentración inicial del 21% de B a una concentración intermedia del 31% de B (21 mpm) y luego a una concentración final del 40% de B (10,5 mpm) durante 80 min.

Ejemplo 9: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO 9

1. Síntesis de H₂N-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLN(hC) TRQ (*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

Se realizaron extensiones de aminoácidos sobre (*psi*-R35, Y36)-Resina Sieber precargado del **Ejemplo 1**, paso 2 (0,1 mmol) como se describe en el **Ejemplo 1**, paso 3 con la modificación de usar un exceso de 5 veces de aminoácidos protegidos.

2. Síntesis de *m*-BrCH₂PhCOHN-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLN(hC) TRQ (*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

Se acopló ácido *m*-bromometilbenzoico sobre la resina anterior de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1**, paso, con la modificación de que el acoplamiento se llevó a cabo a 50° C en lugar de 75° C.

3. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 9

El compuesto del título se preparó a partir de la resina anterior siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 1**, pasos 7 y 8. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) a 35° C. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 10% de B hasta una concentración intermedia del 18% de B (21 mpm) durante 10 min, y luego a una concentración final del 33% de B (10,5 mpm) durante 35 min.

Ejemplo 10: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO 10

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** sustituyendo Dde-Lys(Fmoc)-OH en lugar de Fmoc-Leu-OH en la posición 30 y ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en lugar de ácido palmítico en el paso 3. La purificación del producto se realizó usando una columna Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 30% de B hasta una concentración intermedia del 40% de B (21 mpm) durante 10 min, y luego a una concentración final del 55% de B (21 mpm) durante 35 min. Las fracciones que contenían productos impuros se volvieron a purificar usando un gradiente modificado desde una concentración inicial del 35% de B hasta una concentración intermedia del 43% de B (21 mpm) durante 5 min, y luego hasta una concentración final del 58% de B (10,5 mpm) durante 40 min.

Ejemplo 11: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 11

1. Síntesis de (Alloc)K(NH₂)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

La resina anterior se preparó siguiendo el procedimiento descrito en el **Ejemplo 9**, paso 1 usando Alloc-Lys(Fmoc)-OH en lugar de Fmoc-Leu-OH en la posición 30.

2. Síntesis de (Alloc)K(NH- γ -Glu-AcVitE)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

Se acoplaron secuencialmente Fmoc-Glu-OtBu y ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) (5 eq. cada uno) sobre la resina anterior usando acoplamientos mediados por HBTU/DIEA en condiciones de microondas a 50° C durante 15-20 min.

3. Síntesis de H₂N-K(NH- γ -Glu-AcVitE)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

El grupo protector alloc se eliminó siguiendo el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1**, paso 4.

4. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 11

El compuesto del título se preparó a partir de la resina anterior siguiendo los procedimientos descritos en el

Ejemplo 9, pasos 1-3, con la modificación de que se usó un tampón TRIS/HCl 1M, pH 7,5 en lugar del tampón de NH₄OAc para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (21 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a 35° C. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 10% de B hasta una concentración intermedia del 18% de B (21 mpm) durante 10 min, y luego a una concentración final del 33% de B (10,5 mpm) durante 35 min.

Ejemplo 12: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 12

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 2** sustituyendo Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH en lugar de Fmoc-Arg(pbf)-OH en la posición 35 en el paso 1 y con la modificación de que se usó un tampón de NaHCO₃ 1M en lugar de tampón de NH₄OAc a efecto de ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 10-60% de B (30 mpm) durante 36 min.

Ejemplo 13: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 13

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, usando ácido palmítico en lugar de ácido α-Tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en el paso 2, y con las modificaciones de que se usó el 60% de EtOH/H₂O como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ saturado acuoso en lugar del tampón de NH₄OAc para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH ~9) y Tampón B (MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 15% de B hasta una concentración intermedia del 20% de B (100 mpm) durante 5 min, y luego a una concentración final del 35% de B (100 mpm) durante 40 min.

Ejemplo 14: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 14

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** con el residuo Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalado en la posición 30 en lugar de la posición 11 y con Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH en lugar de Fmoc-Arg(pbf)-OH en la posición 35 en el paso 1 y con la modificación de que se usó un tampón de NaHCO₃ 1M en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 6, para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 20-70% B (30 mpm) durante 36 min. Las fracciones impuras se volvieron a purificar en una columna de difenilo Varian Pursuit XRs (30 x 100 mm, 100Å, 5 µm) a ta usando un gradiente del 30-50% de B (30 mpm) durante 25 min.

Ejemplo 15: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 15

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** con el residuo Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalado en la posición 30 en lugar de la posición 11, sustituyendo Fmoc-βAla-OH en lugar del acoplamiento de Fmoc-Ile-OH en la posición 3, y con las modificaciones de que se usó un tampón de NaHCO₃ 1M en lugar del tampón de NH₄OAc para efectuar la ciclación, y se usó acoplamiento con anhídrido bromoacético en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 6 (paso 2 de **Ejemplo 2**) usando el siguiente procedimiento: el péptido-resina desprotegido con Fmoc (0,1 mmol) se trató con una solución de anhídrido bromoacético (10 eq.) en DMF (5 ml) en un reactor de microondas a 50° C durante 5-10 min, en cuyo momento se determinó generalmente que la reacción se había completado según una prueba de ninhidrina de Kaiser. En los casos en los que se determinó que el acoplamiento era incompleto, se repitió el acoplamiento con reactivos nuevos. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 20-60% de B (30 mpm) durante 36 min. Las fracciones impuras se volvieron a purificar en una columna de difenilo Varian Pursuit XRs (30 x 100 mm, 100Å, 5 µm) a ta usando un gradiente del 30-50% de B (30 mpm) durante 25 min.

Ejemplo 16: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 16

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** con el residuo de Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalado en la posición 30 en lugar de la posición 11, omitiendo el acoplamiento de Fmoc-Ile-OH en la posición 3, y usando ácido *p*-bromometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 6 (paso 2 del **Ejemplo 2**). Además, se usó un tampón de NaHCO₃ 1 M en lugar del tampón de NH₄OAc, para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo de 20-70% B (30 mpm) durante 36 min. Las fracciones impuras se volvieron a purificar en una columna de difenilo Varian Pursuit XRs (30 x 100 mm, 100 Å, 5 µm) a ta usando un

gradiente del 30-50% de B (30 mpm) durante 25 min.

Ejemplo 17: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 17

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** con el residuo de Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalado en la posición 30 en lugar de la posición 11 y usando Fmoc-Ala-OH en lugar de Fmoc-Lys(Boc)-OH en la posición 4 en el paso 1. En el paso 6 se usó tampón TRIS/HCl (1 M, pH 7,5) en lugar del tampón de NH₄OAc para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 20% de B hasta una concentración intermedia del 35% de B (40 mpm) durante 5 min, y luego a una concentración final del 45% de B (40 mpm) durante 40 min.

Ejemplo 18: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 18

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** con el residuo de Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalado en la posición 30 en lugar de la posición 11 y usando Fmoc-Glu(OtBu)-OH en lugar de Fmoc-Lys(Boc)-OH en la posición 4 en el paso 1. En el paso 6 se usó tampón TRIS/HCl (1 M, pH 7,5) en lugar del tampón de NH₄OAc para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 20% de B hasta una concentración intermedia del 35% de B (40 mpm) durante 5 min, y luego a una concentración final del 45% de B (40 mpm) durante 40 min.

Ejemplo 19: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 19

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** con el residuo de Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalado en la posición 30 en lugar de la posición 11, Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH en lugar de Fmoc-Arg(pbf)-OH en la posición 35 en el paso 1, Fmoc-Cys(trt)-OH en lugar de Fmoc-hCys(trt)-OH, y usando ácido *p*-bromometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en paso 6 (paso 2 del **Ejemplo 2**).

Se realizó la siguiente modificación en el paso 6 (pasos 3 y 4 del **Ejemplo 2**): El péptido bruto obtenido antes de la ciclación se purificó usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 20-70% de B (30 mpm) durante 36 min. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se trataron con NaHCO₃ sólido para elevar el pH a ~ 7-8; la solución resultante se agitó a ta durante 4 h, luego se acidificó a pH 4 con TFA. La solución se concentró hasta un volumen de 5-10 ml y se añadió MeCN para solubilizar cualquier precipitado. La purificación del producto se realizó como antes, con un gradiente del 20-60% de B (30 mpm) durante 36 min.

Ejemplo 20: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 20

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** con el residuo de Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalado en la posición 30 en lugar de la posición 11, Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH en lugar de Fmoc-Arg(pbf)-OH en la posición 35 en el paso 1 y Fmoc-Cys(trt)-OH en lugar de Fmoc-hCys(trt)-OH. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-60% B (30 mpm) durante 36 min.

Ejemplo 21: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 21

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** con el residuo de Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalado en la posición 30 en lugar de la posición 11, se usó Fmoc-Ala-OH en lugar de Fmoc-His(trt)-OH en la posición 26 y Fmoc-Ala-OH usado en lugar de Fmoc-Lys(Boc)-OH en la posición 4 en el paso 1. Se usó tampón TRIS/HCl, (1M, pH 7.5) en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 6 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 20% de B hasta una concentración intermedia del 35% de B (40 mpm) durante 5 min, y luego a una concentración final del 45% de B (40 mpm) durante 40 min.

Ejemplo 22: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 22

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 4** con el residuo de Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalado en la posición 30 en lugar de la posición 11, se usó Fmoc-Ala-OH en lugar de Fmoc-His(trt)-OH en la posición 26 y se usó Fmoc-Glu(OtBu)-OH en lugar de Fmoc-Lys(Boc)-OH en la posición 4 en el paso 1. Se usó tampón TRIS/HCl, (1M, pH 7.5) en lugar de tampón de NH₄OAc en el paso 6 para efectuar la

ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 20% de B hasta una concentración intermedia del 33% de B (40 mpm) durante 5 min, y luego a una concentración final del 43% de B (40 mpm) durante 40 min.

5

Ejemplo 23: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 23

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, usando ácido octadecanodioico, éster mono-terc-butílico (disponible de AstaTech, Inc.) en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (**8**), un protocolo de acoplamiento que emplea HATU/DIEA a 50° C durante 30 min y NMP como solvente en lugar de DMF en el paso 2, y acoplando dos unidades de Fmoc-OEG-OH en tándem antes de acoplar Fmoc-Glu-OtBu, en el paso 2. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-60% B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-70% de B (30 mpm) durante 36 min.

10

Ejemplo 24: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 24

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 23**, usando ácido 20-(terc-butoxi)-20-oxicosanoico (disponible de Key Organics, Inc.) en lugar de ácido octadecanodioico, mono-terc-butílico éster. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-60% B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-60% de B (30 mpm) durante 36 min.

15

Ejemplo 25: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 25

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, usando ácido esteárico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (**8**), un protocolo de acoplamiento que emplea HATU/DIEA a 50° C durante 30 min y NMP como solvente en lugar de DMF en el paso 2. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-80% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-80% de B (30 mpm) durante 36 min.

20

Ejemplo 26: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 26

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, usando ácido araquídico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (**8**), un protocolo de acoplamiento que emplea HATU/DIEA a 50° C durante 30 min y NMP como solvente en lugar de DMF en el paso 2. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-90% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-90% de B (30 mpm) durante 36 min.

25

Ejemplo 27: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 27

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 23**, pero omitiendo el acoplamiento de Fmoc-Glu-OtBu después de los acoplamientos en tándem de Fmoc-OEG-OH. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-60% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-60% de B (30 mpm) durante 36 min.

30

Ejemplo 28: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 28

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, usando ácido palmítico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (**8**), omitiendo el acoplamiento de Fmoc-Ile-OH en la posición 3 y usando ácido *p*-bromometilbenzoico, en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-60% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-60% de B (30 mpm) durante 36 min.

35

Ejemplo 29: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 29

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, usando ácido palmítico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (**8**), sustituyendo Fmoc- β Ala-OH en lugar de Fmoc-Ile-OH en la posición 3, y acoplando anhídrido bromoacético en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2), usando la modificación descrita en el **Ejemplo 15**. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-60% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-60% de B (30 mpm) durante 36 min.

40

Ejemplo 30: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 30

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, usando ácido palmítico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8), sustituyendo Fmoc- $\text{A}\beta\text{u}$ -OH en lugar de Fmoc-Ile-OH en la posición 3, y acoplando anhídrido bromoacético en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2), usando la modificación descrita en el **Ejemplo 15**. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-60% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-60% de B (30 ppm) durante 36 min.

Ejemplo 31: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 31

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 23**, usando ácido esteárico en lugar de ácido octadecanodioico, éster mono-terc-butílico. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-60% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-60% de B (30 ppm) durante 36 min.

Ejemplo 32: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 32

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, usando ácido palmítico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en el paso 2, usando Fmoc-Ala-OH en lugar de Fmoc-His(trt)-OH en la posición 26 y usando Fmoc-Ala-OH en lugar de Fmoc-Lys(Boc)-OH en la posición 4 en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 1). Se usó tampón TRIS/HCl, (1 M, pH 7,5) en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 6 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100 \AA , 5 μm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 20% de B hasta una concentración intermedia del 35% de B (40 ppm) durante 5 min, y luego a una concentración final del 45% de B (40 ppm) durante 40 min.

Ejemplo 33: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 33

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, usando ácido palmítico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en el paso 2 y Fmoc-N(Me)-Gln(trt)-OH en lugar de Fmoc-Gln(trt)-OH en la posición 34 en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 1). En este caso, los acoplamientos se realizaron a ta usando NMP como solvente y un protocolo de HATU/DIEA (1 h, acoplamiento simple); Fmoc-N(Me)-Gln(trt)-OH y Fmoc-Arg(pbf)-OH se acoplaron por duplicado. Se usó un protocolo de desprotección de Fmoc de dos etapas en todo momento (piperidina al 20% en DMF; ta; 10 min, 15 min). El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-70% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-70% de B (30 ppm) durante 36 min.

Ejemplo 34: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 34

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, usando ácido palmítico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8), sustituyendo Fmoc-Cys(trt)-OH en lugar de Fmoc-hCys(trt)-OH en la posición 31, ácido 6-Fmoc-aminohexanoico en lugar de Fmoc-Ile-OH en la posición 3, y anhídrido bromoacético de acoplamiento en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2), usando la modificación descrita en **Ejemplo 15**. Se usó NaHCO₃ acuoso (2N) en lugar del tampón de NH₄OAc para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XR_s C18 (30 x 250 mm, 100 \AA , 5 μm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 20-70% de B (30 ppm) durante 36 min.

Ejemplo 35: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 35

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 9**, con las siguientes modificaciones: se usó Fmoc-*psi*-[N-Me-Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH, preparado a partir de Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH en lugar de Fmoc-Arg(Pbf)-OH, de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1**, paso 1, en lugar de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH (**6**) para preparar la resina Sieber cargada usada en la presente; se usó Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (de Active Peptide) en lugar de Leu en la posición 30; se usó ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 2; los acoplamientos se llevaron a cabo a ta usando NMP como solvente y se usó un protocolo de HATU/DIEA (1 h, acoplamiento único); se acopló por duplicado Fmoc-Arg(pbf)-OH. Se usó un protocolo de desprotección de Fmoc de dos etapas en todo momento (piperidina al 20% en DMF; ta; 10 min, 15 min). El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-70% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-70% de B (30 ppm) durante 36 min.

Ejemplo 36: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 36

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 35**, sustituyendo Fmoc- β Ala-OH en lugar de Fmoc-Ile-OH en la posición 3, y acoplando anhídrido bromoacético en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2), usando la modificación descrita en el **Ejemplo 15**.
 5 Se omitió el tratamiento modificado del **Ejemplo 19**. Se acopló Fmoc- β Ala-OH en condiciones de microondas a 50° C durante 20 min. Para efectuar la ciclación se usó NaHCO₃ acuoso saturado en lugar del tampón de NH₄OAc. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 20-70% de B (30 mpm) durante 36 min.
 10

Ejemplo 37: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 37

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 9**, sustituyendo Fmoc-Cys(trt)-OH en lugar de Fmoc-hCys(trt)-OH en la posición 31 y Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (del péptido activo) en lugar de Fmoc-Leu-OH en la posición 30. Además, se añadió Fmoc-Abu-OH a la secuencia en la posición 2, en el paso 1, y se usó el acoplamiento con anhídrido bromoacético en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 2, usando la modificación descrita en el **Ejemplo 15**. Para efectuar la ciclación se usó NaHCO₃ saturado acuoso en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 3. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 20-70% de B (30 mpm) durante 36 min.
 15
 20

Ejemplo 38: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 38

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 35**, con las siguientes modificaciones: se añadió Fmoc- β Ala-OH a la secuencia en la posición 2, después del paso 1 usando condiciones de microondas a 50° C durante 20 min, y se usó acoplamiento con anhídrido bromoacético en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 2, usando la modificación descrita en el **Ejemplo 15**. Se usó NaHCO₃ acuoso saturado en lugar del tampón de NH₄OAc para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 20-80% de B (30 mpm) durante 36 min.
 25
 30
 35

Ejemplo 39: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 39

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, usando ácido araquídico en lugar de ácido α -tocferiloxiacético (AcVitE) (8) en el paso 2. Se usó Fmoc-Ser(tBu)-OH en lugar de Fmoc-Lys(Boc)-OH en la posición 4 en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 1) y se usó ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ satura acuoso en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH ~9) y Tampón B (MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 20% de B hasta una concentración intermedia del 25% de B (100 mpm) durante 5 min, y luego a una concentración final del 40% de B (100 mpm) durante 40 min.
 40
 45

Ejemplo 40: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 40

1. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(Dde)-(azido-norLeu)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

Se llevaron a cabo extensiones de aminoácidos sobre (*psi*-R35, Y36)-resina Sieber precargada del **Ejemplo 1**, paso 2 (0,1 mmol) a ta usando NMP como solvente, se acoplaron por duplicado un exceso de 5 veces de aminoácidos protegidos y un protocolo HATU/DIEA (1 h, acoplamiento simple); Fmoc-Arg(pbf)-OH y Fmoc-His(trt)-OH. Se usó un protocolo de desprotección de Fmoc de dos etapas en todo momento (piperidina al 20% en DMF; ta; 10 min, 15 min).
 50
 55

2. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(NH₂)-(azido-norLeu)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

La resina anterior se trató con hidrazina al 2% en DMF (12 ml/escala de 0,2 mmol) durante 2 min a ta y luego se drenó la mezcla. Este procedimiento se repitió aproximadamente 4x, después de lo cual la resina se lavó extensamente con DMF y luego con DCM.
 60

3. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK((OEG)₂- γ -Glu-Pal)-(azido-norLeu)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

La resina anterior se acopló con ácido (S)-10,19-dioxo-22-palmitamido-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazatricosanodioico (5 eq.) [preparado de acuerdo con el procedimiento descrito para la síntesis del producto intermedio 3, sustituyendo el ácido palmítico en lugar del ácido 18-terc-butoxi-18-oxooctadecanoico en el paso G], usando un protocolo de HBTU/DIEA a ta durante 1,5 h. La resina se drenó y se lavó extensamente con DMF y DCM.

4. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK((OEG)₂-γ-Glu-Pal)-(azido-norLeu)-TRQ(*psi*-R35Y36)-CONH₂

La resina seca se trató con una solución de TFA al 2% en DCM (20 ml) y se mezcló durante 20 min, luego se filtró. Este tratamiento se repitió 2 veces adicionales usando un cóctel fresco para cada tratamiento. Luego, los filtrados combinados se combinaron y se concentraron para proporcionar el péptido protegido en bruto como una espuma amarilla. Esta espuma se trató con 20 ml de cóctel de escisión (TFA/H₂O/TIPS = 95/2,5/2,5) a ta durante 2,5 h y luego se concentró bajo una corriente de nitrógeno hasta un volumen de aproximadamente 2,5 ml. Luego se añadió éter frío (40 ml) para precipitar el péptido y la mezcla se centrifugó (5 min; 5000 rpm) y se decantó. Este proceso se repitió 2 veces más para dar el péptido bruto como un polvo blanquecino.

Alternativamente, la resina se trató con un cóctel de escisión sin tratamiento previo con TFA al 1-2% en DCM, para proporcionar el péptido completamente desprotegido directamente. El péptido bruto se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm). La fase móvil consistía de un gradiente de elución del Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 20-70% de B durante 36 min. La detección de UV se controló a 220 y 254 nm. Las fracciones que contenían el producto se analizaron mediante HPLC analítica en un sistema de HPLC Agilent 1100 usando el mismo tipo de columna anterior (4,6 x 250 mm, 5 µm). Las fracciones puras se combinaron y luego se liofilizaron para dar el producto como un sólido similar al algodón. LCMS: 1211.8 (M+4H)/4, 1615.4 (M+3H)/3 and 2422.9 (M+2H)/2 para el pico del producto a 16,87 min (LC: columna Atlantis T3 C18, 5 µm, 4.6 x 250 mm, 1.0 mL/min, gradiente del 30-60%).

5. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 40

Preparar 5,1 mg de CuSO₄ en 1 ml de H₂O. Preparar 10,4 mg de TBTA en 3 ml de EtOH. Mezclar previamente 400 µl de solución de CuSO₄ y 3 ml de solución de TBTA. Preparar 13 mg de ascorbato de Na en 2 ml de H₂O.

A una solución del péptido purificado que contenía azido del Paso 4 (37 mg) en 4 ml de HEPES (0,1 M, pH 7,4) se le añadieron 1,7 ml de la solución premezclada de CuSO₄/TBTA seguido de 1 ml de solución de ascorbato de Na. Se ajustó la proporción de EtOH/H₂O hasta que la solución de reacción se volvió transparente. La mezcla se agitó a ta y se monitorizó mediante HPLC. Despues de 30 min, se completó la reacción. La mezcla se ajustó a pH 4 y se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa. Las purificaciones se realizaron usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm). La fase móvil consistía de un gradiente del elución de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 20-60% de B durante 36 min. La detección de UV se controló a 220 y 254 nm. Las fracciones que contenían el producto se analizaron mediante HPLC analítica en un sistema de HPLC Agilent 1100 usando el mismo tipo de columna anterior (4,6 x 250 mm, 5 µm). Las fracciones puras se combinaron y luego se liofilizaron para dar el producto como un sólido similar al algodón.

Ejemplo 41: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 41

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 40, sustituyendo ácido L-glutámico, N-(1-oxohexadecil)-, éster de 1-(1,1-dimetiletil) en lugar de ácido (S)-10,19-dioxo-22-palmitamido-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazatricosanodioico, en el paso 3.

Ejemplo 42: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 42

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 40, sustituyendo ácido (S)-22-(terc-butoxicarbonil)-43,43-dimetil-10,19,24,41-tetraoxo-3,6,12,15,42-pentaoxa-9,18,23-triazatetratetracontan-1-oico (16) (producto intermedio 2) en lugar de ácido (S)-10,19-dioxo-22-palmitamido-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazatricosanodioico, en el paso 3.

Ejemplo 43 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 43

1. Síntesis de (Alloc)Lys((OEG)₂-γ-Glu-NH₂)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

Se llevaron a cabo extensiones de aminoácidos sobre (*psi*-R35, Y36)-resina Sieber precargado del Ejemplo 1, paso 2 (0,1 mmol) a ta usando NMP como solvente, se acopló por duplicado un exceso de 5 veces de

aminoácidos protegidos y un protocolo de HATU/DIEA (1 h, acoplamiento simple); Fmoc-Arg(pbf)-OH. Se usó un protocolo de desprotección de Fmoc de dos etapas en todo momento (piperidina al 20% en DMF; ta; 10 min, 15 min).

5 **2. Síntesis de (Alloc)Lys((OEG)₂-γ-Glu-Pal)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber**

Se acopló ácido palmítico a la resina del paso 1, usando condiciones de microondas empleando HATU/DIEA a 50° C durante 20-30 min y NMP como solvente.

10 **3. Síntesis de (H₂N)Lys((OEG)₂-γ-Glu-Pal)-(hC)-TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber**

El grupo protector aloc de la resina anterior se eliminó siguiendo el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1**, paso 4.

15 **4. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 43**

El compuesto del título se preparó a partir de la resina anterior siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 9**, pasos 1-3, usando ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 2. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-60% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-60% de B (30 mpm) durante 36 min.

Ejemplo 44 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 44

25 El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 43**, modificado de tal manera que las unidades en tandem Fmoc-OEG-OH y la unidad Fmoc-Glu-OtBu se incorporaron en el paso 2 en lugar del paso 1. Se usó ácido octadecanodioico, éster mono-terc-butílico (AstaTech, Inc.) en lugar de ácido palmítico en el paso 2 y la secuencia conector-lípido se instaló en la posición 11 en lugar de la posición 30. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-70% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-70% de B (30 mpm) durante 36 min.

Ejemplo 45 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 45

35 El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 43**, modificado de tal manera que se usó ácido Fmoc-dPEG24-carboxílico en lugar de las unidades en tandem Fmoc-OEG-OH y se incorporaron, junto con el ácido palmítico, en el paso 2. La secuencia conector-lípido se instaló en la posición 11 en lugar de la posición 30. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-90% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-90% de B (30 mpm) durante 36 min.

Ejemplo 46 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 46

45 El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 9**, usando Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (de Active Peptide) en lugar de Leu en la posición 30. Además, se añadió Fmoc-βAla-OH en la secuencia en la posición 2, después del paso 1 usando condiciones de microondas a 50° C durante 20 min, y se usó el acoplamiento con anhídrido bromoacético en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 2, usando la modificación descrita en el **Ejemplo 15**. El péptido lineal sólido se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-70% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-70% de B (30 mpm) durante 36 min.

Ejemplo 47 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 47

55 El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 44**, instalando la secuencia conector-lípido en la posición 7 en lugar de la posición 11. La purificación del producto se realizó usando una columna Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm) a ta. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-60% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-60% de B (30 mpm) durante 36 min.

60 **Ejemplo 48 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 48**

65 El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 43**, usando ácido octadecanodioico, éster mono-terc-butílico (AstaTech, Inc.) en lugar de ácido palmítico en el paso 2 con un tiempo de acoplamiento de 30 min, e instalando la secuencia conector-lípido en la posición 22 en lugar de la posición 30. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un

gradiente del 20-70% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-70% de B (30 mpm) durante 36 min.

Ejemplo 49 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 49

El compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido 16-tetrahidropiran-2-iloxipalmítico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en el paso 2, y usando ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ acuoso saturado en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μ m) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH ~9) y Tampón B (MeCN) que variaba desde una concentración inicial de 20% del B hasta una concentración intermedia del 10% de B (100 mpm) durante 5 min, y luego a una concentración final del 30% de B (100 mpm) durante 40 min.

Ejemplo 50 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 50

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 48**, e instalando la secuencia conector-lípido en la posición 23 en lugar de la posición 30.

Ejemplo 51 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 51

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 9**, usando Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (de Active Peptide) en lugar de Fmoc-Leu-OH en la posición 30 y Fmoc-Ser(tBu)-OH en lugar de Fmoc-Lys(Boc)-OH en la posición 4, en el paso 1. Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ acuoso saturado en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μ m) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH ~9) y Tampón B (MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 10% de B hasta una concentración intermedia del 20% de B (100 mpm) durante 5 min, y luego hasta una concentración final del 30% de B (100 mpm) durante 40 min. Las fracciones impuras se volvieron a chromatografiar usando un gradiente compuesto por una concentración inicial del 10% de B hasta una concentración intermedia del 20% de B (100 mpm) durante 5 min, y luego hasta una concentración final del 30% de B (100 mpm) durante 60 min.

Ejemplo 52 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 52

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 43, usando ácido Fmoc-dPEG12-carboxílico en lugar de las unidades en tandem de Fmoc-OEG-OH e incorporándolo junto con Fmoc-Glu-OtBu y ácido palmítico en el paso 2. La secuencia conector-lípido se instaló en la posición 11 en lugar de la posición 30. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-70% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-70% de B (30 mpm) durante 36 min.

Ejemplo 53 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 53

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 52**, usando cuatro unidades de Fmoc-OEG-OH en tandem en lugar de ácido Fmoc-dPEG12-carboxílico.

Ejemplo 54 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 54

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 53**, instalando dos unidades de Fmoc-OEG-OH en tandem en lugar de dos.

Ejemplo 55 Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 55

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 43**, instalando la secuencia conector-lípido en la posición 23 en lugar de la posición 30. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-70% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-70% de B (30 mpm) durante 36 min.

Ejemplo 56: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 56

El compuesto del título se preparó usando los métodos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido (4'-clorobifenil-4-il)-acético en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en el paso 2, y usando ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). Se usó EtOH/H₂O al

60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ acuoso saturado en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH 9) y Tampón B (MeCN) en un intervalo del 10-28% de B (100 ppm) durante 40 min.

5

Ejemplo 57: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 57

El compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido 3-[2,4-diclorofenoxy]fenilpropionico en lugar de ácido α-tocoferiloxiacético (AcVitE) (**8**) en el paso 2, y usando ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ acuoso saturado en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH 9) y Tampón B (MeCN) en un intervalo del 10-30% de B (80 ppm) durante 40 min. Las fracciones que contenían el producto se combinaron, se acidificaron con TFA, se concentraron y se volvieron a cromatografiar en una columna Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100 Å, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) que variaba desde una concentración inicial del 20% de B a una concentración intermedia del 15% de B (40 ppm) a una concentración final del 45% de B (40 ppm) durante 45 min.

20

Ejemplo 58: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 58

El compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido 11-(4-fluorofenil)undecanoico en lugar de ácido α-tocoferiloxiacético (AcVitE) (**8**) en el paso 2, y usando ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ acuoso saturado en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH 9) y Tampón B (MeCN) en el intervalo del 15-35% de B (100 ppm) durante 40 min.

30

Ejemplo 59: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 59

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 43**, omitiendo el paso 2 e incorporando el acoplamiento de ácido palmitico en el paso 1. La secuencia conector-lípido se instaló en la posición 22 en lugar de la posición 11. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-70% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-70% de B (30 ppm) durante 36 min.

40

Ejemplo 60: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 60

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 53**, incorporando dos unidades de FMOC-OEG-OH en tandem en lugar de cuatro y la instalación de la secuencia conector-lípido estaba en la posición 7 en lugar de en la posición 11. El péptido lineal bruto se purificó y cicló de acuerdo con la modificación descrita en el **Ejemplo 19**, usando un gradiente del 20-80% de B. La purificación del producto final se realizó usando un gradiente del 20-80% de B (30 ppm) durante 36 min.

Ejemplo 61: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 61

El compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido 11-[(4-trifluorometil)fenil]undecanoico en lugar de ácido α-tocoferiloxiacético (AcVitE) (**8**) en el paso 2, y usando ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ saturado acuoso en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH 9) y Tampón B (MeCN) en el intervalo del 15-35% de B (100 ppm) durante 40 min.

Ejemplo 62: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 62

El compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido 11,11,11-trifluoroundecanoico en lugar de ácido α-tocoferiloxiacético (AcVitE) (**8**) en el paso 2, y usando ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ saturado acuoso en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH 9) y Tampón B (MeCN) en el intervalo del 15-35% de B (100 ppm) durante 40 min.

mM en agua, pH 9) y Tampón B (MeCN) en el intervalo del 10-28% de B (100 mpm) durante 40 min.

Ejemplo 63: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 63

5 El compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido 15,15,15-trifluoropentadecanoico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en el paso 2, y usando ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ saturado acuoso en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μ m) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH 9) y Tampón B (MeCN) en un intervalo del 15-30% de B (100 mpm) durante 40 min.

10

Ejemplo 64: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 64

15 El compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido 16-etoxyfamilmítico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en el paso 2, y usando ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ saturado acuoso en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μ m) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH 9) y Tampón B (MeCN) en un intervalo del 15-30% de B (100 mpm) durante 40 min.

20

Ejemplo 65: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 65

25 El compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido 13,13,14,14,15,15,16,16,D9-palmítico (Cambridge Isotopes) en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en el paso 2, y usando ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ saturado acuoso en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μ m) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH ~ 9) y Tampón B (MeCN) en un intervalo del 15-20% de B (100 mpm) durante 5 min, y luego al 35%. B (100 mpm) durante 40 min.

30

Ejemplo 66: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 66

35 El compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido 11-[2,4-bis(trifluorometil)fenil]undecanoico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en el paso 2, y usando ácido *m*-clorometilbenzoico en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, etapa 2). Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ acuoso saturado en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μ m) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH 9) y Tampón B (MeCN) en el intervalo del 15-35% de B (100 mpm) durante 40 min.

40

Ejemplo 67: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 67

45 El compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido 11-[(3,5-bis(trifluorometil)fenil)undecanoico en lugar de ácido α -tocoferiloxiacético (AcVitE) (8) en el paso 2, y usando ácido *m*-clorometilbenzocio en lugar de ácido *m*-bromometilbenzoico en el paso 4 (**Ejemplo 9**, paso 2). Se usó EtOH/H₂O al 60% como solvente en lugar de MeCN/H₂O y se usó NaHCO₃ saturado acuoso en lugar del tampón de NH₄OAc en el paso 4 para efectuar la ciclación. La purificación del producto se realizó usando una columna Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μ m) a ta. La fase móvil consistía de una elución en gradiente del Tampón A (NH₄OH 10 mM en agua, pH 9) y Tampón B (MeCN) en un intervalo del 15-35% de B (100 mpm) durante 40 min.

50

Ejemplo 68: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 68

1. Síntesis de (Fmoc)- β A-IKPEAPGEK(Alloc)ASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

55 Se llevaron a cabo extensiones de aminoácidos sobre (*psi*-R35, Y36)-resina Sieber precargado del **Ejemplo 1**, paso 2 (0,1 mmol) a ta usando DMF como solvente, un exceso de 6 veces de aminoácidos protegidos y un protocolo de HATU/DIEA (10 min, doble acoplamiento). Se usó un protocolo de desprotección de Fmoc de dos etapas en todo momento (piperidina al 20% en DMF; ta; 10 min, 15 min).

60 65 **2. Síntesis de (Fmoc)- β A-IKPEAPGEK((OEG)₂- γ -Glu-NHCO(CH₂)₁₆CO₂tBu)-**

ASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

La desprotección de la resina anterior se llevó a cabo siguiendo el método descrito en el **Ejemplo 1**, paso 4, usando tiempos de reacción modificados de 10 min para cada tratamiento. Luego, la resina se acopló con el producto intermedio 2 (**15**) (5 eq.), usando un protocolo fr HATU/DIEA en DMF (1h, ta).

3. Síntesis de (BrAc)- β A-IKPEAPGEK((OEG)₂- γ -Glu-NHCO(CH₂)₁₆CO₂tBu)-ASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

Después de la desprotección con Fmoc (piperidina/DM al 20%F), la resina anterior se trató con anhídrido bromoacético (10 eq.; ta, 30 min) para proporcionar la resina bromoacetilada.

4. Síntesis de (BrAc)- β A-IKPEAPGEK((OEG)₂- γ -Glu-NHCO(CH₂)₁₆CO₂tBu)-ASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-CONH₂

La resina anterior se trató con un cóctel de escisión que consistía de TFA/H₂O/TIPS (95:2,5:2,5) durante 1,5 h a ta. El péptido bruto se precipitó con éter siguiendo el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1**, paso 7.

5. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 68

El péptido bruto obtenido anteriormente se disolvió a una concentración de 10 mg/ml en 10% de MeCN/H₂O, y se añadió TEA para elevar el pH de la solución a 8-9. Despues de agitar a ta durante ~20 min, se añadió TFA para reducir el pH a 2 y la solución se purificó directamente mediante HPLC preparativa en una columna Kinetics C18 Evo (30 x 100 mm, 100Å, 5 µm). La fase móvil consistía de un gradiente del elución de Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 20-60% de B durante 22 min. La detección de UV se monitorizó a 220 y 254 nm. Las fracciones pures se combinaron y luego se liofilizaron para dar el producto como un sólido similar al algodón.

Ejemplo 69: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 69**1. Síntesis de (Boc)-G-ISPEAPGEK(dde)ASPEELNRYYASLRHYLNLE(OAllyl)TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber**

Se llevaron a cabo extensiones de aminoácidos sobre el (*psi*-R35, Y36)-resina Sieber precargado del **Ejemplo 1**, paso 2 (0,1 mmol) a ta usando DMF como solvente, un exceso de 6 veces de aminoácidos protegidos y un protocolo HATU/NMM (10 min, acoplamiento doble). Se usó un protocolo de desprotección de Fmoc de dos etapas en todo momento (piperidina al 20% en DMF; ta; 10 min, 15 min).

2. Síntesis de (Boc)-G-ISPEAPGEK(dde)ASPEELNRYYASLRHYLNLE(NHS)TRQ(*psi*-R35Y36)-Resina Sieber

La desprotección de alloc de la resina anterior se llevó a cabo siguiendo el método descrito en el **Ejemplo 1**, paso 4, usando tiempos de reacción modificados de 10 min para cada tratamiento. Luego, la resina se acopló con NHS (10 eq.), usando un protocolo HATU/DIEA en DMF (1h, ta, acoplamiento doble).

3. Síntesis de (NH₂)-G-ISPEAPGEK(dde)ASPEELNRYYASLRHYLNLE(NHS)TRQ(*psi*-R35Y36)

La resina anterior se trató con un cóctel de escisión que consistía de TFA/H₂O/TIPS (95:2,5:2,5) durante 1,5 h a ta. El péptido bruto se precipitó con éter siguiendo el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1**, paso 7.

4. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 69

El péptido bruto obtenido anteriormente se disolvió a una concentración de 80 mg/ml en DMSO y se añadió TEA (25 eq.) para efectuar la lactamización. Despues de agitar a ta durante ~30 min, la reacción se diluyó 10 veces con MeCN/agua al 10%, el pH se ajustó a 2 y el péptido bruto se purificó directamente mediante HPLC preparativa en una columna Kinetics C18 Evo (30 x 100 mm, 100Å, 5 µm). La fase móvil consistía de un gradiente del Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 10-60% de B durante 22 min. La detección de UV se monitorizó a 220 y 254 nm. Las fracciones pures se combinaron y luego se liofilizaron para dar el péptido protegido con K(Dde). El grupo protector Dde se eliminó usando 2% de hidrazina/DMF (10 mg de péptido/ml), 30 minutos a ta. La reacción se diluyó 10 veces con MeCN/agua al 10%, y el pH se ajustó a 2 con TFA y la solución de péptido bruta se purificó como antes para dar el producto como un sólido similar al algodón.

Ejemplo 70: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 70

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento del **Ejemplo 69**, sustituyendo Fmoc-E(OAll)-OH por Fmoc-Leu-OH en la posición 30 y sustituyendo Fmoc-E(OAll)-OH por Fmoc-E(OAll)-OH en la posición 31.

Ejemplo 71: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 71**1. Síntesis de (Boc)-G-ISPEAPGEK(dde)ASPEELNRYYASLRHYLNE(OAllyl)VTRQ(N-Me-R)Y-Resina NovaSyn TGR**

Se llevaron a cabo extensiones de aminoácidos sobre una resina NovaSyn TGR (0,1 mmol) usando el procedimiento descrito en el **Ejemplo 69**, paso 1.

10 2. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 71

El compuesto del título se preparó a partir de la resina anterior de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 69**, pasos 2-4.

15 Ejemplo 72: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 72**1. Síntesis de N-hidroxisuccinimid éster (S)-22-(terc-butoxicarbonil)-43,43-dimetil-10,19,24,41-tetraoxo-3,6,12,15,42-pentaoxa-9,18,23-triazatetratetracontan-1-oico**

20 A una solución de ácido (S)-22-(terc-butoxicarbonil)-43,43-dimetil-10,19,24,41-tetraoxo-3,6,12,15,42-pentaoxa-9,18,23-triazatetratetracontan-1-oico (producto intermedio 2 (**16**) (54,0 mg, 0,063 mmol), N-hidroxisuccinimida (14,6 mg, 0,127 mmol) y HATU (24,1 mg, 0,063 mmol) en 1,0 ml de DMF se le añadió DIEA (0,022 ml, 0,127 mmol) y la mezcla se agitó durante 30 minutos a TA y se usó directamente en el paso siguiente sin purificación adicional.

25 2. Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 72

30 A una solución de [ciclo-(G2-E30), S4, K11, *psi*- (R35,Y36)]-PYY2-36 (preparado en el **Ejemplo 70**) (4 mg, 0,96 µmol) en DMF (0,2 ml) se le añadieron 24 µl de la solución de N-hidroxi éster (preparada en el Paso 1) y TEA (0,66 µl; 5 eq) y la mezcla se agitó durante la noche a ta. La reacción se diluyó 10 veces con MeCN/agua al 10%, el pH se ajustó a 2 con TFA y el péptido bruto se purificó directamente por HPLC preparativa en una columna Kinetics C18 Evo (30 x 100 mm, 100Å, 5 µm). La fase móvil consistía de elución en gradiente del Tampón A (TFA al 0,1% en agua) y Tampón B (TFA al 0,1% en MeCN) en el intervalo del 10-60% de B durante 22 min. La detección de UV se monitorizó a 220 y 254 nm. Las fracciones puras se combinaron y luego se liofilizaron para dar el péptido protegido con t-butil éster. Los grupos protectores de t-butil éster se eliminaron usando una mezcla de TFA/H₂O/TIPS (95:2.5:2.5) durante 1,5 h a ta. La mezcla se concentró y el péptido se purificó como antes para dar el producto como un sólido similar al algodón.

40 Ejemplo 73: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 73

45 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1** sustituyendo ácido N-Fmoc-dPEG6-carboxílico por ácido N-Fmoc-dPEG12-carboxílico en el paso 5.

Ejemplo 74: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 74

50 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1** pero omitiendo el paso 5 de acoplamiento del conector PEG.

Ejemplo 75: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 75

55 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1**, sustituyendo Fmoc-hC(trt)-OH por Fmoc-hC(trt)-OH en la posición 31 y omitiendo el paso de acoplamiento de Fmoc-βA-OH en el paso 3.

Ejemplo 76: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 76

60 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 1** con los pasos 3 y 4 modificados. En el paso A, se usaron Fmoc-K(Alloc)-OH y Fmoc-K(dde)-OH para la posición 30 y la posición 11, respectivamente. Después de que se desprotegió Alloc en la posición 30 con Pd(PPh₃)₄-fenilsilano, se acopló el ácido mPEG16-carboxílico con HATU-DIPEA. En el paso 4, se eliminó el dde en la posición 11 con hidrazina al 2% en DMF.

Ejemplo 77: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 77

65 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el **Ejemplo 76** sustituyendo

ácido mPEG12-carboxílico por ácido mPEG16-carboxílico en el paso A, y omitiendo el paso de acoplamiento de ácido Fmoc-dPEG12-carboxílico en el paso 5.

Ejemplo 78: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 78

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 sustituyendo Fmoc-N-Me-Q(trt)-OH por Fmoc-Q(trt)-OH en el paso 3.

Ejemplo 79: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 79

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 sustituyendo Fmoc-N-Me-R(pbf)-OH por Fmoc-R(pbf)-OH en el paso 1B.

Ejemplo 80: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 80

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 79 sustituyendo Fmoc-R(pbf)-OH por Fmoc-K(Boc)-OH en la posición 4, y sustituyendo Fmoc-W(Boc)-OH por Fmoc-L-OH en la posición 30 en el paso 3.

Ejemplo 81: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 81

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 80 sustituyendo Fmoc-C(trt)-OH por Fmoc-hC(trt)-OH en la posición 31, y sustituyendo el ácido Fmoc-γ-aminobutanoico por ácido Fmoc-βA-OH en el paso 3.

Ejemplo 82: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 82

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 sustituyendo Fmoc-βA-OH por ácido Fmoc-PEG2-carboxílico y el Fmoc-hC(trt)-OH por Fmoc-hC(trt)-OH en la posición 31 así como omitiendo el acoplamiento de Fmoc-Ile-OH en el paso 3.

Ejemplo 83: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 83

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 sustituyendo Fmoc-K(N3)-OH por Fmoc-hC(trt)-OH en la posición 31, sustituyendo el ácido pent-4-inoico por Fmoc-βA-OH en el paso 3, y siguiendo el procedimiento de ciclación B como se indica a continuación.

Procedimiento de ciclación B: A una solución de péptido completamente desprotegido con PEG12-AcBr instalado en la posición 11 (38 mg, 0,0067 mmol) en 2 ml de HEPES (pH 7,4) se le añadieron 1,7 ml de la solución premezclada de CuSO₄/TBTA (la solución se preparó mezclando una solución de 2,2 mg de CuSO₄ en agua (0,4 ml) con una solución de 11 mg de TBTA en EtOH), seguido de la adición de 7 mg de ascorbato de sodio en agua (1 ml). La solución de reacción transparente se dejó mezclando a temperatura ambiente y se monitorizó mediante HPLC. Despues de 30 min, se completó la reacción y la mezcla de la reacción se ajustó a pH 4 usando TFA y se sometió a purificación por HPLC (columna Pursuit XRS 5 250x30 mm C18, funcionando a un flujo de 30 ppm, monitorizando una longitud de onda de 214 nM, con un gradiente que varía del 20-60% ACN-agua/agua ambos con TFA al 0,1% durante 36 minutos). La fracción deseada se recogió y liofilizó.

Ejemplo 84: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 84

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 omitiendo el paso de acoplamiento de Fmoc-βA-OH, sustituyendo el ácido N3-PEG8-carboxílico por ácido Fmoc-dPEG12-carboxílico en el paso 5 y sustituyendo el acoplamiento de ácido 3-(bromometil)benzoico con DIC para la acilación del anhídrido bromoacético en el paso 3, y siguiendo el procedimiento de ciclación C como se indica a continuación.

Procedimiento de ciclación C: a una solución de péptido completamente desprotegido (20 mg, 0,0035 mmol) en 5 ml de agua desgasificada, se le añadió una solución NaHCO₃ acuosa para ajustar la mezcla de la reacción a pH 6,4 o más. Despues de 20 min, la LCMS indicó que la reacción se había completado, y la mezcla de la reacción se ajustó a pH 4 usando TFA y se sometió a purificación por HPLC (columna C18 Pursuit XRS 5 de 250x30 mm, funcionando a un flujo de 30 ppm, monitorizando una longitud de onda de 214 nM, con un gradiente que varia del 10 al 60% de ACN-agua/agua, ambos con TFA al 0,1% durante 36 minutos). La fracción deseada se recogió y liofilizó.

Despues de la ciclación, el producto intermedio ciclado se sometió a extensión del conector mediante química de clic siguiendo el procedimiento de ciclación B con N-(1-bromo-2-oxo-7,10,13-trioxa-3-azahexadecan-16-il)pent-4-inamida, que se preparó mediante acoplamiento de N-Boc-PEG4-NH2 con ácido pent-4-inoico usando

HATU-DIPEA, seguido de desprotección de Boc con TFA y acilación con anhídrido bromoacético en presencia de TEA.

Ejemplo 85: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 85

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 con el conector PEG12-AcBr instalado en la posición 23 en lugar de la posición 11.

Ejemplo 86: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 86

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 con el conector PEG12-AcBr instalado en la posición 22 en lugar de la posición 11.

Ejemplo 87: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 87

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 con el conector PEG12-AcBr instalado en la posición 7 en lugar de la posición 11.

Ejemplo 88: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 88

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 sustituyendo Fmoc-V-OH por Fmoc-hC(trt)-OH en la posición 31, sustituyendo Fmoc-C(trt)-OH por Fmoc-L-OH en la posición 30, y sustituyendo Fmoc-βA-OH por Fmoc-G-OH en el paso 3.

Ejemplo 89: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 89

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 88 omitiendo el paso 1 para proporcionar el dipéptido reducido y sustituyendo la carga de Fmoc-Y(tBu)-OH seguido de acoplamiento con Fmoc-(N-Me)R-OH por la carga de Fmoc-psi-(R35-N(Boc)-Y36)-OH en el paso 2.

Ejemplo 90: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 90

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 89 sustituyendo Fmoc-βA-OH por Fmoc-G-OH en el paso 3.

Ejemplo 91: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 91

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 89 sustituyendo Fmoc-hC(trt)-OH por Fmoc-C(trt)-OH en la posición 30 en el paso 3.

Ejemplo 92: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 92

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 90 sustituyendo Fmoc-hC(trt)-OH por Fmoc-V-OH en la posición 31, y sustituyendo Fmoc-C(trt)-OH por Fmoc-C(trt)-OH en la posición 31 30 en el paso 3.

Ejemplo 93: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 93

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 sustituyendo Fmoc-V-OH por Fmoc-hC(trt)-OH en la posición 31, sustituyendo Fmoc-C(trt)-OH por Fmoc-L-OH en la posición 30 y sustituyendo Fmoc-βA-OH por Fmoc-G-OH en el extremo N-terminal en el paso 3.

Ejemplo 94: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 94

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 sustituyendo Fmoc-V-OH por Fmoc-hC(trt)-OH en la posición 31 y sustituyendo Fmoc-C(trt)-OH por Fmoc-L-OH en la posición 30 en el paso 3.

Ejemplo 95: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 95

El compuesto del título se preparó (escala de 0,05 mmol) de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1 sustituyendo Fmoc-V-OH por Fmoc-hC(trt)-OH en la posición 31, sustituyendo Fmoc-Glu(OAlloc)-OH por Fmoc-L-OH en la posición 30, sustituyendo Fmoc-Lys(dde)-OH por Fmoc-Lys(Alloc)-OH en la posición 11, sustituyendo Fmoc-Ser(tBu)-OH por Fmoc-K(Boc)-OH en la posición 4 y sustituyendo Boc-G-OH por Fmoc-βA-OH en el extremo N-terminal en el paso 3.

A la resina resultante anterior se le añadió DCM desoxigenado (10 ml), fenilsilano (10 eq.) y una solución de Pd(PPh₃)₄ (0,2 eq.) en DCM (1 ml) y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Se drenó la reacción y se lavó la resina con DCM desoxigenado y se repitió la desprotección una vez.

5 A la resina resultante anterior se le añadió DMF (10 ml), HATU (5 eq) y DIEA (10 eq) y la mezcla se agitó durante 5 minutos, luego se añadió una solución de N-hidroxisuccinimida (10 eq) en DMF y se agitó durante 20 minutos adicionales. La resina se filtró y el procedimiento se repitió una vez.

10 La resina anterior se desprotegió durante 2 horas a TA en TFA/TIPS/agua (95/2,5/2,5) (10 ml). El cóctel de escisión se concentró a aprox. 1 ml y luego se añade a 40 ml de éter. El precipitado resultante se recogió por centrifugación y se secó bajo N₂.

15 El material resultante anterior se disolvió en 9 ml de DMSO al que se le añadieron 10 eq de TEA y se dejó que la reacción prosiguiera durante 3 horas a TA. La solución resultante se diluyó a 30 ml con agua, el pH se ajustó a 2 y se purificó por RP-HPLC en una columna C18 de 30 mm x 250 mm eluyendo con un gradiente lineal de 20-40% de ACN en agua (TFA al 0,1%) en 30 minutos. Se liofilizaron las fracciones que contenían el producto.

20 El material resultante anterior se trató luego con 1-2% de hidrazina/DMF (1 ml) para eliminar el Dde de la lisina. La mezcla resultante se diluyó a 10 ml con agua, el pH se ajustó a 2 y luego se purificó mediante RP-HPLC como antes.

25 Luego, el producto resultante se disolvió en 10% de ACN/agua, el pH se ajustó a 10 y se añadió una solución de éster de N-hidroxisuccinimida bromoacético (3 eq de solución 0,1 M/DMF) y se dejó que la reacción prosiguiera durante 10 minutos a TA. La mezcla resultante se diluyó a 10 ml con agua, el pH se ajustó a 2 y luego se purificó mediante RP-HPLC como antes para dar el producto del título.

Ejemplo 96: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 96

30 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 sustituyendo ácido N-Fmoc-dPEG24-carboxílico por ácido N-Fmoc-dPEG12-carboxílico en el paso 5.

Ejemplo 97: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 97

35 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, sustituyendo Fmoc-βA-OH por Fmoc-βA-OH en el paso 3.

Ejemplo 98: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 98

40 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 89 pero omitiendo el paso de acoplamiento de ácido Fmoc-dPEG12-carboxílico en el paso 5.

Ejemplo 99: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 99

45 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 90 pero omitiendo el paso de acoplamiento de ácido Fmoc-dPEG12-carboxílico en el paso 5.

Ejemplo 100: Síntesis del análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 100

50 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 94 pero omitiendo el paso de acoplamiento de ácido Fmoc-dPEG12-carboxílico en el paso 5.

Ejemplo 101: Identificación y producción de mAb MSCB97

55 Selección de PH9L3 VL y PH9H5 VH como regiones V iniciales para manipulación

La región variable de la cadena ligera del anticuerpo (VL) designada PH9L3 (SEQ ID NO: 128) (Teplyakov et al., "Structural diversity in a human antibody germline library", mAbs agosto-septiembre 8(6):1045-63 (2016)) y la región variable de la cadena pesada de anticuerpo (VH) designada PH9H5 (SEQ ID NO: 129) (Teplyakov et al., "Structural diversity in a human antibody germline library," mAbs Ago-sep 8(6): 1045-1063 (2016)) se seleccionaron como las regiones variables de partida a partir de las cuales diseñar un mAb habilitado para la conjugación de péptidos. PH9L3 está compuesto completamente por secuencias del gen V de la línea germinal de Ig humana y, como tal, no contiene ninguna secuencia de mutaciones de la secuencia del proceso de maduración por afinidad in vivo que daría como resultado una unión específica de antígeno de alta afinidad. La CDR3 de PH9H5 es el único segmento que no está compuesto por secuencias del gen V de la línea germinal humana en esa VH. La CDR3 de

PH9H5 es de un anticuerpo de CCL2 anti-humano, CNTO 888 y es proporcionada por la SEQ ID NO: 130. Se generó un Fab que contenía el par PH9H5/PH9L3 VH/VL.

Las secuencias de la región V y la región J de la línea germinal de PH9L3, PH9H5 e Ig humana, a las que son más similares se alinearon para determinar la identidad o similitud de secuencia con las secuencias de la línea germinal. PH9H5 se alineó con una concatenación (SEQ ID NO: 131) de genes de la línea germinal de Ig humana IGHV3-23*01 (PubMed ID: M99660) (SEQ ID NO: 132) eIGHJ1*01 humano (PubMed ID: J00256) (SEQ ID NO: 133), con la única diferencia entre la secuencia de aminoácidos de PH9H5 y la secuencia de IGHV3-23*01-IGHJ1*01 humana concatenada estando en la VH CDR3, que era la SEQ ID NO: 130 para PH9H5.

PH9L3 se alineó con una concatenación (SEQ ID NO: 134) de genes de la línea germinal de Ig humana IGKV3-11*01 (PubMed ID: X01668) (SEQ ID NO: 135) eIGKJ1*01 (PubMed ID: J00242) (SEQ ID NO: 136), con la única diferencia siendo de una desviación en la unión del gen V/gen J.

15 Diseño y generación de variantes Cys sustituidas de PH9H5 y PH9L3

Se diseñaron, generaron y clonaron variantes del VH de PH9H5 que contenían una única sustitución de Cys en residuos de CDR seleccionados en las tres CDR de la región V, como cadenas pesadas completas con una región constante de IgG1 humana en un vector de expresión de huésped mamífero. La estructura Pdel Fab de H9H5/PH9L3 se usó para ayudar en la selección de residuos de CDR para sustitución que parecen más accesibles para la conjugación y, en algunas de las variantes, se insertaron residuos de glicina (Gly) adicionales a cada lado del residuo de Cys introducido para aumentar potencialmente la accesibilidad de Cys para la conjugación. Se diseñaron y generaron variantes similares del VL de PH9L3, excepto que se clonaron como cadenas ligeras completas con una región constante kappa humana en el vector de expresión. Se generaron un total de 24 constructos de expresión de variantes de Cys simples de PH9H5 y 22 constructos de expresión de variantes de Cys simples de PH9L3. Los residuos seleccionados para la sustitución dentro de PH9H5_VH (SEQ ID NO: 129) y dentro de PH9L3_VL (SEQ ID NO: 128) se resumen en la Figura 2.

Los constructos de expresión generados se usaron para expresar las variantes de Cys cotransfectando transitoriamente cada constructo variante de Cys de HC basado en PH9H5 con el constructo de LC de PH9L3 de tipo salvaje o cotransfectando cada constructo de variante de Cys de LC basado en PH9L3 con el constructo de HC de PH9H5 de tipo salvaje. Las transfecciones de prueba iniciales usaron Expi293 derivado de HEK como huésped de expresión y estaban a una escala de 20 ml. La mayoría de las variantes de Cys de HC y LC se expresaron bien en base a la cuantificación de la proteína variante del sobrenadante del cultivo.

Se expresaron cinco variantes iniciales de Cys de HC, MSCB33-MSCB37, en Expi293 a una escala de 750 ml y se purificaron las proteínas variantes. El rendimiento de la purificación y las propiedades de calidad de las variantes purificadas fueron bastante similares y suficientes para usar las proteínas purificadas en las reacciones iniciales de conjugación de péptidos.

40 Evaluación de la conjugación de péptidos con variantes de Cys de HC basadas en PH9H5

La determinación analítica de la masa de la proteína MSCB33 y otras proteínas variantes indicó la presencia de aductos de cisteína en la Cys manipulada para la conjugación, con dos por mAb, así como la eliminación del residuo de Lys C-terminal de HC, que se observa comúnmente en los mAb producidos de manera recombinante. Para preparar los mAb variantes para la conjugación, los aductos se eliminaron mediante un proceso de reducción desarrollado para mantener los enlaces disulfuro nativos dentro del mAb (ver el Ejemplo 103). Se realizaron conjugaciones de prueba iniciales con un análogo peptídico de oxintomodulina humana (OMX) (GCG Aib₂, Glu16,24, Arg20, Leu27, Lys30-ε-(PEG₁₂)-NH₂) usando la química de maleimida en los cinco mAb variantes de Cys de HC. La eficacia de la conjugación difirió entre las variantes de mAb, que se estimó cualitativamente mediante los productos de la reacción de conjugación y el porcentaje relativo de cada uno. La mayor eficiencia, medida por el mayor porcentaje de producto de homodímero, se observó con MSCB33, en comparación con las otras variantes de I102C que contienen residuos de Gly flanqueantes, y se observó poca o ninguna conjugación con las variantes de Y103C MSCB35 o MSCB37.

Se expresaron varias otras variantes de HC y LC Cys, con sustituciones de cisteína manipuladas en varias CDR (una sustitución de T28C, S30C y S54C en PH9H5_VH (SEQ ID NO: 129), y una sustitución de S30C y S92C en PH9L3_VL (SEQ ID NO: 128)) a gran escala en Expi293. La eliminación de los aductos de Cys de estas proteínas purificadas mediante reducción fue un desafío y no se prosiguió con estas variantes. Debido a los desafíos observados con la mayoría de las variantes de Cys y la buena eficiencia de conjugación inicial observada con el mAb variante de I102C PH9H5, MSCB33, el desarrollo de procesos y los esfuerzos de manipulación adicionales se centraron en esta variante en particular.

65 Manipulación de Fc de MSCB33

5 Se rediseñó MSCB33 para contener el IgG4_PAA Fc humano silencioso para reducir la función Fc *in vivo*. La IgG4_PAA humana tiene mutaciones S228P/F234A/L235A en el alotipo nG4m (a) de IgG4 humana (en base al alelo IGHG4*01 como se define en IMGT). Se generó un constructo de expresión con el VH de MSCB33 fusionada al Fc de IgG4_PAA y se usó junto con el mismo constructo de expresión de LC usado para la expresión de MSCB33 para proporcionar la variante de IgG4_PAA de MSCB33, que se designa MSCB97. Las secuencias de aminoácidos de VH, HC, VL y LC de MSCB97 son proporcionadas por la SEQ ID NO: 137, 138, 139 y 140, respectivamente.

10 La expresión de prueba de MSCB97 se realizó transitoriamente a una escala de 20 ml en células Expi293 y esta variante de mAb se expresó bien. Se purificó MSCB97 a partir de una serie de expresión de Expi293 a gran escala. El rendimiento de purificación de MSCB97 fue de 264,53 mg/l y la calidad se determinó en el 85% de especies de monómeros. Las series de expresión y purificaciones posteriores a gran escala fueron similares o mejores en rendimiento y calidad e indicaron la consistencia con la que se podría proporcionar este mAb.

15 **Evaluación de la conjugación de péptidos a MSCB97 y escalabilidad de la reacción de conjugación**

20 La conectividad del disulfuro de LC-HC difiere entre los isotipos IgG1 e IgG4, por lo que se probó la reducción y la conjugación de maleimida y se confirmó que era traducible del mAb de IgG1 MSCB33 al mAb de IgG4_PAA MSCB97 usando la reducción de TCEP y la conjugación del péptido de prueba OXM-maleimida descrito anteriormente. Se sabe que el enlace resultante de la conjugación de maleimida es potencialmente reversible, por lo que se adoptó e implementó con éxito la química de conjugación de bromoacetamida, que produce un enlace más estable, a una escala de 10 mg en base al MSCB97 de partida.

25 Se ensayó el conjugado MSCB97 del análogo de OXM GCG Aib2, Glu16,24, Arg20, Leu27, Lys30-ε-(PEG₁₂)-NH₂ (MSCB97-OXM1) generado a través de la química de bromoacetamida para determinar las potencias de GLP-1R y GCGR *in vitro*. Las potencias relativas con los péptidos de referencia y los conjugados de polipéptidos no estructurados de referencia fueron razonables y similares a las del conjugado generado con el mismo péptido para MSCB33 (IgG1). Esto demostró que la única diferencia entre MSCB97 (IgG4_PAA) y MSCB33 (IgG1), que es el isotipo, no tuvo impacto sobre la potencia de los conjugados que contienen el mismo péptido. Además, estos datos mostraron que podrían retenerse potencias *in vitro* deseables en un conjugado péptido-mAb generado con la química de la bromoacetamida que produce un enlace que es estable *in vivo*. También se conjugaron otros análogos de OXM para MSCB97 y se ensayaron las potencias *in vitro* de estos conjugados. Estos conjugados tenían potencias de GLP-1R y GCGR similares a MSCB97-OXM1, destacando la capacidad de conjugar una variedad de péptidos con MSCB97, a la vez que retienen la potencia del péptido.

35 **Evaluación de la unión del conjugado péptido-MSCB97 con CCL2 humana**

40 Aunque se seleccionó y manipuló MSCB97 por falta de unión de antígeno específico, el antígeno más probable al que este mAb podría unirse, si lo hubiera, es CCL2 humana en base al origen del VH de CDR3. Se evaluó si MSCB97 demuestra alguna unión de CCL2 específica usando dos conjugados péptido-MSCB97, con un análogo peptídico de OXM o un análogo peptídico de PYY.

45 La unión potencial de CCL2 se midió directamente mediante resonancia de plasmones de superficie (SPR) en la que los conjugados se inmovilizaron en la superficie usando un método de captura anti-Fc. Un mAb de ratón anti-CCL2 disponible comercialmente sirvió como control positivo y dos anticuerpos humanos no específicos, CNTO 9412 y HH3B33, sirvieron como controles negativos. Todos los controles se inmovilizaron en la superficie de manera similar y se hizo fluir CCL2 humana recombinante sobre conjugados y controles inmovilizados a concentraciones de hasta 400 nM. En base a los criterios de ensayo preestablecidos, se observó acumulación de CCL2, que indica unión de antígeno específico, con el control positivo pero no con los controles negativos ni con el conjugado péptido-MSCB97. Esto confirmó que MSCB97, en la forma terapéutica relevante de un conjugado péptido-mAb, carece de unión a CCL2 humana.

Ejemplo 102: Expresión y purificación del mAb

55 El anticuerpo monoclonal (mAb) completamente humano puede expresarse de manera recombinante en un huésped de expresión de mamífero y purificarse a partir del sobrenadante del cultivo celular usando métodos estándar que se conocen en el área. Por ejemplo, una secuencia de ADNc que codifica las cadenas ligera (LC) y pesada (HC) del mAb, cada una de las cuales incluye un péptido señal apropiado para permitir la secreción, puede clonarse en vectores de expresión de mamíferos separados o en un único vector de expresión usando métodos de biología molecular estándar. Los vectores de expresión usados pueden ser cualquiera de los disponibles comercialmente como pEE12.4, pcDNA™ 3.1(+) o pIRESpuro3 o cualquier vector de expresión personalizado con funcionalidades similares. En tales vectores, la transcripción de las cadenas pesada y ligera del mAb está dirigida cada una por cualquiera de los promotores eficaces conocidos, como el promotor hCMV-MIE. El ADN plasmídico de grado transfección se preparar para separar los constructos de expresión de LC y HC o un único constructo que expresa tanto LC como HS usando métodos estándar como un Kit QIAGEN Plasmid Midi.

El ADN plasmídico purificado se prepara para la transfección con un reactivo de transfección a base de lípidos como el reactivo de transfección Freestyle™ Max, siguiendo las instrucciones del fabricante, y luego se transfecta en una línea celular huésped de expresión de mamífero estándar, como CHO-S o HEK 293-F. Si la LC y HC del mAb están codificadas por constructos de expresión separados, los dos constructos se transfecan simultáneamente. Antes y después de la transfección, las células de mamífero se cultivan para el mantenimiento o para la expresión de mAb siguiendo métodos de cultivo celular estándar en los que los intervalos de densidad celular a mantener, el medio de cultivo a usar y las otras condiciones de cultivo celular seguidas están determinadas por la línea de célula huésped de mamífero específica utilizada. Estos parámetros suelen estar documentados por el proveedor del que se obtuvo la línea celular o en la bibliografía científica. Por ejemplo, las células CHO-S se mantienen en media CHO Freestyle™ en suspensión, agitando a 125 RPM en una incubadora humidificada configurada a 37° Cy 8% de CO₂, y dividiendo cuando la concentración de células esta entre 1,5 y 2,0 x 10⁶ células por ml.

Los sobrenadantes del cultivo celular de las células de mamífero transfectadas transitoriamente que expresan el mAb se recogen varios días después de la transfección, se aclaran por centrifugación y se filtran. La duración de la expresión para las células CHO-S es típicamente de cuatro días, pero puede ajustarse y puede diferir para diferentes líneas de células huésped de mamíferos. Las transfecciones a gran escala (>10 litros) se concentran 10 veces usando un concentrador como Centramate. El mAb se purifica del sobrenadante aclarado usando una columna de afinidad de Proteína A como HiTrap MabSelect Sure utilizando métodos estándar para unir mAb a la resina de Proteína A, lavando la resina y eluyendo la proteína usando tampón de pH bajo. Las fracciones de proteína se neutralizan inmediatamente mediante elución en tubos que contienen tampón de pH 7 y se combinan las fracciones de los picos, se filtran y se dializan frente a solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,2 durante la noche a 4° C. Después de la dialización, el mAb se filtra de nuevo (filtro de 0,2μ) y la concentración de proteína se determina por absorbancia a 280 nm. La calidad de la proteína mAb purificada se evalúa mediante electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida (PAGE) y se miden los niveles de endotoxina y HPLC de exclusión por tamaño analítico usando un ensayo de lisado de amebocitos de limulus (LAL). El mAb purificado se almacena a 4° C.

Expresión y purificación de MSCB97 a partir de células CHO transfectadas transitoriamente

MSCB97 se expresó en células ExpiCHO-S™ (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA; Nº de Cat A29127) mediante transfección transitoria de las células con ADN plasmídico purificado de un constructo de expresión de MSCB97 siguiendo las recomendaciones del fabricante. Brevemente, las células ExpiCHO-S™ se mantuvieron en suspensión en medio de expresión ExpiCHO™ (ThermoFisher Scientific, Nº de Cat A29100) en un conjunto incubador con agitación a 37° C, 8% de CO₂ y 125 RPM. Las células se pasaron de tal manera que el día de la transfección, podía lograrse una dilución de hasta 6,0 x 10⁶ células por ml, manteniendo la viabilidad celular al 98% o mejor. Las transfecciones transitorias se realizaron usando el kit de transfección ExpiFectamine™ CHO (ThermoFisher Scientific Nº de Cat A29131). Por cada ml de células diluidas que se van a transfectar, se usa un microgramo de ADN plasmídico y se diluye en medio de complejación OptiPRO™ SFM. El reactivo ExpiFectamine™ CHO se usa a una proporción de 1:3 (v/v, ADN:reactivo) y también se diluye en OptiPRO™. El ADN diluido y el reactivo de transfección se combinaron durante un minuto, permitiendo la formación del complejo ADN/lípido, y luego se añadieron a las células. Después de la incubación durante la noche, se añadieron a las células el alimento ExpiCHO™ y el potenciador ExpiFectamine™ CHO. Las células se cultivaron con agitación a 32° C durante cinco días antes de recoger los sobrenadantes del cultivo.

Los sobrenadantes del cultivo de las células ExpiCHO-S™ transfectadas transitoriamente se recogieron aclarando mediante centrifugación (30 min, 6000 rpm) seguido de filtración (membrana PES de 0,2 μm, Corning). Las transfecciones a gran escala (de 5 a 20 litros) se concentraron primero 10 veces usando un sistema de filtración de flujo tangencial Pall Centramate. Se añadió DPBS 10x (solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco), pH 7.2 al sobrenadante a una concentración final 1x antes de cargar en una columna HiTrap MabSelect Sure Protein A equilibrada (DPBS, pH 7.2) (GE Healthcare; Little Chalfont, Reino Unido) a una concentración relativa de ~20 mg de proteína por ml de resina, usando un sistema de cromatografía AKTA FPLC. Después de la carga, la columna se lavó con 10 volúmenes de columna de DPBS, pH 7,2. La proteína se eluyó con 10 volúmenes de columna de acetato de sodio 0,1 M, pH 3,5. Las fracciones de proteína se neutralizaron inmediatamente mediante elución en tubos que contenían Tris 2,0 M, pH 7 al 20% del volumen de la fracción de elución. Las fracciones de los picos se combinaron y el pH se ajustó a 5,5 con Tris adicional, si era necesario. La proteína purificada se filtró (0,2 μ) y la concentración se determinó mediante absorbancia a 280 nm en un espectrofotómetro BioTek SynergyHT™. La calidad de la proteína purificada se evaluó mediante SDS-PAGE y HPLC de exclusión por tamaño analítico (sistema Dionex HPLC). El nivel de endotoxinas se midió usando un ensayo LAL turbidométrico (Pyrotell®-T, Associates of Cape Cod).

Ejemplo 103: conjugación de mAb y análogo de PYY cíclico

Método A: reducción parcial de mAb con TCEP

Se trató una solución de 10 mg/ml de mAb en tampón de tris-acetato (20 ml, 1 mM en EDTA) con 3

equivalentes de TCEP. La solución se ajustó a pH 6 y después de 1 hora a ta la cromatografía líquida de alta presión con espectrómetro de masas (LCMS) mostró que los aductos de disulfuro en la posición C102 se habían reducido completamente. El mAb reducido se purificó mediante adsorción y elución de proteína A (4 CV de ácido acético 100 mM) para proporcionar 180 mg de mAb reducido.

5

Conjugación de mAb reducido y análogo de PYY cíclico

Se añadió péptido liofilizado (5 eq frente a mAb) al mAb reducido descrito anteriormente. Se añadió EDTA a una concentración final de 1 mM y el pH se ajustó a 7. La concentración se ajustó a 8 mg/ml y se dejó que la reacción prosiguiera con agitación suave durante 16 h a ta. Se añadió TCEP (0,5 eq frente a mAb) y se dejó que la reacción prosiguiera durante 4 horas a ta con agitación suave, después de lo cual las especies de alto peso molecular (PM) se redujeron a menos del 3%.

La mezcla de la reacción se ajustó a pH 5,5 y se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico en resina CaptoSP usando un gradiente del 100% de A (TRIS-acetato 100 mM, pH 5,5) al 100% de B (TRIS-acetato 100 mM, pH 5,5; NaCl 0,5M) sobre 20 CV. Se agruparon las fracciones que contenían el conjugado deseado y se recuperaron 140 mg de conjugado, coeluyendo con una pequeña cantidad de péptido sin reaccionar. La purificación final se realizó mediante adsorción y elución de proteína A (4 CV de ácido acético 100 mM). El pH del producto se ajustó a 6 para dar 120 mg de conjugado (rendimiento del 60%) con una pureza >90% con especies de PM alto <3%.

Método B

Purificación de mAb por cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC)

Se cargó una solución de 20 mg/ml de mAb en tampón de tris-acetato en una columna de interacción hidrofoba (TOSOH TSKgel fenilo 7,5 x 21 cm) y se eluyó con un gradiente lineal (0-70% de B/A, solvente A: 5% de iPrOH, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1M, tampón de fosfato 100 mM, pH 6,0; solvente B: iPrOH al 20%, tampón fosfato 100 mM). Los picos de monómero de mAb se reunieron, se concentraron (5-10 mg/ml) y se dializaron contra tampón de ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico (MOPS) (100 mM, pH 5,5).

Reducción parcial con TCEP y conjugación de mAb reducido con análogo de PYY cíclico

Al mAb purificado (27 ml, 9,28 mg/ml) se le añadieron 4 eq. de TCEP seguido de EDTA (1 mM). Después de 2 horas a temperatura ambiente, la LCMS mostró que los aductos de disulfuro en la posición C102 se habían reducido completamente. El mAb reducido se trató con una columna giratoria de desalación Zebra (7x10 ml, MWCO 7K, preequilibrio con MOPS 100 mM pH 5,5) para eliminar las cisteínas/GSH liberadas. A las fracciones combinadas del mAb reducido (28 ml) se les añadió una solución de péptido PYY en agua de calidad Milli Q (6,5 eq frente a mAb, 15-20 mg/ml) seguido de EDTA (1 mM). El pH de la reacción se ajustó de 7,2 a 7,4 mediante la adición gota a gota de NaOH 1N. Se dejó que la reacción prosiguiera durante 18 horas a temperatura ambiente con agitación suave. La reacción continuó durante otras 12 h después de la adición de 0,5 equiv de TCEP adicionales para reducir el dímero de mAb-mAb formado durante el curso de la reacción y permitir la conversión al homodímero de mAb deseado. El pH de la reacción se redujo a pH 5,5 mediante la adición de ácido acético 2M y el conjugado bruto se purificó mediante cromatografía de interacción hidrofoba y se eluyó con un gradiente lineal (0-100% de B/A, solvente A: 5% de iPrOH, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1M, tampón de fosfato 100 mM, pH 6,0; solvente B: 20% de iPrOH, tampón de fosfato 100 mM). La purificación final se realizó mediante adsorción de proteína A (PBS) y elución (NaOAc, pH 3,5). El pH del producto se ajustó a 6 y se dializó frente a PBS para dar la muestra final (56%).

Alternativamente, el mAb se redujo con GSH y/o Cys. Después de la eliminación del agente reductor mediante filtración de flujo tangencial (TFF), se añadió un exceso del péptido al mAb reducido opcionalmente en presencia de 0,2-0,5 equivalentes de TCEP.

Ejemplo 104: caracterización del conjugado de mAb

La caracterización analítica de los conjugados PYY-mAb se realizó usando (i) cromatografía de interacción hidrofoba (HIC), (ii) medición de masa intacta por LC-ESIMS, (iii) cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Los resultados de la caracterización analítica de los conjugados PYY-mAb y el método de conjugación se muestran en la Tabla 1.

60

65

Tabla 1: Datos analíticos para conjugados PYY-mAb.

Nº de Compuesto	Conjugación	MS (calculado) Da	MS (encontrado) Da	% de pureza SEC	% de pureza HIC
5	1	Método B 156144	156142	97,89	100
	2	Método B 155616	155617	N/A	100
	3	Método B 154945	154947	N/A	100
	4	Método B 155972	155966	N/A	100
10	5	Método B 157668	157670	N/A	100
	6	Método B 156116	156118	N/A	100
	7	Método B 156172	156155	N/A	100
	8	Método B 156173	156154	N/A	100
15	9	Método B 156347	156350	N/A	98
	10	Método B 156347	156349	N/A	100
	11	Método B 156039	156040	N/A	100
	12	Método B 156450	156448	N/A	100
20	13	Método B 156138	156162	N/A	100
	14	Método B 156201	156202	N/A	100
	15	Método B 156233	156145	93,79	97
	16	Método B 156233	156236	N/A	100
25	17	Método B 156060	156062	98,64	100
	18	Método A 156116	156104	98,64	ND
	19	Método A 156144	156129	98,15	ND
	20	Método A 156144	156130	98,21	ND
30	21	Método A 156200	156187	98,22	ND
	22	Método B 156082	156082	100	96
	23	Método B 156082	156083	93	100
	24	Método B 154714	154722	86	81
35	25	Método B 157202	157196	97,55	100
	26	Método B 156117	156111	99,00	100

Ejemplo 105: Ensayos *in vitro*

Se evaluó la capacidad del compuesto 1 para activar receptores de NPY *in vitro* en células clonales (HEK o CHO) que expresan receptores Y2 de humanos, ratas, ratones y monos rhesus, y receptores Y1, Y4 e Y5 humanos. PYY3-36, NPY y PP se incluyeron en estos ensayos como controles del estudio.

Líneas celulares

Se desarrollaron líneas de células clonales transfectadas estables que expresaban receptores de NPY para su uso en ensayos de cAMP. En resumen, las líneas celulares HEK293 se transfecaron usando el kit Lipofectamine 2000 (Invitrogen) de acuerdo con su protocolo con plásmidos de expresión que llevan las secuencias codificantes del receptor Y2 humano (Nº de registro: NM_000910.2), el receptor Y5 humano (Nº de registro: NM_006174.2), el receptor Y2 de ratón (Nº de registro: NM_008731) y el receptor Y2 del mono rhesus (Nº de registro: NM_001032832). Cuarenta y ocho horas después de la transfección, las células se volvieron a sembrar en placas con medio de selección (DMEM alto en glucosa con suero bovino fetal (FBS) al 10%, 50 U.I. de penicilina, 50 µg/ml de estreptomicina, L-glutamina 2 mM, piruvato de sodio 1 mM y 600 µg/ml de G418). Las células se mantuvieron en medio de selección durante 2 semanas antes de que se recogieran clones individuales usando el método de dilución limitada. Las células transfectadas se mantuvieron posteriormente cultivando en medio alto en glucosa de DMEM (Cellgro) suplementado con 10% de suero bovino fetal, 1% de L-glutamina, 1% de piruvato sódico, 1% de penicilina/estreptomicina y 600 µg/ml de G418.

Además, se obtuvieron líneas celulares CHO-K1 de DiscoverX Corporation, que expresan el receptor Y1 humano (Nº de catálogo: 93-0397C2) y el receptor Y4 humano (Nº de catálogo: 95-0087C2). Las células DiscoverX cultivadas en medio F12 (Gibco) suplementado con FBS al 10% y bajo la selección de G418 (800 µg/ml). El receptor Y2 de rata se expresó en una línea Glo-Sensor CHO-K1 obtenida de Promega Corporation. Estas células se transfecaron con el plásmido pGloSensor™-23F cAMP para un ensayo de cAMP basado en luminiscencia, pero se habían probado y validado para su uso con el ensayo de cAMP de Perkin-Elmer LANCE. Las células Y2 de rata se cultivaron en medio F12 (Gibco) suplementado con FBS al 10% y 800 µg/ml de G418.

Todas las líneas celulares se almacenaron en viales (4×10^6 células/vial) y se almacenaron en nitrógeno

líquido hasta su uso. El día antes del ensayo, los viales se descongelaron y se añadieron a 15 ml de medio apropiado. Las células se centrifugaron a 450 x g durante 5 min, los sobrenadantes se aspiraron y las células se volvieron a suspender en medio sin G418 a una densidad de $0,2 \times 10^6$ células/ml. Las células se dispensaron (25 $\mu\text{l}/\text{pocillo}$) en placas blancas de 384 pocillos recubiertas con colágeno Biocoat hasta una densidad final de 5000 células/pocillo. Las placas de las células se incubaron durante la noche en una incubadora de cultivo de tejido humidificada a 37° C bajo una atmósfera de 5% de CO₂/90% de O₂.

Protocolo experimental

El ensayo de cAMP fue el mismo para los varios ensayos de receptores. Se usó el kit LANCE cAMP (Perkin Elmer Corporation; Waltham, MA) en todos los experimentos para cuantificar los niveles intracelulares de cAMP. El día del ensayo, se decantó el medio celular de las células y se añadieron a los pocillos 6 μl de péptidos (concentración 2X). Los péptidos se prepararon como una respuesta a la dosis de 11 puntos (comenzando a 100 nM o 10 μM con diluciones en serie 1:3) en tampón de estimulación. El tampón de estimulación consiste de HEPES 5 mM (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanolsulfónico), IBMX 500 μM y albúmina de suero bovino (BSA) al 0,1% en HBSS (solución salina equilibrada de Hank). Luego, se añadieron a las células 6 μl de tampón de estimulación que contenía forskolina (2X, concentración final 5 μM) y anticuerpo LANCE cAMP (1:100). Después de la incubación durante 25 minutos a ta, se añadieron 12 μl de mezcla de detección de ensayo a cada pocillo. La mezcla de detección se preparó diluyendo biotina-cAMP (1:750) y europio-W8044 (1:2250) en tampón de detección como se proporciona con el kit LANCE cAMP. La placa se incubó durante 2 horas a ta y luego se leyó como un ensayo TR-FRET en el lector de placas Envision (excitación 320 nm, emisión 615 nm y 665 nm). La fluorescencia del canal 1 (unidades fluorescentes relativas a 615 nm) y la fluorescencia del canal 2 (unidades fluorescentes relativas a 665 nm) junto con su relación se exportaron a un archivo de Excel.

Análisis de los datos

Los datos del lector de placas Envision se expresaron como unidades de fluorescencia relativa (RFU) calculadas como (615 nm/665 nm) x 10.000. Todas las muestras se midieron por triplicado. Los datos se analizaron usando el software de análisis de datos interno Crucible, diseñado por Eudean Shaw. Las concentraciones de cAMP desconocidas dentro de cada pocillo se interpolaron a partir de los estándares de referencia de concentraciones de cAMP conocidas incluidas dentro de cada placa. Los parámetros como EC₅₀, Log(EC₅₀), HillSlope(nH), superior e inferior, se derivaron trazando los valores de concentración de cAMP sobre las concentraciones de compuestos logarítmicas ajustadas con el modelo 4-P usando una aplicación de mínimos cuadrados ponderados no lineales dentro del entorno R (Código abierto <http://cran.us.r-project.org/>) implementado por el departamento de Informática y Estadísticas No Clínicas de I+D de Janssen.

Tabla 2: datos *in vitro*

Compuesto	Potencia de isoforma humana (EC₅₀ nM)				Potencia entre especies (EC₅₀ nM)		
	hY2	hY1	hY4	hY5	Ratón Y2	Rata Y2	Mono Rhesus Y2
Compuesto 1	0,006	> 2910	> 2910	345,7	0,004	0,04	0,004
PYY3-36	0,08	66,4	136,7	12,3	0,03	0,50	0,06

Tabla 3: EC₅₀ de isoforma humana *in vitro* y especies cruzadas

Nº de compuesto	EC50 humana (nM)				EC50 de especies cruzadas (nM)		
	hY2	hY1	hY4	hY5	mY2	rY2	rhY2
1	0,0065	> 2910	> 2910	345,7	0,004	0,04	0,004
2	0,012						
3	0,012						
4	7,75						
5	0,42						
6	0,065						
7	0,02	678,7	> 1186	10,8			
8	0,295						
9	0,01						
10	0,06						
11	0,015						
12	0,015	1990	520,8	154,5			
13	0,008	> 3000	> 3000	294,2			
14	0,04						
15	0,25						

Nº de compuesto	(continuación)				EC50 de especies cruzadas (nM)		
	hY2	hY1	hY4	hY5	mY2	rY2	rhY2
16	0,04						
17	0,007						
18	0,0085						
19	0,015						
20	0,0075						
21	0,08						
22	0,0085						
23	0,0075						
24							
25	0,0055						
26	0,0085						

Ejemplo 106: Ensayo de estabilidad en ratón *in vivo*

Se obtuvieron ratones macho C57BL/6N (9-12 semanas de edad) de Taconic Laboratory. Los ratones se alojaron un ratón por jaula con ropa de cama AlphaDri en una habitación con temperatura controlada con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h. Se permitió a los ratones acceso a voluntad al agua y se mantuvieron con una dieta de pienso (5001, Lab Diet).

A los ratones se les dosificó por vía subcutánea 1 mg/kg de compuesto. Se recogieron aproximadamente 100 µl de sangre de 3 animales en t = 4, 24 y 48 horas mediante un corte de cola. También se recogió sangre (aproximadamente 600 µl) de 2-3 animales por punto temporal en t = 4, 24 y 48 horas mediante punción cardíaca. Las muestras de sangre se recogieron en tubos K3E (EDTA) que contenían una proporción del 4% de solución inhibidora de proteasa completa y una proporción del 1% de inhibidor de DPPIV. Las muestras de sangre se colocaron en hielo húmedo antes de centrifugarlas a 10.000 rpm durante 10 minutos en condiciones de refrigeración (~5º C) para eliminar las células en el plazo de los 30 minutos siguientes a la recogida en cada punto temporal y todo el plasma disponible se transfirió a una placa de 96 pocillos. La placa de pocillos se almacenó en un congelador a -80º C. Los niveles de compuesto se midieron usando el método LCMS que se describe a continuación. Los datos se muestran en la Tabla 4.

Ensayos de espectrometría de masas para la determinación del % restante de conjugado intacto

Las muestras de plasma se procesaron mediante captura de inmunofijación usando un anticuerpo Fc antihumano, seguido de análisis de MS de barrido completo de alta resolución de LC de fase inversa en un espectrómetro de masas de TOF (tiempo de vuelo triple). Los espectros de MS sin procesar se deconvolucionaron para dilucidar los pesos moleculares de los componentes en las muestras inyectadas. El pico del ion de la molécula del conjugado intacto se usó para la cuantificación del conjugado intacto sin cambios. En un ensayo separado, se procesaron las muestras de plasma mediante captura de inmunofijación usando un anticuerpo anti-Fc humano, seguido de digestión con tripsina y análisis de LC-MSMS de fase inversa en un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo. Se monitorizó un péptido localizado en Fc del mAb para la cuantificación del mAb total. Para ambos ensayos, las muestras de curva estándar y de control de calidad se prepararon añadiendo el estándar de referencia en plasma y se procesaron usando el mismo procedimiento al mismo tiempo que las muestras obtenidas. Se calculó que la proporción entre la concentración de conjugado intacto y la de mAb total era el % restante.

Tabla 4: Datos de estabilidad del ratón *in vivo*

Nº de compuesto	% restante a las 48 horas en ratón
1	90,8
2	65,6
3	51,8
4	N/A
5	80,4
6	49,7
7	75,4
8	51,6
9	51,5
10	42,4
11	60

(continuación)		
	Nº de compuesto	% restante a las 48 horas en ratón
5	12	63,5
	13	74,4
	14	102
	15	N/A
	16	96
	17	
10	18	77
	19	87,4
	20	74,4
	21	85,8
	22	
	23	
15	24	
	25	81,5
	26	71,9

Ejemplo 107: Farmacocinética (PK)PK del ratón DIO

25 Se obtuvieron ratones DIO C57BL/6N macho (20 semanas de edad, 14 semanas con una dieta rica en grasas) de Taconic Laboratory. Los ratones se alojaron un ratón por jaula con ropa de cama AlphaDri en una habitación con temperatura controlada con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h. Se permitió a los ratones acceso a voluntad al agua y se les mantuvo con una dieta alta en grasas (D12492, Research Diet).

30 A los ratones se les dosificó por vía subcutánea (s.c.) 1 mg/kg de compuesto 1, se sacrificaron 3 animales en cada punto temporal y se recogió sangre en $t = 4, 8, 24, 48, 72, 120$ y 168 horas. También se recogió sangre de 3 animales sin tratamiento previo. Se recogieron aproximadamente 300 μ l de sangre de cada animal a través de la vena yugular después de la decapitación bajo anestesia de gas inducida con mezcla de 70% de CO₂ y 30% de O₂. Las muestras de sangre (aproximadamente 300 μ l) se recogieron en tubos Sarstedt Microvette® recubiertos con K3E (EDTA) que contenían 12 μ l (proporción del 4%) de solución inhibidora de proteasa completa y 3 μ l (proporción del 1%) de inhibidor de DPP-IV. Las muestras de sangre se colocaron en hielo húmedo antes de centrifugarlas a 10.000 rpm durante ~4 minutos en condiciones de refrigeración (~5° C) para la eliminación de células en el plazo de los 30 minutos posteriores a la recogida en cada punto temporal y todo el plasma disponible se transfirió a una placa de 96 pocillos. La placa de pocillos se almacenó en hielo seco hasta que se colocó en un congelador a -80° C. Los datos se muestran en la Tabla 5 y la Figura 3.

35

40

PK de rata

45 Se administró el compuesto 1 por vía subcutánea e intravenosa a ratas Sprague-Dawley macho (Charles River Laboratories, Wilmington, MA) a un nivel de dosis de 1,0 mg/kg en PBS, (pH 7,0-7,6). Se recogieron aproximadamente 500 μ l de sangre de tres animales por punto temporal a través de una vena safena ($t = 1, 4, 24, 48, 72, 96, 168$ y 240 horas después de la dosis). Se tomó una muestra de sangre 336 horas después de la dosis a través de la vena yugular después de la decapitación bajo anestesia de gas inducida con mezcla de 70% de CO₂ y 30% de O₂. Las muestras de sangre se recogieron en tubos Sarstedt Microvette® recubiertos con K3E (EDTA) que contenían 20 μ l (proporción del 4%) de solución inhibidora de proteasa completa y 5 μ l (proporción del 1%) de inhibidor de DPPIV. Las muestras de sangre se colocaron en hielo húmedo antes de centrifugarlas a 10.000 rpm durante ~4 minutos en condiciones de refrigeración (~5° C) para la eliminación de células en el plazo de los 60 minutos posteriores a la recogida en cada punto temporal y todo el plasma disponible se transfirió a una placa de 96 pocillos. Los niveles de Compuesto 1 se midieron usando el método LCMS que se describe a continuación. Los datos se muestran en la Tabla 6.

50

55

PK de mono Cynomolgus (Cyno)

60 Todos los animales se mantuvieron en ayunas durante por lo menos ocho horas antes de la dosificación y durante las primeras cuatro horas de recogida de muestras de sangre. Tres animales recibieron una única dosis IV de 1 mg/kg de Compuesto 1 y tres animales recibieron una única dosis SC de 1 mg/kg de Compuesto 1. Se extrajo sangre antes de la dosis y al de 1, 6, 10, 24, 36, 48, 72, 120, 168, 240, 336, 432 y 504 horas después de la dosis. Se recogió una muestra adicional 0,5 horas después de la dosis para el grupo IV. Se recogió aproximadamente 1 ml de sangre de cada animal en tubos Sarstedt Microvette® recubiertos con K3E (EDTA) que contenían una proporción del 4% de solución inhibidora de proteasa completa y una proporción del 1% de inhibidor de DPPIV. Las muestras de

65

sangre se colocaron en hielo húmedo antes de ser centrifugadas en el plazo de los 30 minutos posteriores a la recogida en cada punto temporal y el plasma resultante se dividió en tercios y se transfirió a una placa de 96 pocillos por triplicado. La placa de pocillos se almacenó en hielo seco hasta que se colocó en un congelador a -80° C. Los datos se muestran en la Tabla 7 y la Figura 4.

5 **Ensayo de espectrometría de masas intacta para la determinación de niveles en plasma**

10 Las muestras de plasma se procesaron mediante captura de inmunofujiabilidad usando un anticuerpo de Fc antihumano, seguido de análisis de MS de barrido completo de alta resolución de LC de fase inversa en un espectrómetro de masas de TOF (tiempo de vuelo) triple. Se deconvolvieron los espectros de MS sin procesar para dilucidar los pesos moleculares de los componentes en las muestras inyectadas. Para la cuantificación se usó el pico del ion de la molécula del conjugado intacto. Se prepararon muestras de control de calidad y curvas estándar añadiendo el estándar de referencia en plasma y se procesaron usando el mismo procedimiento al mismo tiempo que las muestras obtenidas. Los datos de PK para ratón DIO, rata y cyno se muestran en la Tabla 5, la Tabla 6 y la Tabla 7, respectivamente. Los datos PK para ratón DIO y Cyno también se muestran en las Figuras 3 y 4, respectivamente.

15

Tabla 5: PK en Ratón DIO

Ensayo	Dosis (mg/kg)	T _{1/2} hr	T _{max} hr	C _{max} ng/ml	AUC _{última} hr*ng/ml
Intacto	1,0	81,05	48	8750	995460

Tabla 6: PK en rata

Vía	Dosis (mg/kg)	T _{1/2} hr	T _{max} hr	C _{max} ng/ml	AUC _{última} hr*ng/ml
IV	1,0	93,0	1	19,5	809,2
SC	1,0	88,7	48	4,2	602,0

Tabla 7: PK en Cyno

Vía	Dosis (mg/kg)	T _{1/2} hr	T _{max} hr	C _{max} ng/ml	AUC _{última} hr*ng/ml
IV	1,0	178,39	0,67	30290	1207,39
SC	1,0	104,32	10	5590	712,19

35 **Ejemplo 108: Estudios de eficacia *in vivo***

Pérdida de peso en ratones obesos inducidos por dieta (DIO): dosis aguda

40 Se evaluó la capacidad del Compuesto 1 para reducir la ingesta de alimento y el peso corporal en ratones DIO C57B1/6 macho después de una dosis única. Se obtuvieron ratones macho DIO C57BL/6N (20 semanas de edad, 14 semanas con una dieta rica en grasas) de Taconic Laboratory. Los ratones se alojaron a un ratón por jaula con ropa de cama AlphaDri en una habitación con temperatura controlada con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h. Se permitió a los ratones acceso a voluntad al agua y se les mantuvo con una dieta alta en grasas (D12492, Research Diet). Los animales se aclimataron a la instalación durante por lo menos una semana antes del inicio del experimento.

45

50 El día antes de la dosificación, los ratones se agruparon en cohortes de ocho animales en base a los pesos corporales individuales. A las 3:00-4:00 pm del día siguiente, los animales fueron pesados y tratados con vehículo (dPBS, pH 7.2), Compuesto 1 a una dosis de 0,1, 0,3, 1,0, 3,0 o 7,5 nmol/kg, o Dulaglutida en 0,3 nmol/kg mediante administración subcutánea (s.c.). Se midieron los pesos corporales y la ingesta de alimentos 24 h, 48 h y 72 h después de la dosificación y se calcularon los porcentajes de pérdida de peso y reducción de la ingesta de alimentos. Los análisis estadísticos se realizaron usando ANOVA de medidas repetidas bidireccional con la prueba posterior de Tukey en Prism. Todos los datos se presentan como la media ± SEM (Figura 5 y Figura 6).

55 **Pérdida de peso en ratones obesos inducidos por dieta: dosis crónica**

60 Se evaluó la capacidad del Compuesto 1 para reducir la ingesta de alimento y el peso corporal y mejorar la homeostasis de la glucosa con la dosificación repetida en ratones DIO C57B1/6 macho durante un período de 8 días. Se obtuvieron ratones DIO C57BL/6N macho (20 semanas de edad, 14 semanas con una dieta rica en grasas) de Taconic Laboratory. Los ratones se alojaron a un ratón por jaula con ropa de cama AlphaDri en una habitación con temperatura controlada con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h. Se permitió a los ratones acceso a voluntad al agua y se les mantuvo con una dieta alta en grasas (D12492, Research Diet). Los animales se aclimataron a la instalación durante por lo menos una semana antes del inicio del experimento.

65 El día antes de la dosificación, los ratones se agruparon en base al peso corporal individual. A las 3:00-4:00

pm durante cada uno de los siguientes 8 días, se pesaron los animales y la ingesta de alimentos. Los animales se trataron con vehículo (dPBS, pH 7,2) o dulaglutida a 0,3 nmol/kg mediante administración subcutánea todos los días o Compuesto 1 a dosis de 0,1, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/kg mediante administración subcutánea cada tres días. Después de 8 días, los ratones se dejan en ayunas durante 5 horas y luego se les administra un bolo de glucosa de 2 g/kg por vía oral en t=0. En t=0, 30, 60, 90 y 120 minutos después del desafío de glucosa se mide la glucosa en sangre y en t=0, 30 y 90 minutos se extrae sangre para medir la insulina en plasma. Los análisis estadísticos se realizaron usando ANOVA unidireccional o ANOVA de medidas repetidas bidireccional con la prueba posterior de Tukey en Prism. Todos los datos se presentan como la media ± SEM (Figura 7, Figura 8 y Tablas 8-11).

10 **Tabla 8: Efecto del compuesto 1 sobre el peso corporal (g) durante 8 días de tratamiento**

Tratamiento	Vehículo	Compuesto 1 (nmol/kg)				Dulaglutida (nmol/kg)
		0,1	0,3	1,0	3,0	
Día	n/a					
-1	46,3 ± 0,6	46,3 ± 0,6	46,7 ± 0,8	46,3 ± 0,6	46,3 ± 0,6	46,3 ± 0,6
0	46,1 ± 0,7	46,0 ± 0,6	46,8 ± 0,7	46,3 ± 0,6	46,3 ± 0,6	45,9 ± 0,6
1	45,8 ± 0,7	45,0 ± 0,6	45,2 ± 0,7	43,9 ± 0,5	43,9 ± 0,6	44,1 ± 0,6
2	45,2 ± 0,7	43,9 ± 0,6	43,6 ± 0,7	42,4 ± 0,7 *	41,8 ± 0,7 *	42,2 ± 0,6 *
3	45,1 ± 0,7	43,9 ± 0,6	42,8 ± 0,6	41,0 ± 0,6 *	40,1 ± 0,6 *	40,6 ± 0,6 *
4	44,7 ± 0,7	43,4 ± 0,6	42,0 ± 0,6	39,9 ± 0,6 *	38,5 ± 0,6 *	39,3 ± 0,6 *
5	44,5 ± 0,7	43,0 ± 0,6	41,5 ± 0,5 *	39,1 ± 0,6 *	36,8 ± 0,7 *	38,1 ± 0,7 *
6	44,5 ± 0,7	43,1 ± 0,6	41,4 ± 0,5 *	38,6 ± 0,6 *	35,5 ± 0,8 *	37,1 ± 0,8 *
7	44,3 ± 0,7	43,1 ± 0,7	41,3 ± 0,5 *	38,2 ± 0,6 *	34,8 ± 0,9 *	36,4 ± 1,0 *
8	45,2 ± 0,6	46,3 ± 0,7	41,9 ± 0,5 *	38,8 ± 0,6	34,7 ± 1,0 *	36,5 ± 1,1 *

Los valores representan la media ± SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

*p<0,05, frente al vehículo; ANOVA bidireccional RM, prueba de comparación múltiple de Tukey

30

35

40

45

50

55

60

65

Tabla 9: Efecto del compuesto 1 sobre los niveles de glucosa en sangre (mg/dl) durante una OGTT después de 8 días de tratamiento

Tratamiento	Dosis (nmol/kg)	Tiempo después de la prueba de glucosa (min)				AUC total (mg/dl/120 min)	AUC Delta (mg/dl/120 min)
		0	30	60	90		
Vehículo	N/A	148 ± 6	227 ± 15	272 ± 12	206 ± 9	209 ± 13	26492 ± 1232
Comp. 1	0,1	151 ± 4	213 ± 9	249 ± 10	186 ± 11	194 ± 15	24598 ± 849
	0,3	137 ± 6	191 ± 11	208 ± 10 *	146 ± 8 *	160 ± 8 *	20786 ± 728 *
	1,0	117 ± 5	146 ± 9 *	203 ± 10 *	135 ± 8 *	136 ± 5 *	18285 ± 769 *
	3,0	73 ± 11 *	129 ± 5 *	149 ± 10 *	93 ± 9 *	101 ± 9 *	137032 ± 913 *
Dulaglutida	0,3	76 ± 9 *	151 ± 14 *	174 ± 17 *	104 ± 10 *	119 ± 9 *	15758 ± 1054 *
							66668+ 1846

Los valores representan la media ± SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

*p<0,05, frente al vehículo; ANOVA RM bidireccional, la prueba de comparación múltiple de Tukey para valores de glucosa; ANOVA unidireccional, prueba de comparación múltiple de Tukey para AUC

Tabla 10: Efecto del compuesto 1 sobre los niveles de insulina (ng/ml) durante una OGTT después de 8 días de tratamiento

Tratamiento	Dosis (nmol/kg)	0	30	90	AUC total (mg/dl/120 min)
Vehículo	N/A	5,6 ± 1,4	11,3 ± 3,0	4,0 ± 0,6	711,4 ± 164,1
Comp. 1	0,1	3,0 ± 0,4	6,6 ± 0,8 *	2,4 ± 0,2	415,6 ± 44,2
	0,3	2,3 ± 0,2	4,0 ± 0,6 *	1,7 ± 0,2	264,3 ± 33,0 *
	1,0	1,3 ± 0,2 *	2,2 ± 0,1 *	1,1 ± 0,2	151,6 ± 12,5 *
	3,0	0,4 ± 0,1 *	1,2 ± 0,1 *	0,4 ± 0,1 *	73,9 ± 9,0 *
Dulaglutida	0,3	0,6 ± 0,1 *	1,7 ± 0,2 *	0,7 ± 0,2	108,82 ± 12,3 *

Los valores representan la media ± SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

*p<0,05, frente al vehículo; ANOVA RM bidireccional, prueba de comparación múltiple de Tukey para valores de glucosa; ANOVA unidireccional, prueba de comparación múltiple de Tukey para AUC

Tabla 11: Efecto del compuesto 1 sobre los niveles de glucosa en sangre (mg/dl) después de 8 días de tratamiento

Tratamiento	Dosis (nmol/kg)	Glucosa en sangre (mg/dl)
Vehículo	N/A	180 ± 5
Compuesto 1	0,1	164 ± 6
	0,3	160 ± 5
	1,0	149 ± 6
	3,0	105 ± 12*
Dulaglutida	0,3	114 ± 13*

Los valores representan la media ± SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

*p<0,05, frente al vehículo; ANOVA unidireccional, prueba de comparación múltiple de Tukey

Pérdida de peso en ratones obesos inducidos por dieta en combinación con liraglutida: dosis crónica

Se evaluó la capacidad del Compuesto 1 para reducir la ingesta de alimento y el peso corporal y mejorar la homeostasis de la glucosa en combinación con un agonista de GLP-1 de acción prolongada, liraglutida, en dosis repetidas en ratones DIO C57B1/6 macho durante un período de 9 días.

Se obtuvieron ratones DIO C57BL/6N macho (20 semanas de edad, 14 semanas con una dieta rica en grasas) de Taconic Laboratory. Los ratones se alojaron a un ratón por jaula con ropa de cama AlphaDri en una habitación con temperatura controlada con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h. Se permitió a los ratones acceso a voluntad a agua y se les mantuvo con una dieta alta en grasas (D12492, Research Diet). Los animales se aclimataron a la instalación durante por lo menos una semana antes del inicio del experimento.

El día antes de la dosificación, se midió la composición corporal mediante MRI y los ratones se agruparon en base al peso corporal individual. El día 0 a las 3:00-4:00 pm, se pesaron los animales y la ingesta de alimentos. Los animales en los grupos de tratamiento único se trataron con vehículo (dPBS, pH 7,2) o liraglutida a 10 nmol/kg mediante administración subcutánea todos los días o Compuesto 1 a dosis de 0,1 o 1,0 nmol/kg mediante administración subcutánea cada tres días. Los animales de los grupos de combinación recibieron liraglutida (10 nmol/kg) diariamente y el compuesto 1 a dosis de 0,1 o 1,0 nmol/kg cada tres días. El día 8, se midió la composición corporal mediante resonancia magnética. El día 9, los ratones se mantuvieron en ayunas durante 5 horas y se midieron la glucosa en sangre y la insulina en ayunas. Los análisis estadísticos se realizaron usando ANOVA unidireccional o ANOVA de medidas repetidas bidireccional con la prueba posterior de Tukey en Prism. Todos los datos se presentan como media ± SEM (Figura 9 y Tablas 12-17).

55

60

65

Tabla 12: Efecto del compuesto 1, liraglutida y combinaciones de compuesto 1 y liraglutida sobre la ingesta diaria de alimentos (g) durante 9 días de tratamiento.

Tratamiento		Compuesto 1 (nmol/kg)				
		0,1	1.0	n/A	0,1	1.0
		Vehículo	Liraglutida (nmol/kg)			
Día	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
0	2,6 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,8 ± 0,1
1	2,5 ± 0,1	2,0 ± 0,2 *	1,2 ± 0,1 *	1,1 ± 0,1 *	0,8 ± 0,1 *	0,5 ± 0,1 *
2	2,5 ± 0,1	2,0 ± 0,2	0,8 ± 0,1 *	1,1 ± 0,1 *	0,7 ± 0,1 *	0,2 ± 0,1 *
3	2,5 ± 0,1	2,3 ± 0,2	1,5 ± 0,2 *	1,5 ± 0,2 *	1,2 ± 0,1 **	0,5 ± 0,1 *
4	2,6 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,8 ± 0,1 *	1,9 ± 0,2 *	1,2 ± 0,2 *	0,3 ± 0,1 *
5	2,4 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1 *	1,3 ± 0,2 **	0,5 ± 0,1 *
6	2,8 ± 0,2	2,8 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,2 ± 0,1 *	1,5 ± 0,2 **	0,3 ± 0,1 **
7	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,3 ± 0,1	1,6 ± 0,1 *	0,3 ± 0,2 **
8	2,9 ± 0,2	2,2 ± 0,1 **	2,3 ± 0,1 *	1,8 ± 0,1 *	1,4 ± 0,1 *	0,5 ± 0,2 **
9	1,8 ± 0,3	2,0 ± 0,1	2,2 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,2	0,7 ± 0,2 **

Los valores representaron la media + SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo, excepto n == 7 cuando se indica con ^

*p<0,05, frente al vehículo; ANOVA bidireccional RM, prueba de comparación múltiple de Tukey

Tabla 13: Efecto del compuesto 1, liraglutida y combinaciones de compuesto 1 y liraglutida sobre el peso corporal (g) durante 9 días de tratamiento.

Tratamiento		Compuesto 1 (nmol/kg)				
		0,1	1.0	n/a	0,1	1.0
		Vehículo	Liraglutida (nmol/kg)			
Día	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
-1	46,8 ± 0,5	46,8 ± 0,5	46,8 ± 0,5	46,8 ± 0,5	46,8 ± 0,5	46,8 ± 0,4
0	46,9 ± 0,4	46,8 ± 0,5	46,8 ± 0,5	47,0 ± 0,5	46,8 ± 0,5	47,0 ± 0,4
1	47,0 ± 0,5	46,4 ± 0,5	45,5 ± 0,5	45,6 ± 0,4	44,9 ± 0,5 *	44,3 ± 0,4 *
2	46,8 ± 0,5	45,9 ± 0,5	44,1 ± 0,4 *	44,4 ± 0,5 *	43,7 ± 0,5 *	42,4 ± 0,5 *
3	46,6 ± 0,5	45,8 ± 0,5	43,5 ± 0,5 *	43,9 ± 0,6 *	43,0 ± 0,5 *	40,9 ± 0,4 *
4	46,5 ± 0,4	45,7 ± 0,5	43,2 ± 0,4 *	43,6 ± 0,6 *	42,1 ± 0,4 *	39,1 ± 0,5 *
5	46,4 ± 0,5	45,5 ± 0,6	42,7 ± 0,4 *	43,3 ± 0,6 *	41,2 ± 0,5 *	37,4 ± 0,4 *
6	46,8 ± 0,5	46,0 ± 0,6	43,0 ± 0,5 *	43,2 ± 0,6 *	40,7 ± 0,5 *	35,9 ± 0,5 *
7	46,7 ± 0,5	45,8 ± 0,6	42,9 ± 0,5 *	43,2 ± 0,7 *	40,3 ± 0,5 *	34,4 ± 0,4 *
8	46,6 ± 0,5	45,5 ± 0,6	42,6 ± 0,5 *	42,4 ± 0,6 *	39,5 ± 0,4 *	33,2 ± 0,5 *
9	47,0 ± 0,6	45,8 ± 0,6	43,1 ± 0,5 *	42,6 ± 0,6 *	39,4 ± 0,4 *	32,5 ± 0,5 *

Los valores representan la media + SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

* p < 0,05, frente al vehículo; ANOVA bidireccional RM, prueba de comparación múltiple de Tukey

Tabla 14: Comparación del compuesto 1 codosificado y liraglutida sobre el porcentaje de cambio de peso corporal frente a la suma del porcentaje de cambio de peso corporal del compuesto 1 o liraglutida dosificado solo en el día 9.

Tratamiento	Compuesto 1 (nmol/kg)			Suma de Comp 1 (0,1) y Lira (10,0)	Compuesto 1 (nmol/kg)			Suma de Comp 1 (1,0) y Lira (10,0)	
	0,1	n/a	0,1		1,0	n/a	1,0		
Día	Liraglutida (nmol/kg)			Liraglutida (nmol/kg)					
	n/a	10,0	10,0	n/a	10,0	10,0			
9	-2,2 ± 0,7	-9,3 ± 1,1	-15,8 ± 0,8 *	-11,5 ± 1,1 *	-7,8 ± 1,1	-9,3 ± 1,1	-30,8 ± 0,9 *	-17,1 ± 1,9 *	

Los valores representan la media ± SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

*p<0,05, suma del compuesto 1 y liraglutida frente a la dosificación conjunta; ANOVA unidireccional, prueba de comparación múltiple de Tukey

Tabla 15: Efecto del compuesto 1, liraglutida y combinaciones de compuesto 1 y liraglutida sobre la glucosa en sangre (mg/dl), insulina y HOMA-IR después de 9 días de tratamiento.

			Compuesto 1 (nmol/kg)				
			0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
			Vehículo	Liraglutida (nmol/kg)			
			n/a	n/a	n/a	10,0	10,0
Glucosa en sangre alimentados (mg/dl)	140,8 ± 11,7	132,6 ± 2,9	126,4 ± 5,1	112,5 ± 4,3	112,9 ± 6,7	79,4 ± 10,1 *	
Glucosa en sangre en ayunas (mg/dl)	173,8 ± 7,8	149,8 ± 4,9	133,1 ± 6,6 *	124,1 ± 4,9 *	109,8 ± 4,3 *	68,6 ± 7,7 *	
Insulina en ayunas (ng/ml)	7,2 ± 1,1	8,1 ± 1,1	5,8 ± 0,9	3,9 ± 0,6 *	1,9 ± 0,3 *	0,5 ± 0,1 *	
HOMA-IR	92,1 ± 18,6	86,4 ± 10,7	54,7 ± 9,2	34,8 ± 6,0 *	14,5 ± 2,6 *	2,9 ± 0,6 *	

Los valores representan la media ± SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

*p<0,05, frente al vehículo; ANOVA unidireccional, prueba de comparación múltiple de Tukey

Tabla 16: Efecto del compuesto 1, liraglutida y combinaciones del compuesto 1 y liraglutida sobre la composición corporal (g) medida por MRI después de 8 días de tratamiento.

Tratamiento	Vehículo	Compuesto 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
		Liraglutida (nmol/kg)				
		n/a	n/a	n/a	10,0	10,0
Grasa (g) Día 1	18,6 ± 0,4	18,6 ± 0,4	18,8 ± 0,6	18,2 ± 0,5	18,1 ± 0,6	18,1 ± 0,7
Grasa (g) Día 8	18,9 ± 0,4	18,3 ± 0,5	16,1 ± 0,8 *	15,6 ± 0,5 *	13,3 ± 0,4 *	9,3 ± 0,7 *
Magro (g) Día 1	26,3 ± 0,4	26,3 ± 0,4	26,1 ± 0,7	26,6 ± 0,5	26,7 ± 0,5	27,0 ± 0,6
Magro (g) Día 8	25,9 ± 0,5	25,4 ± 0,3	24,7 ± 0,6	25,0 ± 0,5	24,4 ± 0,4	22,1 ± 0,4 *

Los valores representan la media + SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

*p<0,05, frente al vehículo; ANOVA unidireccional, prueba de comparación múltiple de Tukey

Tabla 17: Efecto del compuesto 1, liraglutida y combinaciones de compuesto 1 y liraglutida sobre la composición corporal (%) medida por MRI después de 8 días de tratamiento.

Tratamiento	Vehículo	Compuesto 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
		Liraglutida (nmol/kg)				
		n/a	n/a	n/a	10,0	10,0
Grasa (%) Día 1	39,0 ± 0,8	39,1 ± 0,6	39,4 ± 1,3	38,3 ± 0,9	38,1 ± 1,1	38,1 ± 1,3
Grasa (%) Día 8	39,9 ± 0,8	39,6 ± 0,6	37,3 ± 1,6	36,2 ± 0,9	33,4 ± 0,9 *	27,7 ± 1,7 *
Magro (%) Día 1	55,3 ± 0,8	55,2 ± 0,6	54,9 ± 1,3	56,0 ± 1,0	56,0 ± 1,2	56,8 ± 1,3
Magro (%) Día 8	54,7 ± 0,7	55,1 ± 0,6	57,4 ± 1,5	58,1 ± 0,9	61,2 ± 1,0 *,	66,3 ± 1,7 *

Los valores representan la media ± SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

*p<0,05, frente al vehículo; ANOVA unidireccional, prueba de comparación múltiple de Tukey

Ejemplo 109: Efecto de una dosis única del Compuesto 1 sobre la ingesta de alimentos y el peso corporal en ratas Sprague-Dawley

Se evaluó la capacidad del Compuesto 1 para reducir la ingesta de alimentos y el peso corporal en Sprague-Dawley después de una única dosis. Los animales se obtuvieron de Charles River Labs (Wilmington, MA) con un peso corporal de 200-225 g y se usaron en el plazo de una semana después de la administración. Se alojaron uno por jaula sobre lecho seco alfa y un tubo de plástico para enriquecimiento en una habitación con temperatura controlada con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Se les permitió acceso a voluntad al agua y se les alimentó con dieta para roedores de laboratorio; dieta para roedores irradiada certificada PicoLab® 20, 5K75* (suministrada por Purina Mills, St. Louis, MO a través de ASAP Quakertown, PA). Se tomaron y registraron los pesos de los animales para cada rata antes de la dosificación.

El día anterior a la dosificación, las ratas se agruparon en cohortes de ocho animales en base a los pesos corporales individuales. Al día siguiente, los animales se pesaron y trajeron con vehículo (dPBS, pH 7,2), Compuesto 1 a una dosis de 0,1, 0,3, 1,0 o 3,0 nmol/kg, o dulaglutida a 0,3 nmol/kg mediante administración subcutánea. Se midieron los pesos corporales y la ingesta de alimentos 1, 2 y 3 días después de la dosificación y se calcularon los porcentajes de pérdida de peso y reducción de la ingesta de alimentos. Los análisis estadísticos se realizaron usando ANOVA de medidas repetidas bidireccional con la prueba posterior de Tukey en Prism. Todos los datos se

presentan como la media ± SEM (Tablas 18-20).

Tabla 18: Efecto de una dosis única del compuesto 1 sobre la ingesta diaria de alimentos y el consumo total de alimentos durante tres días en ratas Sprague-Dawley.

Tratamiento	Dosis (mnol/kg)	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Consumo total de alimentos
Vehículo		26,7 ± 0,7	28,6 ± 1,0	29,4 ± 0,7	29,7 ± 0,8	87,7 ± 1,6
Compuesto 1	0,1	25,9 ± 1,0	27,6 ± 1,0	29,1 ± 1,0	29,1 ± 1,0	85,7 ± 2,7
	0,3	24,3 ± 0,7	25,8 ± 1,1	27,2 ± 1,3	27,9 ± 0,9	80,9 ± 2,7
	1	27,0 ± 1,1	23,7 ± 0,6 *	25,0 ± 2,0 *	27,1 ± 0,9	75,8 ± 3,2 *
	3	27,0 ± 0,8	19,6 ± 1,4 *	19,1 ± 1,0 *	23,6 ± 1,0 *	62,3 ± 2,5 *
Dulaglutida	0,3	26,6 ± 0,8	27,3 ± 1,2	30,0 ± 0,7	30,1 ± 0,7	87,4 ± 2,0

Los valores representan la media ± SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

* p <0,05, frente al vehículo; ANOVA unidireccional, prueba de comparación múltiple de Dunnett para el consumo total de alimentos; ANOVA bidireccional, la prueba de comparación múltiple de Tukey para el consumo diario de alimentos

Tabla 19: Efecto de una dosis única del compuesto 1 sobre el peso corporal absoluto durante tres días en ratas Sprague-Dawley.

Tratamiento	Dosis (mnol/kg)	Día -1	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3
Vehículo		263,9 ± 4,9	271,6 ± 4,7	281,2 ± 5,0	289,5 ± 5,3	299,0 ± 5,9
Compuesto 1	0,1	266,0 ± 2,3	274,1 ± 2,9	284,3 ± 2,7	293,3 ± 2,8	301,4 ± 2,8
	0,3	264,9 ± 3,6	270,8 ± 3,8	278,2 ± 4,5	285,9 ± 4,8	294,3 ± 4,9
	1	266,5 ± 3,6	276,1 ± 3,7	280,9 ± 3,7	287,1 ± 4,5	294,3 ± 4,1
	3	265,1 ± 3,6	272,7 ± 3,4	274,8 ± 3,8	275,7 ± 3,4 *	282,1 ± 3,7 *
Dulaglutida	0,3	264,0 ± 3,1	270,3 ± 3,0	280,8 ± 4,2	292,47 ± 3,6	299,0 ± 3,3

Los valores representan la media ± SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

*p <0,05, frente al vehículo; ANOVA bidireccional, prueba de comparación múltiple de Tukey

Tabla 20: Efecto de una dosis única del compuesto 1 sobre el cambio de peso corporal durante tres días en ratas Sprague-Dawley.

Tratamiento	Dosis (mnol/kg)	Día -1	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3
Vehículo		-7,7 ± 1,5	0,0 ± 0,0	9,6 ± 1,5	18,0 ± 1,4	27,4 ± 1,8
Compuesto 1	0,1	-8,2 ± 0,9	0,0 ± 0,0	10,2 ± 1,6	19,1 ± 1,0	27,3 ± 1,4
	0,3	-5,9 ± 0,9	0,0 ± 0,0	7,3 ± 1,1	15,1 ± 1,1	23,4 ± 1,7
	1	-9,7 ± 0,8	0,0 ± 0,0	4,7 ± 0,8 *	11,0 ± 1,4 *	18,2 ± 1,0 *
	3	-7,6 ± 1,4	0,0 ± 0,0	2,2 ± 1,6 *	3,0 ± 1,5 *	9,4 ± 1,9 *
Dulaglutida	0,3	-6,3 ± 0,8	0,0 ± 0,0	10,6 ± 1,6	22,5 ± 0,8	28,7 ± 0,6

Los valores representan la media ± SEM para los datos de 8 animales por tiempo por grupo

*p <0,05, frente al vehículo; ANOVA unidireccional, prueba de comparación múltiple de Dunnett para el cambio neto en el peso corporal el día 3; ANOVA bidireccional, prueba de comparación múltiple de Tukey para el cambio diario en el peso corporal

Ejemplo 110: Efectos del compuesto 1, solo o en combinación con liraglutida, en macacos rhesus obesos

Se evaluó la capacidad del compuesto 1 para reducir la ingesta de alimentos en macacos rhesus obesos. También se evaluó la eficacia adicional observada cuando se coadministra liraglutida con una dosis eficaz del compuesto 1. En primer lugar, se realizó un estudio abreviado de intervalo de dosis para determinar la dosis de liraglutida que se usará durante la coadministración. Seis animales recibieron una única administración s.c. diaria de solución salina durante tres semanas. La ingesta de alimentos se midió diariamente y la ingesta de alimentos de referencia se estableció como la ingesta diaria media durante las tres semanas de tratamiento con vehículo. Luego, los seis animales se dividieron en dos grupos; 0,01 mg/kg (n=3) y 0,02 mg/kg (n=3). Cada uno recibió una dosis subcutánea diaria de liraglutida durante una semana para determinar los efectos sobre la ingesta de alimentos con respecto al valor de referencia y para identificar una dosis máxima tolerable. También se midió la ingesta de alimentos durante dos semanas después de suspender el tratamiento con liraglutida. Todos los datos se presentan como la ingesta media semanal de alimentos ± SEM (Figura 10).

Se usaron diez (10) macacos rhesus obesos para evaluar la eficacia del compuesto 1. Después de un período de referencia de 2 semanas, el compuesto 1 se administró s.c. diariamente durante 4 semanas. Se dosificó a los animales durante 7 días a 0,01 mg/kg, luego 7 días a 0,03 mg/kg, luego 9 días a 0,015 mg/kg y finalmente 5 días de codosificación del compuesto 1 a 0,015 mg/kg en combinación con liraglutida a 0,01 mg/kg. La ingesta de

alimentos se monitorizó diariamente y el peso corporal se midió semanalmente. Los niveles de glucosa, insulina, colesterol total, HDL, LDL, ALT y AST se evaluaron al inicio del estudio, después del tratamiento con el compuesto 1 y después del tratamiento combinado. Todos los datos se presentan como la media ± SEM (Tablas 21-22 y Figuras 11 y 12).

5

Tabla 21: Efecto del compuesto 1 con adición de liraglutida sobre la ingesta de alimentos en macacos rhesus obesos

Días de tratamiento	Compuesto 1 (mg/kg)			
	0,01	0,03	0,015	0,015 + liraglutida
2 semanas de valor de referencia	190 ± 15			
1	160 ± 9	149 ± 12	117 ± 18	50 ± 11
2	167 ± 19	149 ± 14	72 ± 14	13 ± 5
3	175 ± 13	94 ± 16	72 ± 12	15 ± 10
4	196 ± 14	181 ± 13	86 ± 14	34 ± 17
5	166 ± 15	101 ± 12	77 ± 8	34 ± 12
6	180 ± 14	99 ± 27	91 ± 12	
7	146 ± 12	73 ± 11	75 ± 4	
8			97 ± 12	
9			118 ± 21	

Tabla 22: Efecto del compuesto 1 con adición de liraglutida sobre el peso corporal en macacos rhesus obesos

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	BW (kg)
Predosis	N/A	15,8 ± 0,9
	0,01	15,9 ± 0,9
Compuesto 1	0,03	15,7 ± 0,9
	0,015	15,4 ± 0,8 *
Compuesto 1 + liraglutida	0,015	15,0 ± 0,8 *

Los valores representan la media + SEM para los datos de 8 animales por grupo
*p<0,05, frente a vehículo

35

ANOVA unidireccional RM, prueba de comparación múltiple de Dunnett

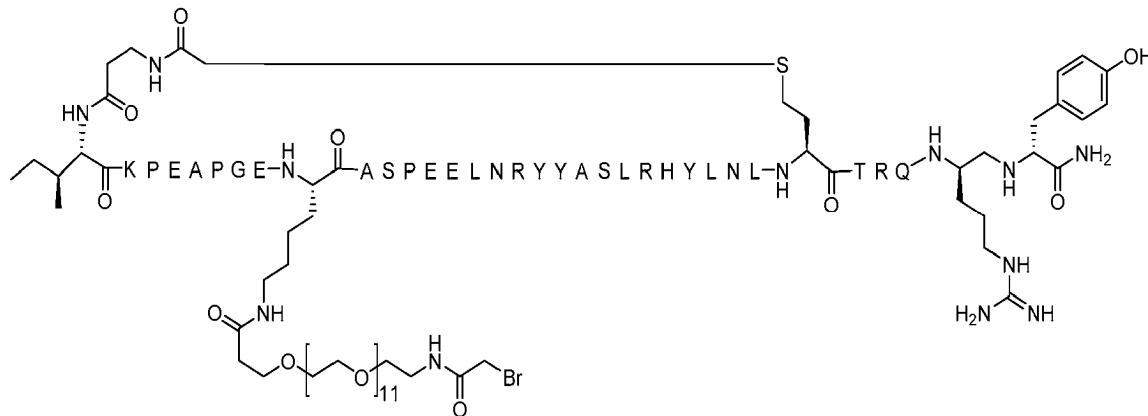
Los ejemplos de secuencias de PYY cíclicas o conjugados de las mismas de la invención incluyen:

40

SEQ ID NO: 1

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(35R,36Y)]-PYY2-36

Estructura:



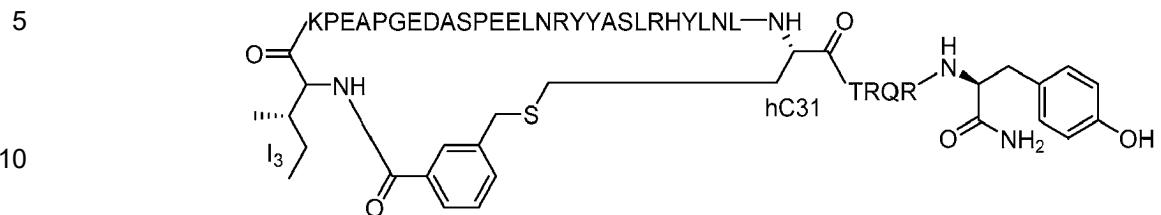
60

65

SEQ ID NO: 2

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31)]-PYY3-36

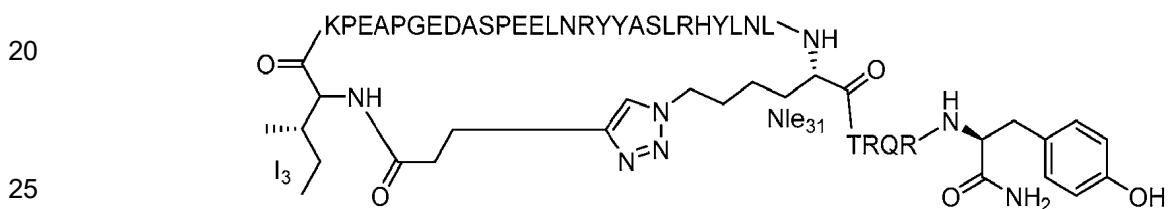
Estructura:



SEQ ID NO: 3

Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazolyl-Nle31)]-PYY3-36

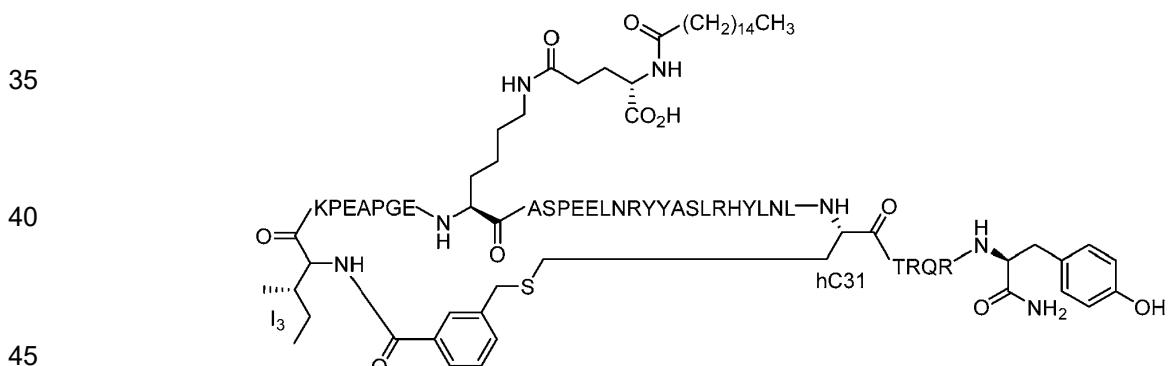
Estructura:



SEQ ID NO: 4

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)11]-PYY3-36

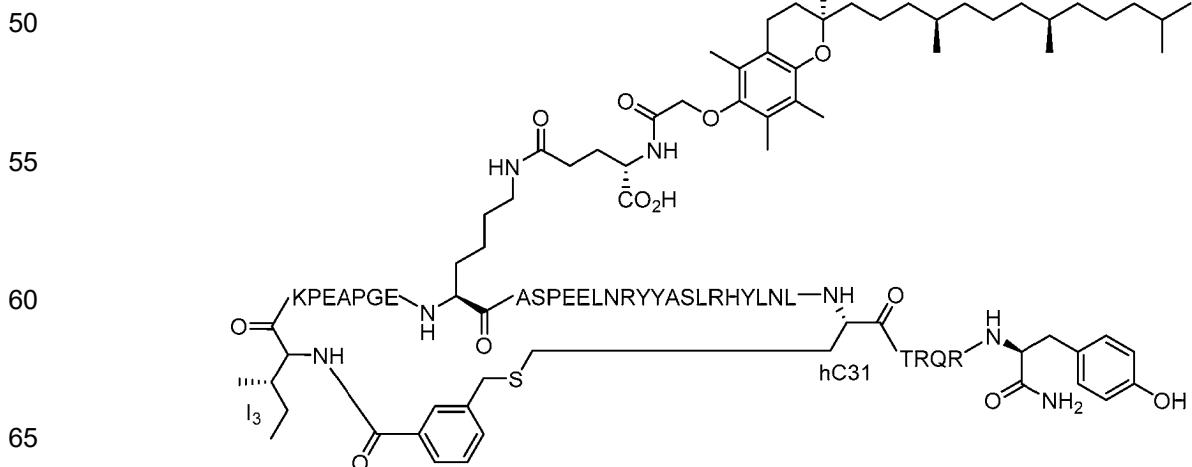
Estructura:



SEQ ID NO: 5

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-AcVitE)11]-PYY3-36

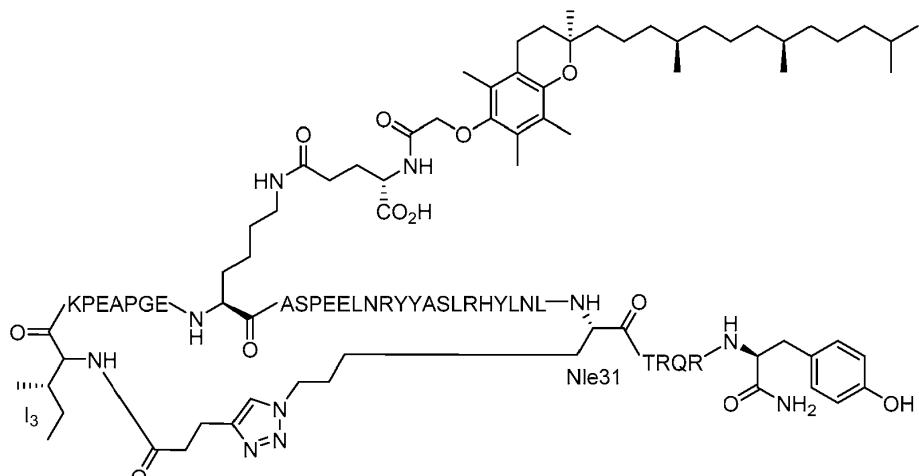
Estructura:



SEQ ID NO: 6

Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazolyl-Nle31), K(γ -Glu-AcVitE)11]-PYY3-36

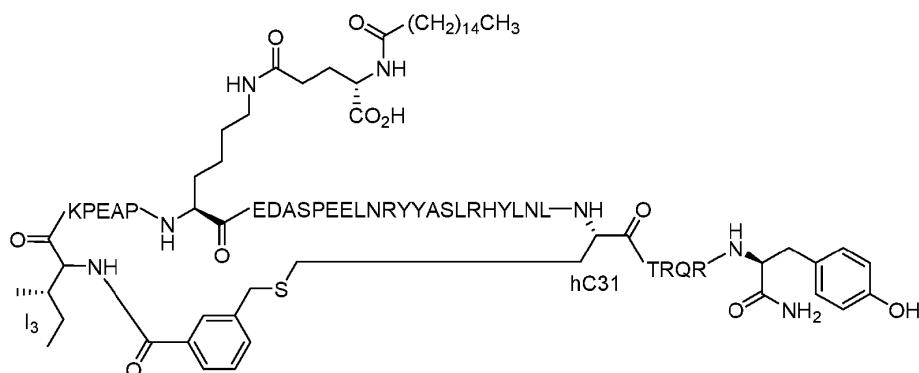
Estructura:



SEQ ID NO: 7

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)9]-PYY3-36

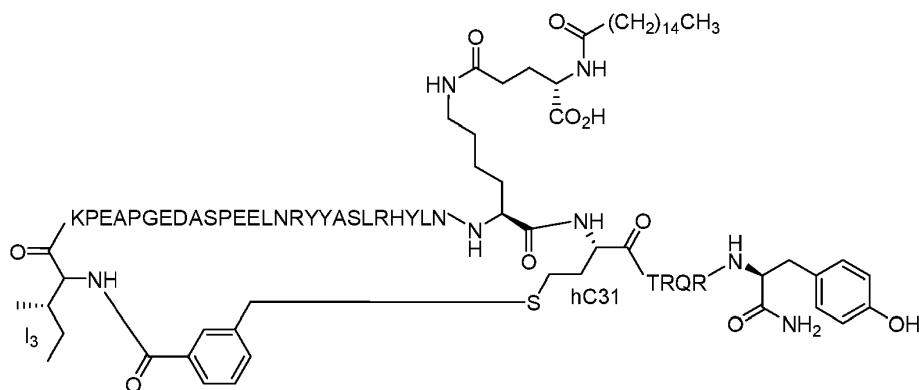
Estructura:



SEQ ID NO: 8

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30]-PYY3-36

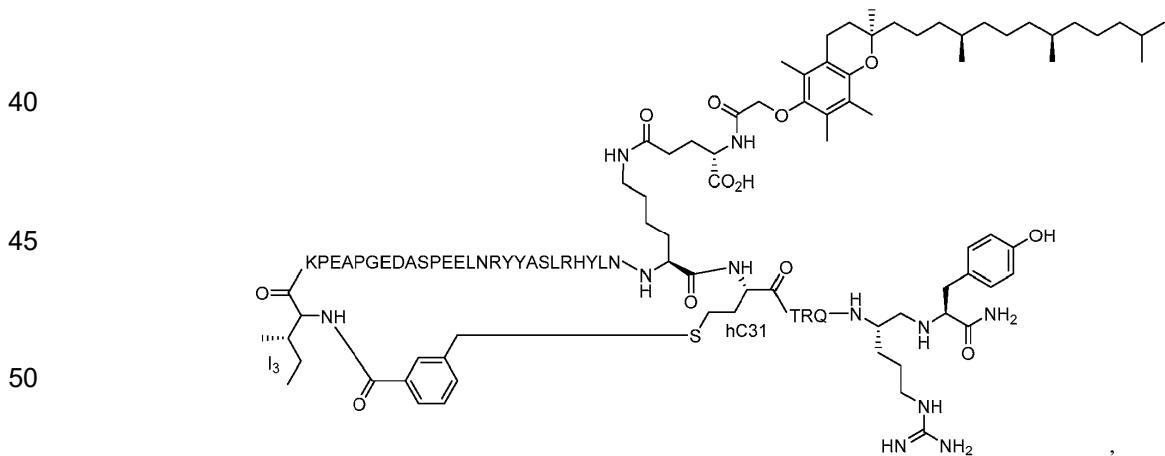
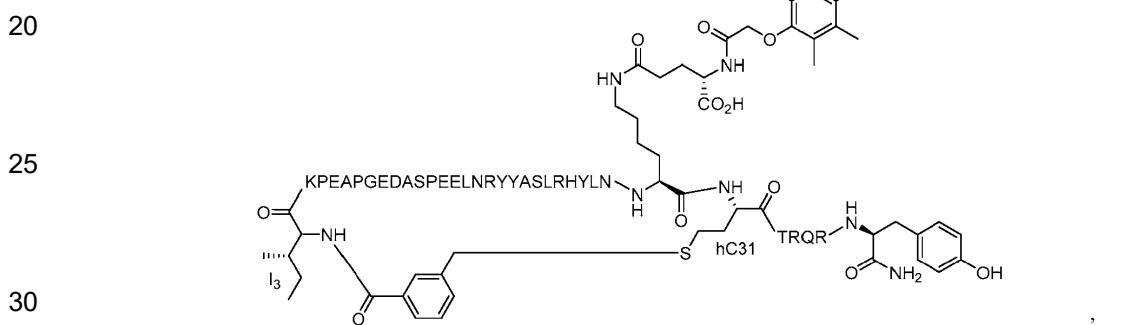
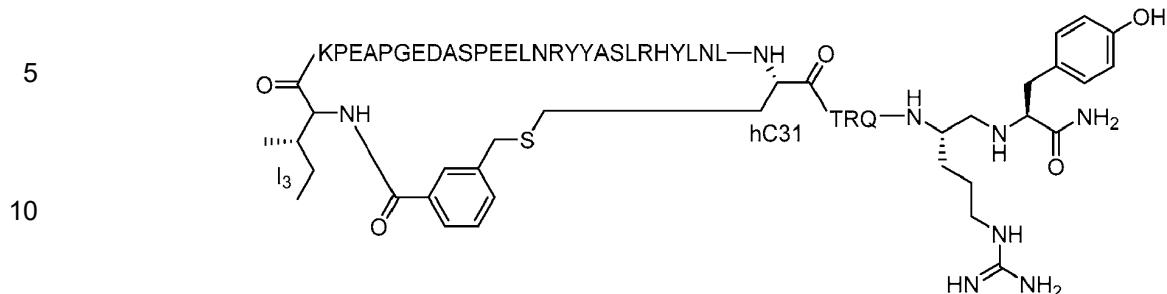
Estructura:

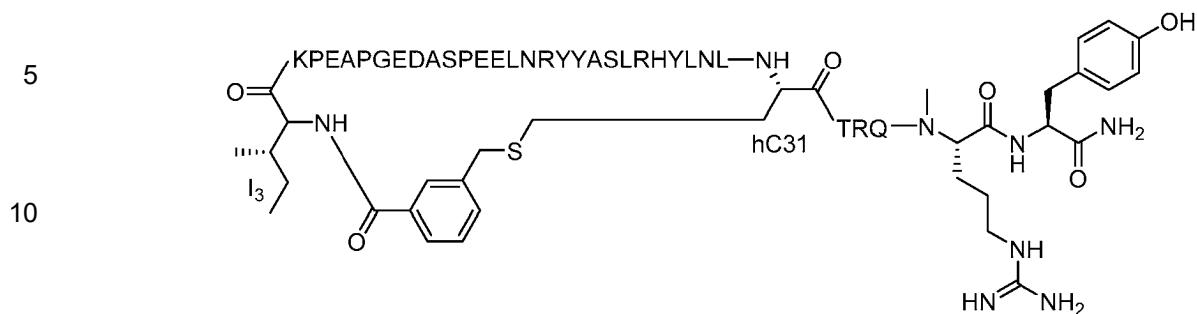


SEQ ID NO: 9

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), psi-(R35Y36)]-PYY3-36

Estructura:



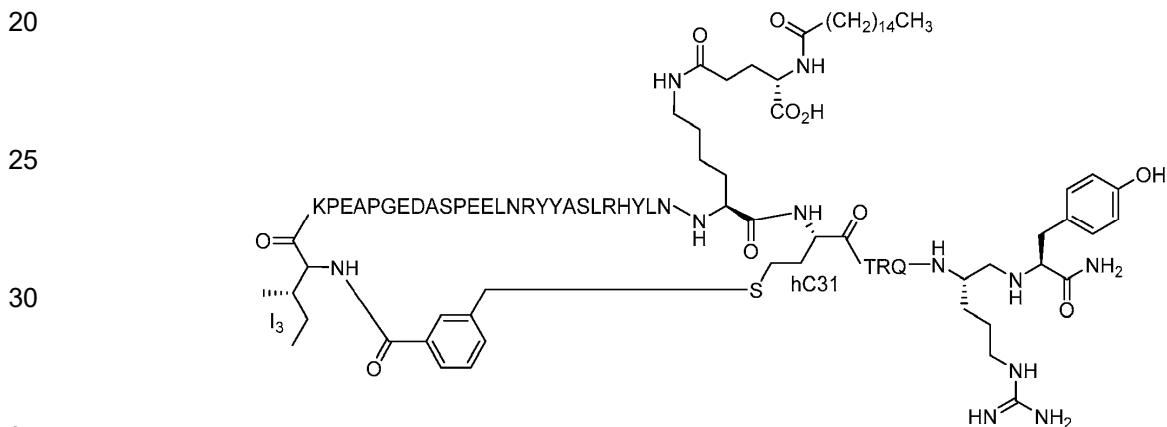


15

SEQ ID NO: 13

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Estructura:

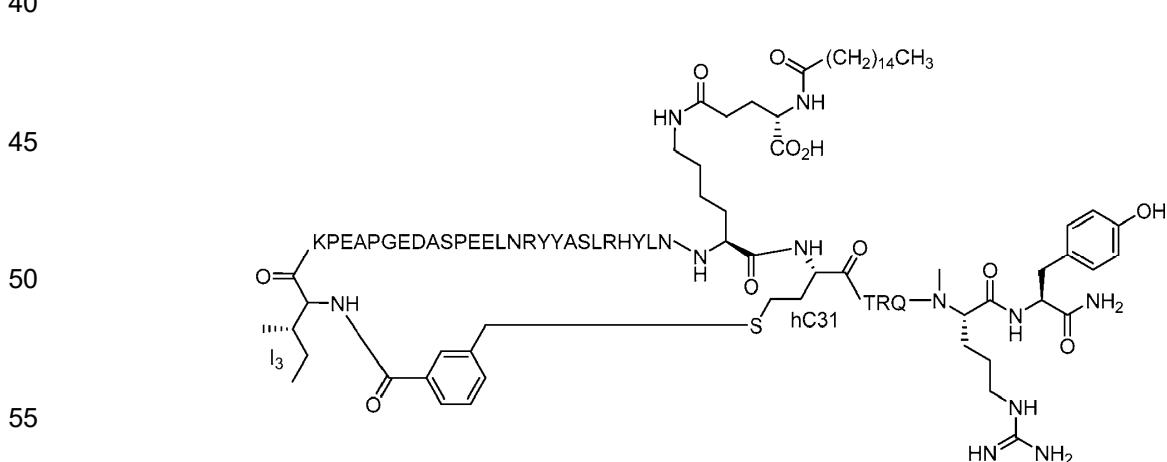


35

SEQ ID NO: 14

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36

Estructura:



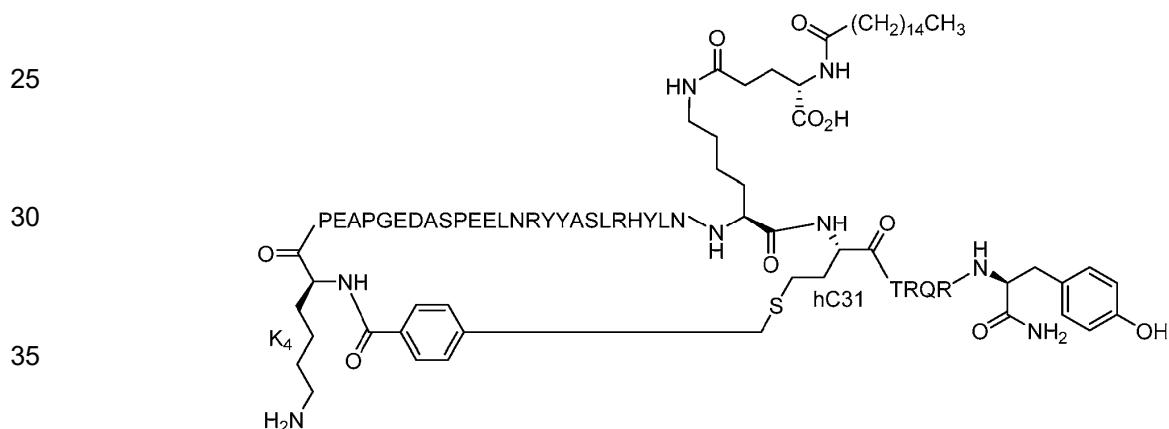
60

SEQ ID NO: 15

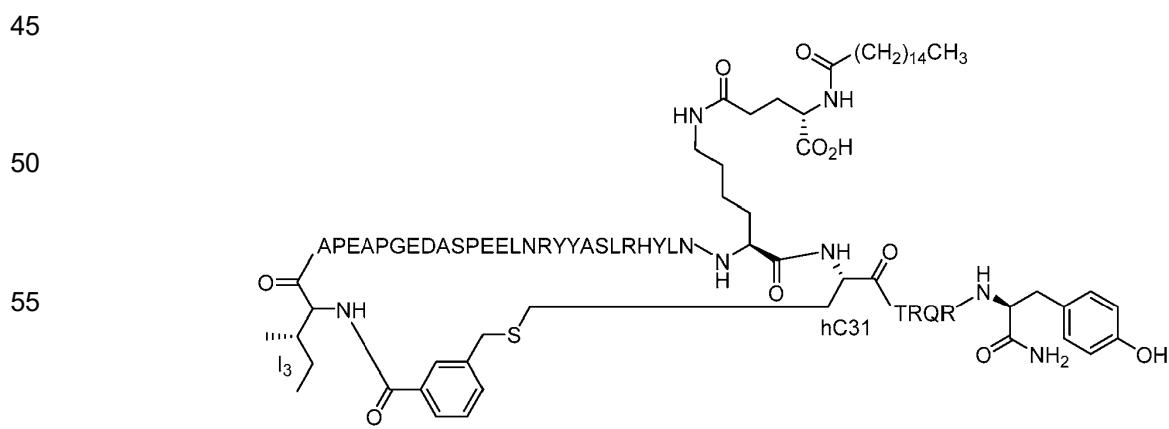
Nombre: [ciclo-(K4-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30]-PYY4-36]

Estructura:

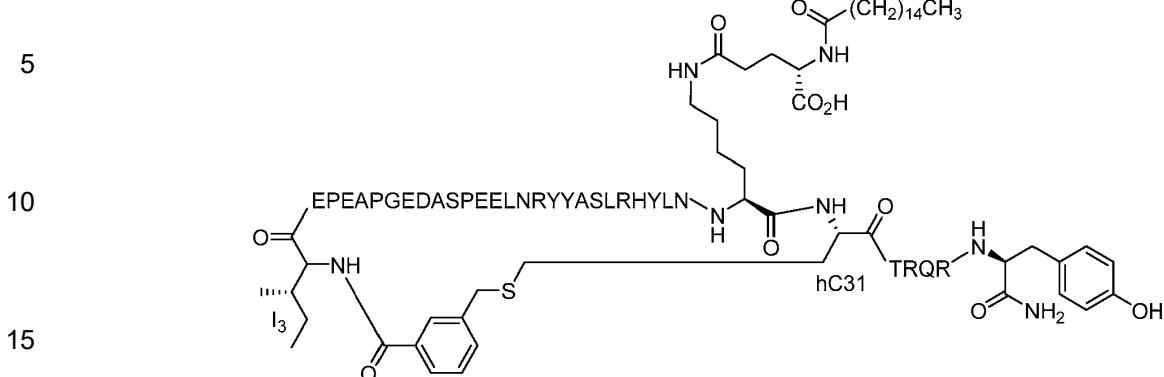
SEQ ID NO: 16
Nombre: [ciclo-(K4-*p*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30]-PYY4-36
Estructura:



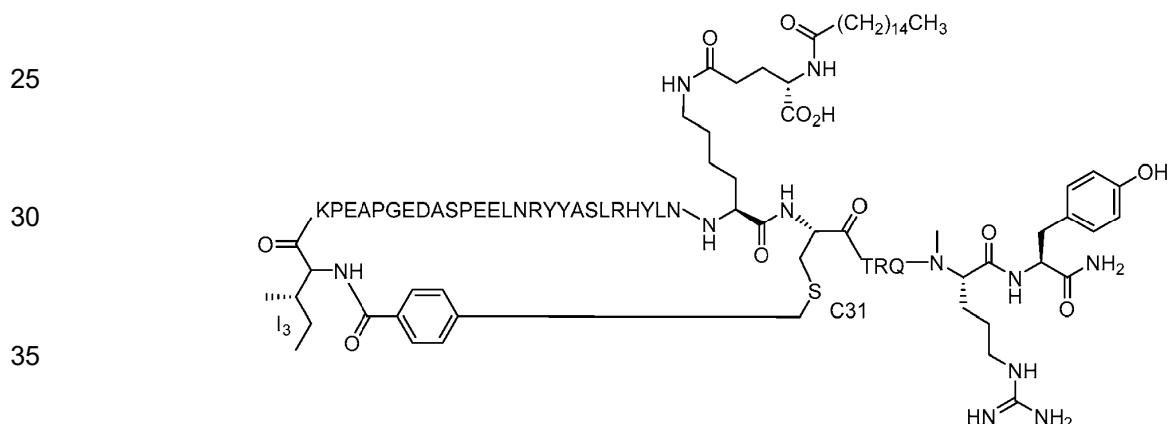
SEQ ID NO: 17
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), A4, K(γ-Glu-Pal)30]-PYY3-36
Estructura:



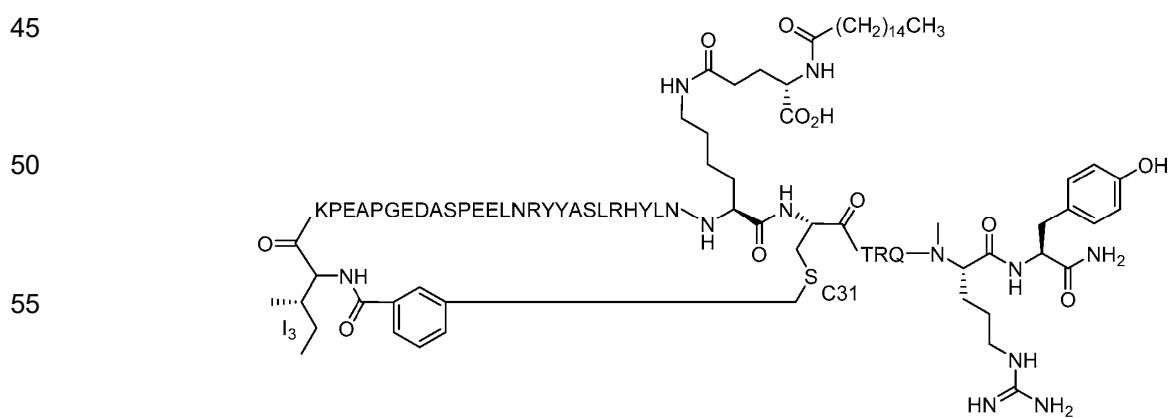
SEQ ID NO: 18
Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), E4, K(γ-Glu-Pal)30]-PYY3-36
Estructura:



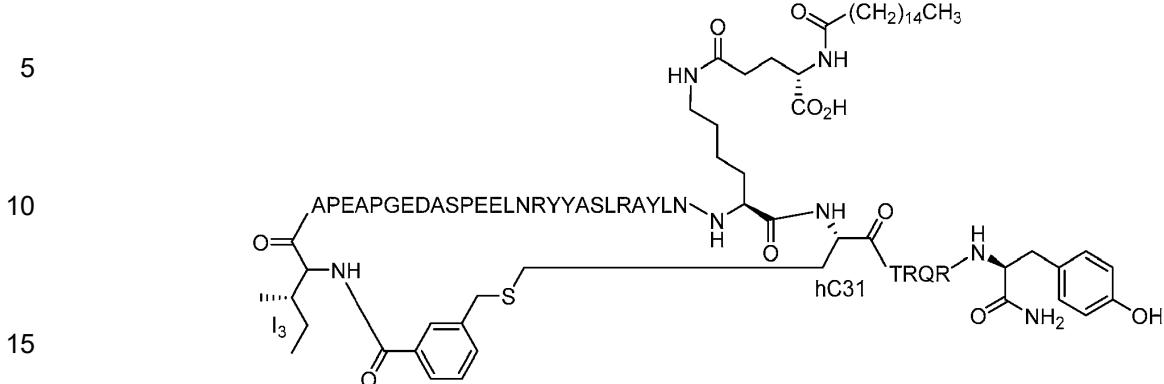
20 SEQ ID NO: 19
Nombre: [ciclo-(I3-*p*-COPhCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36
Estructura:



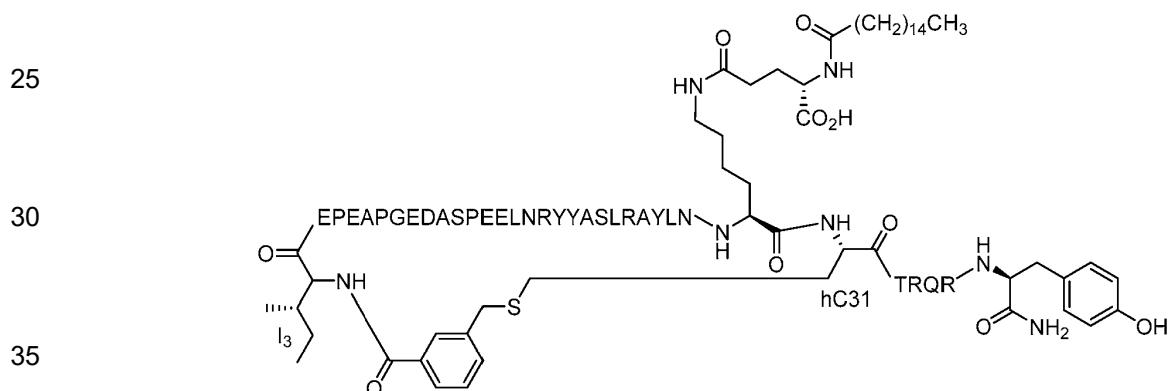
40 SEQ ID NO: 20
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36
Estructura:



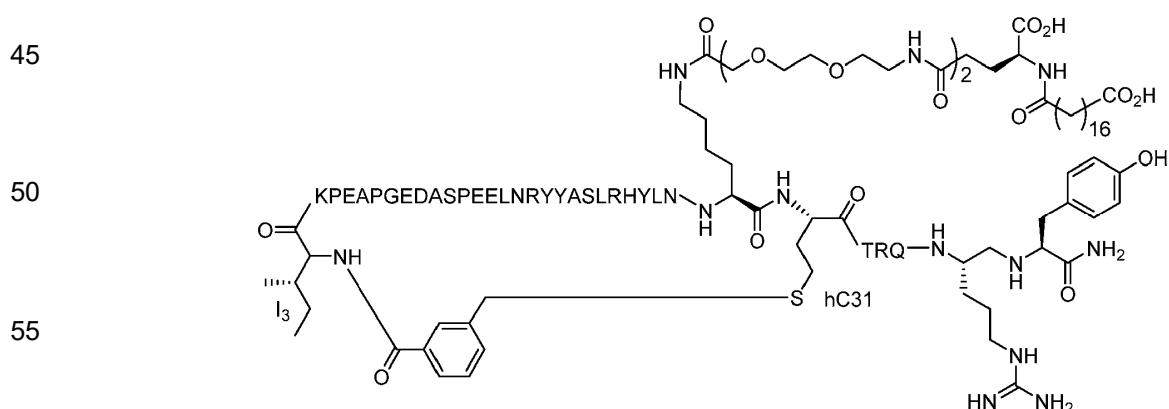
65 SEQ ID NO: 21
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), A4, A26, K(γ -Glu-Pal)30]-PYY3-36
Estructura:



20 SEQ ID NO: 22
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), E4, A26, K(γ-Glu-Pal)30]-PYY3-36
Estructura:

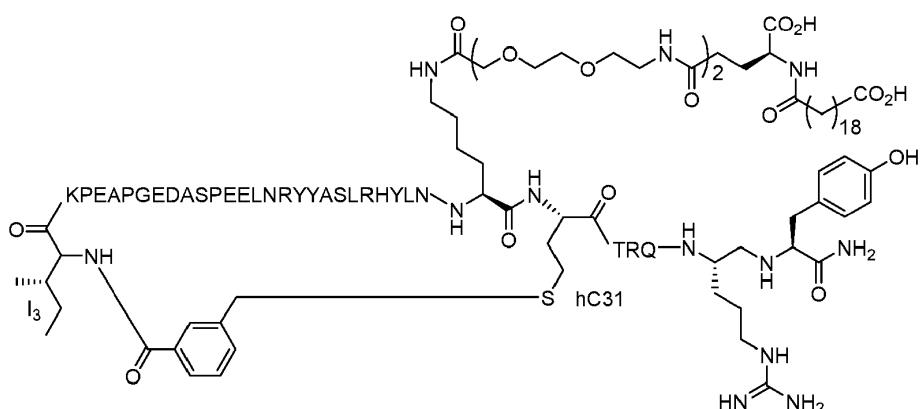


40 SEQ ID NO: 23
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:



60 SEQ ID NO: 24
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₈CO₂H)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

5



10

15

SEQ ID NO: 25

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Stear)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

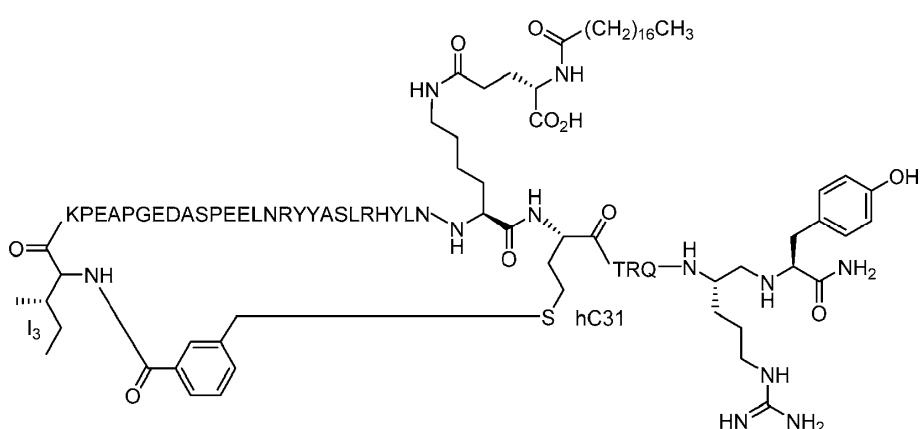
Estructura:

20

25

30

35



40

SEQ ID NO: 26

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Arach)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

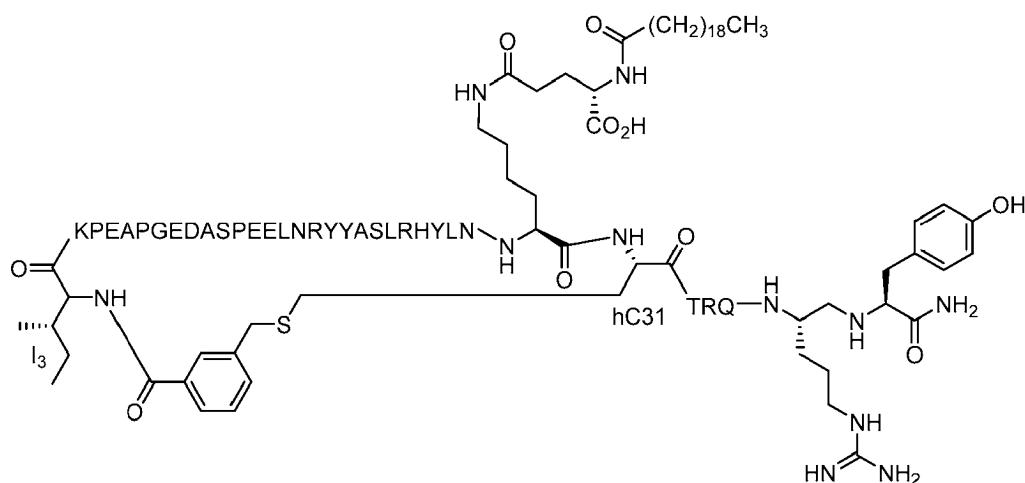
Estructura:

45

50

55

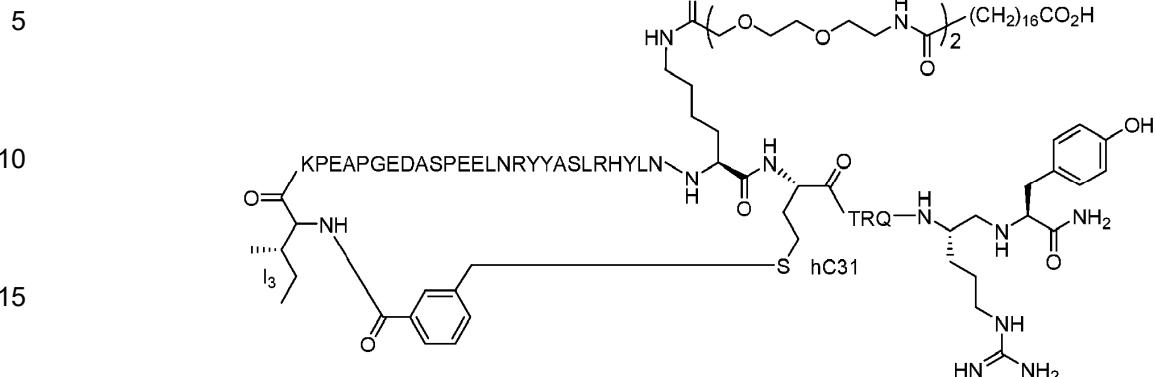
60



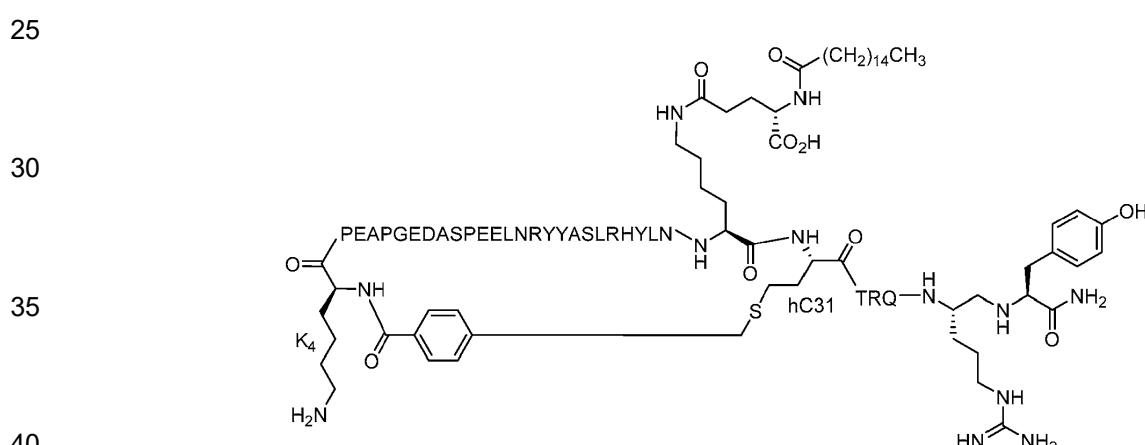
65

SEQ ID NO: 27

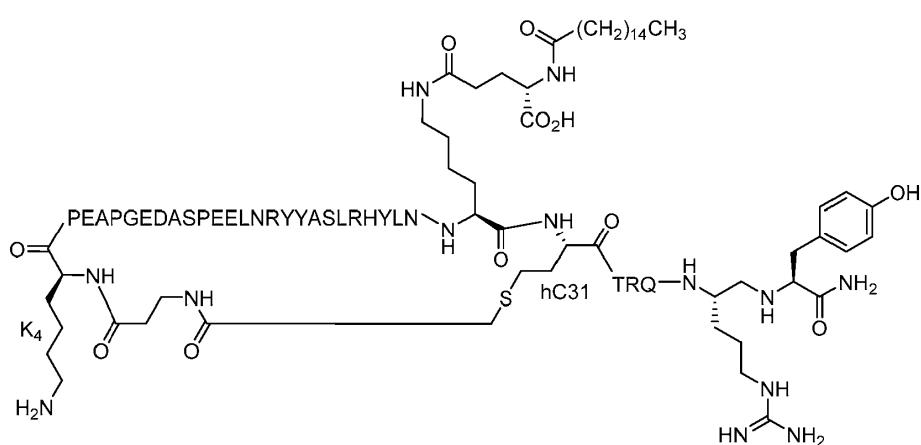
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-COC₁₆CO₂H)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
 Estructura:



Nombre: [ciclo-(K4-*p*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36
 Estructura:

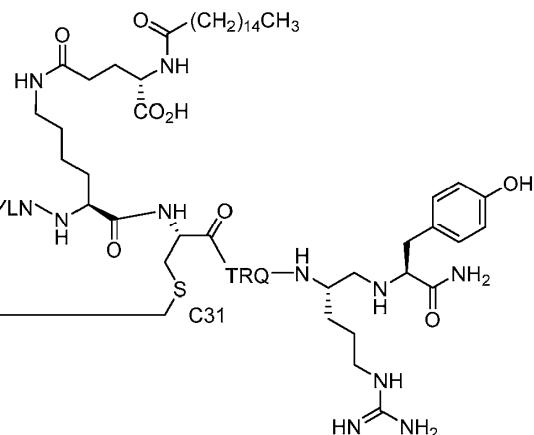


Nombre: [ciclo-(K4-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36
 Estructura:



Nombre: [ciclo-(K4-CO(CH₂)₃NHCOCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36
 Estructura:

5



10

15

20

SEQ ID NO: 31

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂- γ -Glu-Stear)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Estructura:

25

30

35

40

SEQ ID NO: 32

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), A4, A26, K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
 Estructura:

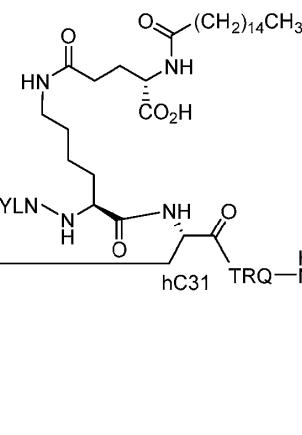
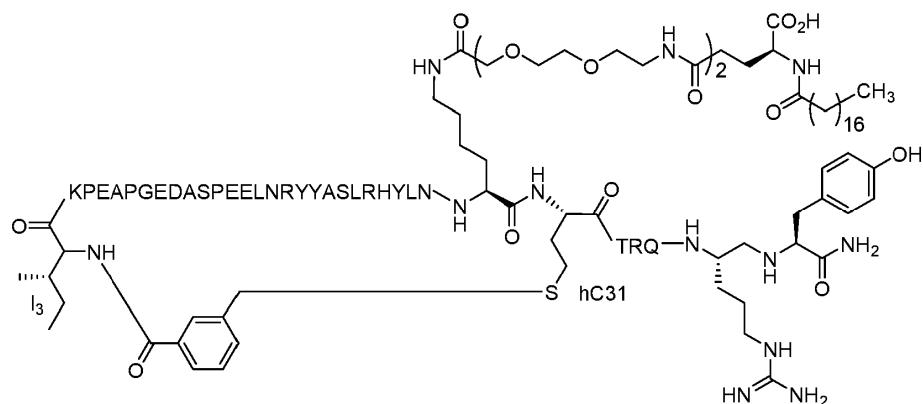
45

50

55

60

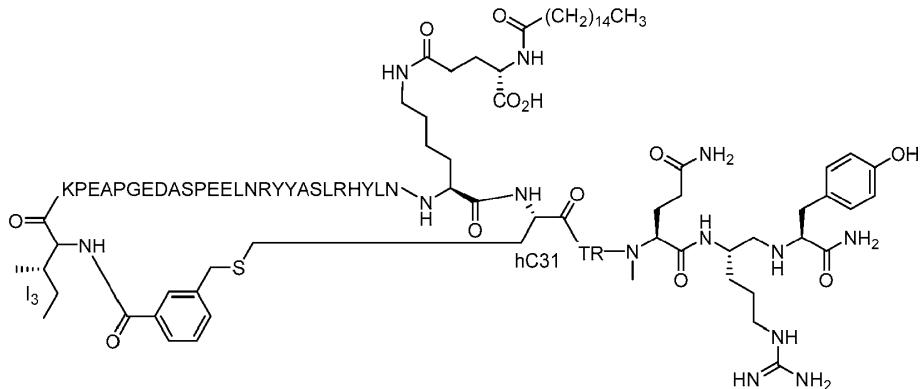
65



SEQ ID NO: 33

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-Q34), psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

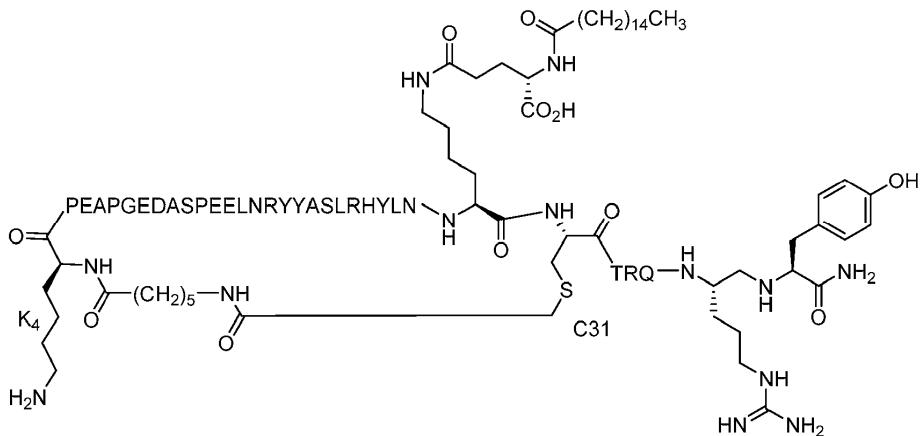
Estructura:



SEQ ID NO: 34

Nombre: [ciclo-(K4-CO(CH₂)₅NHCOCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36
Estructura:

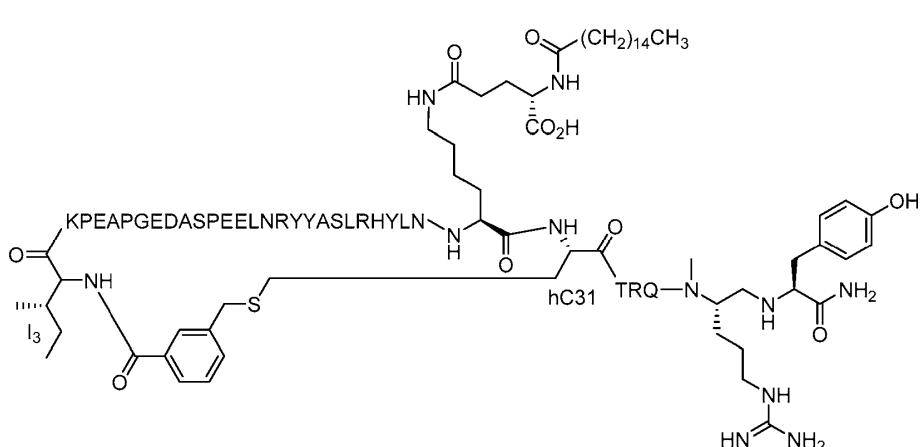
Estructura:



SEQ ID NO: 35

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, (N-Me-R35), psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

Estructura:

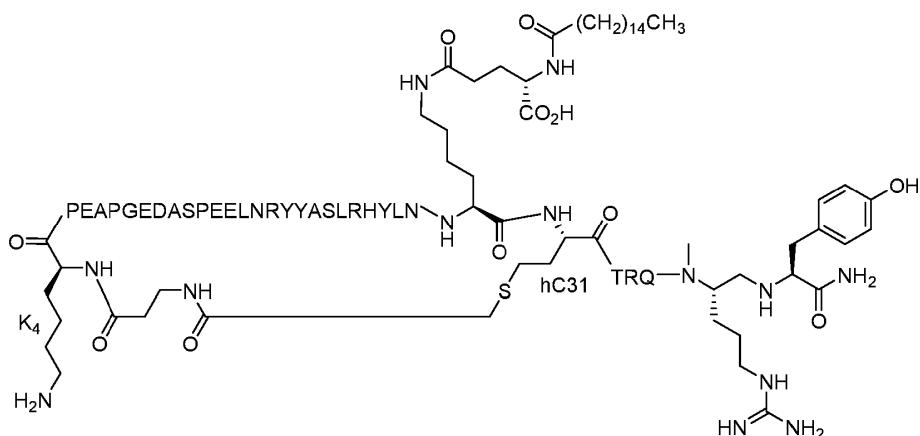


SEQ ID NO: 36

Nombre: [ciclo-(K4-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, (N-Me-R35), psi-(R35,Y36)]-PYY4-36
Estructura:

Rombo: [3]
Estructura:

5



10

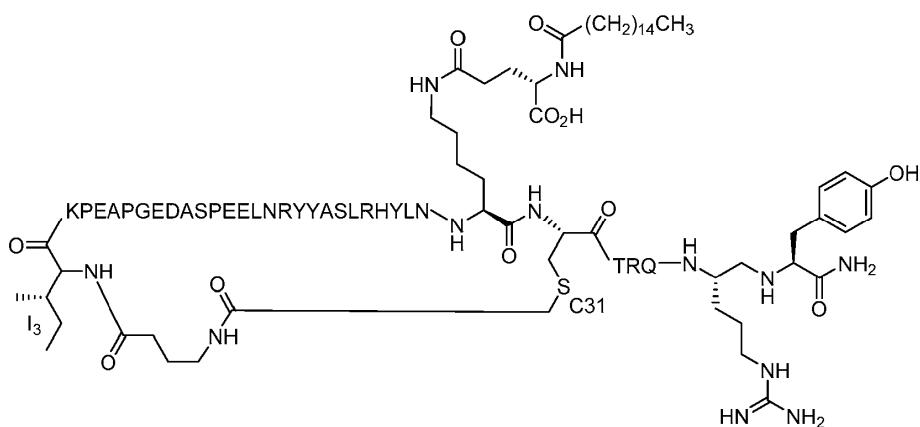
15

20

SEQ ID NO: 37

Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₃NHCOCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

25



30

35

40

SEQ ID NO: 38

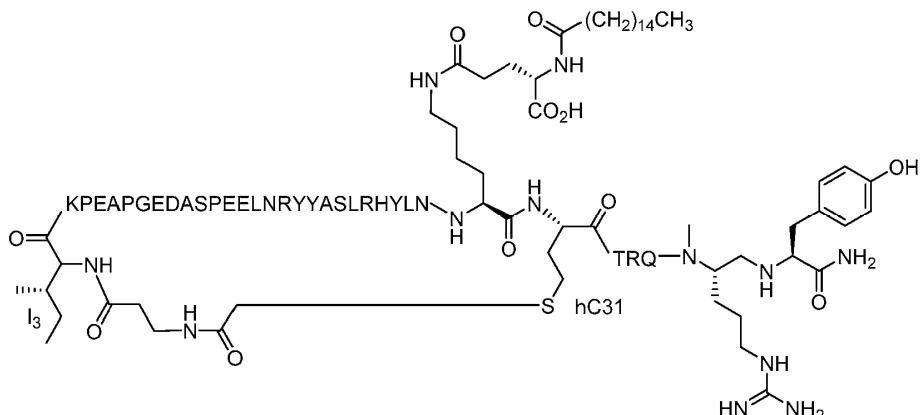
Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35), psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

45

50

55

60



SEQ ID NO: 39

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), S4, K(γ -Glu-Arach)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

65

5

10

15

20

SEQ ID NO: 40
 Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazoly-Nle31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
 Estructura:

25

30

35

40

SEQ ID NO: 41
 Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazoly-Nle31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
 Estructura:

45

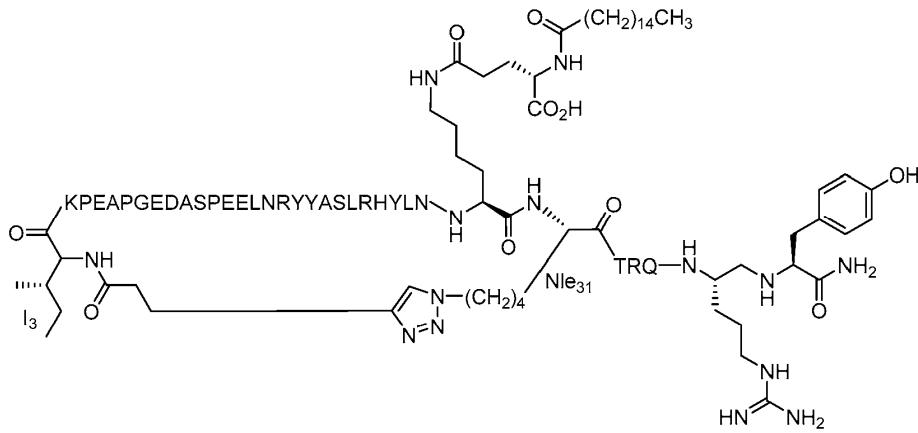
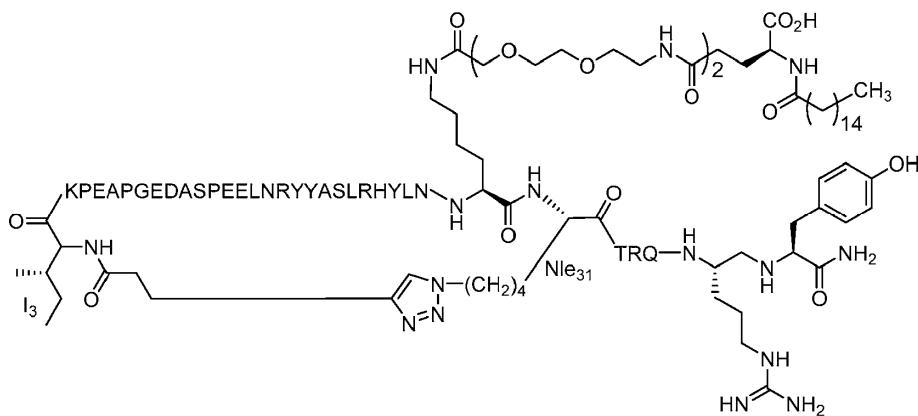
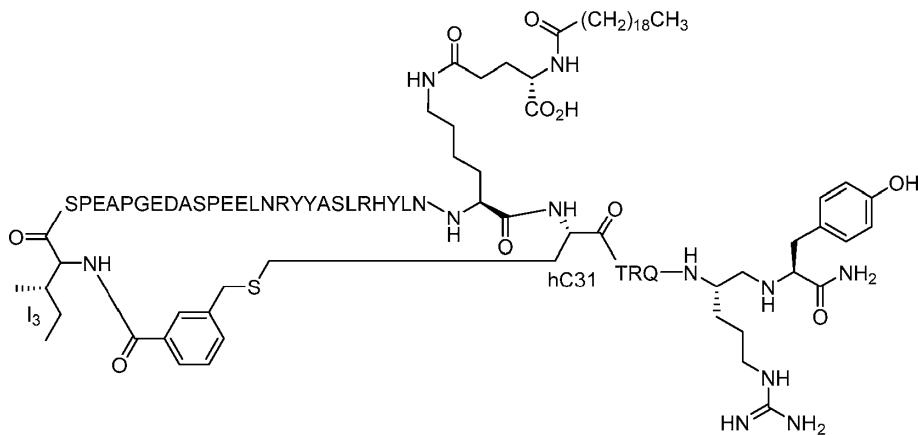
50

55

60

SEQ ID NO: 42
 Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazoly-Nle31), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
 Estructura:

65



5

10

15

20

25

30

35

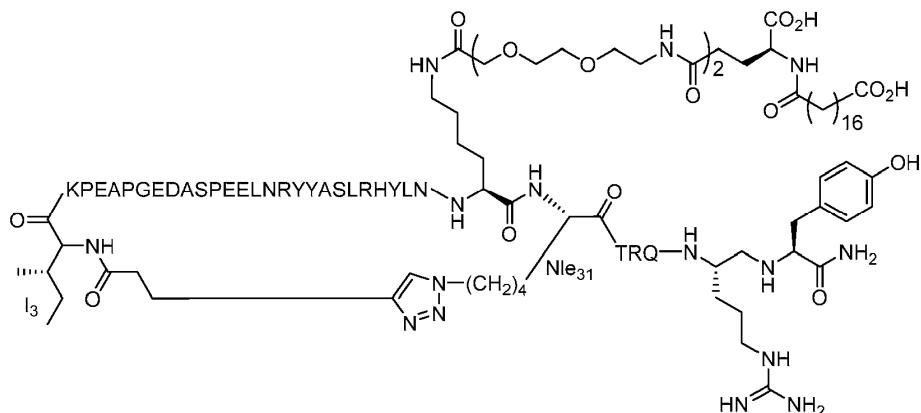
40

45

50

55

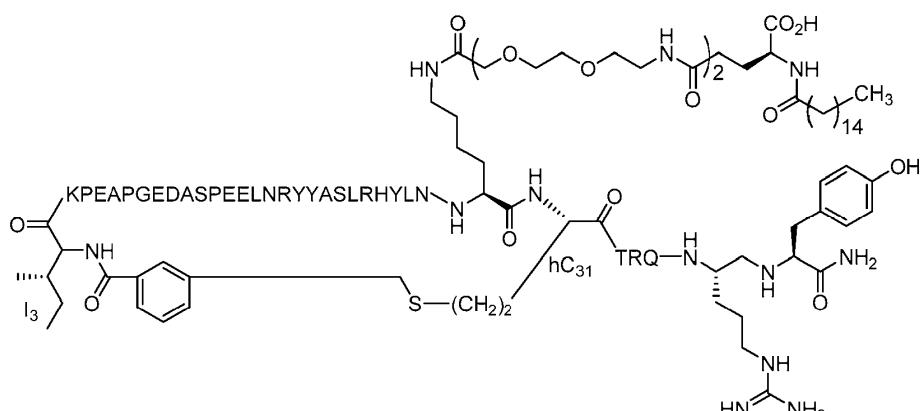
60



SEQ ID NO: 43

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

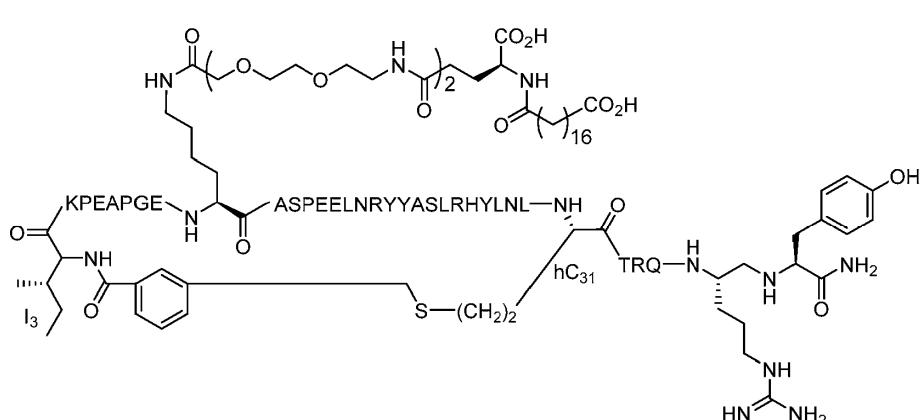
Estructura:



SEQ ID NO: 44

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu- COC₁₆CO₂H)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Estructura:



SEQ ID NO: 45

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K(COCH₂CH₂(OCH₂CH₂)₂₄NH-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Estructura:

65

5

10

15

20

25

30

35

40

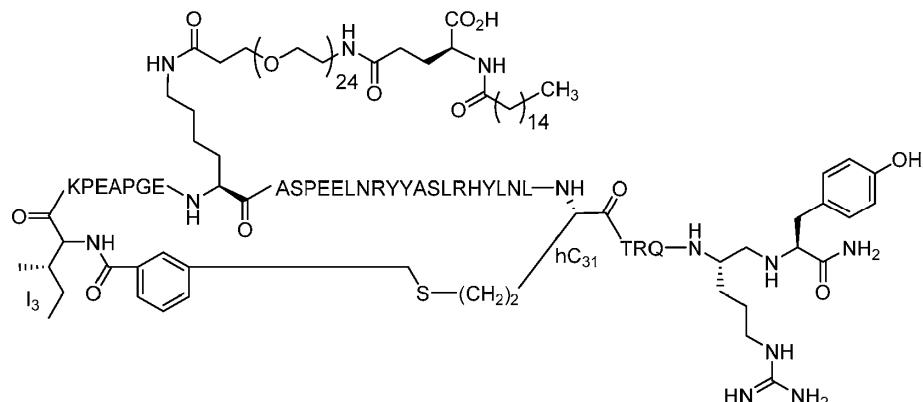
45

50

55

60

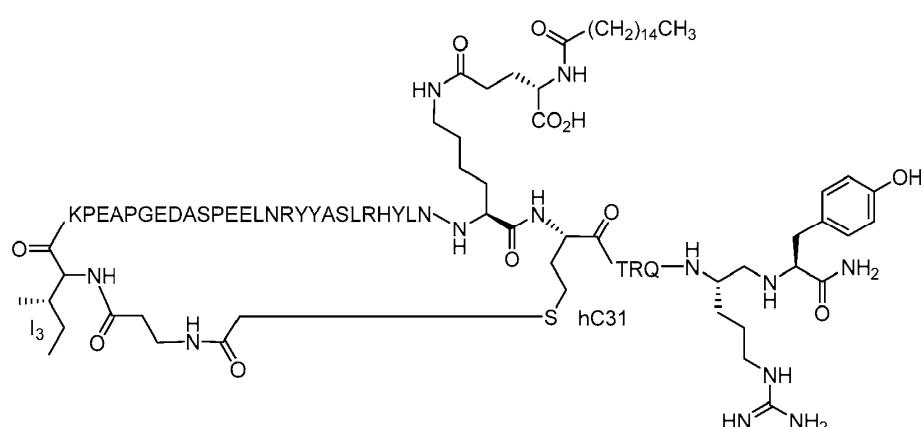
65



SEQ ID NO: 46

Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

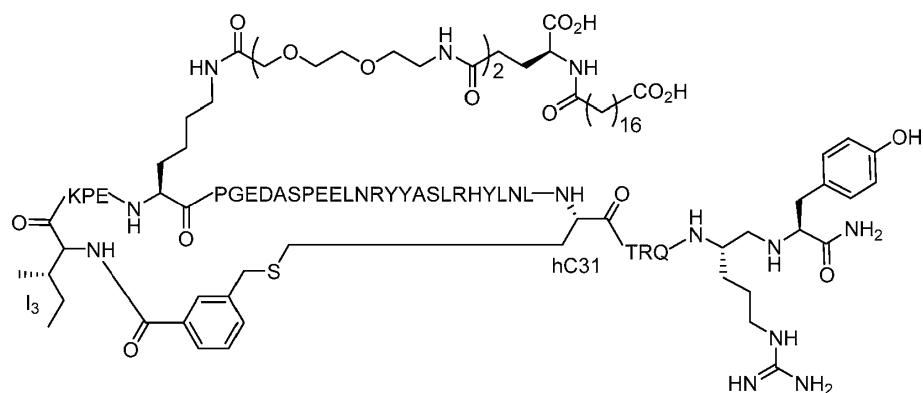
Estructura:



SEQ ID NO: 47

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂- γ -Glu-COC₁₆CO₂H)7, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Estructura:

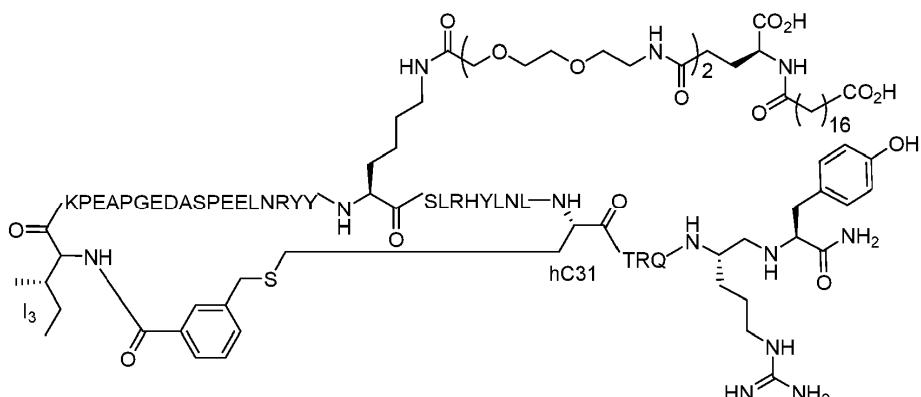


SEQ ID NO: 48

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂- γ -Glu-COC₁₆CO₂H)22, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Estructura:

5



10

15

SEQ ID NO: 49

Nombre: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31)-K(y-Gly)-(Phe-16-OH))30 psi-(R35 Y36)1-PYY3-36]

Nombre: [C]
Estructura:

20

25

20

35

SEQ ID NO: 50

Nombre: [ciclo-((3-m-COPhCH₂-hC31)-K((OEG)₂-v-Glu-COC₁₆CO₂H)23, psi-(R35,Y36)]-l-PYY3-36

40

45

50

SEQ ID NO: 51

60

Nombre: [ciclo-((3-m-COPhCH₂-hC31)-S4-K(y-Glu-Pal)30-psi-(R35-Y36))-PYY3-36]

Nombrecito

65

5

10

15

20

25

30

35

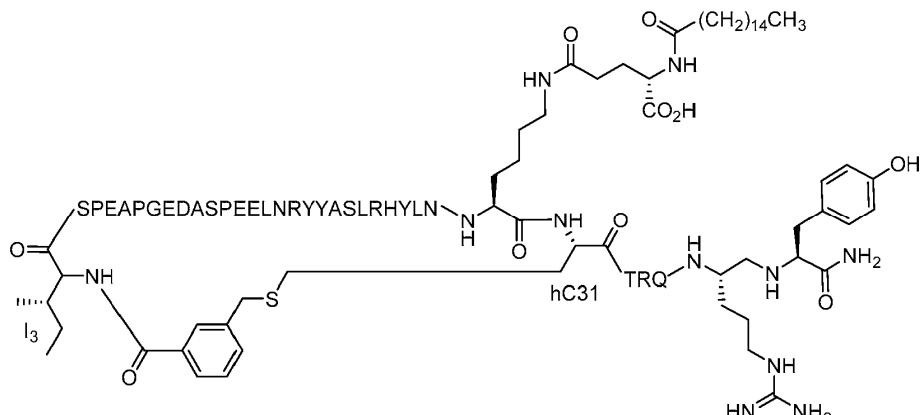
40

45

50

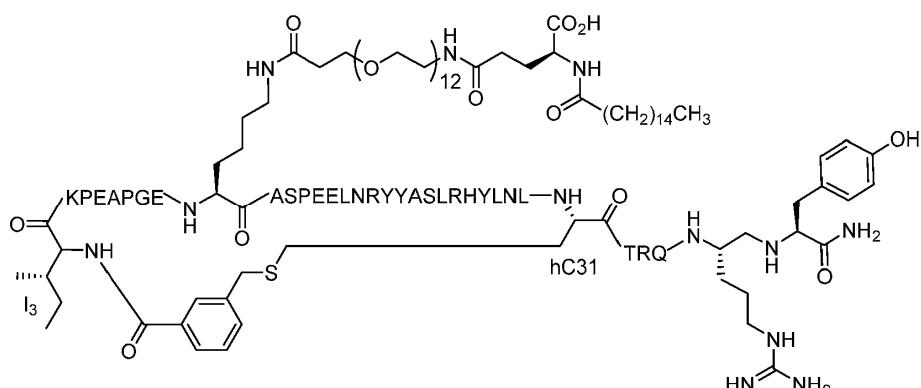
55

60



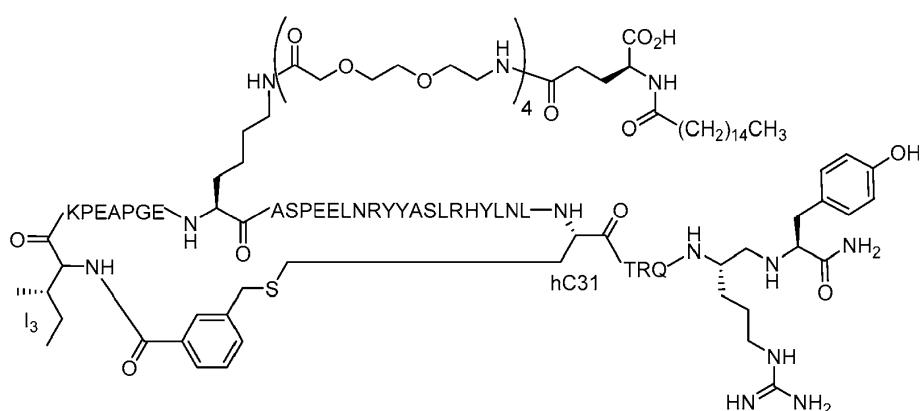
SEQ ID NO: 52

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(COCH₂CH₂(OCH₂CH₂)₁₂NH-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:



SEQ ID NO: 53

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₄-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

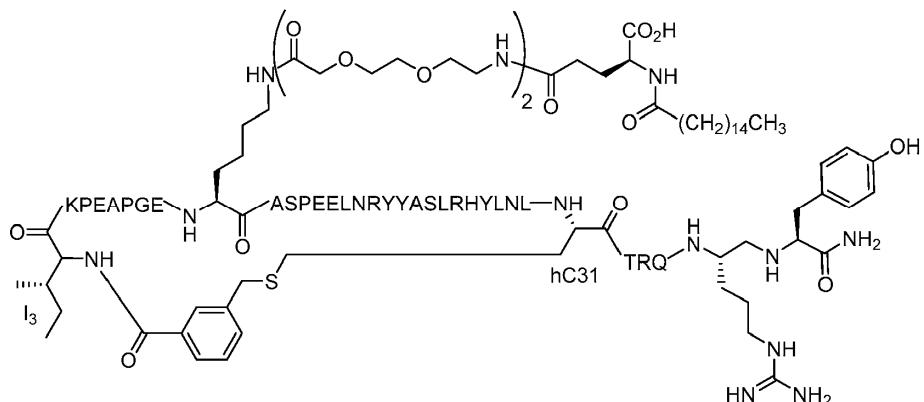


SEQ ID NO: 54

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

65

5



10

15

SEQ ID NO: 55

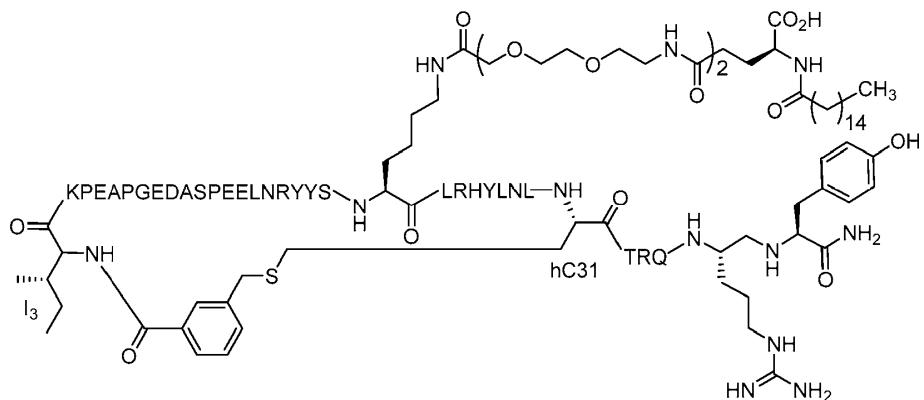
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)23, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

20

25

30

35



40

SEQ ID NO: 56

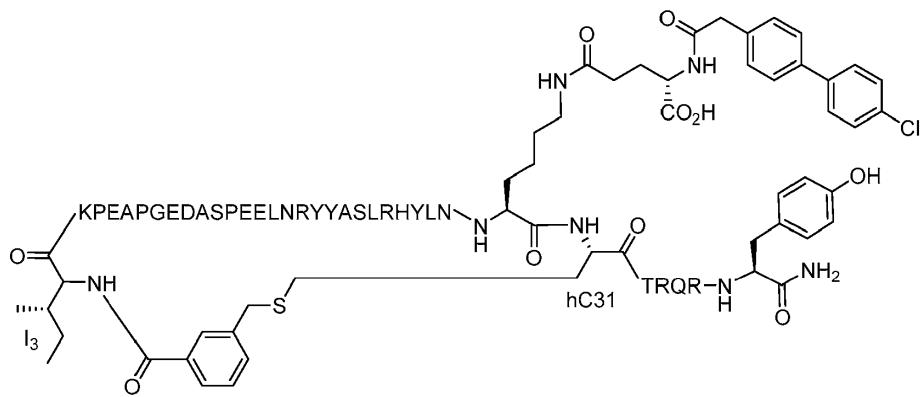
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-COCH₂Ph-(4-ClPh)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

45

50

55

60

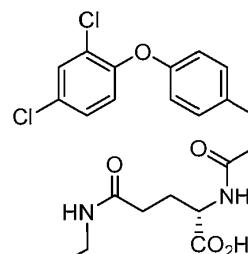


65

SEQ ID NO: 57

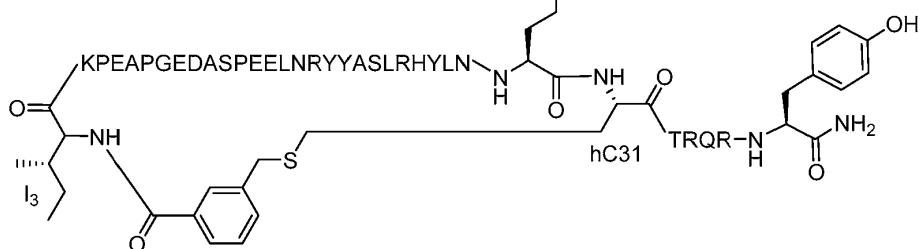
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-CO(CH₂)₂PhO-(2,4-Cl₂Ph)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

5



10

15



20

SEQ ID NO: 58

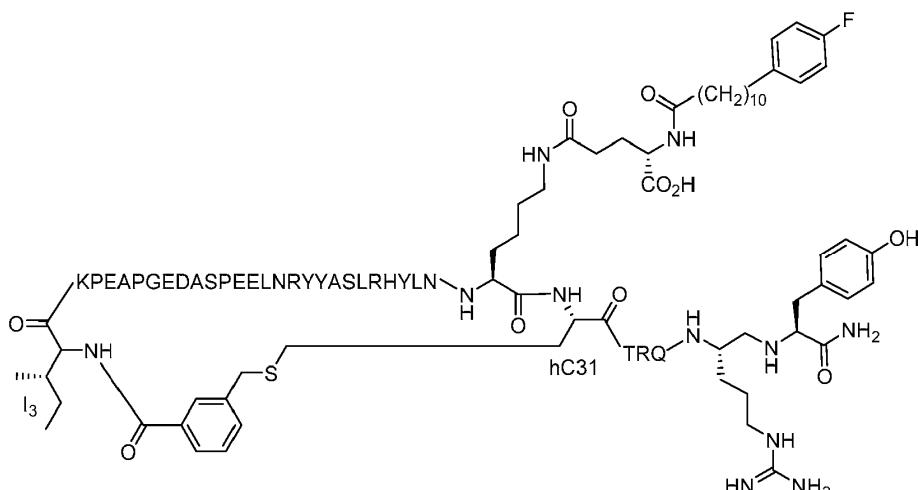
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-CO(CH₂)₁₀-(4-F-Ph))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

25

30

35

40



45

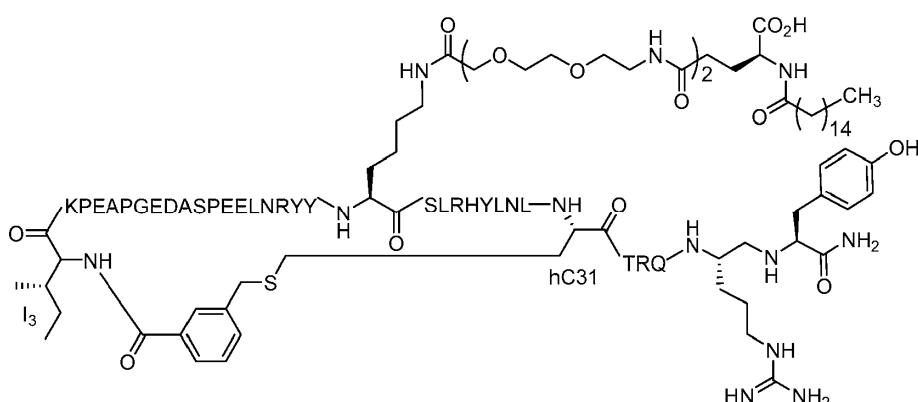
SEQ ID NO: 59

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂- γ -Glu-Pal)22, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

50

55

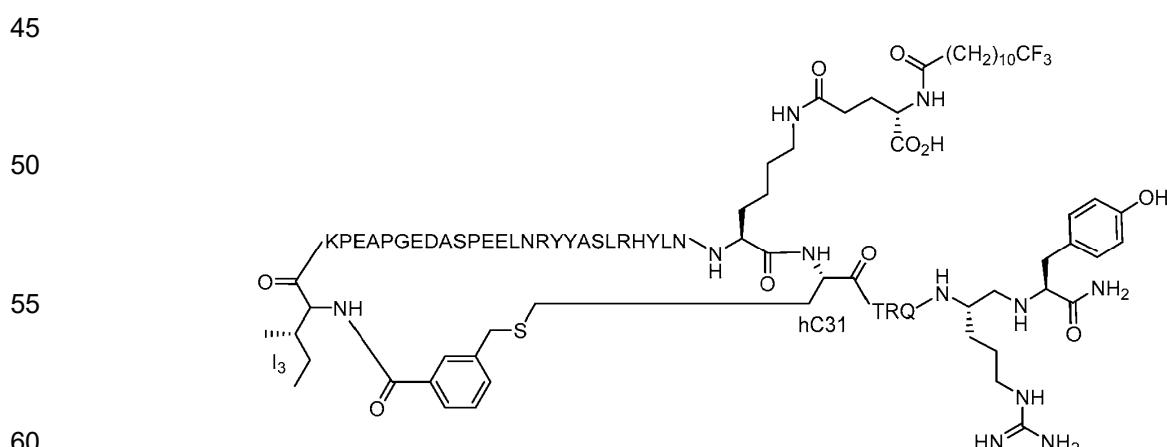
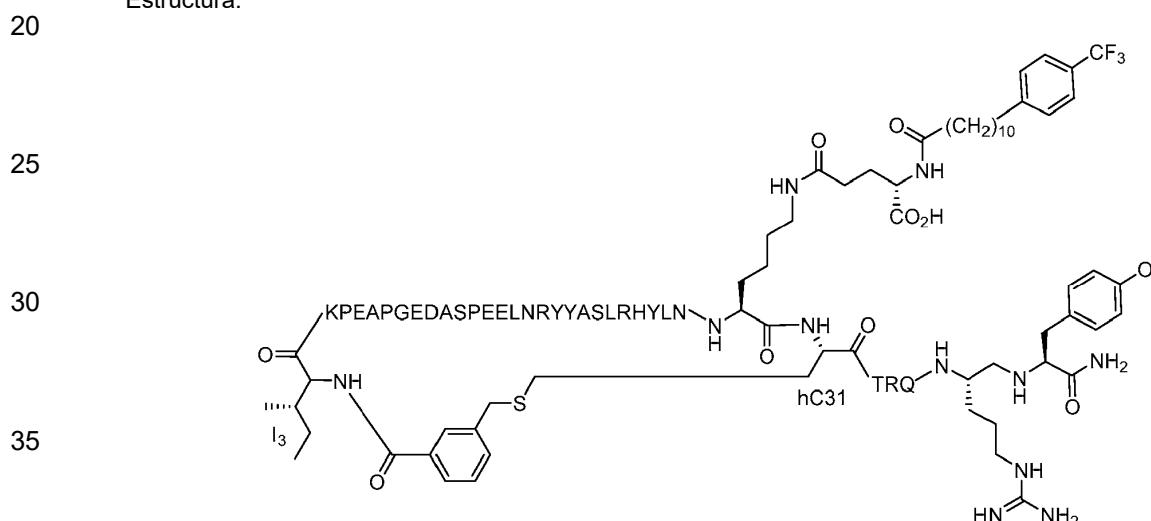
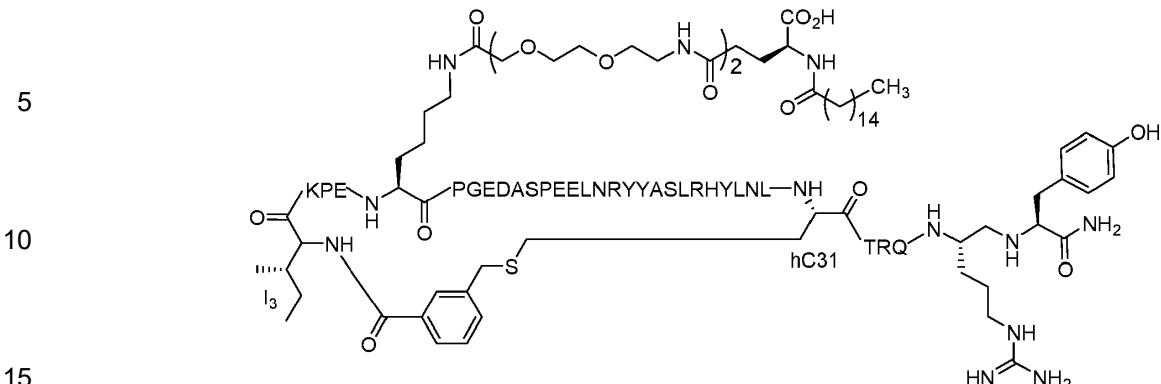
60



SEQ ID NO: 60

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂- γ -Glu-Pal)7, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

65



5

10

15

20

25

30

35

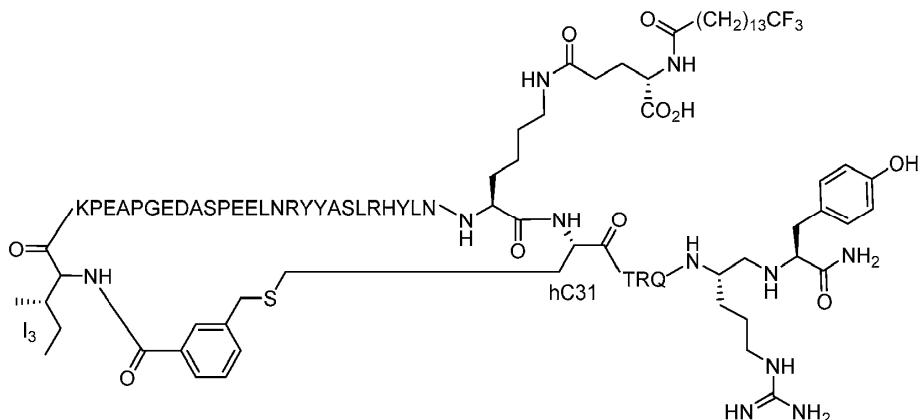
40

45

50

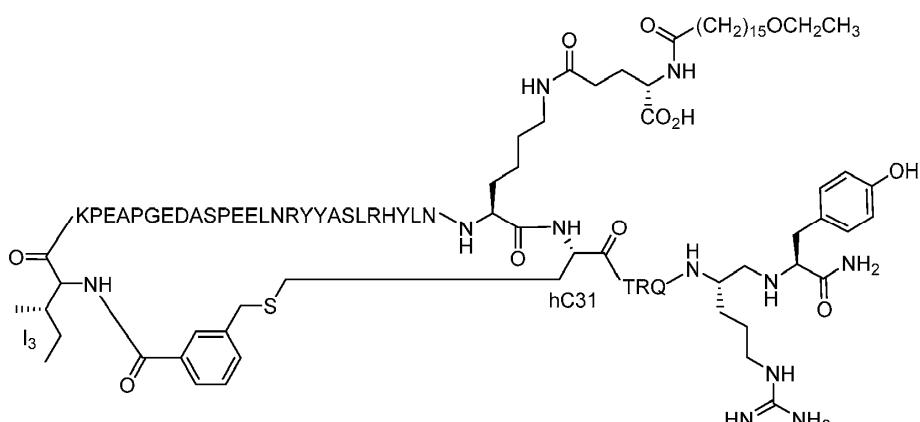
55

60



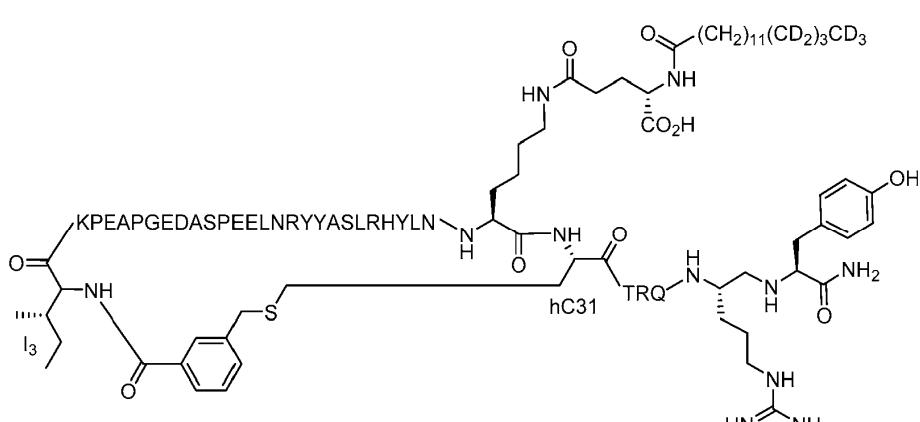
SEQ ID NO: 64

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-(Pal-16-OEt))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:



SEQ ID NO: 65

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-CO(CH₂)₁₁(CD₂)₃CD₃)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

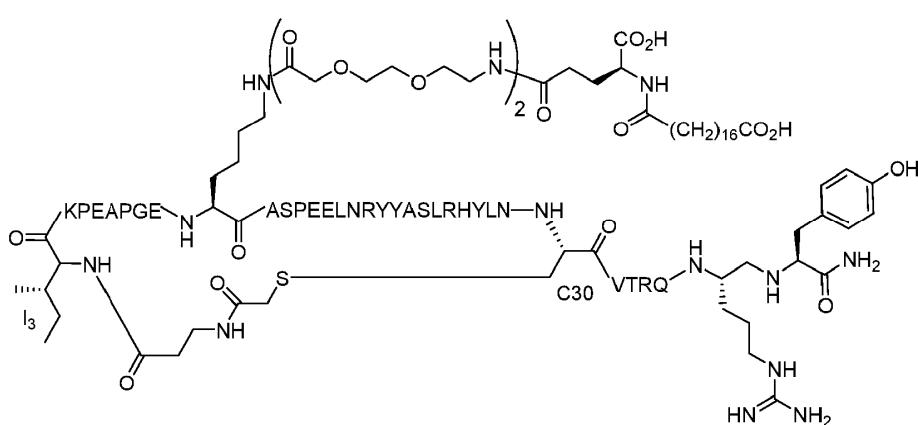
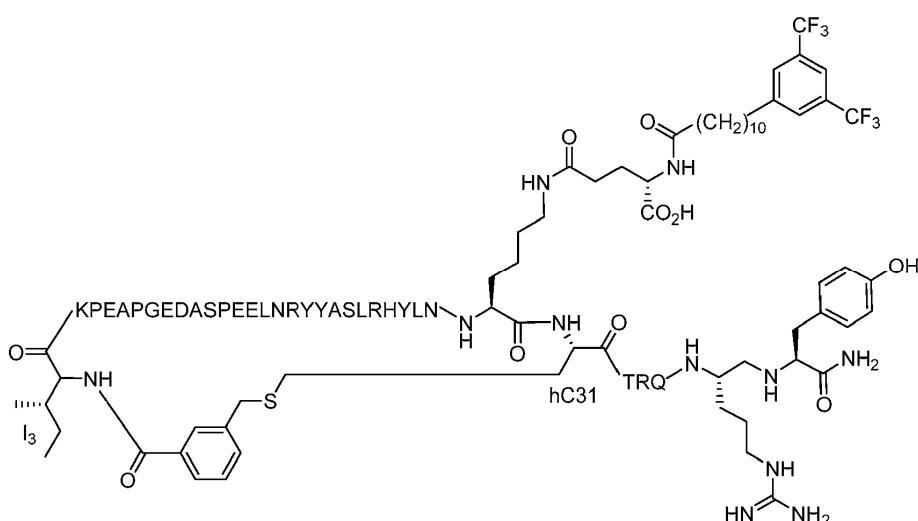
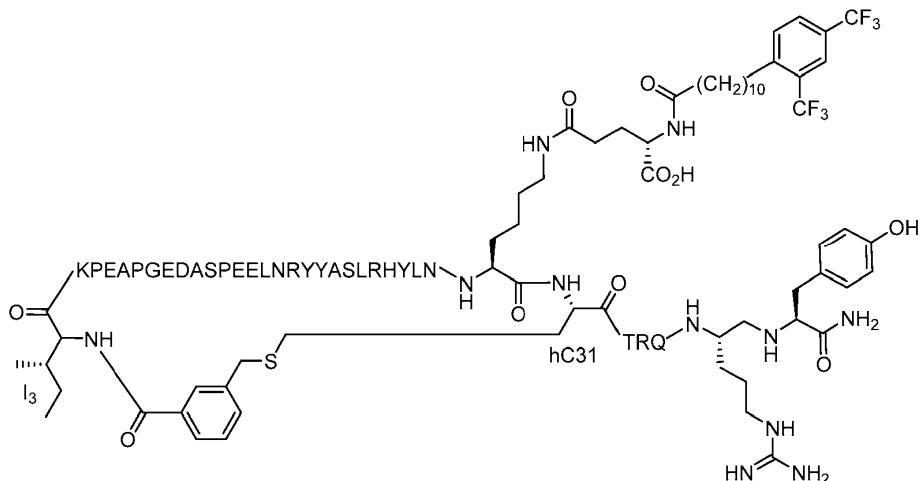


60

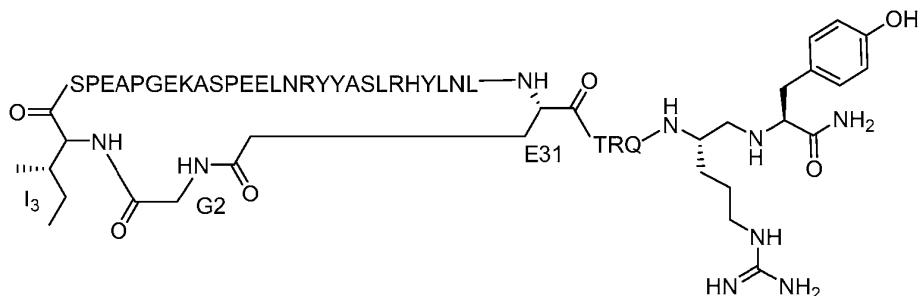
SEQ ID NO: 66

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-CO(CH₂)₁₀-(2,4-(CF₃)₂-Ph))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

65



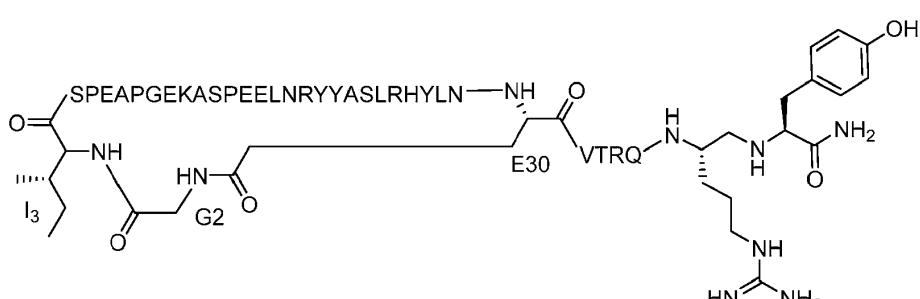
Estructura:



SEQ ID NO: 70

Nombre: [ciclo-(G2-E30), S4, K11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

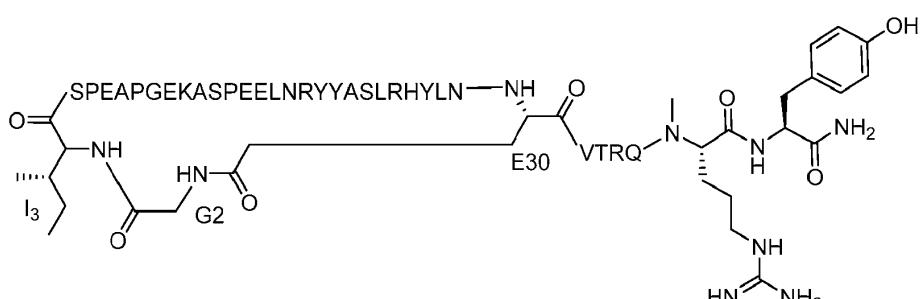
Estructura:



SEQ ID NO: 71

Nombre: [ciclo-(G2-E30), S4, K11, (N-Me-R35)]-PYY3-36

Estructura:



SEQ ID NO: 72

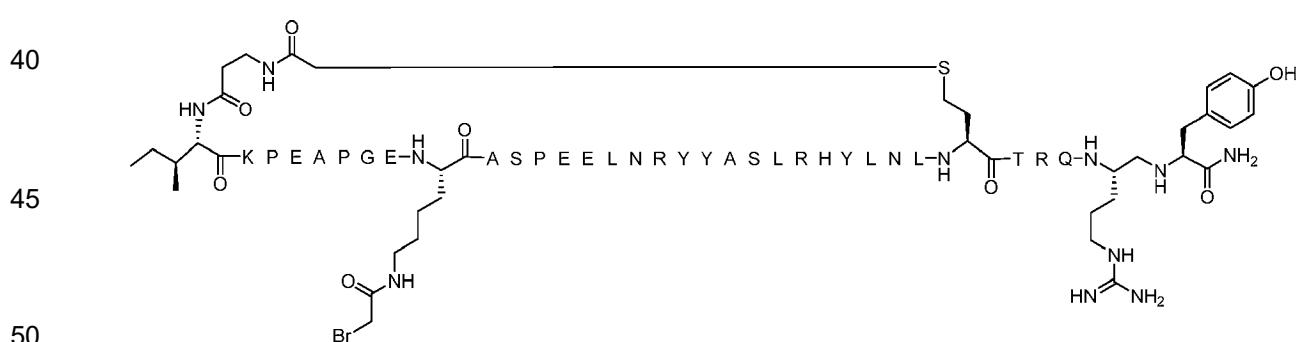
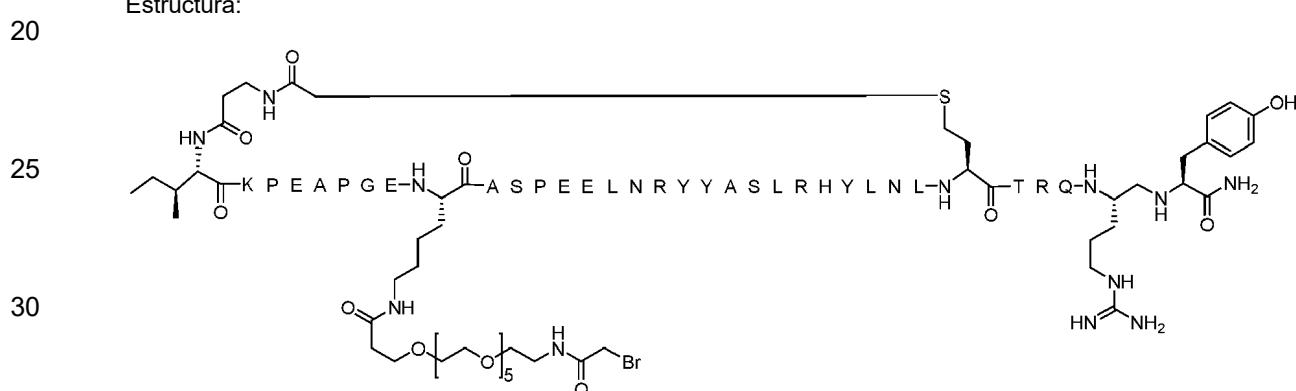
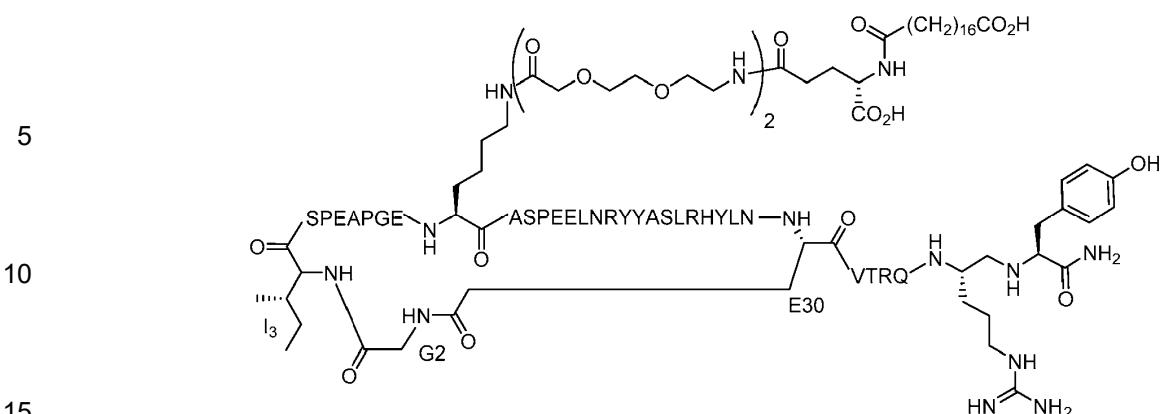
Nombre: [ciclo-(G2-E30), S4, K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

Estructura:

55

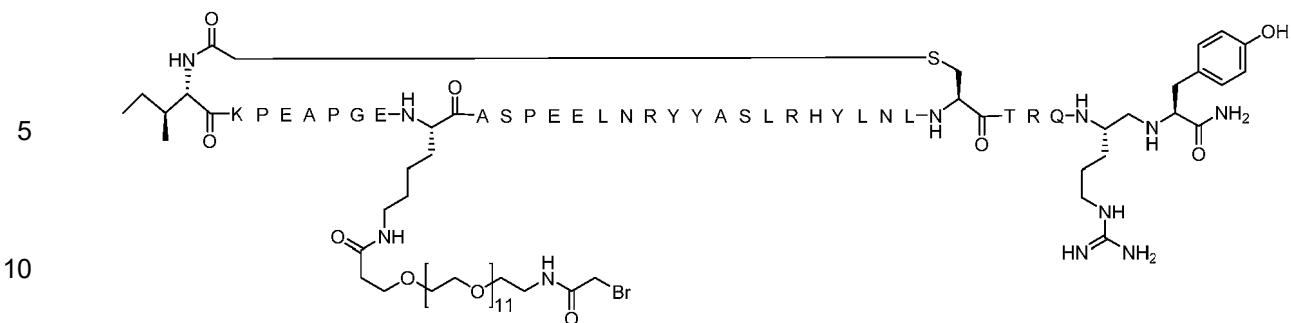
60

65



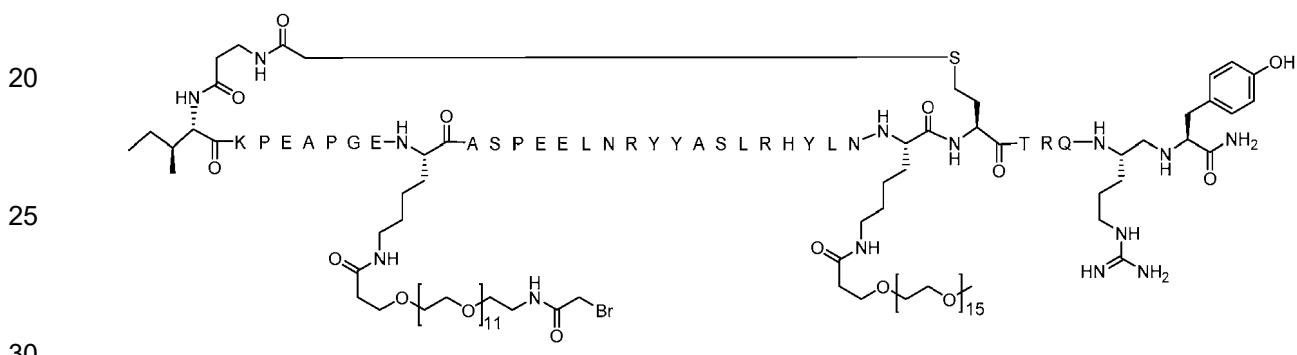
60

65



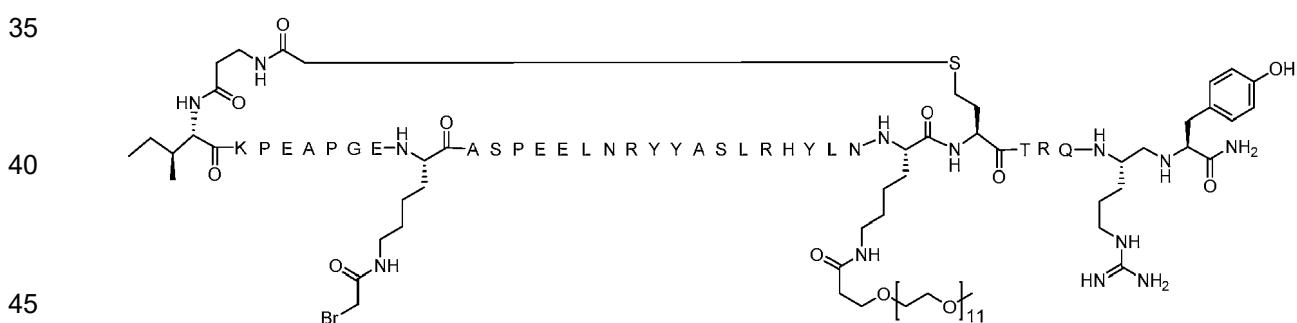
SEQ ID NO: 76

15 Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, K(mPEG16)30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36
Estructura:



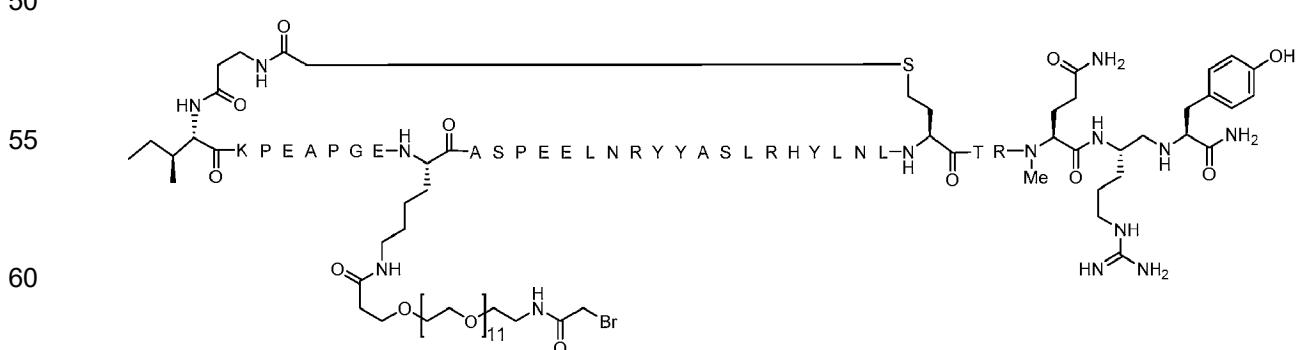
SFQ ID NO: 77

Nombre: [Ciclo- $\left(\beta\text{A}2\text{-COCH}_2\text{-hC}31\right)$, K(AcBr)11, K(mPEG12)20, ψ -(R35,Y36)]-PYY2-36
Estructura:



SFQ ID NO: 78

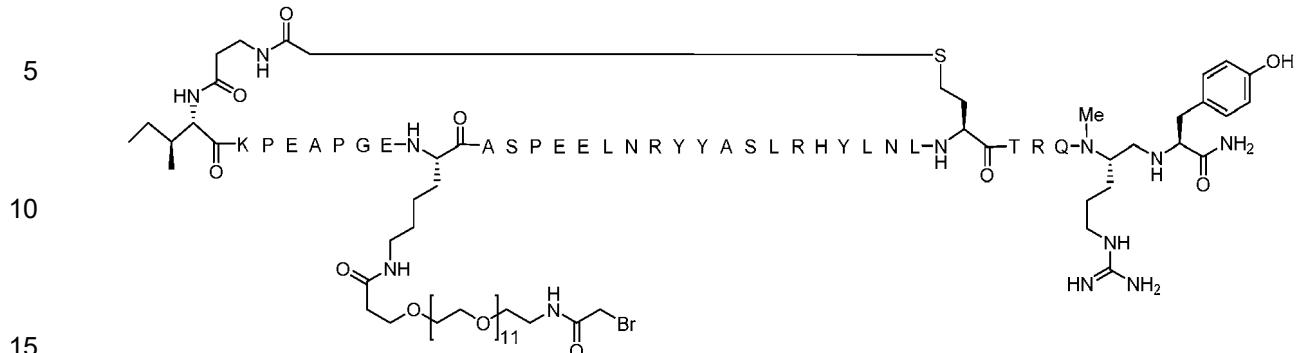
Nombre: [Ciclo- β (A2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, (N-Me)Q34, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36
Estructura:



SEQ ID NO: 79

65 Nombre: [Ciclo- β (B2A2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35, *psi*-(R35,36Y)]-PYY2-36

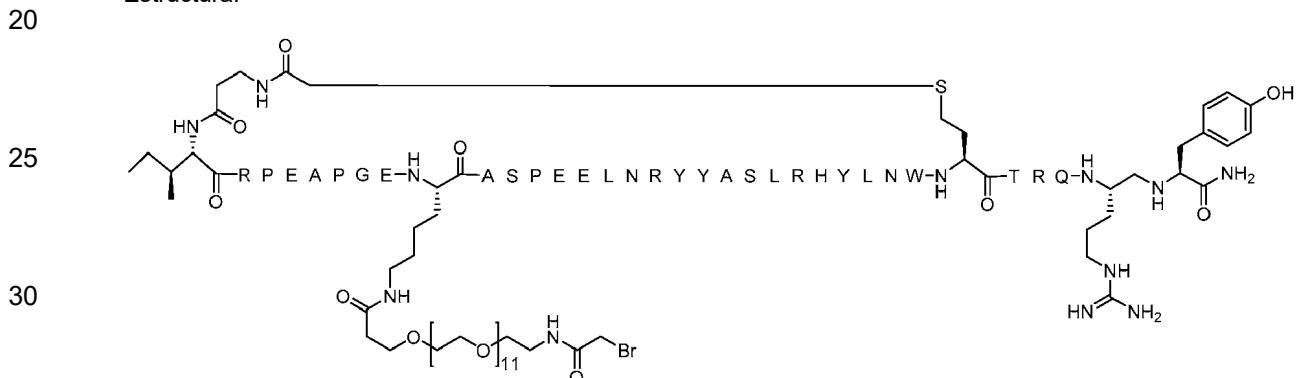
Estructura:



SEQ ID NO: 80

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), R4, K(PEG12-AcBr)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

Estructura:



35 SEQ ID NO: 81

Nombre: [Ciclo-(3I-COCH₂CH₂CH₂NHCOCH₂-C3I), R4, K(PEG12-AcBr)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

40

45

50

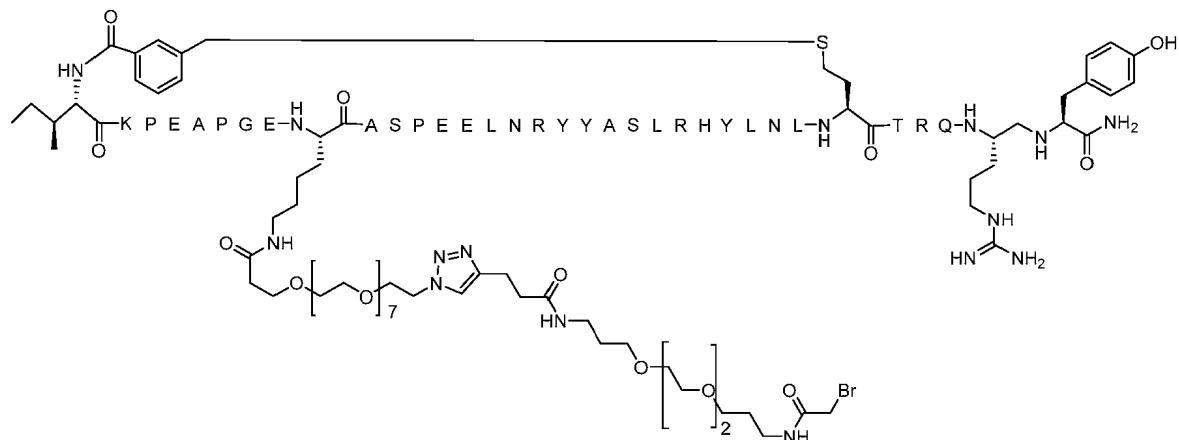
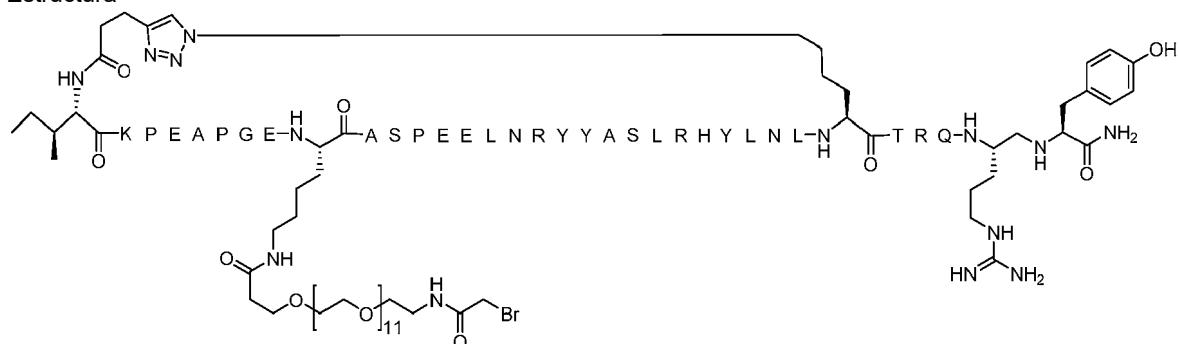
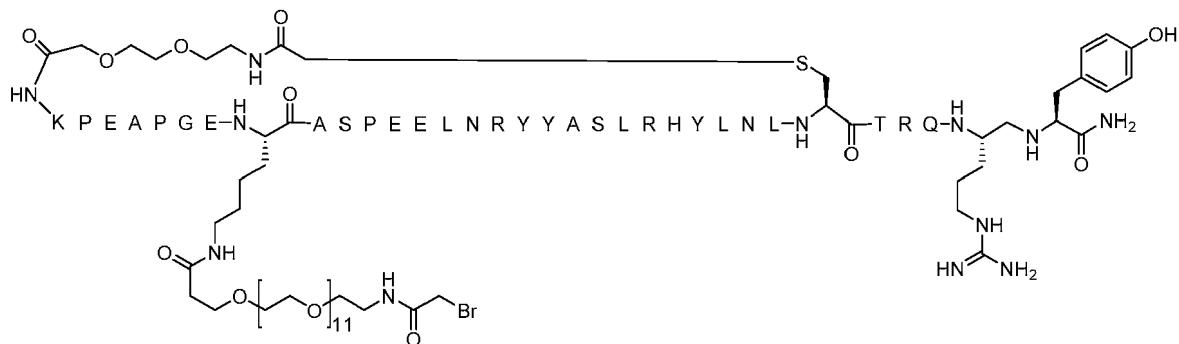
SEQ ID NO: 82

Nombre: [Ciclo-(K4-OEG-COCH₂-C31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY4-36
Estructura:

55 Estructura:

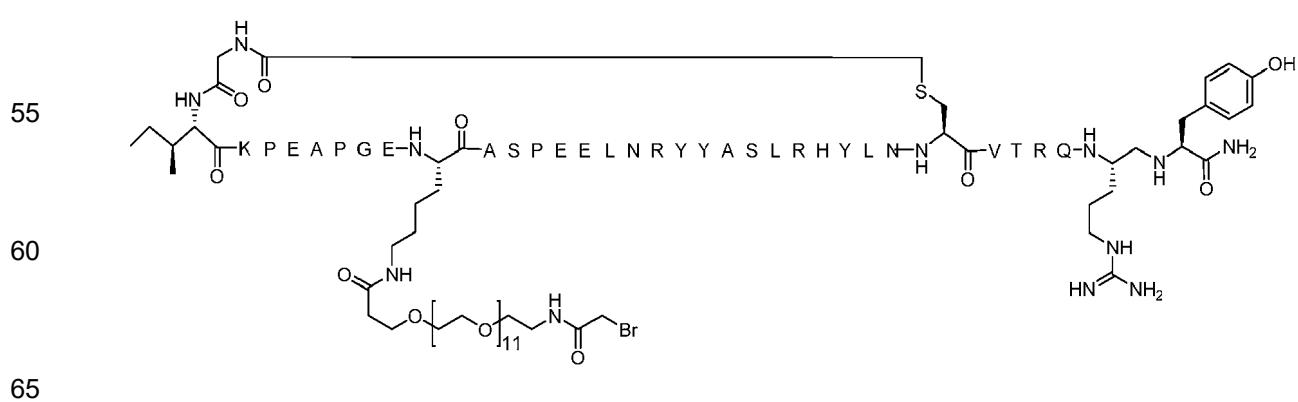
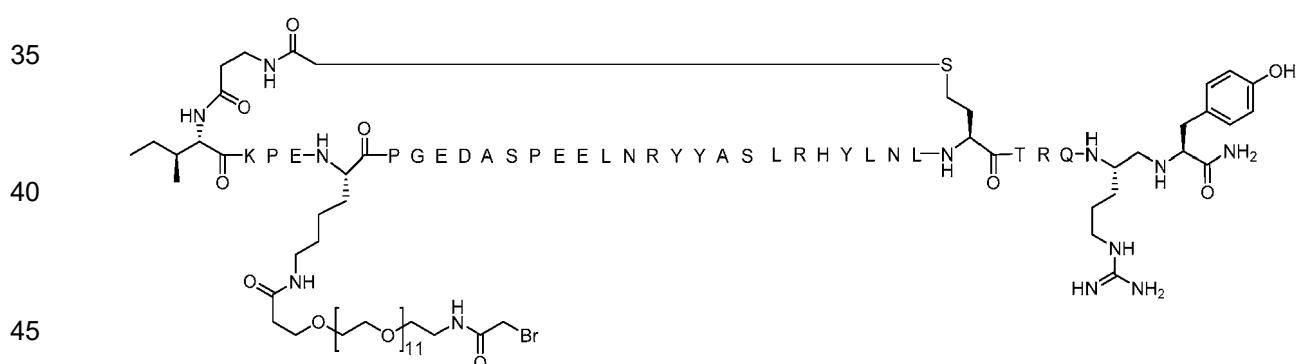
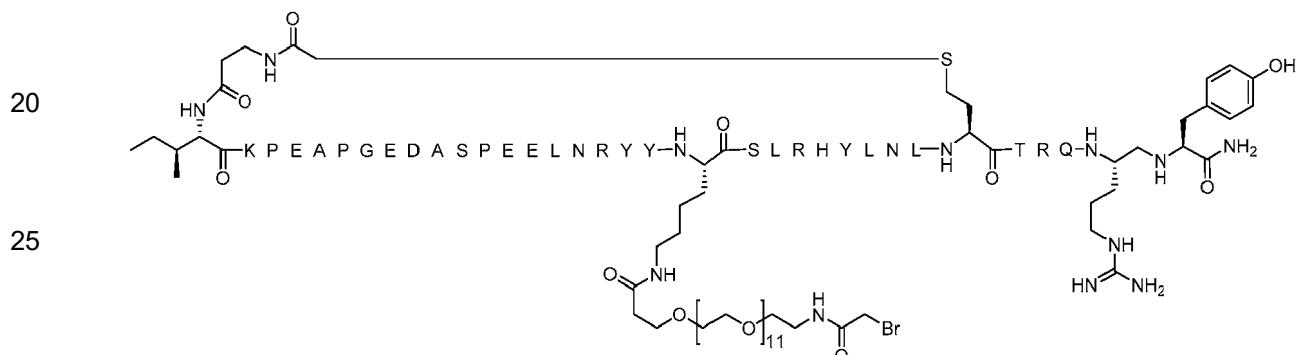
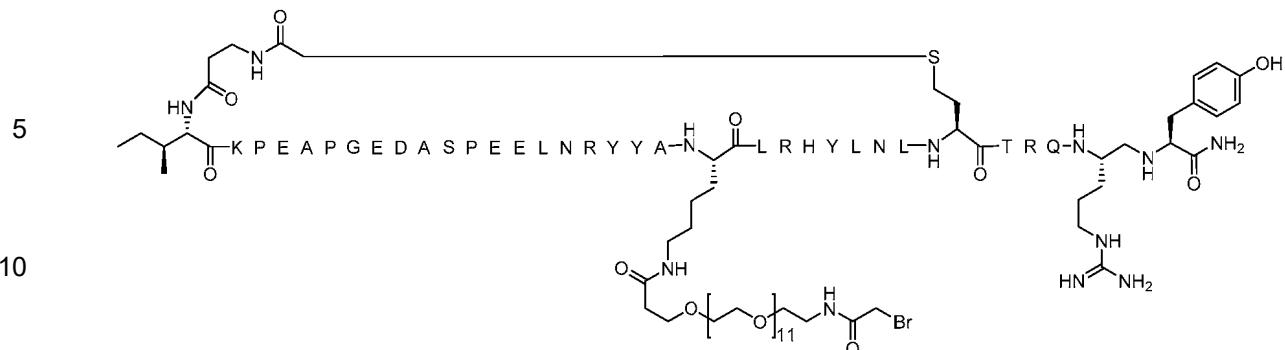
60

65

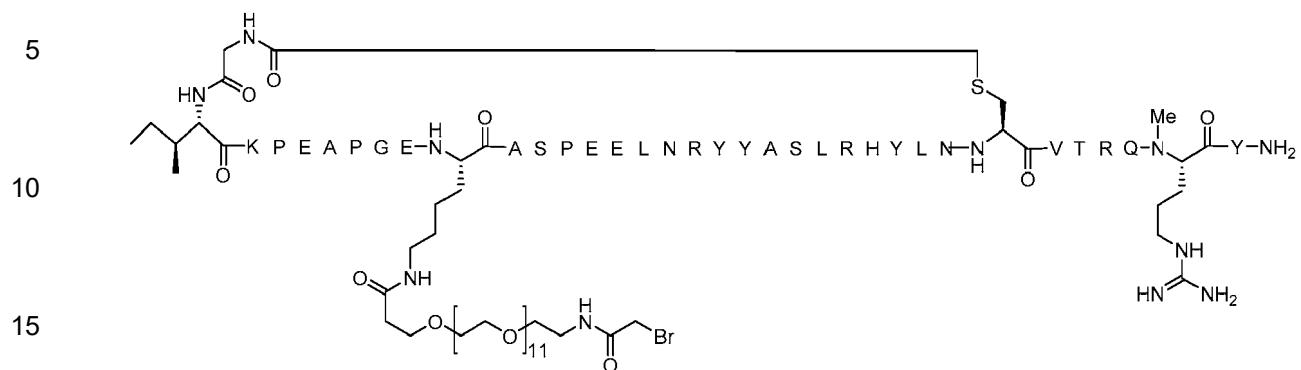


60

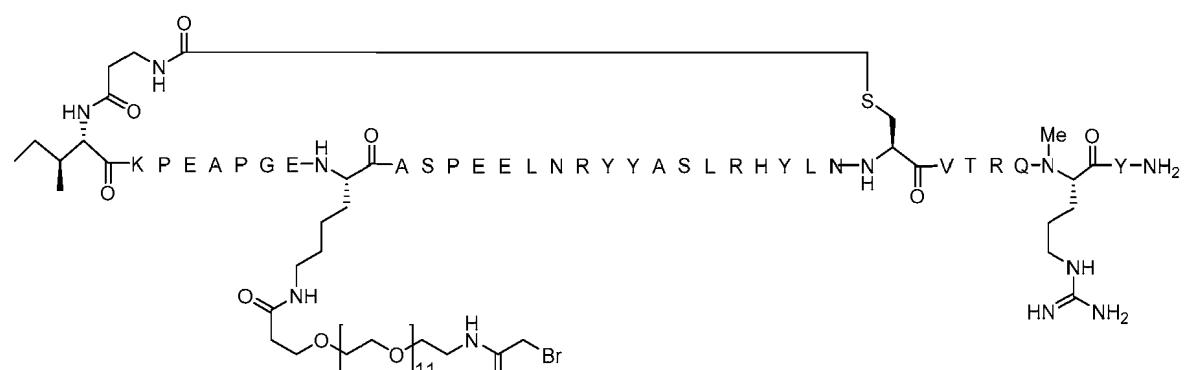
65



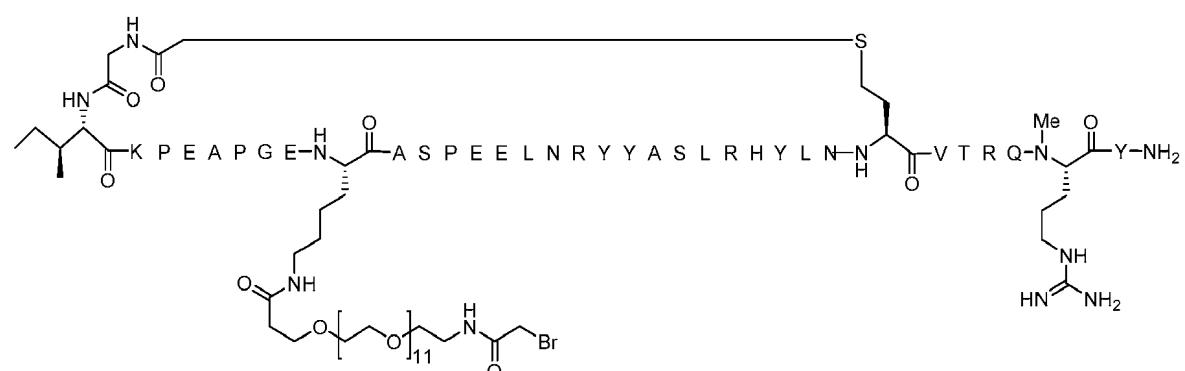
SEQ ID NO: 89

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36 Estructura:

SEQ ID NO: 90

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-C30), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36 Estructura:

SEQ ID NO: 91

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-hC30), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36 Estructura:

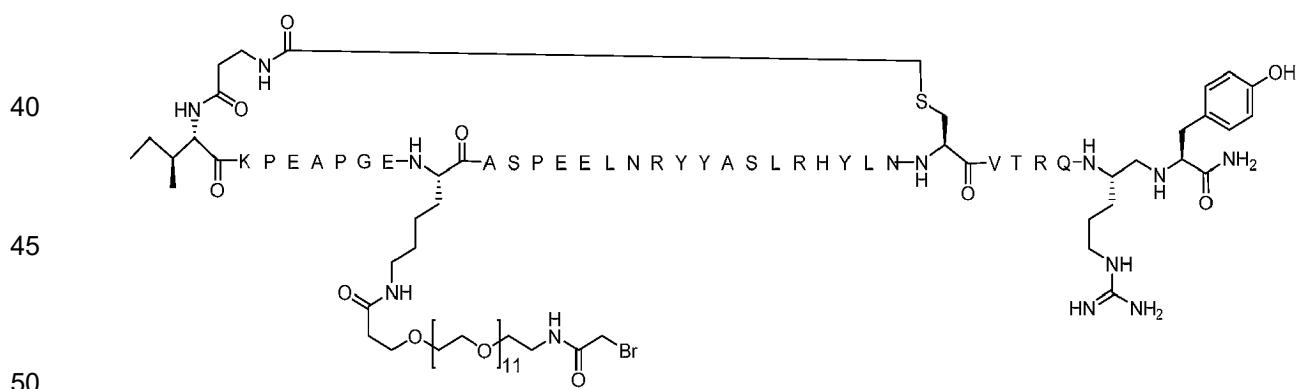
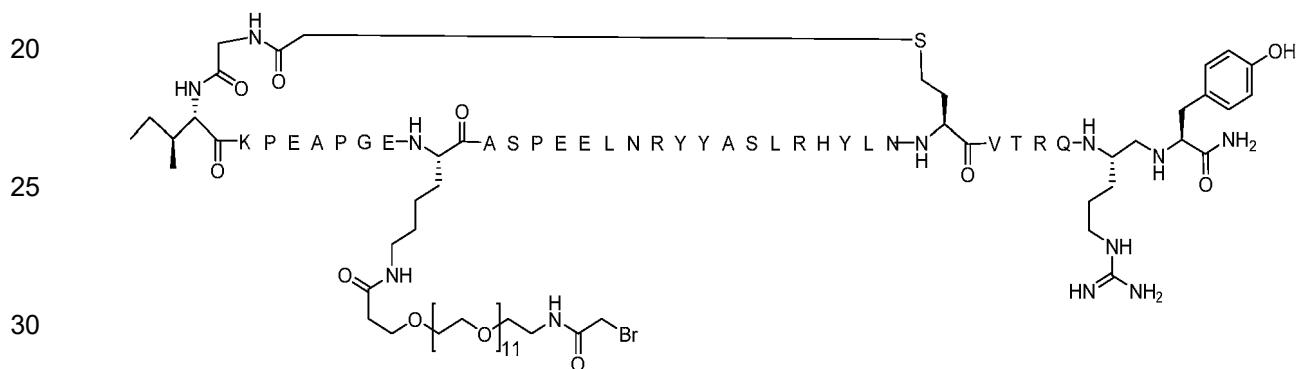
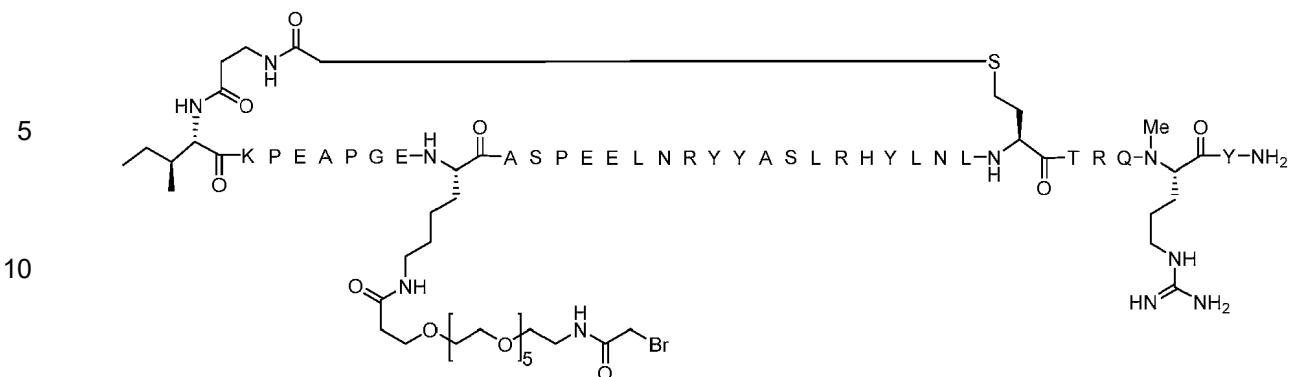
SEQ ID NO: 92

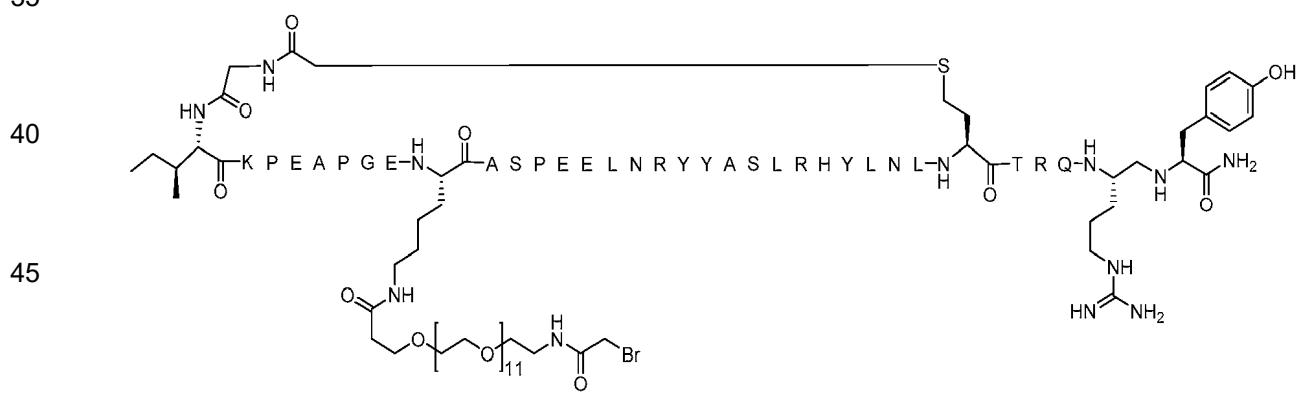
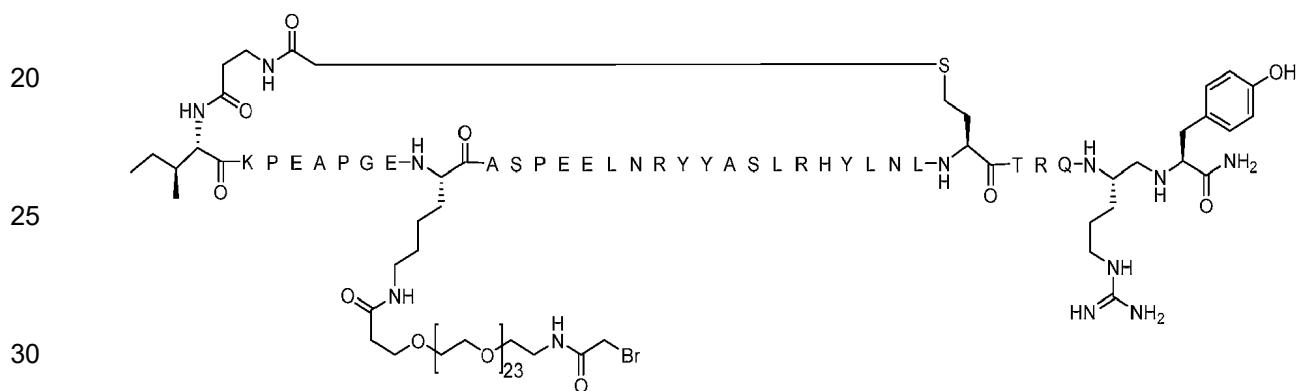
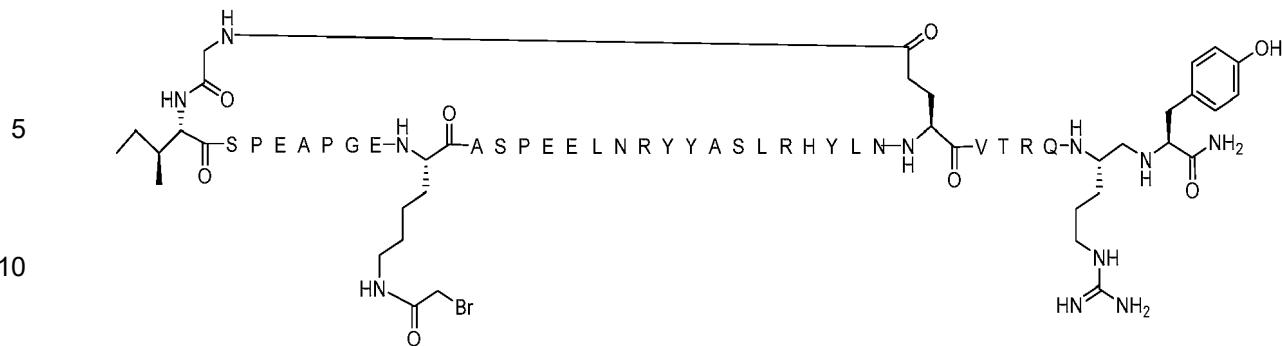
Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36 Estructura:

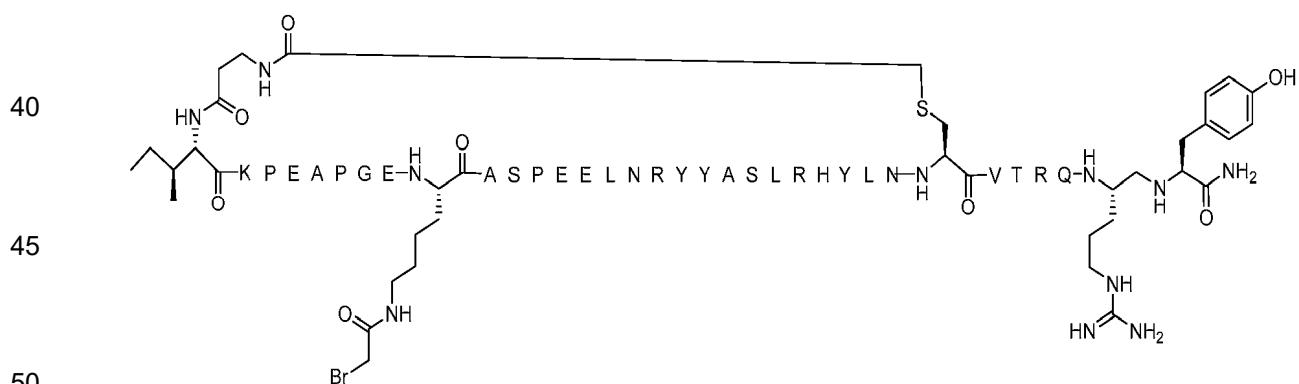
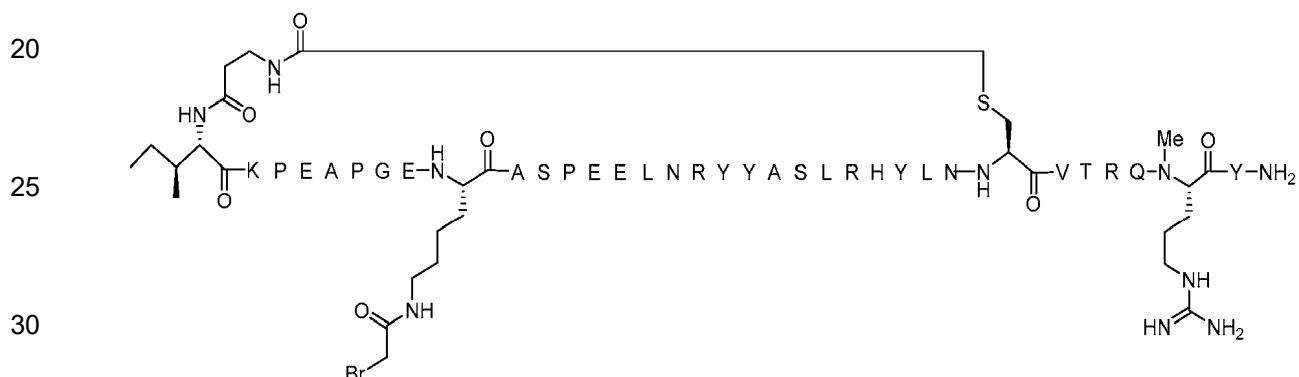
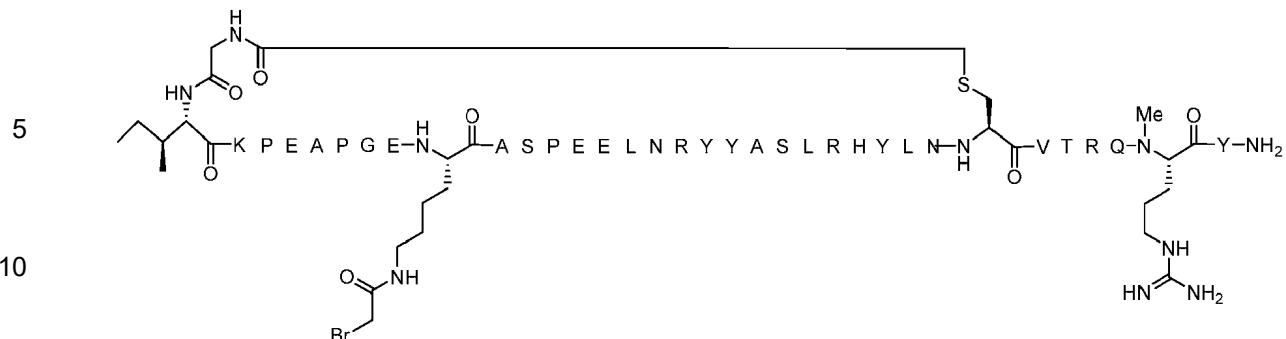
55

60

65



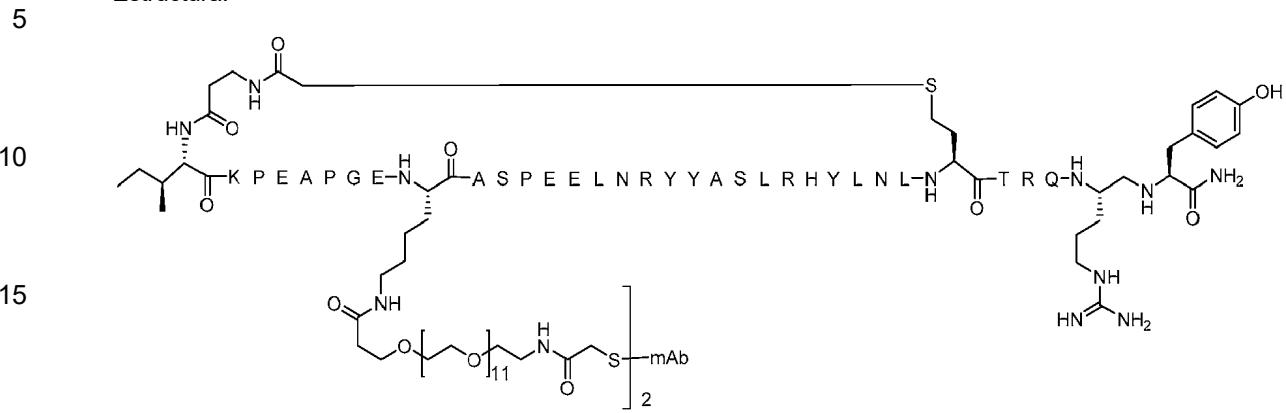




SEQ ID NO: 102

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12)11, *psi*-(35R,36Y)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado
(Compuesto 1)

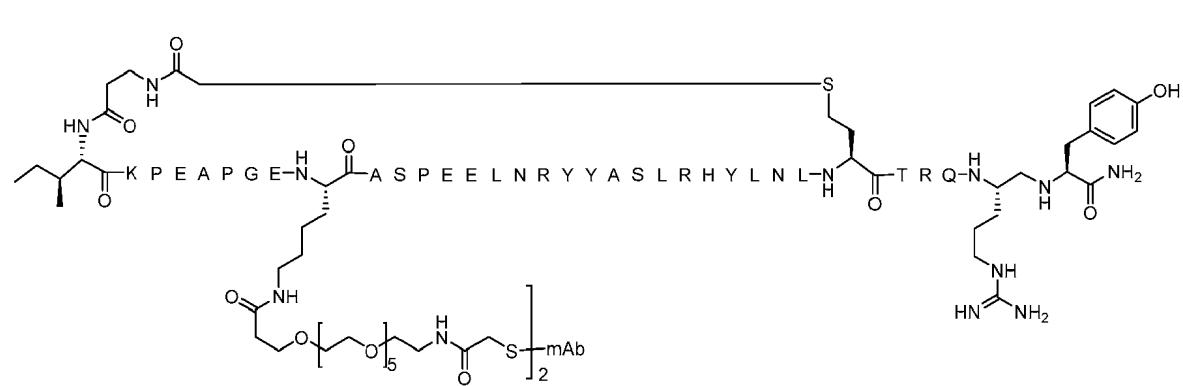
Estructura:



SEQ ID NO: 103

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG6)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado
(Compuesto 2)

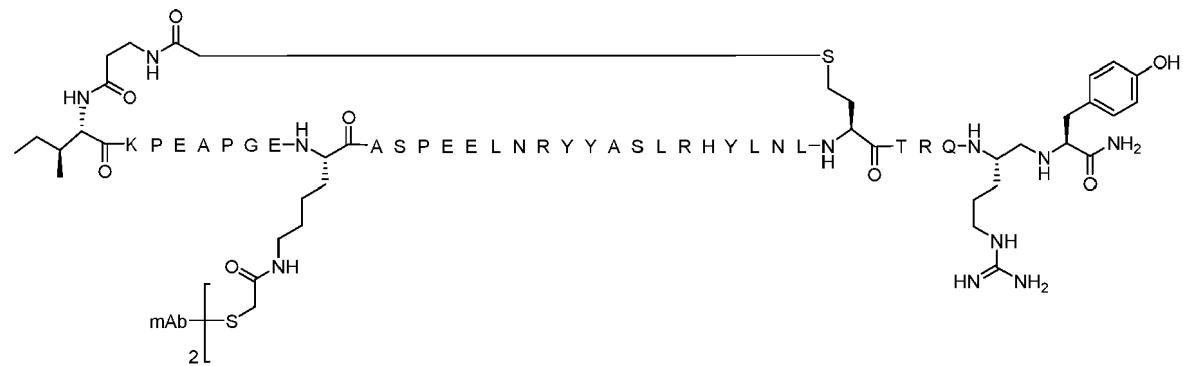
Estructura:



SEQ ID NO: 104

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 3)

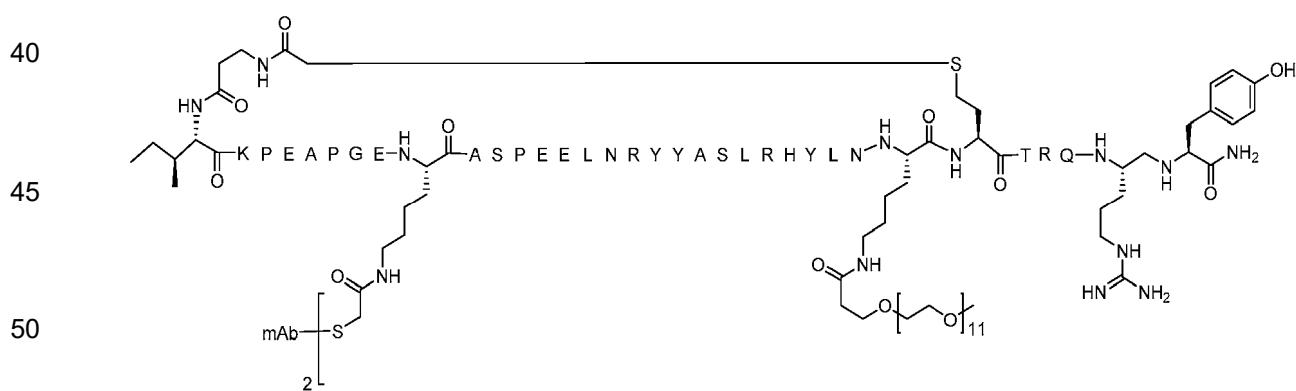
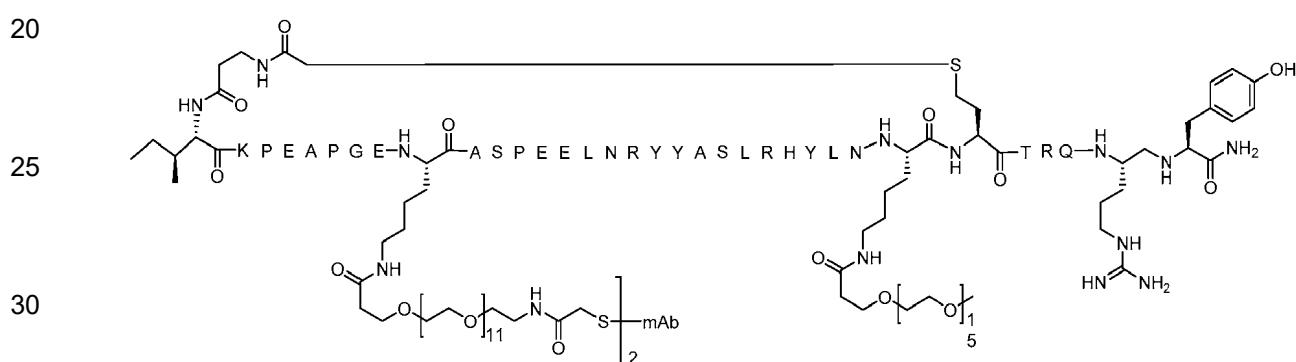
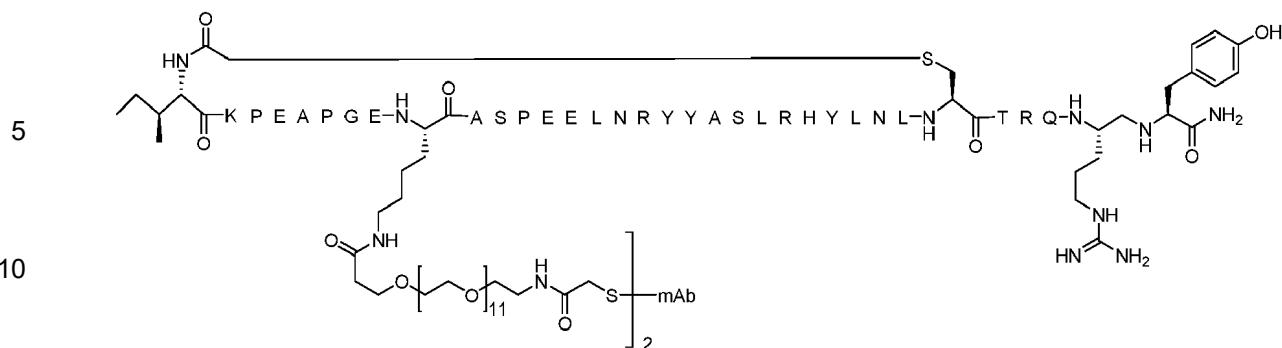
Estructura:



SEQ ID NO: 105

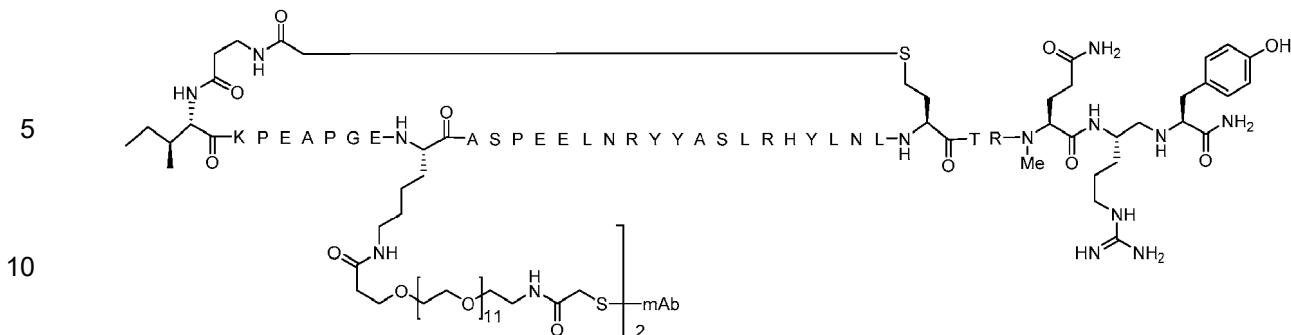
Nombre: [Ciclo-(I3-COCH₂-C31), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 mAb homodímero conjugado
(Compuesto 4)

Estructura:



60

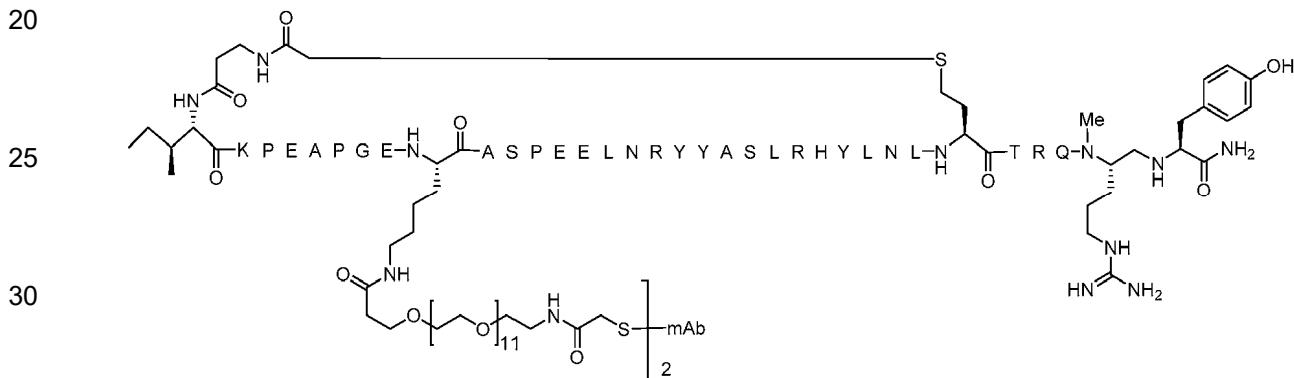
65



15 SEQ ID NO: 109

Nombre: [Ciclo- β (A2-COCH₂-hC31), K(PEG12)11, N-Me-R35, *psi*-(R35,36Y)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 8)

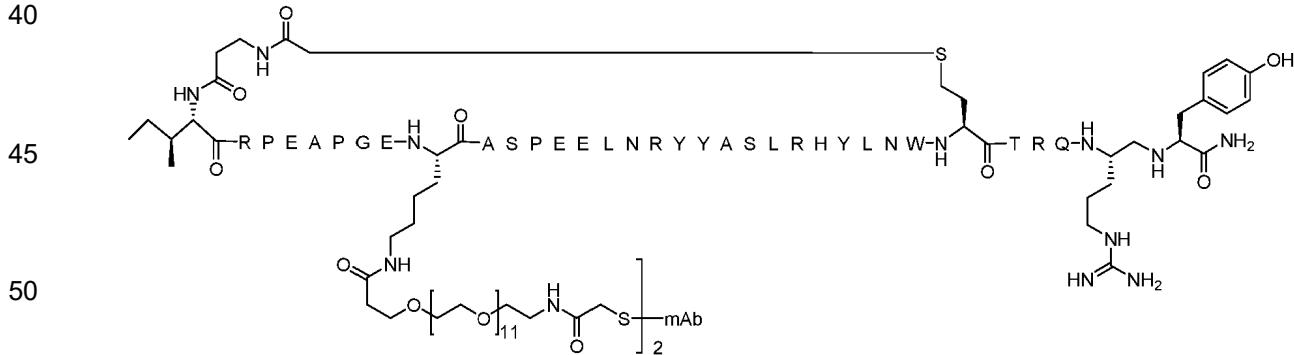
Estructura:



35 SEQ ID NO: 110

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), R4, K(PEG12)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 9)

Estructura:



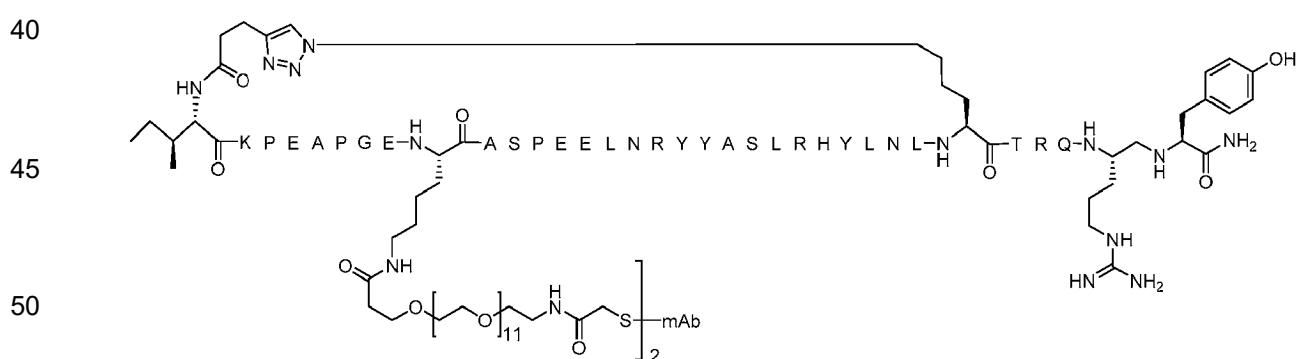
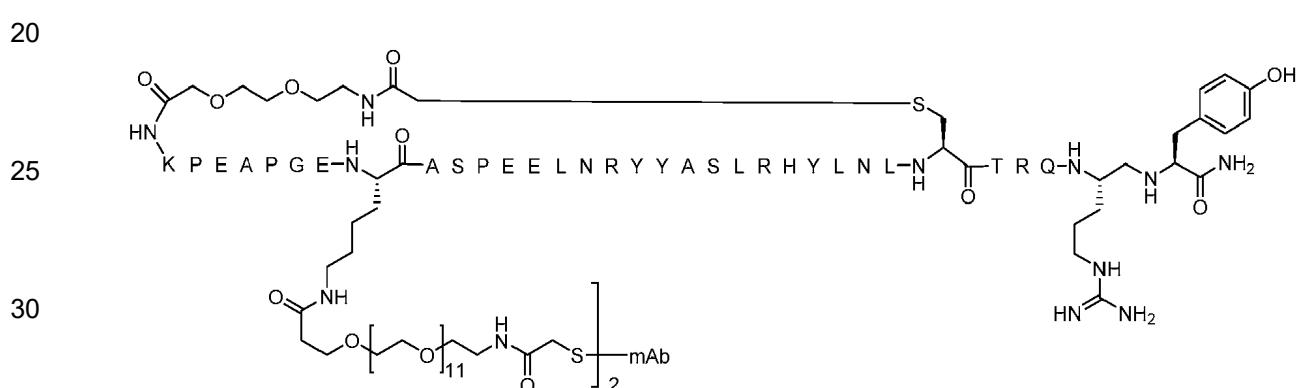
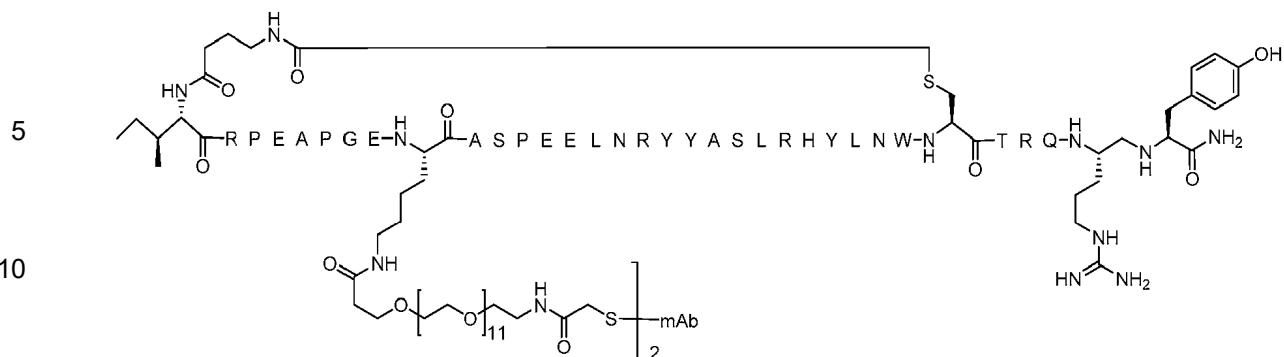
SEQ IDNO: 111

55 Nombre: [Ciclo-(3I-COCH₂CH₂CH₂NHCOCH₂-C31), R4, K(PEG12)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 mAb
homodímero conjugado (Compuesto 10)

Estructura:

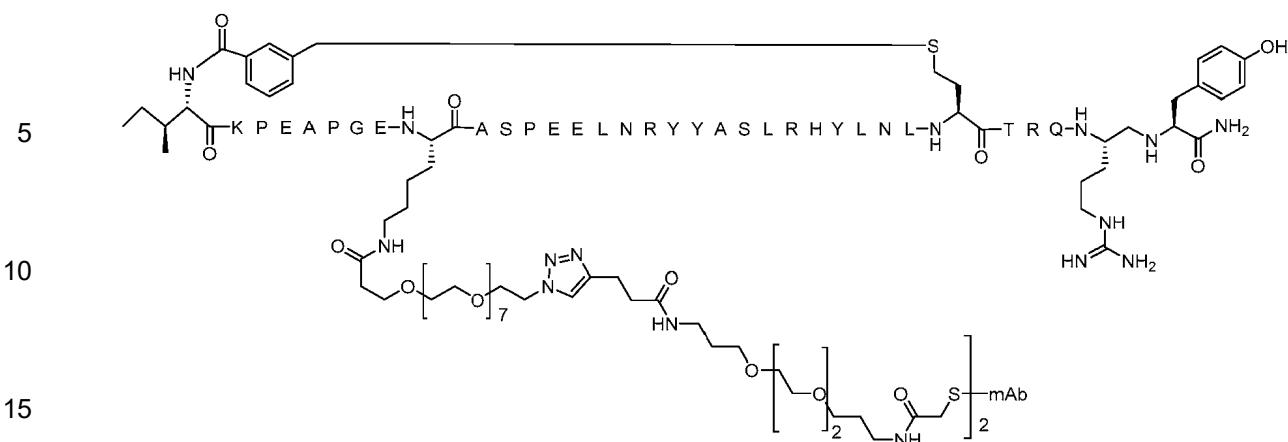
60

65

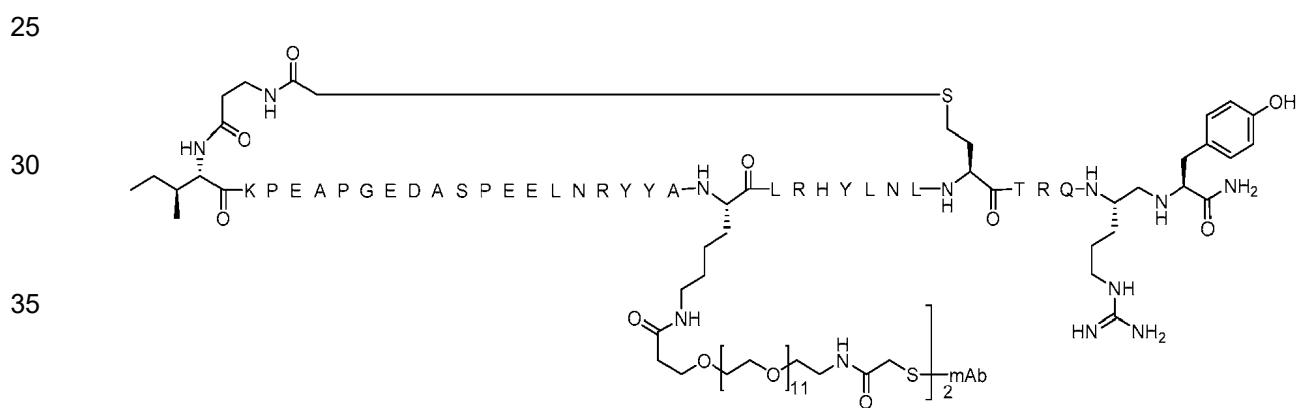


60

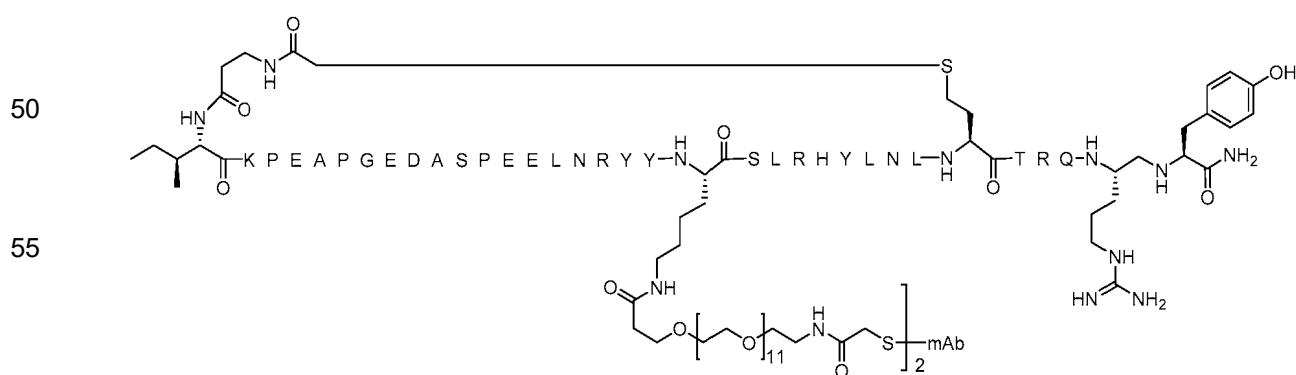
65



20 SEQ ID NO: 115
Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)23, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado
(Compuesto 14)
Estructura:

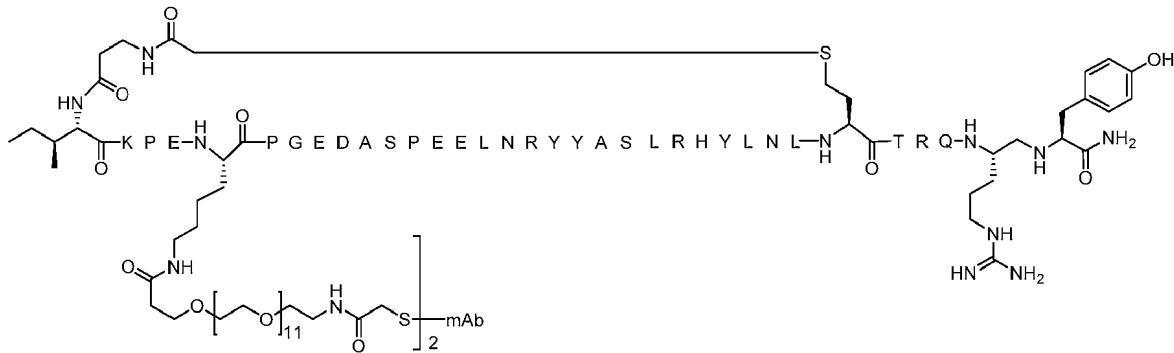


45 SEQ ID NO: 116
Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)22, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado
(Compuesto 15)
Estructura:



65 SEQ ID NO: 117
Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)7, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado
(Compuesto 16)

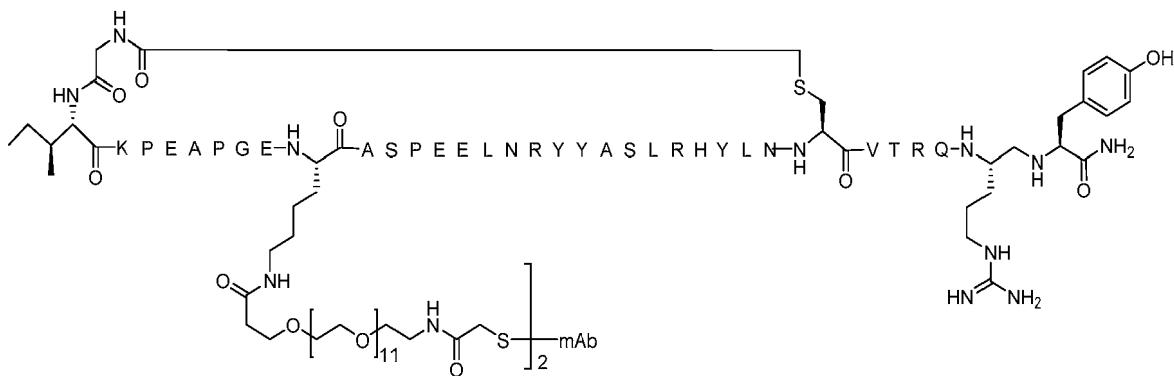
Estructura:



SEQ ID NO: 118

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado
(Compuesto 17)

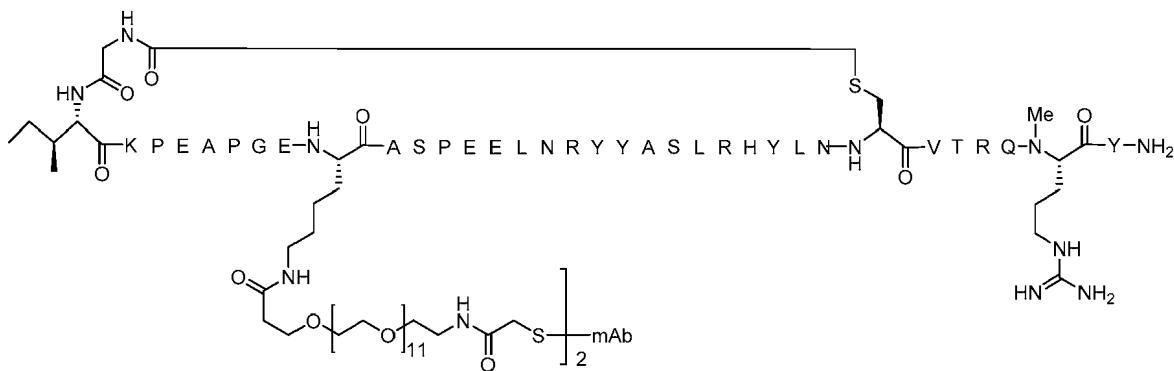
Estructura:



SEQ ID NO: 119

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), K(PEG12)11, N-Me-R35]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 18)

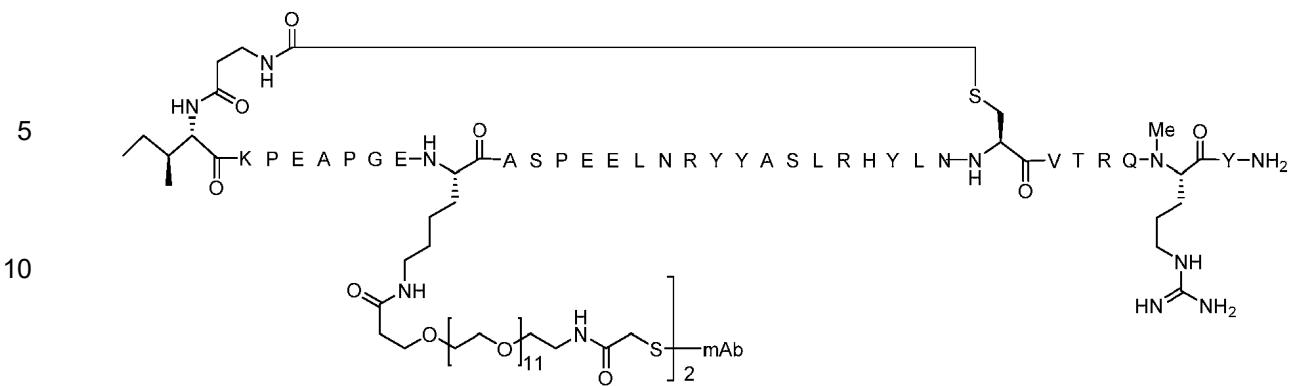
Estructura:



SEQ ID NO: 120

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-C30), K(PEG12)11, N-Me-R35]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 19)

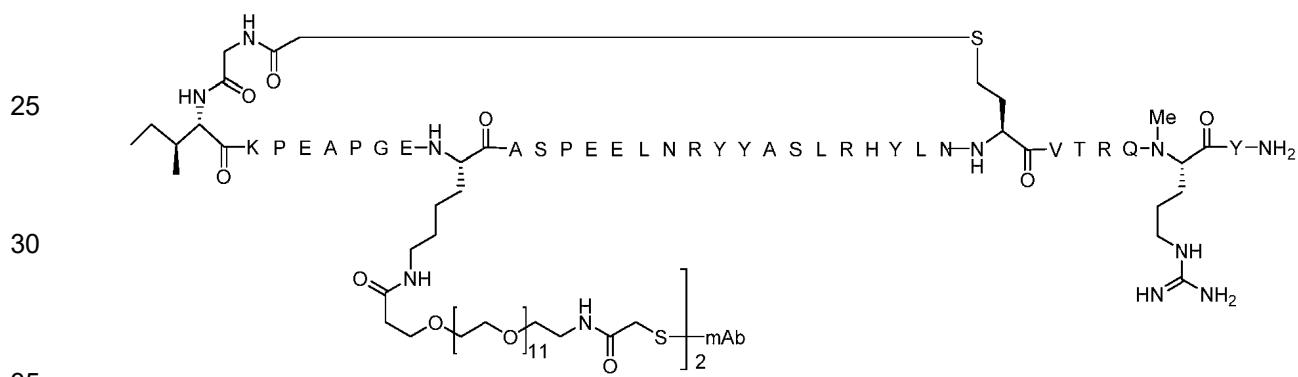
Estructura:



SEQ ID NO: 121

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-hC30), K(PEG12)11, N-Me-R35]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 20)

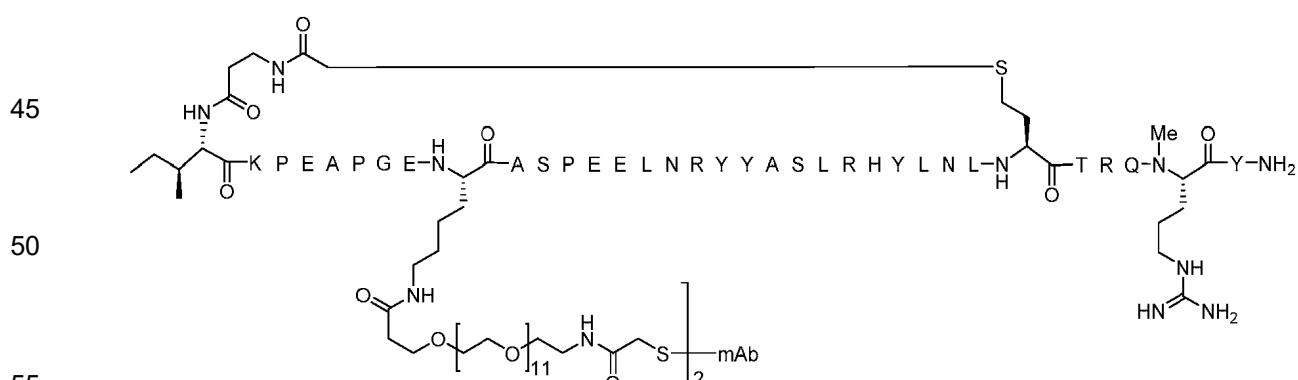
Estructura:



SEQ ID NO: 122

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)11, N-Me-R35]PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 21)

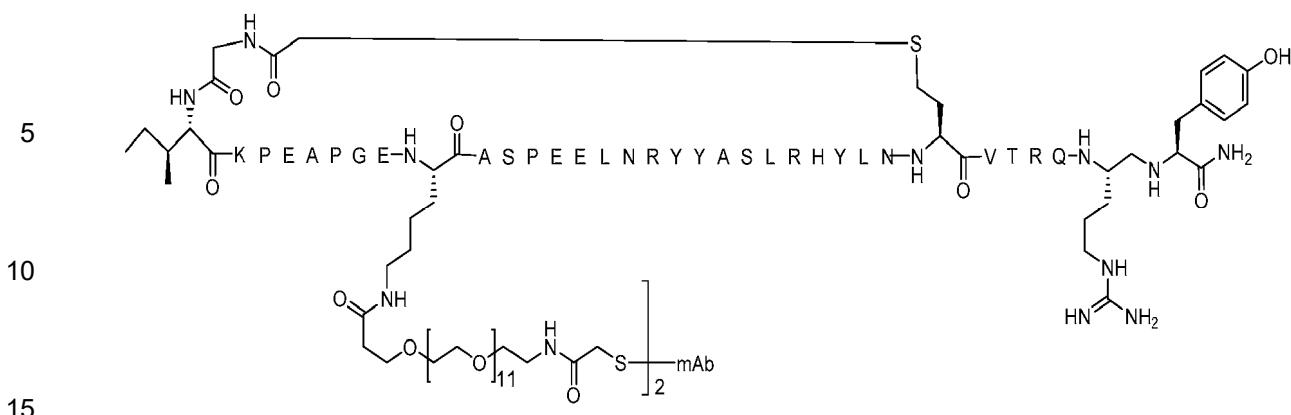
Estructura:



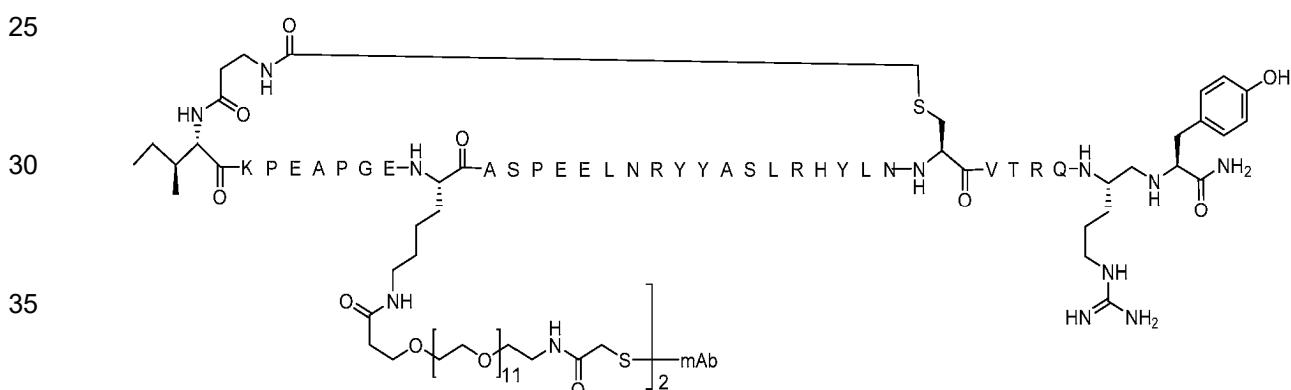
SEQ ID NO: 123

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-hC30), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 22)

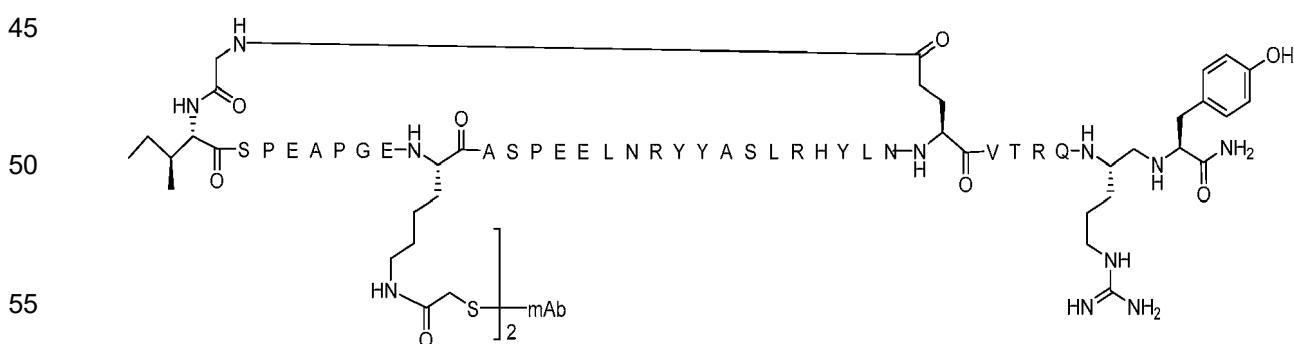
Estructura:



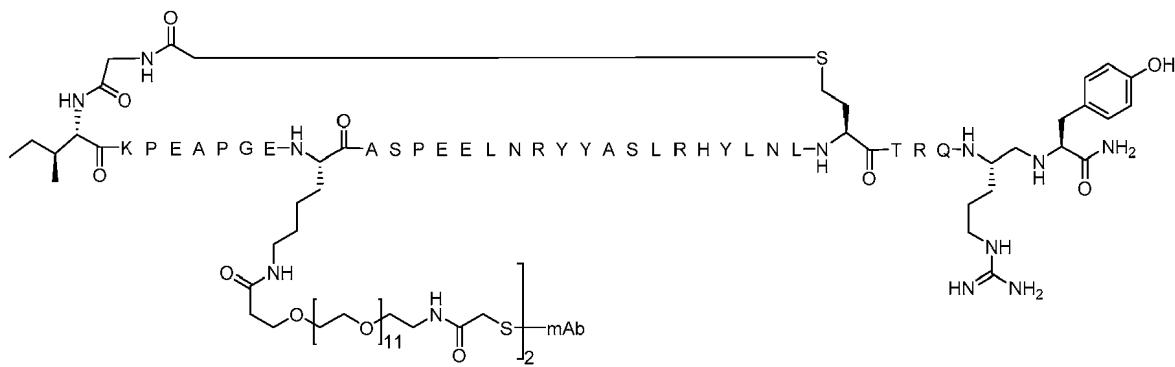
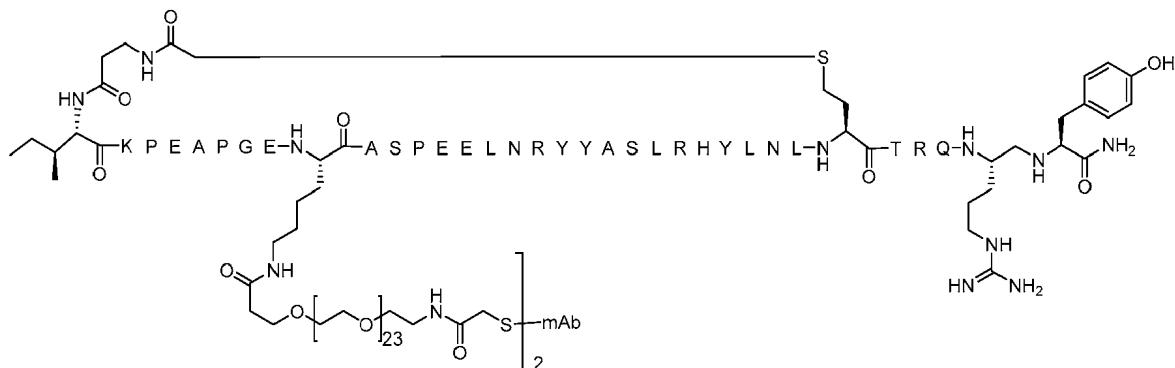
SEQ ID NO: 124
 Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado
 (Compuesto 23)
 Estructura:



SEQ ID NO: 125
 Nombre: [Ciclo-(G2-E30), S4, K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 homodímero conjugado (Compuesto 24)
 Estructura:

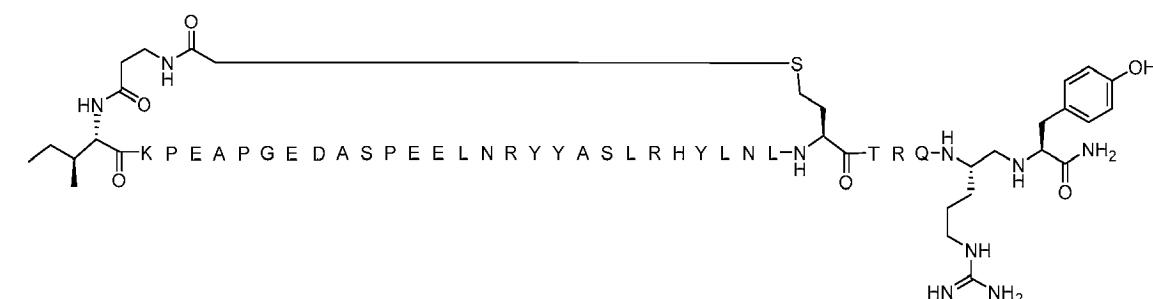


60 SEQ ID NO: 126
 Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG24)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado
 (Compuesto 25)



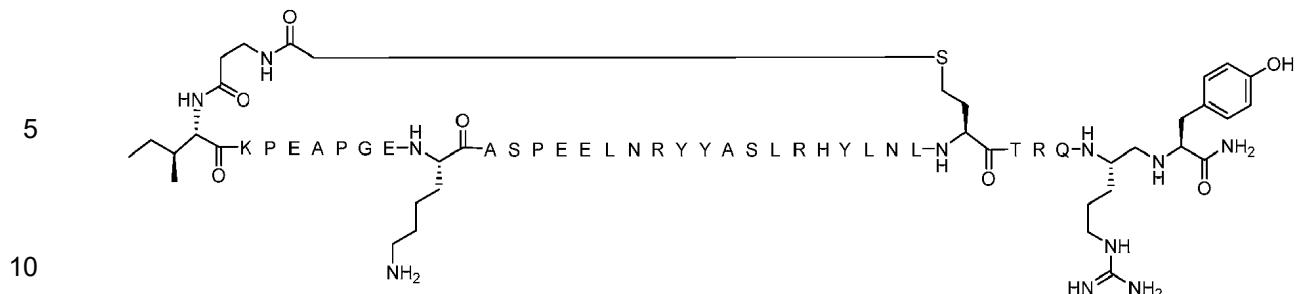
40

SEQ ID NO: 147
Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36
Estructura:

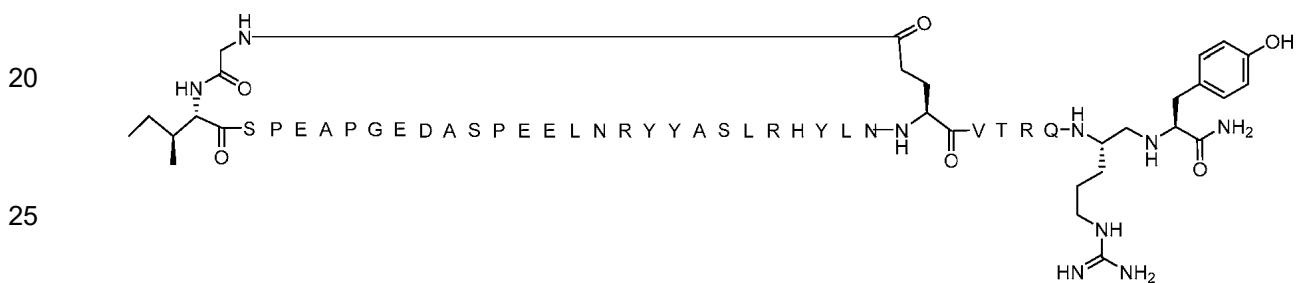


60

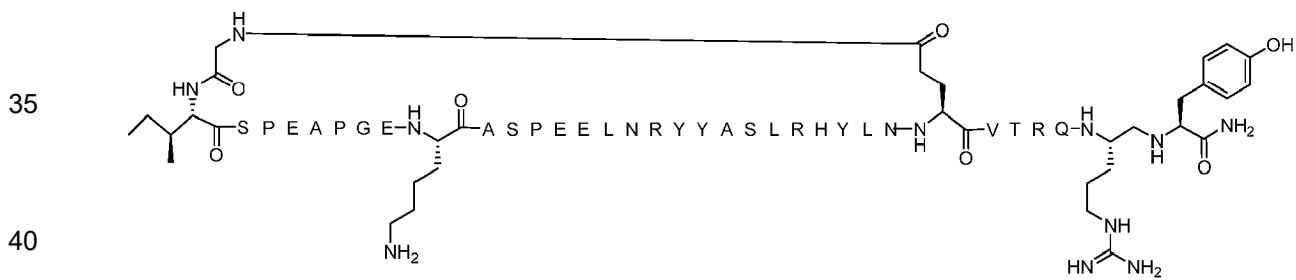
65



SEQ ID NO: 149
15 Nombre: [Ciclo-(G2-E30), S4, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36
Estructura:



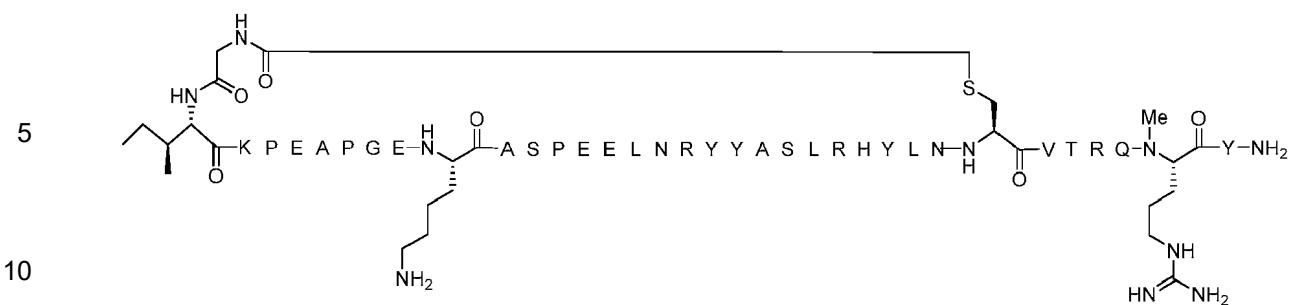
SEQ ID NO: 150
Nombre: [Ciclo-(G2-E30), S4,K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36
Estructura:



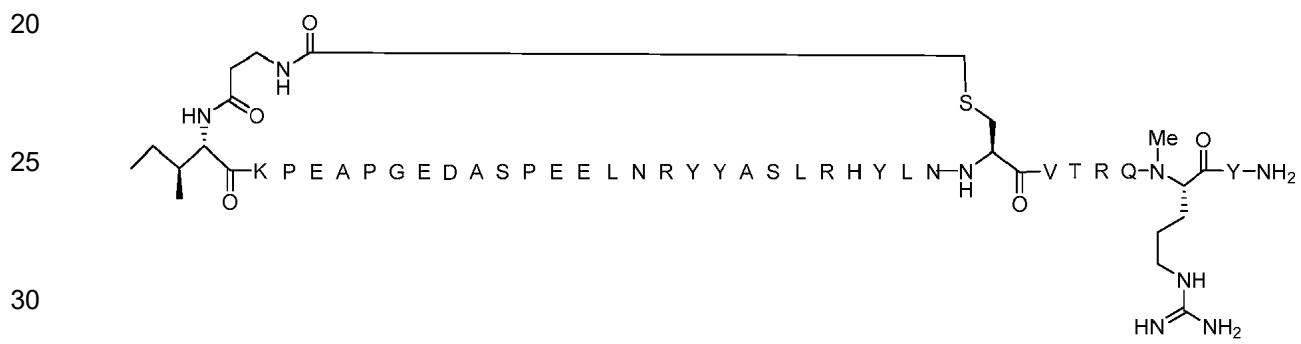
45 SEQ ID NO: 151
Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), N-Me-R35]-PYY2-36
Estructura:



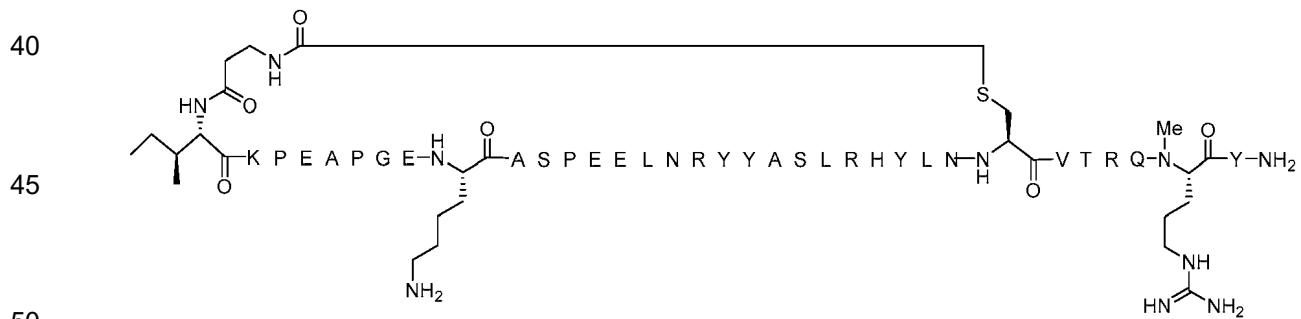
SEQ ID NO: 152
Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), K11, N-Me-R35]-PYY2-36
Estructura:



15 SEQ ID NO: 153
 Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-C30), N-Me-R35]-PYY2-36
 Estructura:



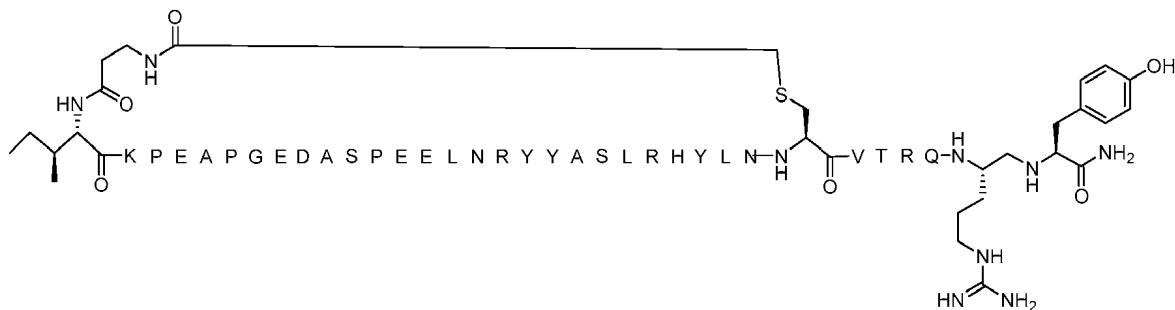
35 SEQ ID NO: 154
 Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-C30), K11, N-Me-R35]-PYY2-36
 Estructura:



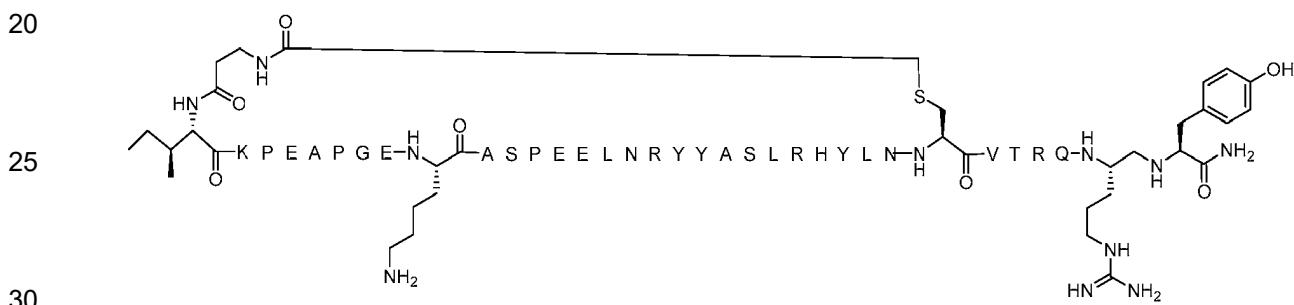
55 SEQ ID NO: 155
 Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-C30), psi-(R35,Y36)]-PYY2-36
 Estructura:

60

65



15 SEQ ID NO: 156
Nombre: [Ciclo- β (A2-COCH₂-C30), K11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36
Estructura:



LISTADO DE SECUENCIAS

35 <110> Janssen Pharmaceutica NV

40 <120> Compuestos de péptido tirosina tirosina acoplados a anticuerpos como moduladores de los receptores Y de neuropéptidos

45 <130> PRD3436

50 <150> US62/413,613
<151> 2016-10-27

55 <150> US62/413,586
<151> 2016-10-27

60 <160> 156

65 <170> PatentIn versión 3.5

70 <210> 1
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

75 <220>

80 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

85 <220>

90 <221> Ala
<222> (1)..(1)

95 <223> Ala con modificación química como se describe en la memoria descriptiva

100 <220>

105 <221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys con modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<220>

5 <221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, en donde Cys es una homocisteína con modificación química como se describe en la memoria descriptiva

10 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg con modificación química como se describe en la memoria descriptiva

15 <400> 1

Ala	Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Lys	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu
1									10					15	

20

Asn	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Leu	Cys	Thr	Arg
				20				25					30		

25

Gln	Arg	Tyr
	35	

30

<210> 2

<211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

35

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>

<221> Ile

40

<222> (1)..(1)

<223> Ile con modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<220>

<221> Cys

45

<222> (29)..(29)

<223> Cyse, en donde Cys es homocisteína con modificación química como se describe en la memoria descriptiva

50

<400> 2

Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	Asn
1								5					10		15

55

Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Leu	Cys	Thr	Arg	Gln
						20		25					30		

60

Arg Tyr

65

<210> 3

<211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 10 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Leu
 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, en donde Leu es una norleucina con la modificación química como se describe en la memoria
 descriptiva
 20 <400> 3
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Leu Thr Arg Gln
 20 25 30
 25 Arg Tyr
 30 <210> 4
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 40 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 50 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde cys es una homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria
 descriptiva
 55 <400> 4
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 60 20 25 30
 Arg Tyr
 65 <210> 5

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

5 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

10 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

15 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

20 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

25 <400> 5
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

30 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

35 **Arg Tyr**

40 <210> 6
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

50 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

55 <220>
 <221> Leu
 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, en donde la leu es norleucina con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

60 <400> 6

65

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Leu Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 7

<211> 34

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (7)..(7)

<223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

35 <400> 7

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Lys Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

40

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

45

Arg Tyr

<210> 8

50 <211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

60 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

65 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

5 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 10 <400> 8
 15 **Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn**
 1 5 10 15
 20 **Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln**
 20 25 30
 25 **Arg Tyr**
 30 <210> 9
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 40 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde cys es una homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 50 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 55 <400> 9
 60 **Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn**
 1 5 10 15
 65 **Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln**
 20 25 30
 70 **Arg Tyr**
 75 <210> 10
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 80 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

5 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria
 descriptiva
 20 <400> 10
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 25 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Lys Cys Thr Arg
 20 25 30
 30 Gln Arg Tyr
 35 35
 35 <210> 11
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 50 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria
 descriptiva
 55 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 60 <400> 11
 65

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Lys Cys Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

<210> 12

<211> 34

15 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

25 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

30 <223> Cys, en donde la cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

35 <223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<400> 12

40 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

Arg Tyr

50 <210> 13

<211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

55 <220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>

<221> Ile

60 <222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<220>

<221> Lys

65 <222> (28)..(28)

5 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria
 descriptiva

10 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

15 <400> 13
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

20 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

25 **Arg Tyr**
 <210> 14
 <211> 34
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

35 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

45 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria
 descriptiva

50 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

55 <400> 14

60

65

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 15

<211> 33

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Lys

<222> (1)..(1)

<223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (27)..(27)

<223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (28)..(28)

<223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

35 <400> 15

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15

40 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30

45 **Tyr**

<210> 16

<211> 33

<212> PRT

50 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>

<221> Lys

<222> (1)..(1)

55 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<220>

<221> Lys

<222> (27)..(27)

60 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<220>

<221> Lys

<222> (27)..(27)

65 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

5 <220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys, en donde la cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

10 <400> 16

10	Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
	1 5 10 15

15 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg

15	Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
	20 25 30

20 **Tyr**

25 <210> 17
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

35 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

45 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

45	<400> 17
	Ile Ala Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
	1 5 10 15

50 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln

50	Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
	20 25 30

55 **Arg Tyr**

60 <210> 18
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

5 <220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

10 <220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

15 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

20 <400> 18

Ile Glu Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

25 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

30 Arg Tyr

35 <210> 19
<211> 34
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<221> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

45 <220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

50 <220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

55 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

60 <220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<400> 19

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 20

<211> 34

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

40 <400> 20

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

50 **Arg Tyr**

<210> 21

<211> 34

55 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

65

5 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde cys es una homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria
 descriptiva
 15 <400> 21
 Ile Ala Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 20 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 25 20 25 30
Arg Tyr
 30 25
 <210> 22
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 40 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria
 descriptiva
 50 <400> 22
 Ile Glu Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 55 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 60 20 25 30
Arg Tyr
 65 25
 <210> 23
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 10 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 20 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde cys es una homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria
 descriptiva
 25 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 30 <400> 23

 30 **Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn**
 35 **Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln**

 40 **Arg Tyr**

 45 <210> 24
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 50 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

 55 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

 60 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

 65 <220>
 <221> Arg

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 28

<211> 33

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Lys

<222> (1)..(1)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (27)..(27)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (28)..(28)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (32)..(32)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 28

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15

45 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30

50 **Tyr**

<210> 29

<211> 33

55 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Lys

<222> (1)..(1)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65

5 <220>
 <221> Lys
 <222> (27)..(27)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (32)..(32)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <400> 29
 Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30
 25 **Tyr**
 30 <210> 30
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 40 <220>
 <221> Lys
 <222> (1)..(1)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (27)..(27)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50 <220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55 <220>
 <221> Arg
 <222> (32)..(32)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 60 <400> 30

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15

5 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30

10 **Tyr**

<210> 31

<211> 34

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 31

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

50 **Arg Tyr**

<210> 32

<211> 34

55 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65

5 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <400> 32
 Ile Ala Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 25 **Arg Tyr**
 30 <210> 33
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 40 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55 <220>
 <221> Gln
 <222> (32)..(32)
 <223> Gln con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 60 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 65 <400> 33

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 34

<211> 33

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Lys

<222> (1)..(1)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (27)..(27)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (28)..(28)

<223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (32)..(32)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 34

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15

45 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30

50 **Tyr**

<210> 35

<211> 34

55 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65

5 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <400> 35
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 25 **Arg Tyr**
 30 <210> 36
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 40 <220>
 <221> Lys
 <222> (1)..(1)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (27)..(27)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50 <220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55 <220>
 <221> Arg
 <222> (32)..(32)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 60 <400> 36

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15

5 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30

10 **Tyr**

<210> 37

<211> 34

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 37

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

50 **Arg Tyr**

<210> 38

<211> 34

55 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65

5 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <400> 38
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 25 **Arg Tyr**
 30 <210> 39
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 40 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 60 <400> 39

Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 40

<211> 34

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Leu

<222> (29)..(29)

<223> Leu, en donde la leu es una norleucina con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 40

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Leu Thr Arg Gln
 20 25 30

50 **Arg Tyr**

<210> 41

<211> 34

55 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65

5 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Leu
 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, en donde la leu es una norleucina con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <400> 41
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Leu Thr Arg Gln
 20 25 30
 25 **Arg Tyr**
 30 <210> 42
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 40 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50 <220>
 <221> Leu
 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, en donde la leu es una norleucina con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 60 <400> 42
 65

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Leu Thr Arg Gln
 20 25 30

10 Arg Tyr

10 <210> 43

<211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

15 <220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 43

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

50 **Arg Tyr**

50 <210> 44

<211> 34

<212> PRT

55 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65 <220>

5 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 10 5 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 15 10 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 20 15 <400> 44

```

    Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
    1           5           10          15
    Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
    20          25          30
  
```


 25 20 **Arg Tyr**

 30 25 <210> 45
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 35 30 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

 40 35 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 45 40 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 50 45 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 55 50 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 60 55 <400> 45

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 Arg Tyr

<210> 46

<211> 34

15 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 46

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln

20 25 30

50 Arg Tyr

<210> 47

<211> 34

55 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

60 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

65 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
<221> Lys
<222> (5)..(5)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <400> 47

Ile Lys Pro Glu Lys Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

25 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

30 **Arg Tyr**

35 <210> 48
<211> 34
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

45 <220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

50 <220>
<221> Lys
<222> (20)..(20)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

55 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

60 <220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65 <400> 48

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 49

<211> 34

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 49

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

50 **Arg Tyr**

<210> 50

<211> 34

55 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65

5 <220>
<221> Lys
<222> (21)..(21)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <400> 50

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

25 Arg Tyr

30 <210> 51
<211> 34
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

40 <220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

50 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

55 <220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 51

Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 52

<211> 34

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (9)..(9)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 52

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

50 **Arg Tyr**

<210> 53

<211> 34

<212> PRT

55 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65 <220>

5 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 10 5 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 15 53 <400> 53

 20 1 **Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn**
 5 10 15

 25 20 **Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln**
 25 25 30

 30 34 **Arg Tyr**
 34 34 <210> 54
 35 34 <211> 34
 35 34 <212> PRT
 35 34 <213> Secuencia Artificial

 40 35 <220>
 40 35 <221> Ile
 40 35 <222> (1)..(1)
 40 35 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 45 35 <220>
 45 35 <221> Lys
 45 35 <222> (9)..(9)
 45 35 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 50 35 <220>
 50 35 <221> Cys
 50 35 <222> (29)..(29)
 50 35 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 55 35 <220>
 55 35 <221> Arg
 55 35 <222> (33)..(33)
 55 35 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 60 35 <400> 54

 65

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 55

<211> 34

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (21)..(21)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 55

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn

1 5 10 15

45

Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

50

Arg Tyr

<210> 56

<211> 34

<212> PRT

55 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

65 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 <400> 56

15	Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	Asn
	1			5					10						15	

20 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 <220> 20 <221> 25 <222> 30

Arg Tyr

25 <210> 57
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

35 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 <400> 57

50	Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	Asn
	1				5					10					15	

55 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 <220> 20 <221> 25 <222> 30

Arg Tyr

60 <210> 58
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65

5 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 25 <400> 58
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 30 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 35 20 25 30
 Arg Tyr
 40 <210> 59
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 <220>
 <221> Ile
 50 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Lys
 <222> (20)..(20)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 65 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 59

5 **Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn**
 1 5 10 15

10 **Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln**
 20 25 30

Arg Tyr

15 <210> 60
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 25 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 30 <220>
 <221> Lys
 <222> (5)..(5)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 35 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 40 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45 <400> 60

45 **Ile Lys Pro Glu Lys Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn**
 1 5 10 15

50 **Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln**
 20 25 30

Arg Tyr

55 <210> 61
 <211> 34
 <212> PRT
 60 <213> Secuencia Artificial
 65 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 65 <220>

<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <400> 61

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

25 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

30 **Arg Tyr**

35 <210> 62
<211> 34
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

45 <220>
<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

50 <220>
<221> Lys
<222> (28)..(28)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

55 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

60 <220>
<221> Arg
<222> (33)..(33)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 62

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 63

<211> 34

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 63

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

50 **Arg Tyr**

<210> 64

<211> 34

55 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65

5 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <400> 64
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 25 **Arg Tyr**
 30 <210> 65
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 40 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 60 <400> 65

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 66

<211> 34

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 66

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

50 **Arg Tyr**

<210> 67

<211> 34

55 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65

5 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <400> 67

20 **Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn**
 1 1 5 10 15

25 **Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln**
 20 25 30

Arg Tyr

30 <210> 68
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 <220>
 <221> Ile
 40 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Lys
 45 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Cys
 50 <222> (28)..(28)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Arg
 55 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <400> 68

60

65

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

15 <210> 69
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

25 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Glu
 <222> (30)..(30)
 <223> Glu con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 69

35 Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

40 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Glu Thr Arg
 20 25 30

45 **Gln Arg Tyr**
 35

50 <210> 70
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

60 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65 <220>
 <221> Glu
 <222> (29)..(29)
 <223> Glu con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <400> 70
 Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
 20 25 30
 15 Gln Arg Tyr
 35
 20 <210> 71
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 <220>
 <221> Gly
 30 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Glu
 35 <222> (29)..(29)
 <223> Glu con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Arg
 40 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <400> 71
 45 Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
 50 20 25 30
 55 Gln Arg Tyr
 35
 60 <210> 72
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 65 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

<210> 74

<211> 35

15 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 74

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

45 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

50

 Gln Arg Tyr
 35

55

<210> 75

<211> 34

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

60

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

65 <220>

<221> Ile

5 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <400> 75
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 25 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 30 **Arg Tyr**
 <210> 76
 <211> 35
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 40 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50 <220>
 <221> Lys
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 60 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 65 <400> 76

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg
20 25 30

10 Gln Arg Tyr
35

15 <210> 77
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>
<221> Lys
<222> (19)..(19)
<223> Lvs con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 77

50 Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Lys Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

Gln Arg Tyr
35

60 <210> 78
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

5 <220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <220>
<221> Gln
<222> (33)..(33)
<223> Gln con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <400> 78

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

35 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

40 Gln Arg Tyr
35

45 <210> 79
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50 <220>
<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

55 <220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

60 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65 <220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <400> 79
 Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
 15 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 20 25 30
 20 Gln Arg Tyr
 25 35
 <210> 80
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 35 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 40 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55 <400> 80
 Ala Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
 60 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Trp Cys Thr Arg
 65 20 25 30
 60 Gln Arg Tyr
 65 35
 <210> 81
 <211> 34
 <212> PRT

<222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 5 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <400> 84
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 25 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr Arg
 20 25 30
 30 Gln Arg Tyr
 35 35
 <210> 85
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 45 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Lys
 <222> (22)..(22)
 50 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 55 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 60 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <400> 85

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
 20 25 30

10 Arg Gln Arg Tyr
 35

<210> 86

<211> 36

15 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

20 <220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (21)..(21)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 86

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

45 Asn Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
 20 25 30

50 Arg Gln Arg Tyr
 35

55 <210> 87

<211> 36

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

60 <220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>

<221> Ala

65

<222> (1)..(1)
<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
<221> Lys
<222> (6)..(6)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <400> 87

25 **Ala Ile Lys Pro Glu Lys Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu**
 1 5 10 15

30 **Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr**
 20 25 30

35 **Arg Gln Arg Tyr**
 35

40 <210> 88
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<221> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

50 <220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

55 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

60 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 88

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

15 <210> 89
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

25 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <400> 89

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

55 Gln Arg Tyr
 35

60 <210> 90
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <400> 90

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

25 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

30 Gln Arg Tyr
35

35 <210> 91
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

45 <220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

50 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

55 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

60 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65 <400> 91

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

15 <210> 92
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

25 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <400> 92

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

55 Gln Arg Tyr
 35

60 <210> 93
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

65 <220>

5 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 10 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 15 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 20 <400> 93

 Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

 25 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

 30 Gln Arg Tyr
 35

 35 <210> 94
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 40 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

 45 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 50 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 55 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 60 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 65 <400> 94

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

15 <210> 95
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

25 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Glu
 <222> (29)..(29)
 <223> Glu con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <400> 95

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
 20 25 30

55 Gln Arg Tyr
 35

<210> 96
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

65 <220>
 <221> Ala

5 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <400> 96
 Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
 25 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30
 30 Gln Arg Tyr
 35 35
 <210> 97
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 45 <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 50 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 55 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 60 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <400> 97

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

15 <210> 98
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

25 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <400> 98

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

55 Gln Arg Tyr
 35

60 <210> 99
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

65 <220>

<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <400> 99

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

25 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

30 Gln Arg Tyr
35 35

35 <210> 100
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

45 <220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

50 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

55 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

60 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 100

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

15 <210> 101
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 101

20 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

25 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln
 20 25 30

30 Arg Tyr

35 <210> 102
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

50 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

55 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

60 <400> 102

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

15 <210> 103
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Conjugado 2

25 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <400> 103

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

55 Gln Arg Tyr
 35

<210> 104
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> Conjugado 3

65 <220>
 <221> Ala

5 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <400> 104
 Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
 25 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30
 30 Gln Arg Tyr
 35 35
 35 <210> 105
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <223> Conjugado 4
 <220>
 <221> lle
 <222> (1)..(1)
 45 <223> lle con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 50 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 55 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 60 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <400> 105

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

5 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

10 **Arg Tyr**

<210> 106

<211> 35

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Conjugado 5

20 <220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Lys

<222> (29)..(29)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <400> 106

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg
 20 25 30

55 **Gln Arg Tyr**

60 35

<210> 107

<211> 35

<212> PRT

65 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Conjugado 6
 10 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 20 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 25 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 30 <400> 107
 Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
 35 Asn Arg Lys Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30
 40 Gln Arg Tyr
 35
 45 <210> 108
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50 <220>
 <223> Conjugado 7
 55 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 60 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 65 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)

5 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Gln
 <222> (33)..(33)
 <223> Gln con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <400> 108
 Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

20 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

25 Gln Arg Tyr
 35

30 <210> 109
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Conjugado 8

40 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

50 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

55 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

60 <400> 109

65

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 **Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg**
 20 25 30

10 **Gln Arg Tyr**
 35

15 <210> 110
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Conjugado 9

25 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <400> 110

Ala Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 **Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Trp Cys Thr Arg**
 20 25 30

55 **Gln Arg Tyr**
 35

60 <210> 111
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <223> Conjugado 10

5 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 10 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 15 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 20 <400> 111

 Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

 25 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Trp Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

 30 **Arg Tyr**

 35 <210> 112
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 40 <220>
 <221> Conjugado 11

 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (1)..(1)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 50 <220>
 <221> Lys
 <222> (8)..(8)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 55 <220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 60 <220>
 <221> Arg
 <222> (32)..(32)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 65 <400> 112

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15

5 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30

10 **Tyr**

<210> 113

<211> 35

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Conjugado 12

20 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>

<221> Lys

<222> (9)..(9)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>

<221> Leu

<222> (29)..(29)

<223> Leu, en donde la leu es una norleucina con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <400> 113

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

45 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Leu Val Thr Arg

20 25 30

50

Gln Arg Tyr
 35

55 <210> 114

<211> 35

<212> PRT

60 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Conjugado 13

65 <220>

<221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <400> 114

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

25 **Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr Arg**
 20 25 30

30 **Gln Arg Tyr**
 35

35 <210> 115
<211> 36
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Conjugado 14

45 <220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

50 <220>
<221> Lys
<222> (22)..(22)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

55 <220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

60 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65 <400> 115

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 **Asn Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr**
 20 25 30

10 **Arg Gln Arg Tyr**
 35

15 <210> 116
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Conjugado 15

25 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Lys
 <222> (21)..(21)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <400> 116

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 **Asn Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr**
 20 25 30

55 **Arg Gln Arg Tyr**
 35

60 <210> 117
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <223> Conjugado 16

<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
 <221> Lys
 <222> (6)..(6)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <400> 117

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

15 <210> 119
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Conjugado 18

25 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <400> 119

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

55 Gln Arg Tyr
 35

60 <210> 120
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <223> Conjugado 19

<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <400> 120

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

25 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

30 Gln Arg Tyr
35

35 <210> 121
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Conjugado 20

45 <220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

50 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

55 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

60 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65 <400> 121

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

15 <210> 122
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Conjugado 21

25 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <400> 122

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

55 Gln Arg Tyr
 35

60 <210> 123
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <223> Conjugado 22

65 <220>

<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

5 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

10 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <400> 123

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

25 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

30 Gln Arg Tyr
35

35 <210> 124
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Conjugado 23

45 <220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

50 <220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

55 <220>
<221> Cys
<222> (29)..(29)
<223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

60 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

65 <400> 124

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

15 <210> 125
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Conjugado 24

25 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Glu
 <222> (29)..(29)
 <223> Glu con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 125

45 Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
 20 25 30

55 Gln Arg Tyr
 35

60 <210> 126
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Conjugado 25

65 <220>

5 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 10 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 15 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 20 <400> 126

 25 **Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu**
 1 1 5 10 15

 30 **Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg**
 20 20 25 30

 35 **Gln Arg Tyr**
 35 35

 40 <210> 127
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 45 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 50 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 55 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 60 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 65 <400> 127

	Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1	5 10 15
5	Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
	20 25 30
10	Gln Arg Tyr
	35
15	<210> 128 <211> 107 <212> PRT <213> Homo sapiens
20	<400> 128
25	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
	1 5 10 15
30	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
	20 25 30
35	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
	35 40 45
40	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
	50 55 60
45	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
	65 70 75 80
50	Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
	85 90 95
55	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
	100 105
	<210> 129 <211> 119 <212> PRT <213> Homo sapiens
60	<400> 129

ES 2 897 480 T3

1 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
5 10 15

5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

10 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

15 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

20 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

25 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

30 Ala Lys Tyr Asp Gly Ile Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly
100 105 110

35 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

40 <210> 130
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <210> 131
<211> 115
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

50 <220>
<223> concatenación de IGHV3-23*01 yIGHJ1*01
<400> 131

55

60

65

ES 2 897 480 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

10 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

15 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

20 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

25 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

30 Ala Lys Ala Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

35 Val Ser Ser
 115

40 <210> 132
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

50 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

55 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

60

65

	35	40	45
5	Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val 50 55 60		
10	Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr 65 70 75 80		
15	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 85 90 95		
	Ala Lys		
20	<210> 133 <211> 17 <212> PRT <213> Homo sapiens		
25	<400> 133		
	Ala Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 1 5 10 15		
30	Ser		
35	<210> 134 <211> 107 <212> PRT <213> Secuencia Artificial		
40	<220> <223> concatenación de IGKV3-11*01 y IGKJ1*01 <400> 134		
45	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly 1 5 10 15		
50	Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr 20 25 30		
55	Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile 35 40 45		
60	Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly 50 55 60		
65	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro 65 70 75 80		

ES 2 897 480 T3

	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Ser	Asn	Trp	Pro	Trp
5	85								90							95
10	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys					
15	100								105							
20	<210>	135														
	<211>	95														
	<212>	PRT														
	<213>	Homo sapiens														
25	<400>	135														
30	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
	1					5					10					15
35	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Tyr
	20										25					30
40	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
	35															45
45	Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly
	50															
50	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro
	65															80
55	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Arg	Ser	Asn	Trp	Pro	
	85															95
60	<210>	136														
	<211>	12														
	<212>	PRT														
	<213>	Homo sapiens														
65	<400>	136														
70	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys				
	1								5			10				
75	<210>	137														
	<211>	119														
	<212>	PRT														
	<213>	Secuencia Artificial														
80	<220>															
	<223>	MSCB97 VH														
85	<400>	137														
90	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1								5			10				15
95																

ES 2 897 480 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

5 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

10 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

15 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

20 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

25 Ala Lys Tyr Asp Gly Cys Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

30 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

35 <210> 138
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> MSCB97 HC
 <400> 138

45 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

50 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

55 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

60 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

65 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

70 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

ES 2 897 480 T3

	Ala Lys Tyr Asp Gly Cys Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly			
	100	105	110	
5	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
	115	120	125	
10	Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu			
	130	135	140	
15	Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
	145	150	155	160
20	Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
	165	170	175	
25	Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
	180	185	190	
30	Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro			
	195	200	205	
35	Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro			
	210	215	220	
40	Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe			
	225	230	235	240
45	Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro			
	245	250	255	
50	Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val			
	260	265	270	
55	Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr			
	275	280	285	
60	Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val			
	290	295	300	
65	Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys			
	305	310	315	320
70	Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser			
	325	330	335	
75	Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro			
	340	345	350	

ES 2 897 480 T3

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365

5 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380

10 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

15 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415

20 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430

25 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

30 <210> 139
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> MSCB97 VL

 <400> 139

40 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

45 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

50 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

55 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80

60 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
 85 90 95

65 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

ES 2 897 480 T3

<210> 140
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> MSCB97 LC
 10
 <400> 140
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 20
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 25
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 30
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 35
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 40
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 45
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 50
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 55
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 60
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 65

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> MSCB97 LCDR2
 <400> 145

10	Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
	1 5

15 <210> 146
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> MSCB97 LCDR3
 <400> 146

25	Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
	1 5

<210> 147
 <211> 35
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

35 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con modificación química descrita en la memoria descriptiva

50 <400> 147

55	Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
	1 5 10 15

<210> 148
 <211> 35
 <212> PRT

60 **Gln Arg Tyr**
 65 35

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

15 <210> 150
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

25 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con modificación química descrita en la memoria descriptiva

35 <220>
 <221> Glu
 <222> (29)..(29)
 <223> Glu con modificación química descrita en la memoria descriptiva

40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <400> 150

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

50 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
 20 25 30

55 Gln Arg Tyr
 35

60 <210> 151
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

5 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con modificación química descrita en la memoria descriptiva

 10 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys con modificación química descrita en la memoria descriptiva

 15 <400> 151

 Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

 20 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

 25 Gln Arg Tyr
 35

 30 <210> 152
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 35 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

 40 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con modificación química descrita en la memoria descriptiva

 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con modificación química descrita en la memoria descriptiva

 50 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys con modificación química descrita en la memoria descriptiva

 55 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con modificación química descrita en la memoria descriptiva

 60 <400> 152

 65

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

5 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

10 Gln Arg Tyr
 35

<210> 153

<211> 35

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala con modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys con modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg con modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 153

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

40 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

45 Gln Arg Tyr
 35

<210> 154

<211> 35

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala con modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

5 <223> Lys con modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys con modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <400> 154
 15 **Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu**
 1 5 10 15
 20 **Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg**
 20 25 30
 25 **Gln Arg Tyr**
 35
 30 <210> 155
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 40 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50 <400> 155
 55 **Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu**
 1 5 10 15
 60 **Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg**
 20 25 30
 65 **Gln Arg Tyr**
 35
 65 <210> 156
 <211> 35

<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

10 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala con modificación química descrita en la memoria descriptiva

15 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys con modificación química descrita en la memoria descriptiva

20 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys con modificación química descrita en la memoria descriptiva

25 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con modificación química descrita en la memoria descriptiva

30 <400> 156

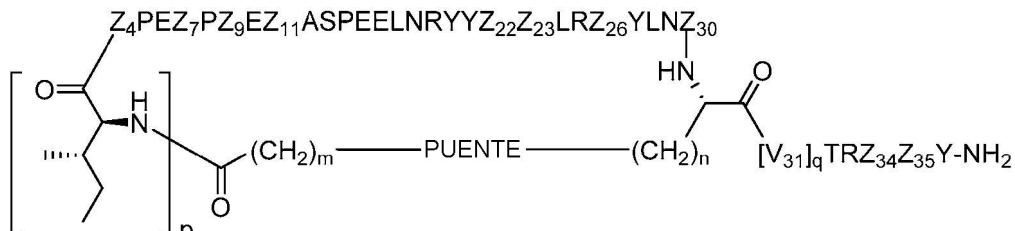
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

35 **Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg**
 20 25 30

40 **Gln Arg Tyr**
 35

REIVINDICACIONES

1. Un conjugado que comprende un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno del mismo acoplado a un péptido PYY cíclico, en donde el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o un derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



Formula I

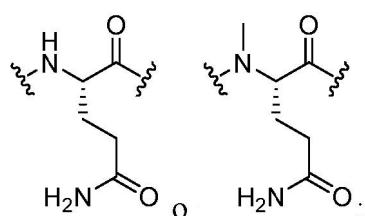
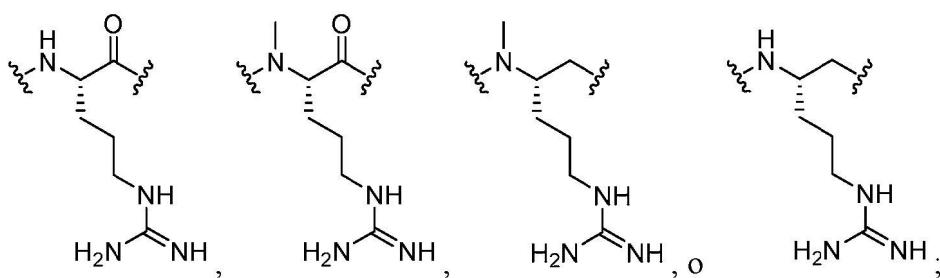
en donde

p es 0 o 1;
m es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

n es 1, 2, 3 o 4;

q es 0 o 1; siempre que q sea 1 solo cuando ₃₀ esté ausente;

PUENTE es -Ph-CH₂-S-, -triazolilo-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)- o -CH₂S-;

Z₄ es K, A, E, S o R;Z₇ es A o K;Z₉ es G o K;Z₁₁ es D o K;Z₂₂ es A o K;Z₂₃ es S o K;Z₂₆ es A o H;Z₃₀ es L, W, ausente o K;siempre que Z₃₀ esté ausente sólo cuando q sea 1;Z₃₄ esZ₃₅ es

en donde el derivado es el compuesto de Fórmula I que se modifica mediante uno o más procesos seleccionados del grupo que consiste de amidación, glicosilación, carbamilación, sulfatación, fosforilación, ciclación, lipidación y pegilación

2. El conjugado de la reivindicación 1, en donde el péptido PYY cíclico es un compuesto de Fórmula I o un derivado del péptido PYY cíclico de Fórmula I que se modifica mediante uno o más procesos seleccionados del grupo que consiste de amidación, lipidación y pegilación, o un sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 3. El conjugado de la reivindicación 1, en donde el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o el derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

10 p es 0 o 1;

m es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

n es 1, 2, 3 o 4;

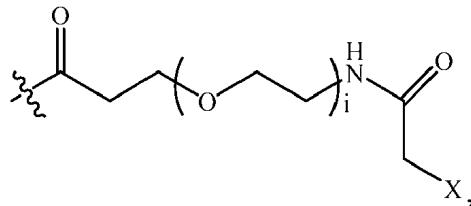
q es 0 o 1; siempre que q sea 1 solo cuando Z₃₀ esté ausente;

PUENTE es -Ph-CH₂-S-, -triazolilo-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH₂-,

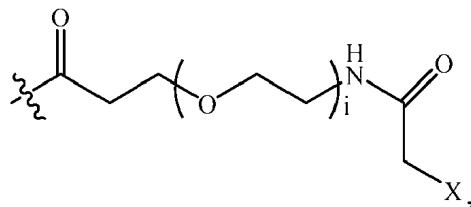
-(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)- o -CH₂S-;

Z₄ es K, A, E, S o R;

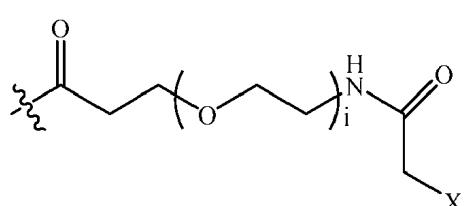
Z₇ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



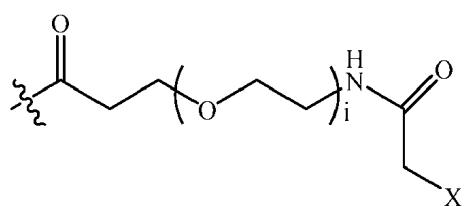
en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl; Z₉ es G o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



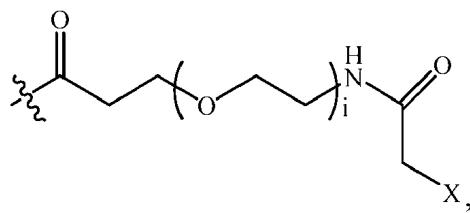
en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl; Z₁₁ es D o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



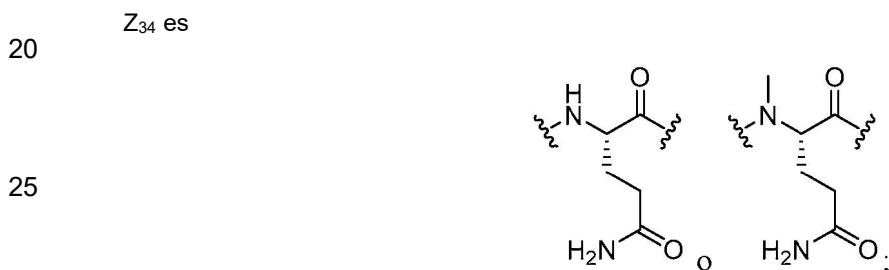
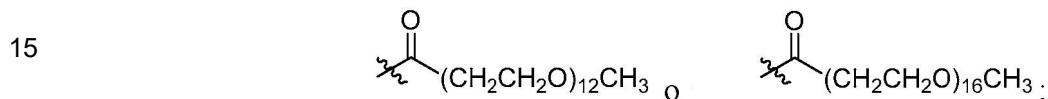
en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl; Z₂₂ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl; Z₂₃ es S o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



10 en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl;
 Z₂₆ es A o H;
 Z₃₀ es L o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



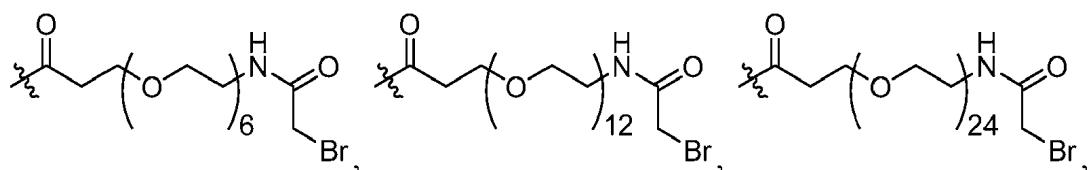
45 4. El conjugado de la reivindicación 1, en donde el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o el derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

50 p es 0 o 1;
 m es 0, 1, 2, 3 o 5;
 n es 1, 2 o 4;
 q es 0 o 1; siempre que q pueda ser 1 solo cuando Z₃₀ esté ausente;
 PUENTE es -Ph-CH₂-S-, -triazolilo-, -NHC(O)CH₂S-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S, -NHC(O)-, o -CH₂S-;
 Z₄ es K, A, E, S o R;
 Z₇ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



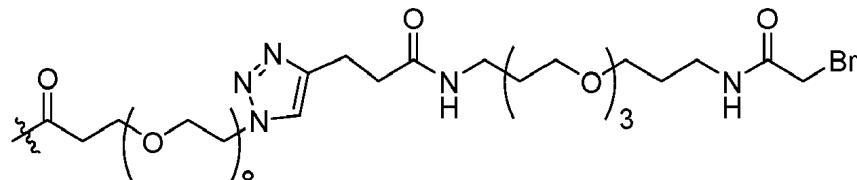
Z₉ es G o K,
 Z₁₁ es D o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con

5



10

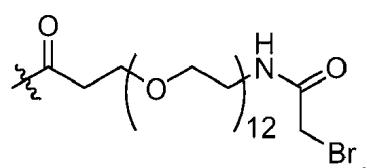
15



$-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}$,
 Z_{22} es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con

20

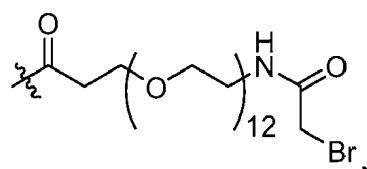
25



Z_{23} es S o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con

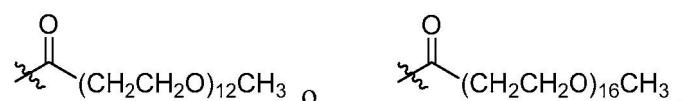
30

35



Z_{26} es A o H,
 Z_{30} es L o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con

40



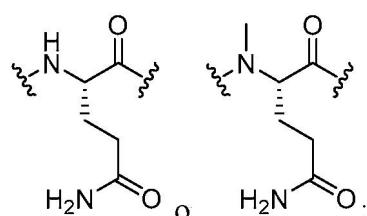
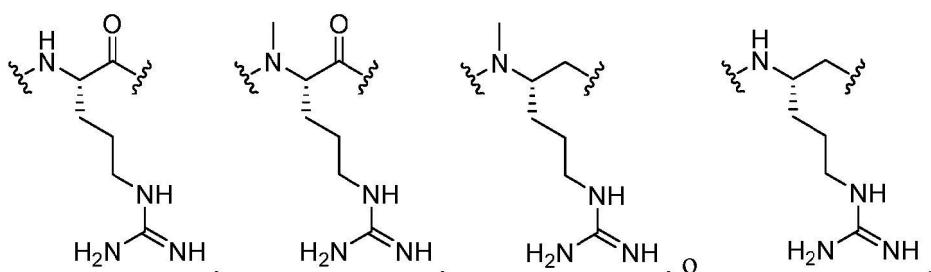
45

50

55

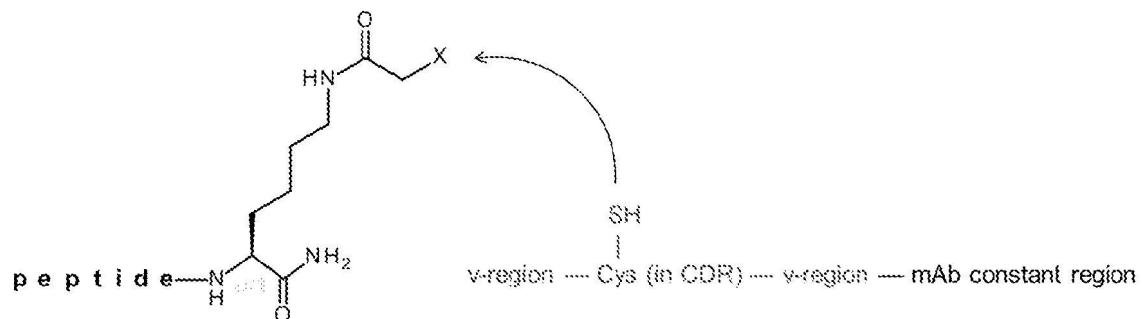
60

65

 Z_{34} es Z_{35} es

5. El conjugado de la reivindicación 1, en donde el péptido PYY cíclico se selecciona del grupo que consiste de las SEQ ID NO: 1, 73-100 y 147-156, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 5 6. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo está enlazado covalentemente al péptido PYY cíclico en un residuo de lisina del péptido PYY cíclico mediante un conector; opcionalmente en donde el conector comprende uno seleccionado del grupo que consiste de polietilenglicol (PEG)8-triazolil-CH₂CH₂CO-PEG4, una cadena de PEG de 2-24 unidades de PEG, una cadena de alquilo que contiene 2-10 átomos de carbono, (Gly_jSer)_u en donde j = 1-4, (AlaPro)_u en donde u = 1-10, y un enlace.
- 10 7. El conjugado de la reivindicación 6, en donde solo uno de Z₇, Z₉, Z₁₁, Z₂₂ y Z₂₃ en la Fórmula I es lisina, y la lisina está enlazada covalentemente a un residuo de cisteína manipulado del anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo a través del conector.
- 15 8. Un conjugado que comprende una molécula de acuerdo con la siguiente fórmula:
cPYY-L]₂-mAb
en donde:
20 cPYY es una secuencia de péptido PYY cíclico seleccionada del grupo que consiste de las SEQ ID NO: 102-127 o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma;
L es un conector;
mAb es un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno del mismo acoplado al péptido PYY cíclico a través del conector; y
25]₂ representa que 1 o 2 del péptido PYY cíclico se conjugan covalentemente con el mAb.
9. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región determinante de complementariedad de cadena pesada 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, y una región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (LCDR1), LCDR2 y LCDR3, que tienen las secuencias polipeptídicas de la SEQ ID NO: 141, 142, 143, 144, 145 y 146, respectivamente, opcionalmente en donde el anticuerpo monoclonal aislado comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 137, y un dominio variable de cadena ligera (VL) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 139.
- 35 10. El conjugado de la reivindicación 9, que comprende además una porción Fc, que comprende opcionalmente una cadena pesada (HC) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 138 y una cadena ligera (LC) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 140.
- 40 11. Un conjugado que comprende un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno del mismo acoplado a un péptido PYY cíclico, en donde:
el anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región determinante de la complementariedad de cadena pesada 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, y una región determinante de la complementariedad de cadena ligera 1 (LCDR1), LCDR2 y LCDR3, que tiene las secuencias polipeptídicas de la SEQ ID NO: 141, 142, 143, 144, 145 y 146, respectivamente, preferiblemente el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 137, y un dominio variable de cadena ligera (VL) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 139, y más preferiblemente, el anticuerpo monoclonal comprende una cadena pesada (HC) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 138 y una cadena ligera (LC) que tiene la secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 140;
45 el péptido PYY cíclico comprende una secuencia polipeptídica seleccionada del grupo que consiste de las SEQ ID NO: 1, 73-100 y 147-156, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y
el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo se conjuga con el péptido PYY cíclico en el residuo 7, 9, 11, 22 o 23 del péptido PYY cíclico, preferiblemente en el residuo de lisina 11 del péptido PYY cíclico, directamente o mediante un conector.
- 50 12. Un método para producir el conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que comprende hacer reaccionar un electrófilo, preferiblemente bromoacetamida o maleimida, introducido en una cadena lateral del péptido PYY cíclico, preferiblemente la cadena lateral de un residuo de lisina del péptido PYY cíclico, con el grupo sulfhidrilo del residuo de cisteína de la SEQ ID NO: 143 del anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, creando de este modo un enlace covalente entre el péptido PYY cíclico y el anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo.
- 55 13. Una composición farmacéutica que comprende el conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1-11 y un portador farmacéuticamente aceptable.

- 5 14. La composición farmacéutica de la reivindicación 13 para su uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno en un sujeto con necesidad de ello, en donde dicha enfermedad o trastorno se selecciona del grupo que consiste de obesidad, diabetes tipo I o tipo II, síndrome metabólico, resistencia a la insulina, tolerancia alterada a la glucosa, hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, hipoglucemia debido a hiperinsulinismo congénito (CHI), dislipidemia, aterosclerosis, nefropatía diabética y otros factores de riesgo cardiovascular como hipertensión y factores de riesgo cardiovascular relacionados con niveles de colesterol y/o lípidos no controlados, osteoporosis, inflamación, enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad renal y ecema, el método comprendiendo administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de la composición farmacéutica.
- 10 15. La composición farmacéutica de la reivindicación 13 para su uso en un método para reducir la ingesta de alimentos en un sujeto con necesidad de ello, el método comprendiendo administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de la composición farmacéutica.
- 15 16. La composición farmacéutica de la reivindicación 13 para su uso en un método de modular la actividad del receptor Y2 en un sujeto con necesidad de ello, el método comprendiendo administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de la composición farmacéutica.
- 20 17. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 14-16, en donde la composición farmacéutica se administra mediante una inyección y/o en combinación con por lo menos un agente antidiabético.
- 25 18. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 17, en donde dicho agente antidiabético es un modulador del receptor del péptido 1 similar al glucagón o la composición farmacéutica se administra en combinación con liraglutida.
- 30 19. Un kit que comprende el conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que preferiblemente comprende además una liraglutida y un dispositivo para inyección.
- 35 20. Un método para producir una composición farmacéutica que comprende el conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que comprende combinar el conjugado con un portador farmacéuticamente aceptable para obtener la composición farmacéutica.

Fig. 1**Fig. 2****PH9H5 VH (SEQ ID NO:129)**

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSV
KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYDGIYGELDFWGQGT LVTVSS

PH9L3 VL (SEQ ID NO:128)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSQS VSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSG
SGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIK

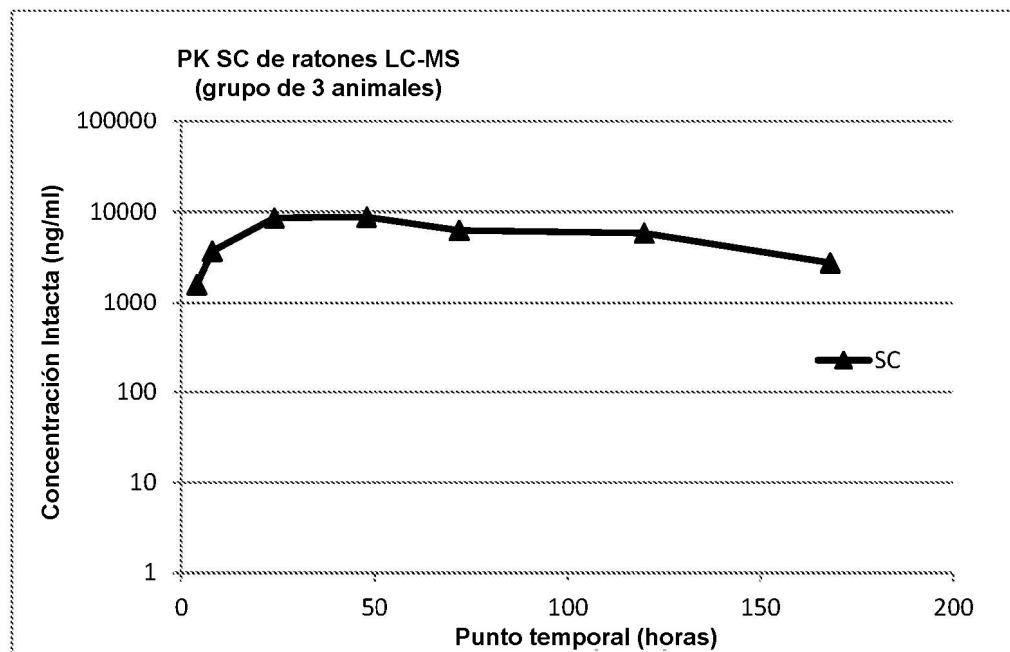
Fig. 3

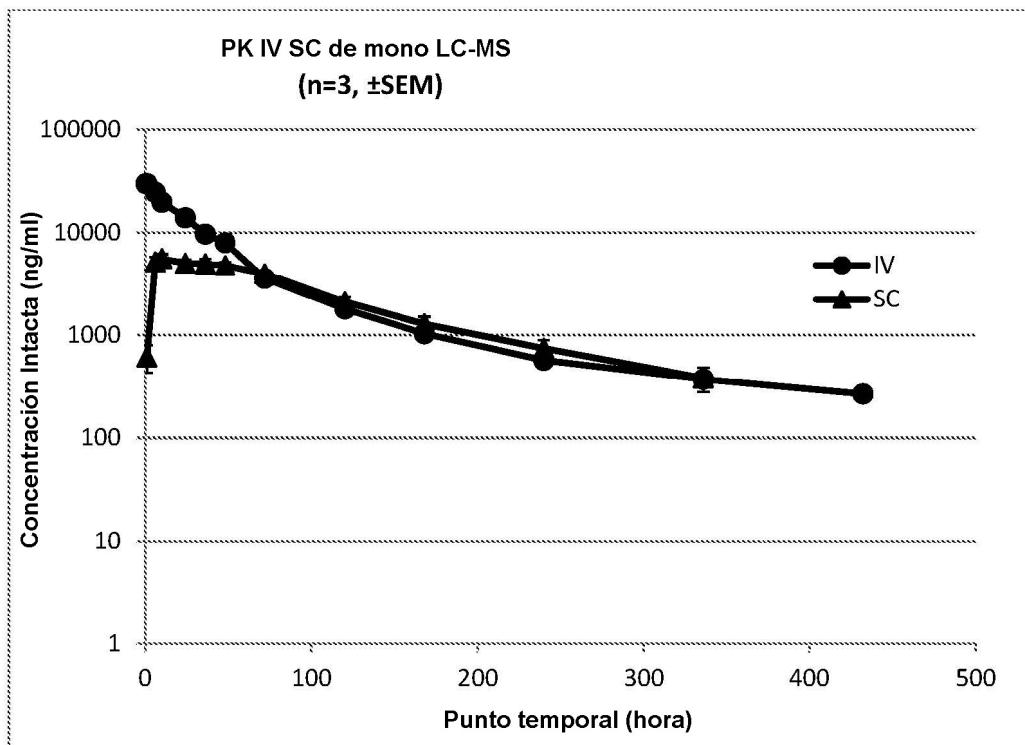
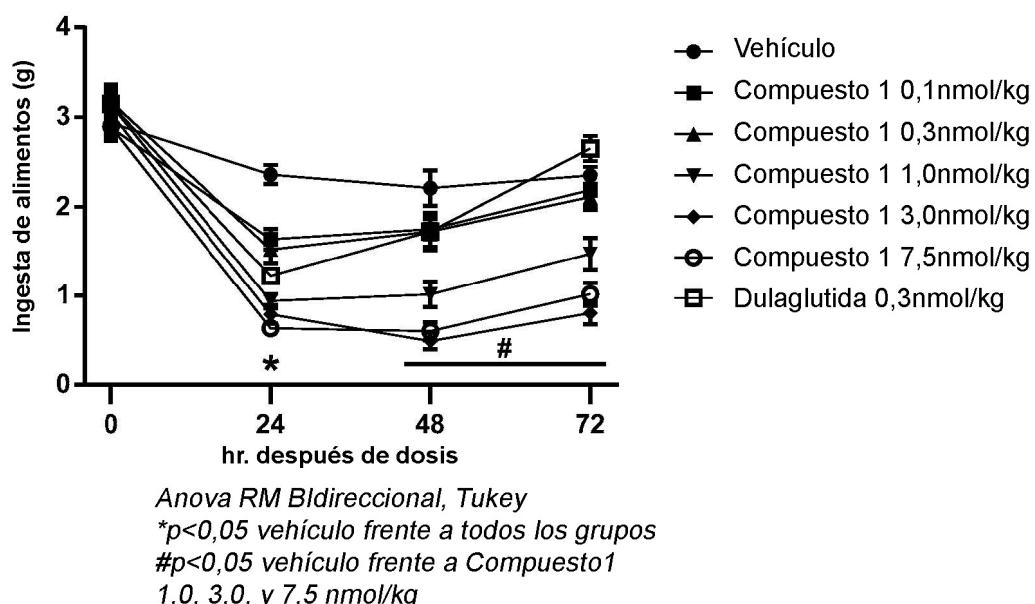
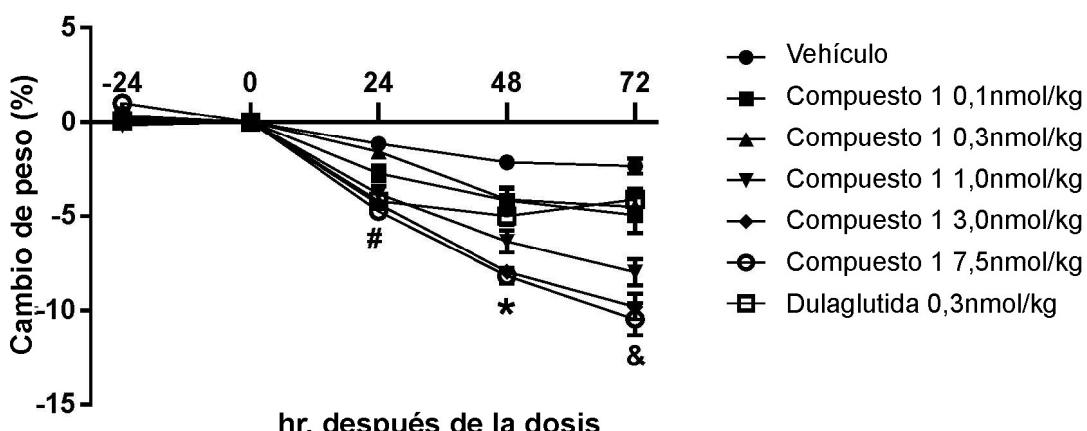
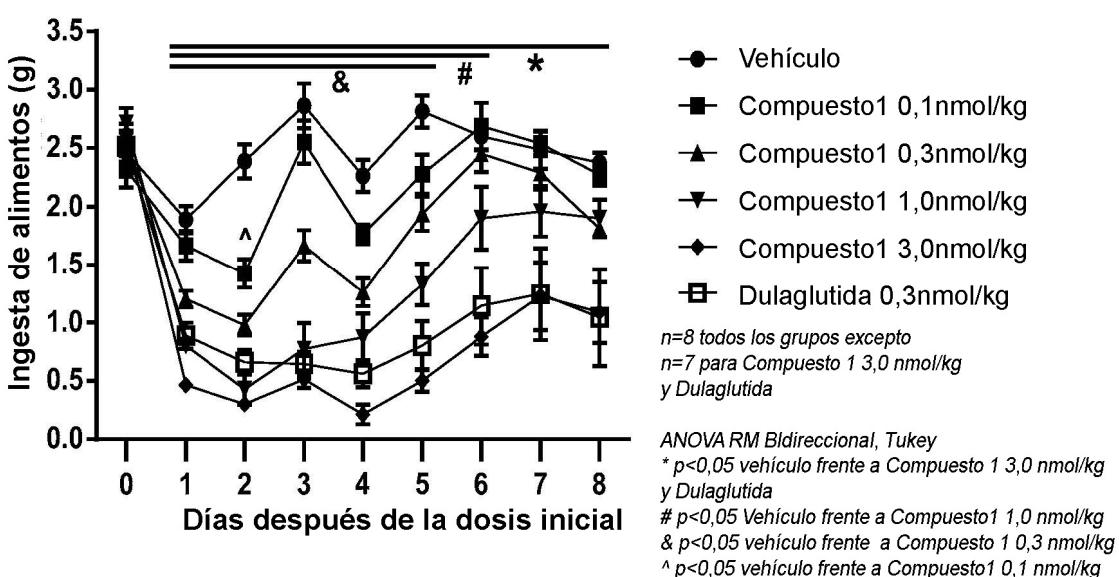
Fig. 4**Fig. 5****Ingesta de alimentos en ratones DIO después del Compuesto 1**

Fig. 6**Cambio de PC en ratones DIO después del Compuesto1**

ANOVA RM Bidireccional, Tukey

* $p<0,05$ vehículo frente a todos los grupos# $p<0,05$ vehículo frente a Compuesto 1 1,0, 3,0,

7,5 nmol/kg y Dulaglutida

& $p<0,05$ vehículo frente a todos los grupos de Compuesto 1**Fig. 7****Ingesta de alimentos en ratones DIO después del Compuesto1**

n=8 todos los grupos excepto

n=7 para Compuesto 1 3,0 nmol/kg
y Dulaglutida

ANOVA RM Bidireccional, Tukey

* $p<0,05$ vehículo frente a Compuesto 1 3,0 nmol/kg
y Dulaglutida# $p<0,05$ Vehículo frente a Compuesto 1 1,0 nmol/kg& $p<0,05$ vehículo frente a Compuesto 1 0,3 nmol/kg^ $p<0,05$ vehículo frente a Compuesto 1 0,1 nmol/kg

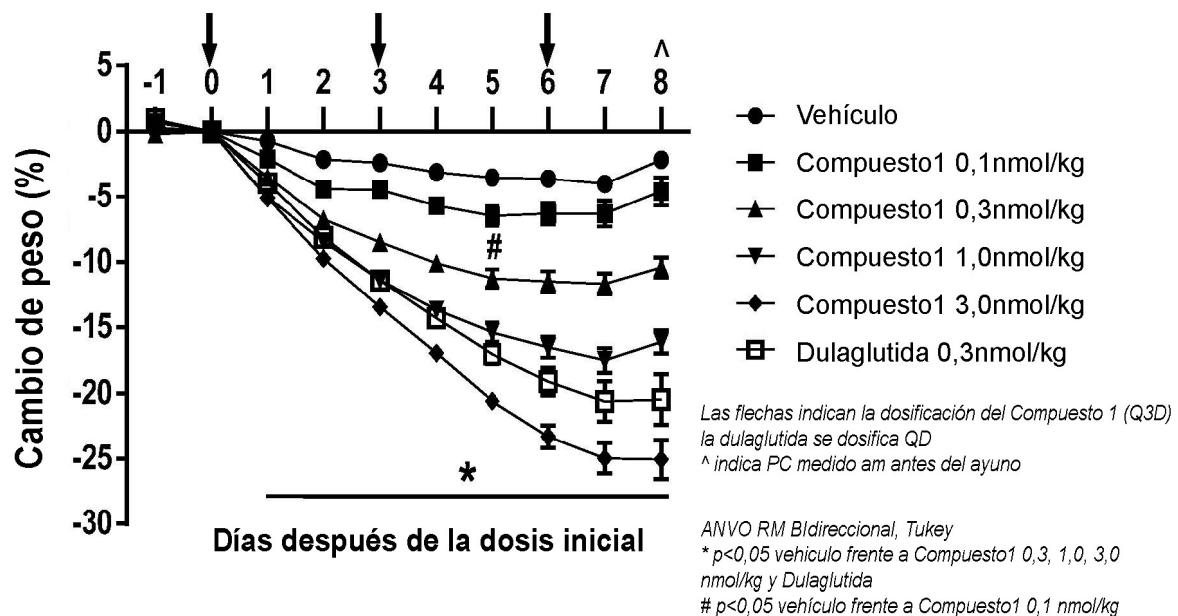
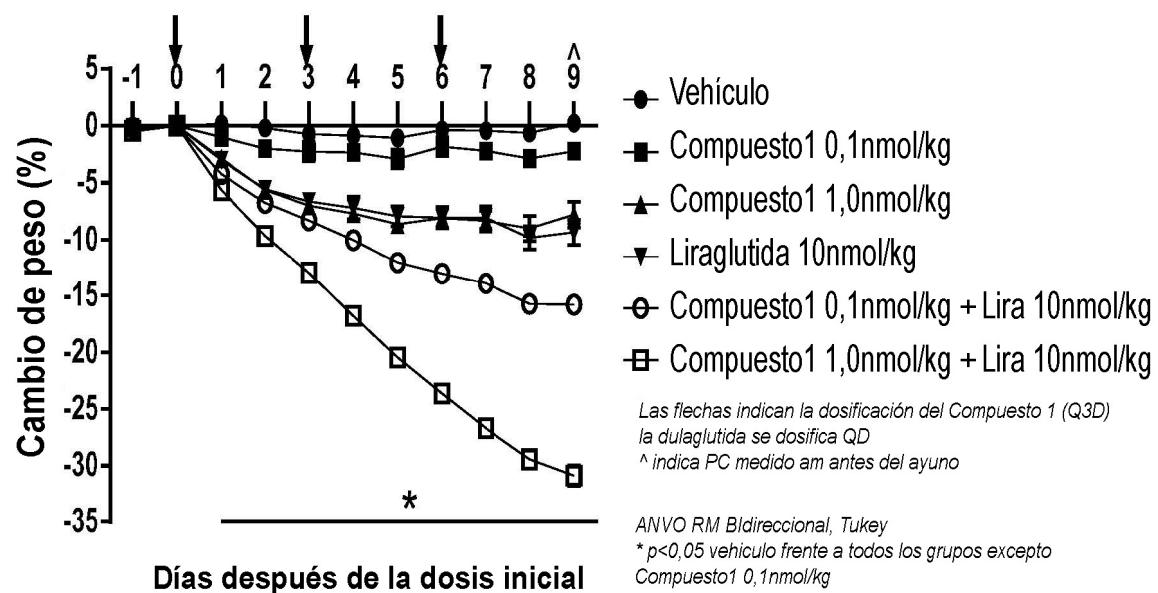
Fig. 8**Cambio en PS en ratones DIO después del Compuesto 1****Fig. 9****Cambio en peso corporal en ratones DIO**

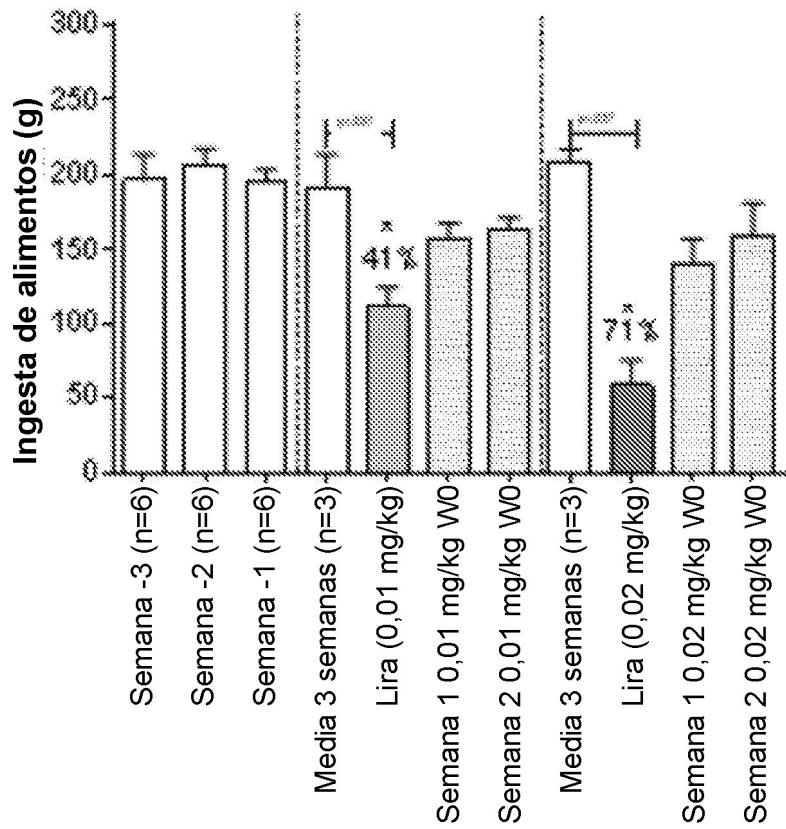
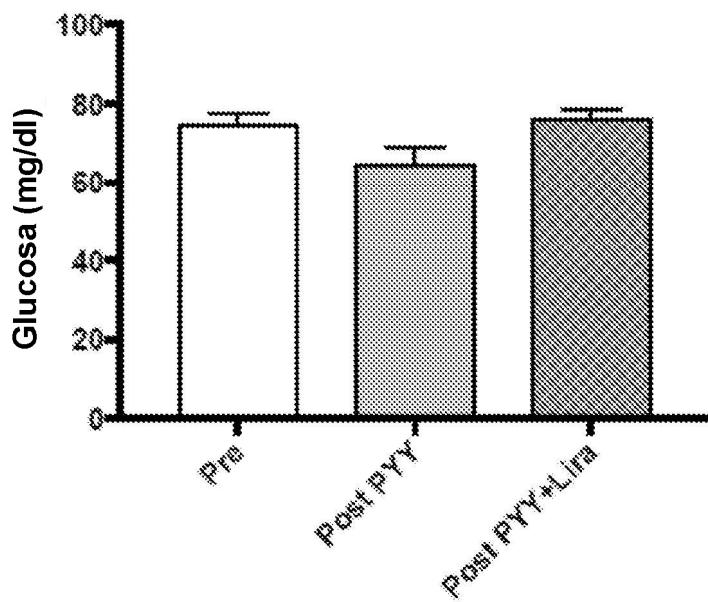
Fig. 10**FI semanal media****Fig. 11A**

Fig. 11B

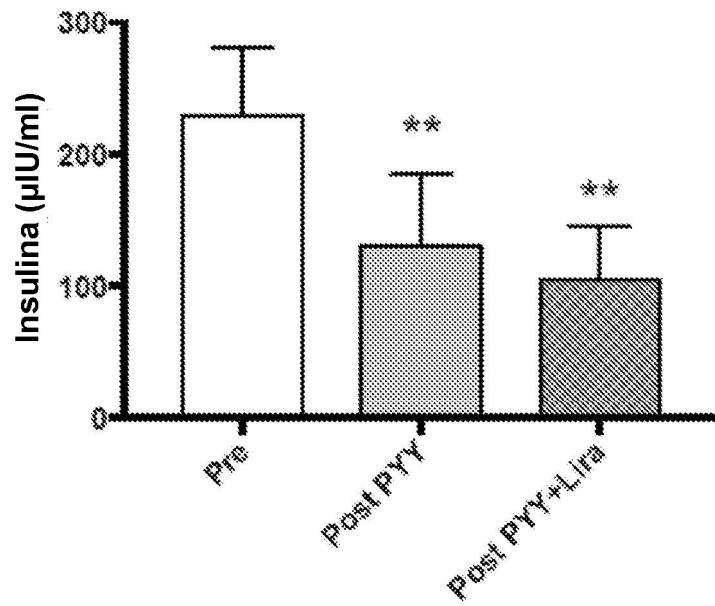


Fig. 11C

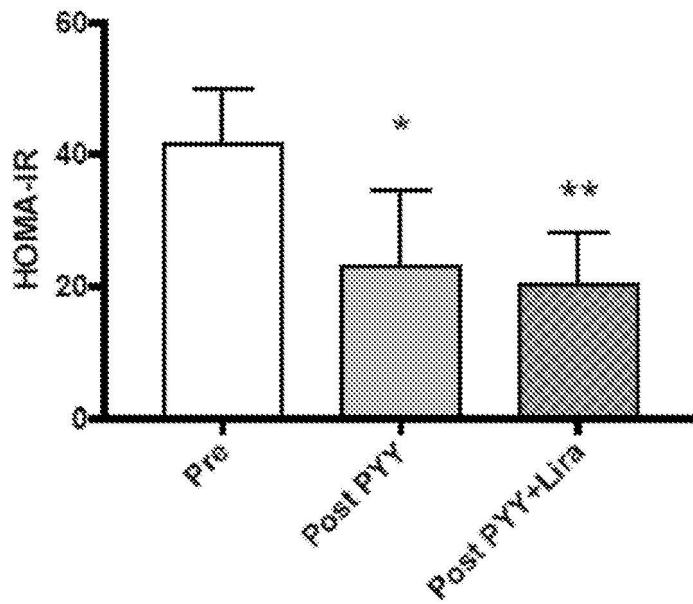


Fig. 11D

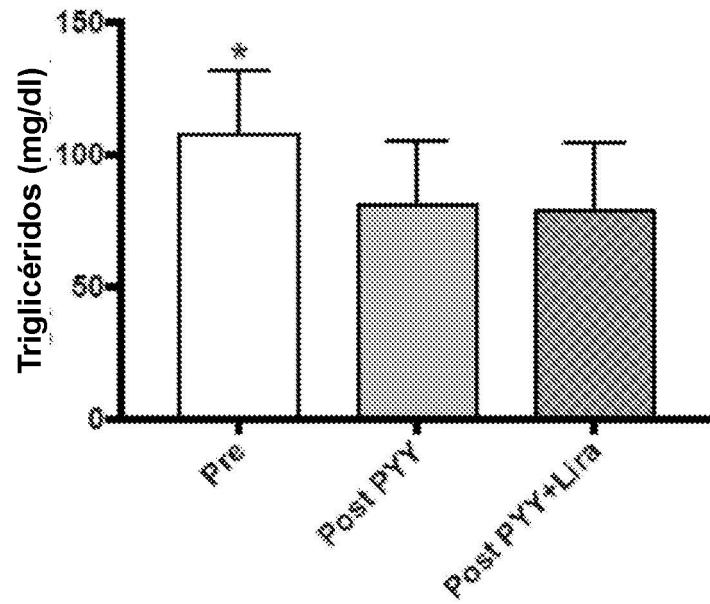


Fig. 12A

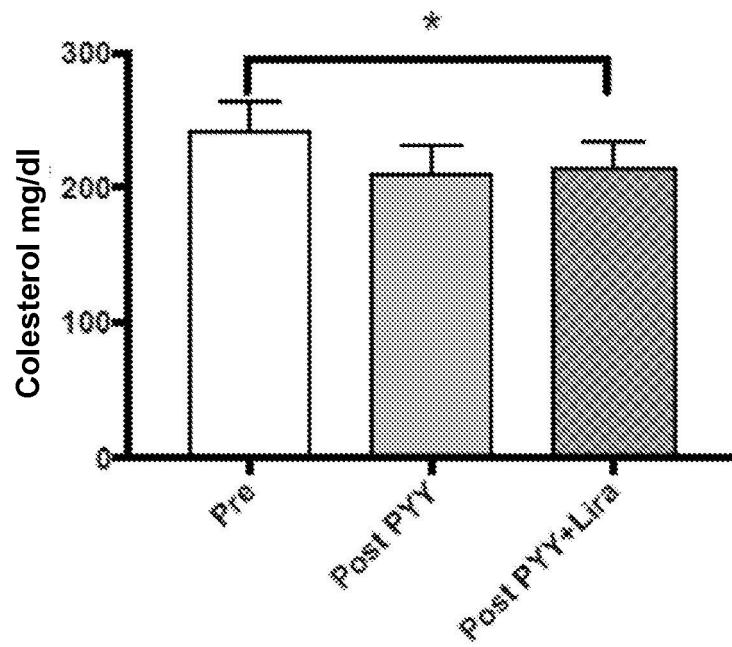


Fig. 12B

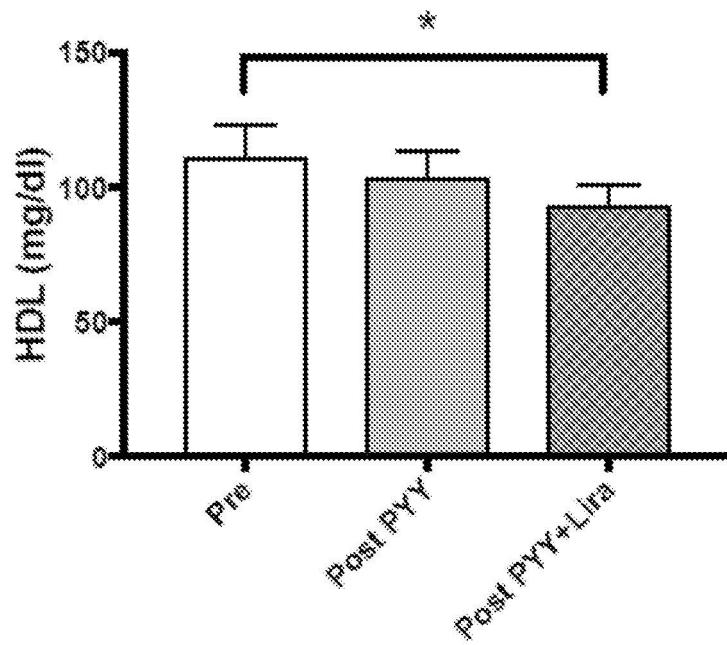


Fig. 12C

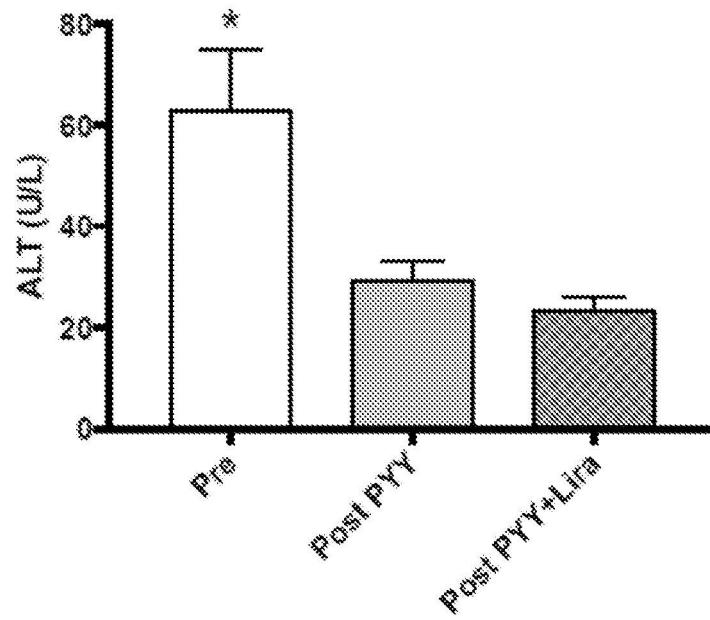


Fig. 12D

