

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 cíclicos 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 cíclicos acoplados a anticuerpos como moduladores de receptores de neuropéptidos

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.

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos N° 62/413.613, presentada el 27 de octubre de 2016, y de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos N° 62/413.586 presentada el 27 de octubre de 2016.

REFERENCIA A LISTADO DE SECUENCIAS PRESENTADO POR VÍA ELECTRÓNICA

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.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

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 serinaproteasa 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.

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 ciclasa a través de Gai sensible a la toxina pertussis.

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 *fa/fa* (Pittner RA et al. IntJObes 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 antiseoretos 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.

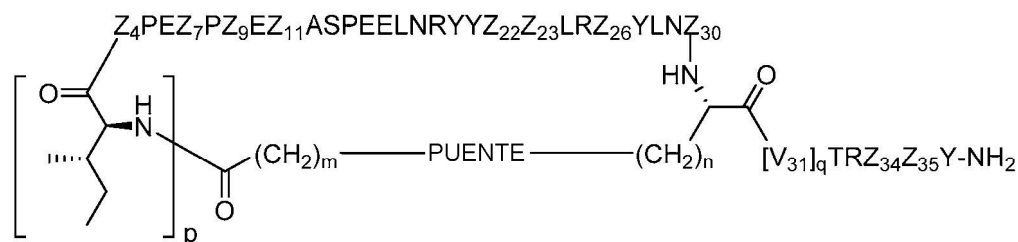
Por tanto, es deseable obtener un análogo de PYY o un derivado del mismo con una estabilidad metabólica y un perfil farmacocinético mejorados con respecto a PYY₃₋₃₆. Tales derivados, con una vida media prolongada *in vivo*, proporcionarían modulación del receptor Y2 con mayor duración de acción, haciéndolos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

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

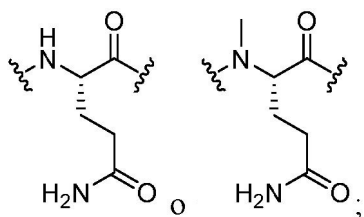
En la presente se proporcionan conjugados que comprenden un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno del mismo acoplado a un péptido PYY cíclico, en donde el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o un derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



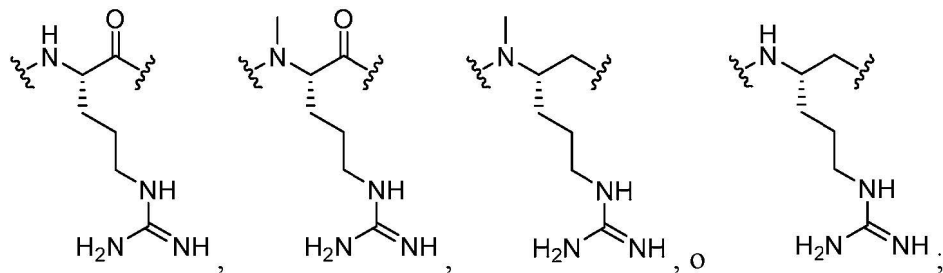
Formula I

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 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 es



Z35 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. 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.

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;

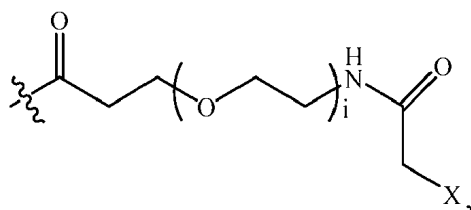
q es 0 o 1; siempre que q sea 1 solo cuando Z₃₀ esté ausente;

PUENTE es -Ph-CH₂-S-, -triazolilo-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH₂-,

-(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)- o -CH₂S-;

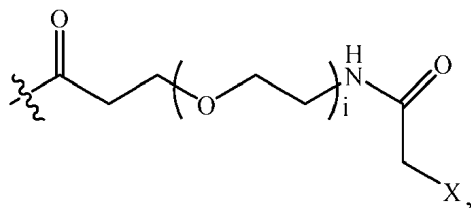
Z₄ es K, A, E, S o R;

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



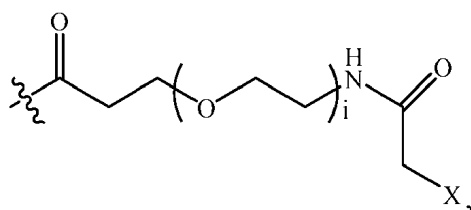
en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl;

Z₉ es G o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con

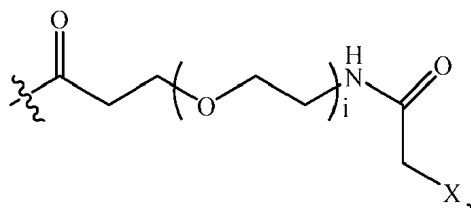


en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl;

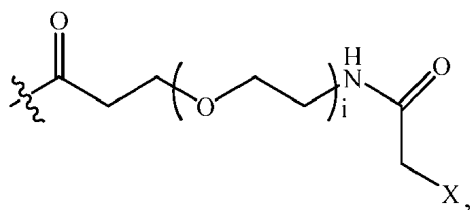
Z₁₁ es D o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



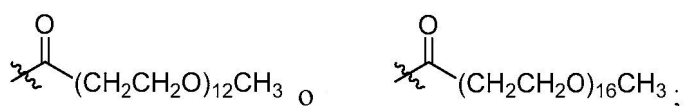
en donde i es un número entero de 0 a 24, y $X = \text{Br}, \text{I}$ o $\text{Cl}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I},$ o $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl};$
 Z_{22} es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida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



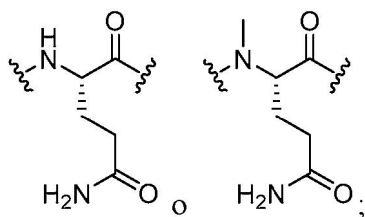
en donde i es un número entero de 0 a 24, y $X = \text{Br}, \text{I}$ o $\text{Cl}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I},$ o $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl};$
 Z_{23} es S o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida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



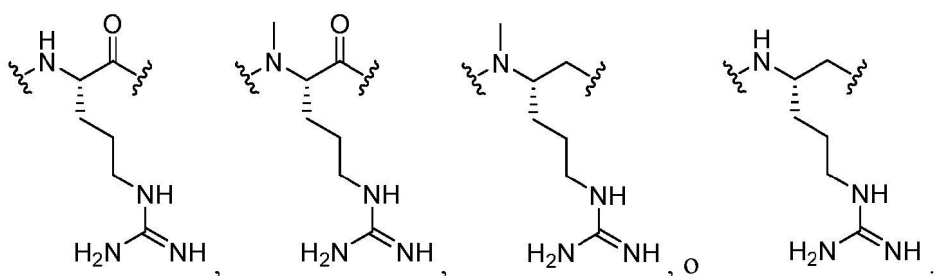
en donde i es un número entero de 0 a 24, y $X = \text{Br}, \text{I}$ o $\text{Cl}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I},$ o $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl};$
 Z_{26} es A o H;
 Z_{30} es L o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida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



Z_{34} es

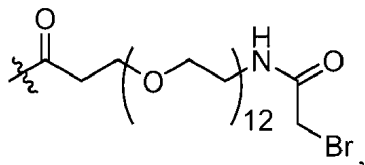


y
 Z_{35} es

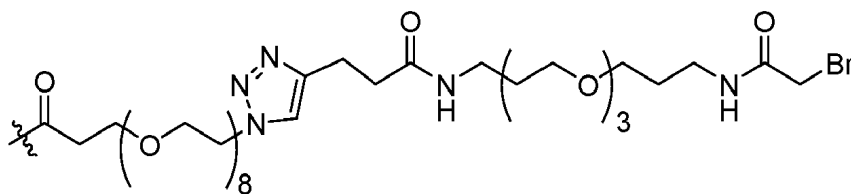
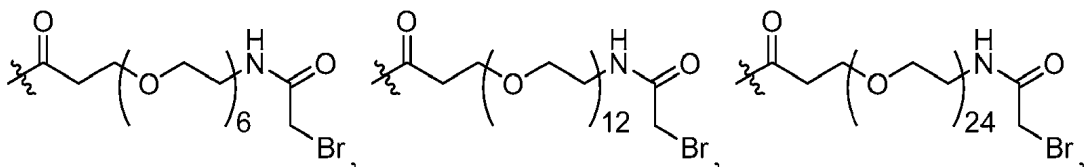


En ciertas realizaciones, el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o el derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

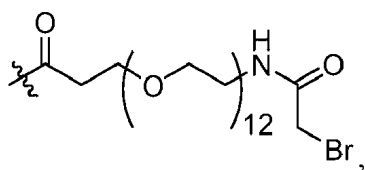
- p es 0 o 1;
 m es 0, 1, 2, 3 o 5;
 n es 1, 2 o 4;
 q es 0 o 1; siempre que q pueda ser 1 solo cuando Z₃₀ esté ausente;
 PUENTE es -Ph-CH₂-S-, -triazolilo-, -NHC(O)CH₂S-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)-, o -CH₂S-;
 Z₄ es K, A, E, S o R;
 Z₇ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está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



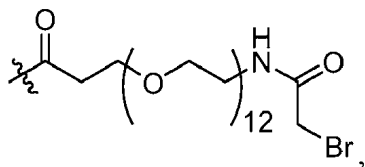
- Z₉ es G o K,
 Z₁₁ es D o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



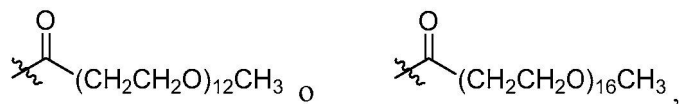
- C(O)CH₂Br, Z₂₂ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



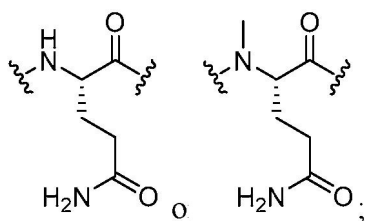
- Z₂₃ es S o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



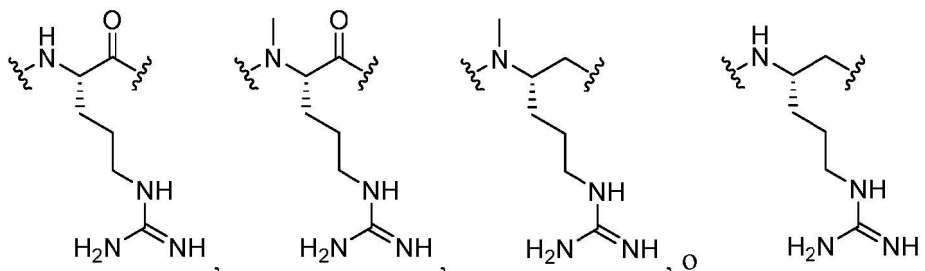
- Z₂₆ es A o H,
 Z₃₀ es L o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



- Z₃₄ es



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.

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, (Gly₄Ser)_j donde j = 1-4, (AlaPro)_u donde u = 1-10, y un enlace.

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.

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 j₂ representa que 1 o 2 del péptido PYY cíclico están covalentemente conjugados con el mAb.

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.

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.

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.

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

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 eccema. Los métodos comprenden administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de las composiciones farmacéuticas de la invención.

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.

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.

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.

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

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.

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.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

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.

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 $\pm 10\%$ 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 alineamiento óptimo de secuencias para comparación puede realizarse, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de Smith & Waterman, Adv. Appl. 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 "conjugado" se refiere a un anticuerpo o un fragmento del mismo acoplado covalentemente a una fracción farmacéuticamente activa. El término "conjugado 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 plasmones 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 enlazan 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 multispecíficos, 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 LCDR3, y a los dominios de región variable de cadena pesada se hace referencia alternativamente como HCDR1, HCDR2, 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 multispecífico 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.

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 antigénicas (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.

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, 5ª 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.

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.

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.

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, 5ª Ed. U.S. Dept. of Health and Human Services, Bethesda, Md., N° 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.

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.

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.

"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.

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 N° 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 aíslan por medios recombinantes, como anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico o transcrómico 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 quimérico" 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 epítipo 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 epítipo 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 epítipos están en el mismo antígeno, por ejemplo, la misma proteína (o subunidad de una proteína multimérica). En una realización, el primer y el segundo epítipos se superponen o se superponen sustancialmente. En una realización, el primer y el segundo epítipos no se superponen o no se superponen sustancialmente. En una realización, el primer y el segundo epítipos 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.

Como se usa en la presente, el término "anticuerpo biespecífico" se refiere a un anticuerpo multiespecífico que se une a no más de dos epítomos 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 epítomo 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 epítomo 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 epítomos están en el mismo antígeno, por ejemplo, la misma proteína (o subunidad de una proteína multimérica). En una realización, el primer y el segundo epítomos se superponen o se superponen sustancialmente. En una realización, el primer y el segundo epítomos 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 epítomo 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 tienen especificidad de unión para un segundo epítomo 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.

"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.

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 epítomo distinto.

"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.

"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 N° 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. Después 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 N° US2010/0015133; Publicación de Patente de Estados Unidos N° US2009/0182127; Publicación de Patente de Estados Unidos N° US2010/028637 o la Publicación de Patente de Estados Unidos N° 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 N° US2012/0149876 o la Publicación de Patente de Estados Unidos N° 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 N° 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-mercaptoetilamina (2-MEA), ditiotreitól (DTT), ditiioeritritol (DTE), glutatión, tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP), L-cisteína y beta-mercaptoetanol, preferiblemente un agente reductor seleccionado del grupo que consiste de: 2-mercaptoetilamina, ditiotreitól 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 ditiotreitól 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, 5ª 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 alcohólico (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH),

enfermedad renal y eccema, entre otros.

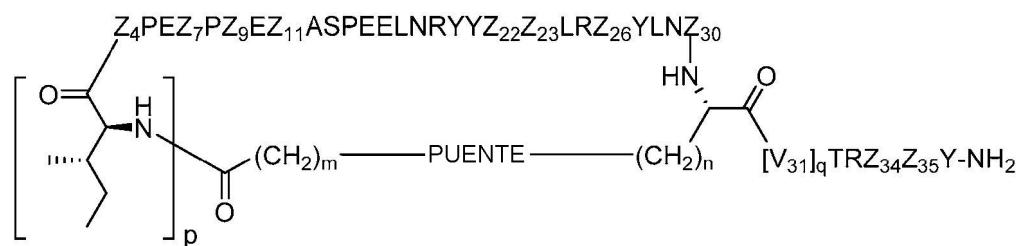
En ciertas realizaciones, el anticuerpo de la invención se modifica para comprender por lo menos una sustitución de residuos de cisteína que es capaz de conjugarse con la fracción farmacéuticamente activa para prolongar/aumentar la vida media de la fracción farmacéuticamente activa. En ciertas realizaciones, 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). Después 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 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-, -triazolil-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)- o -CH₂S-;

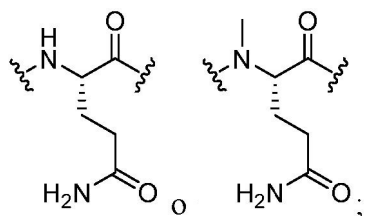
Z₄ es K, A, E, S o R;

Z₇ es A o K;

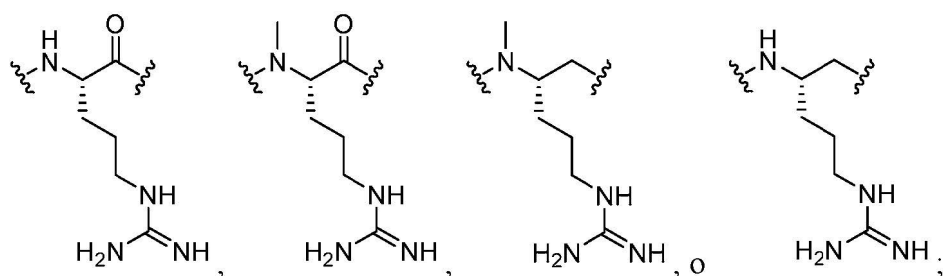
Z₉ es G o K;

Z₁₁ es D o K;

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



Z₃₅ es

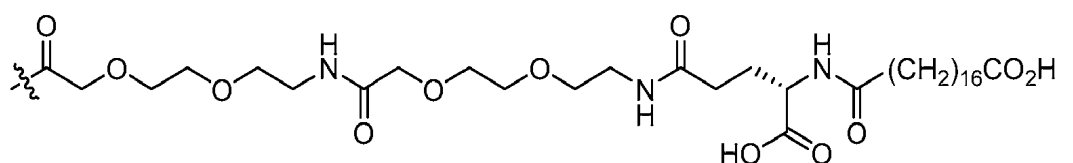
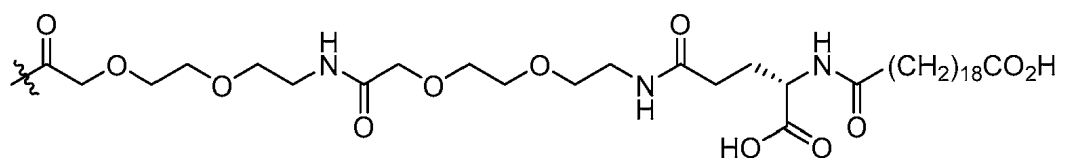


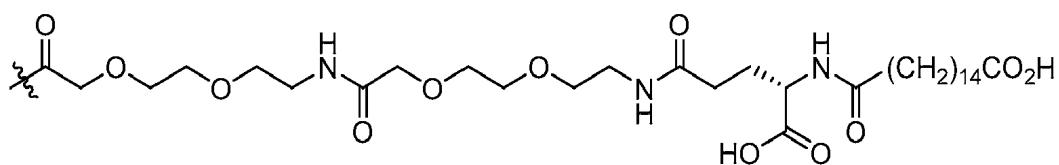
en donde el derivado es el compuesto de Fórmula I que se modifica mediante uno o más procesos seleccionados del grupo que consiste de amidación, glicosilación, carbamilación, sulfatación, fosforilación, ciclación, lipidación y pegilación

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.

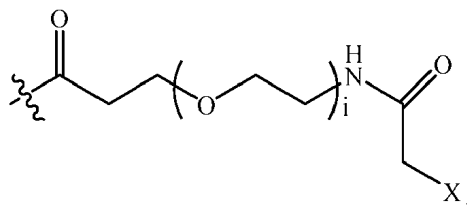
En ciertas realizaciones, el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o el derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

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-, -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, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con

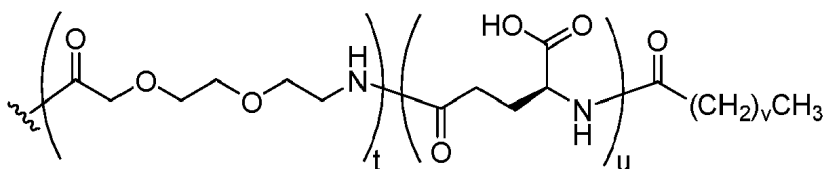




o

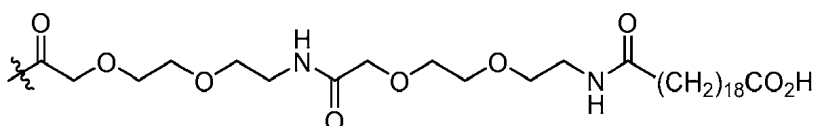
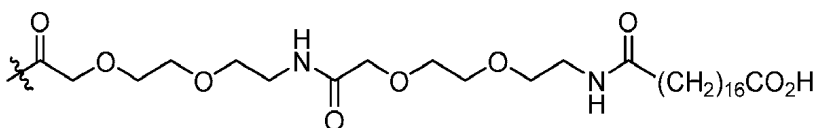
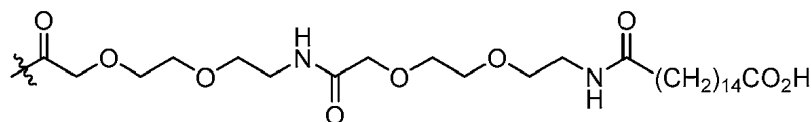
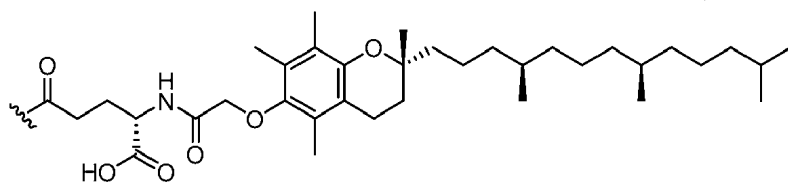
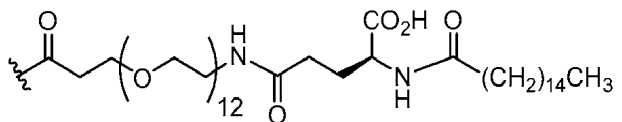
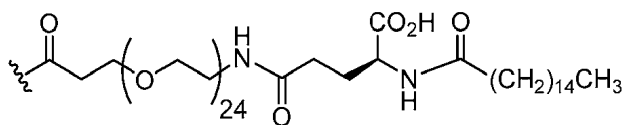


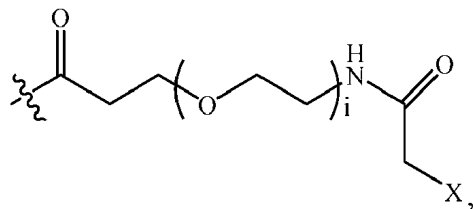
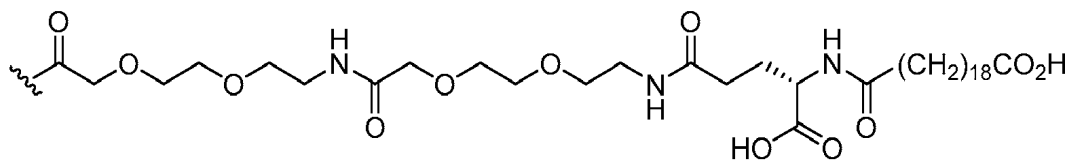
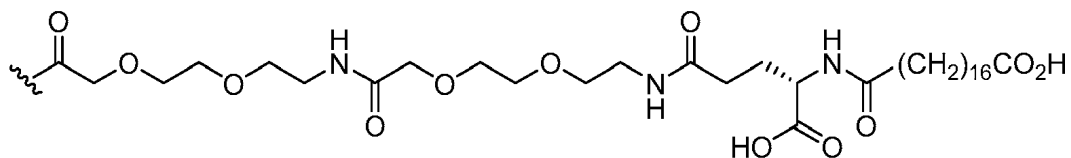
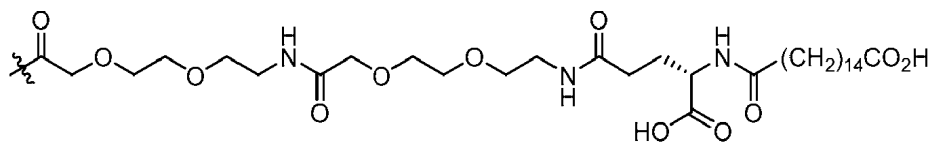
en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl; Z₉ es G o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



en donde t es 0, 1 o 2;

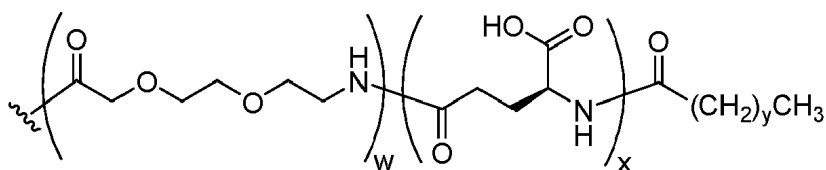
u es 0 o 1; y
v es 14, 16 o 18;





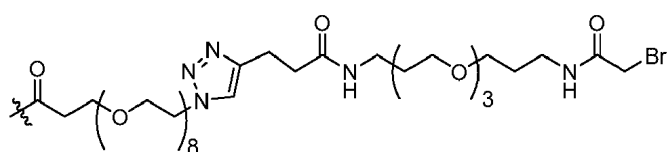
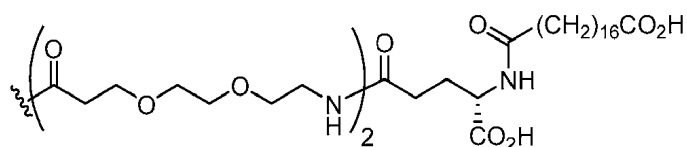
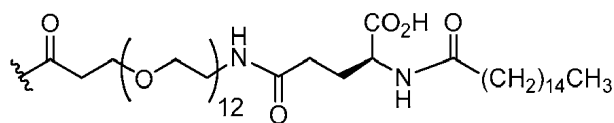
en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl;

Z₁₁ es D o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



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

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





10

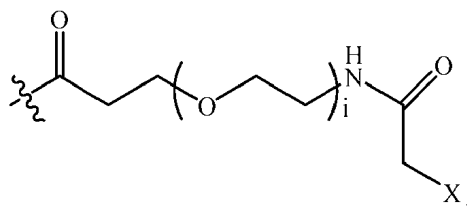
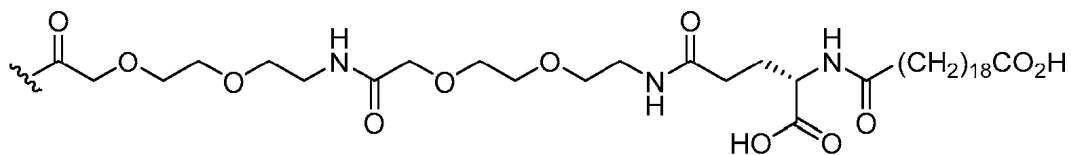
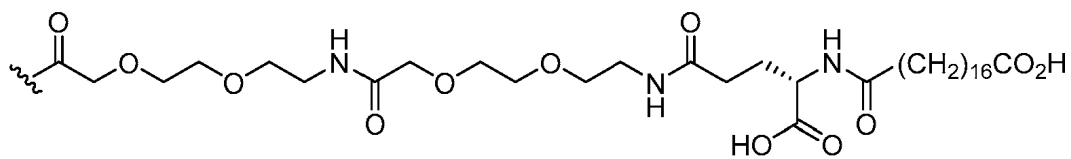


50

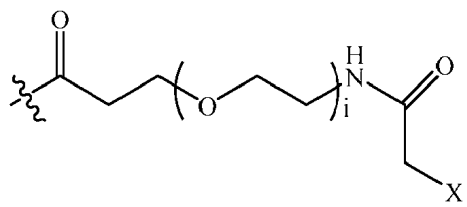
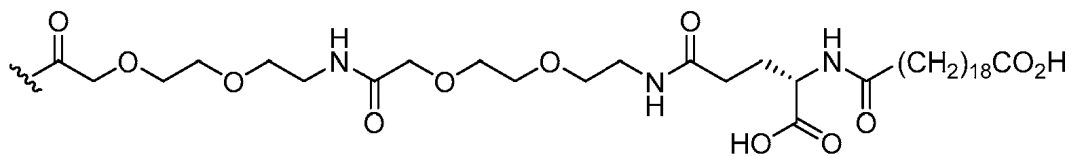
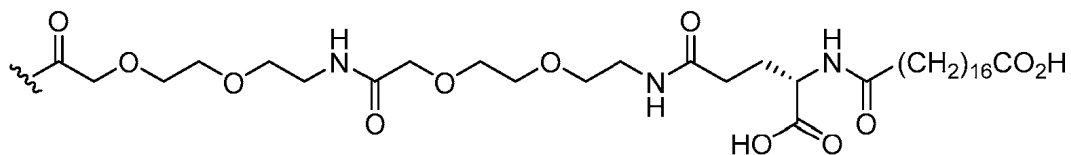
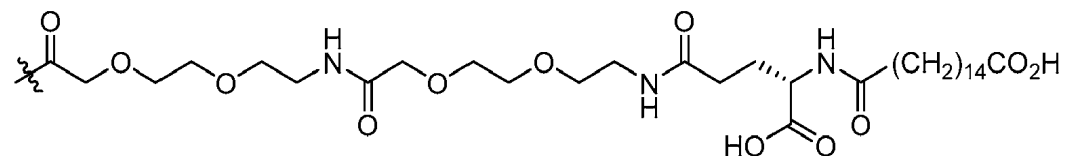
Z₂₂ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



60

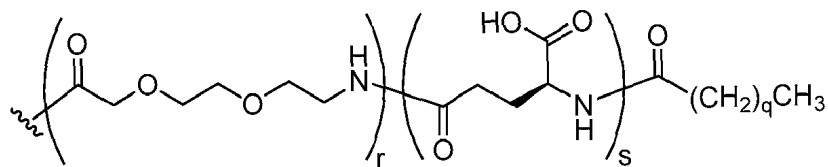
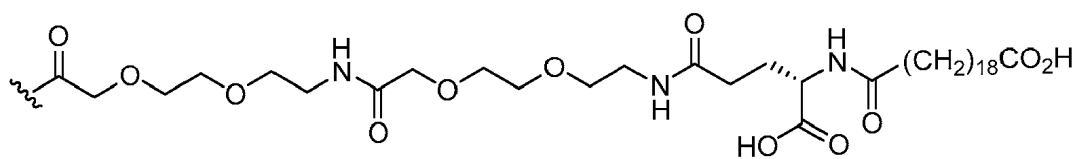
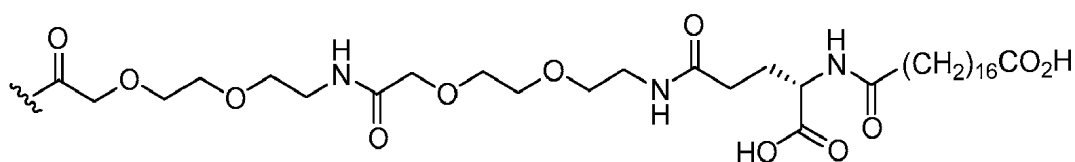
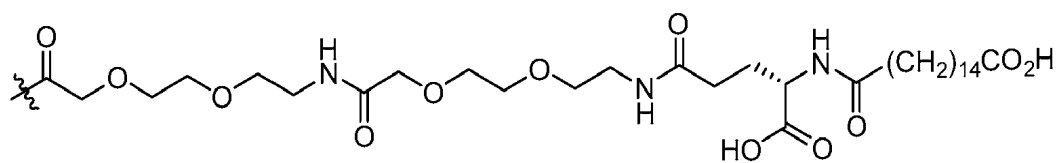
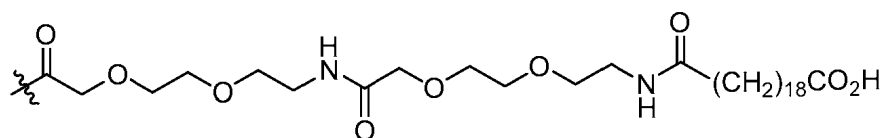
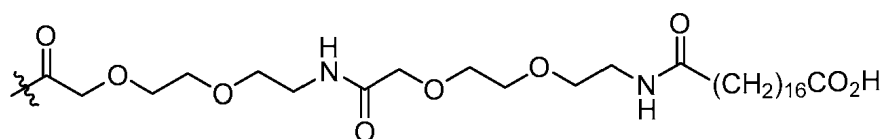
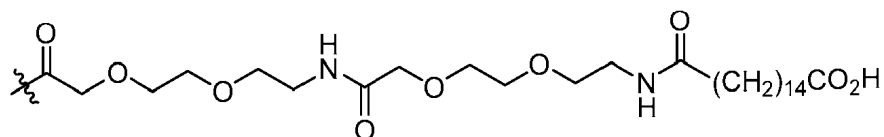
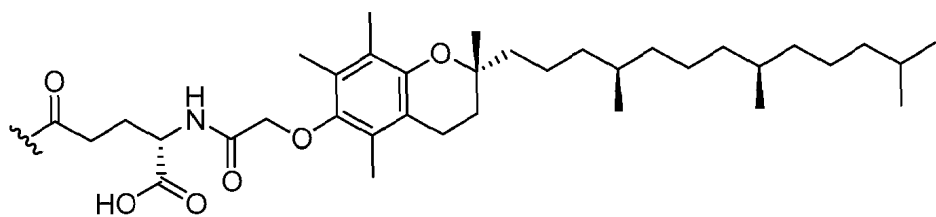


en donde i es un número entero de 0 a 24, y X = Br, I o Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, o -C(O)CH₂Cl;
Z₂₃ es S o K; en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con



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



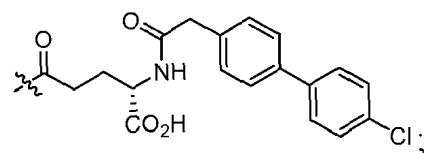
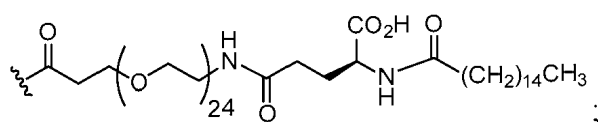
45

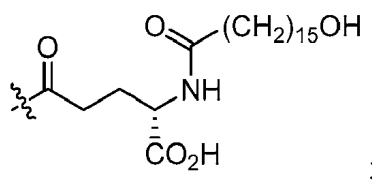
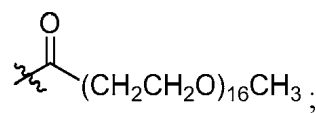
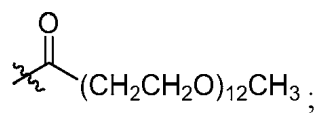
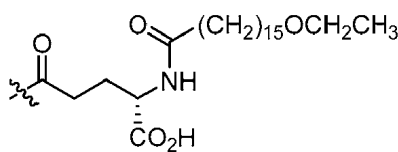
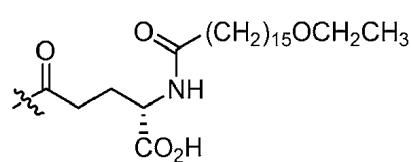
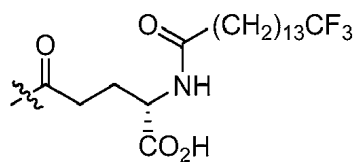
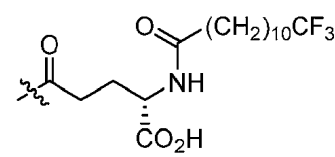
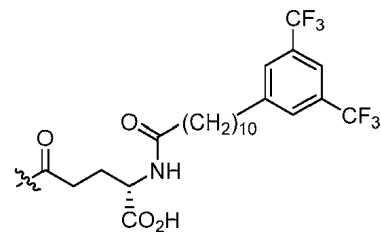
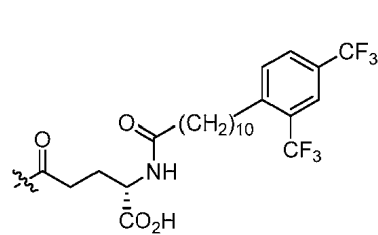
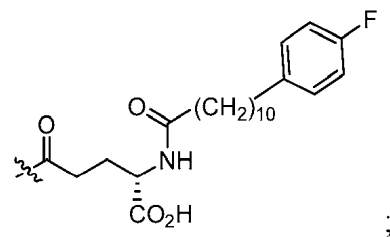
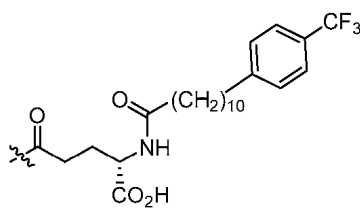
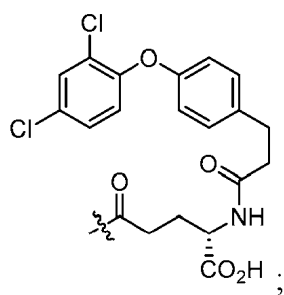
en donde r es 0, 1 o 2;

50

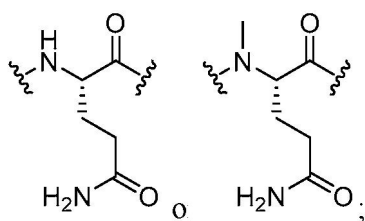
s es 0 o 1; y

q es 14, 16 o 18; o

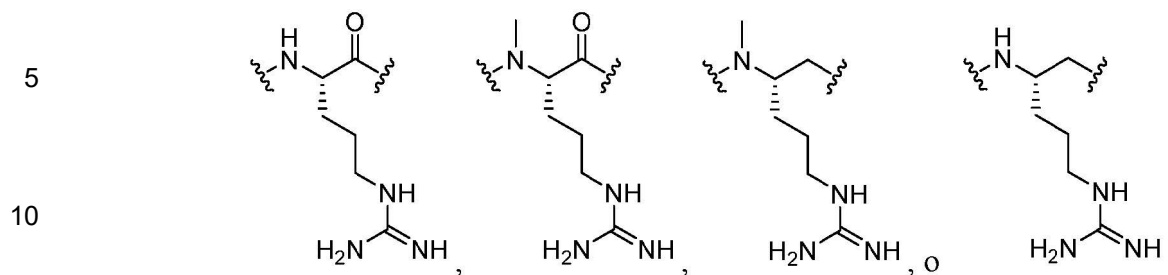




Z34 es

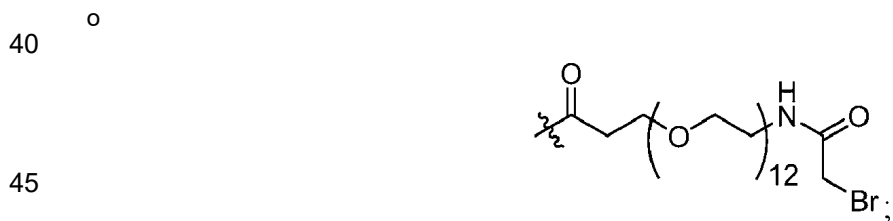
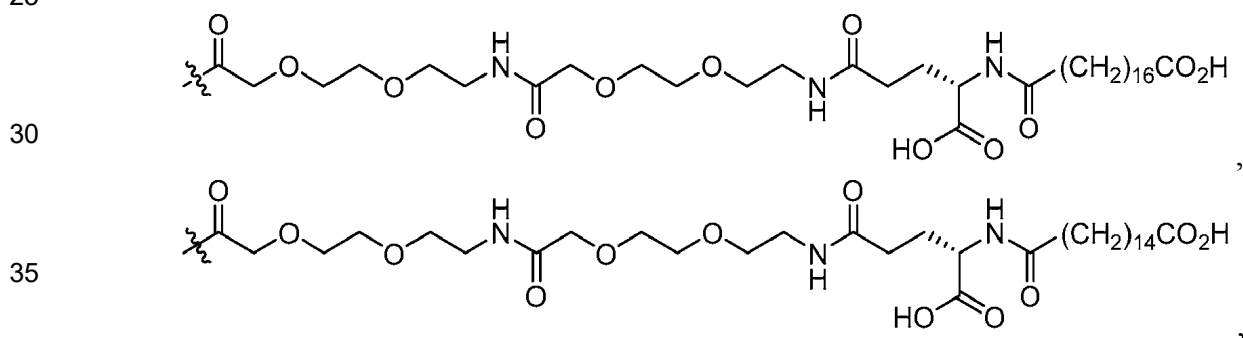


Z35 es

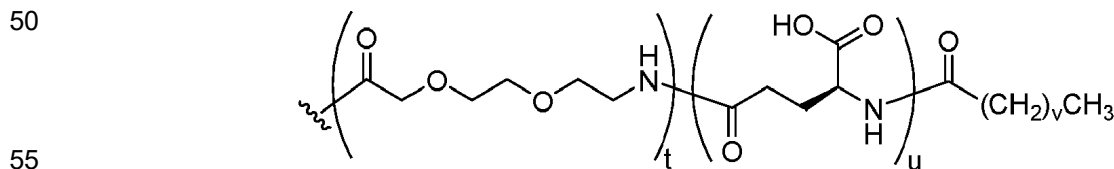


15 En ciertas realizaciones, el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o el derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

20 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-;
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, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con

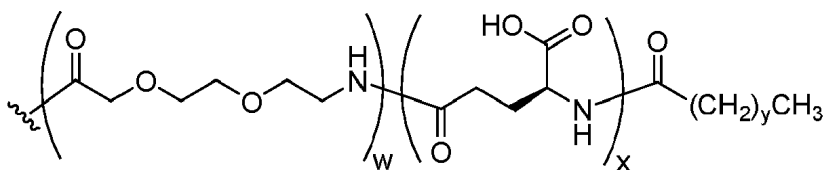


en donde t es 0;

60 u es 1; y
v es 14;

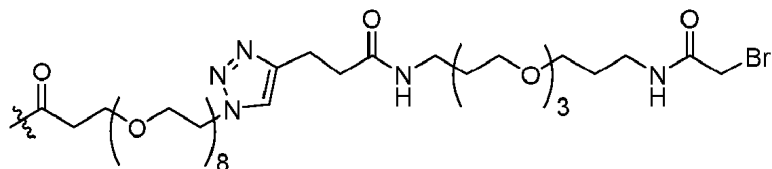
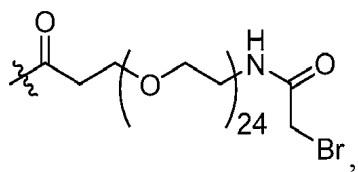
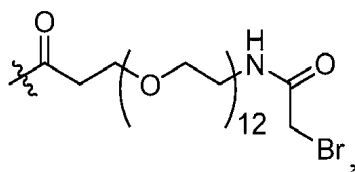
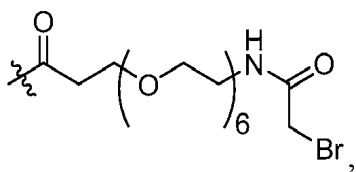
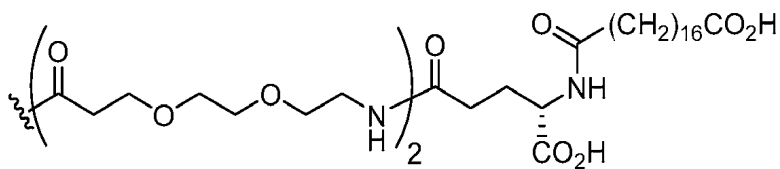
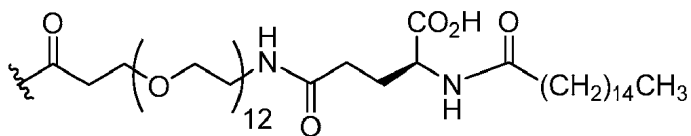
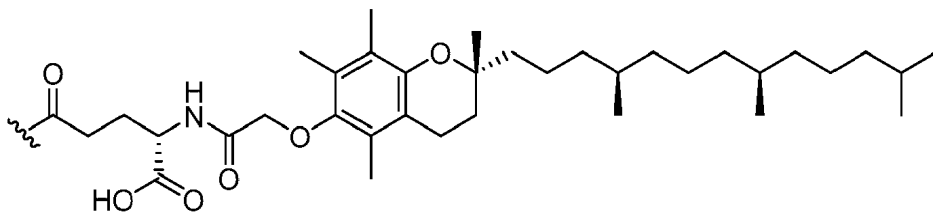
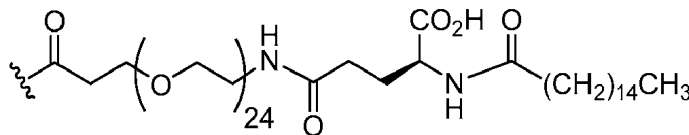
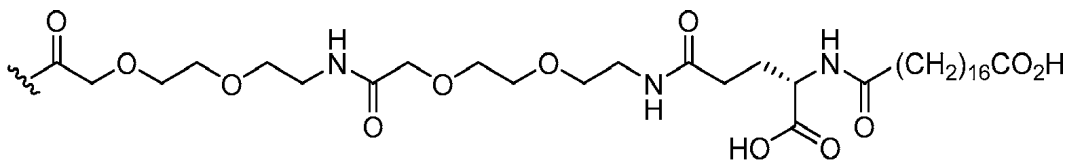
Z₁₁ es D o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está opcionalmente sustituida con

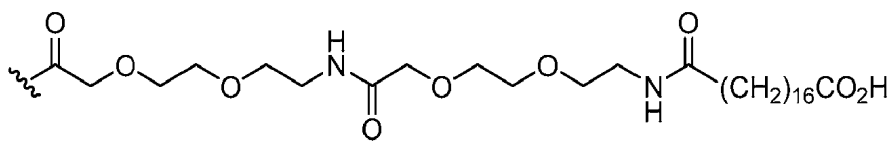
65



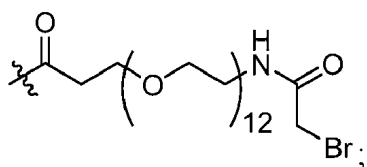
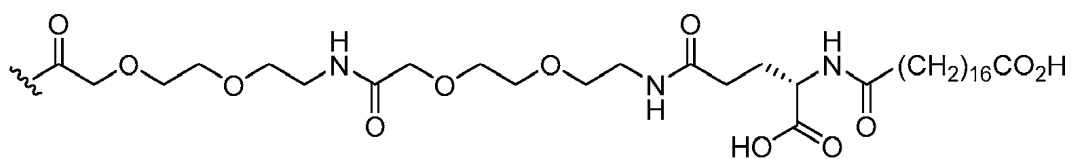
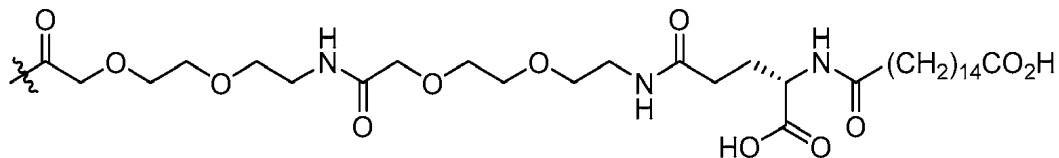
en donde w es 0 o 4;

```
x es 1; y
y es 14;
```

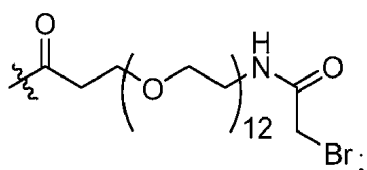
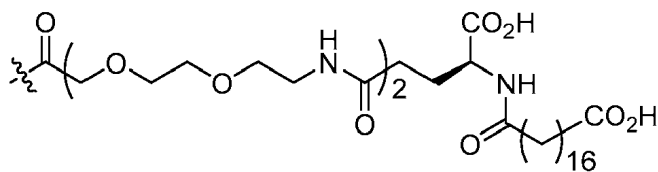

$$-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br},$$




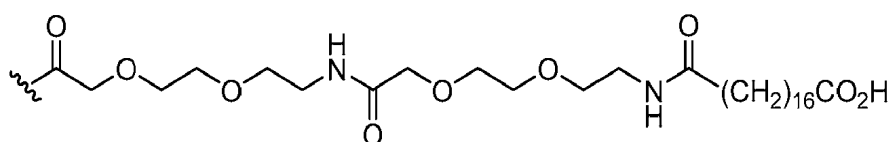
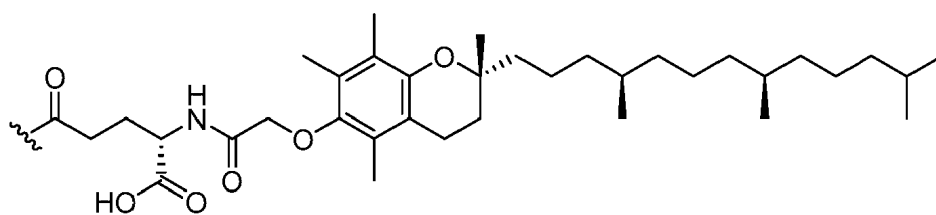
^o
Z₂₂ es A o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con

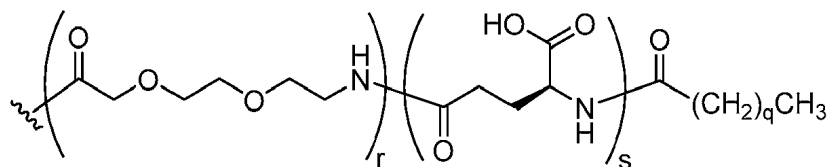
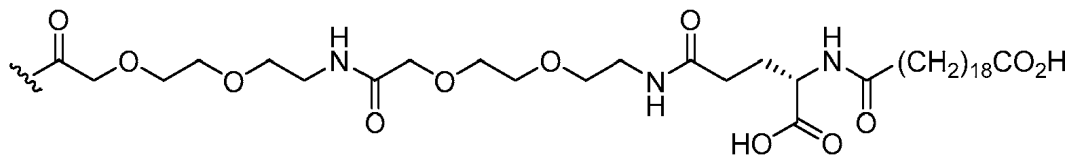
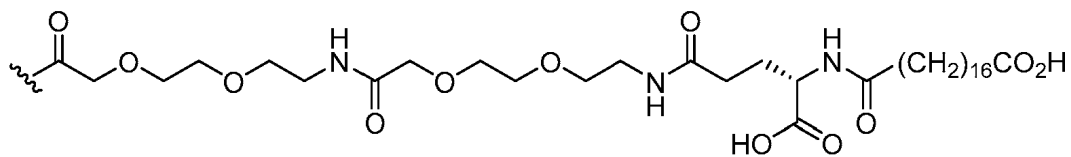


Z₂₃ es S o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



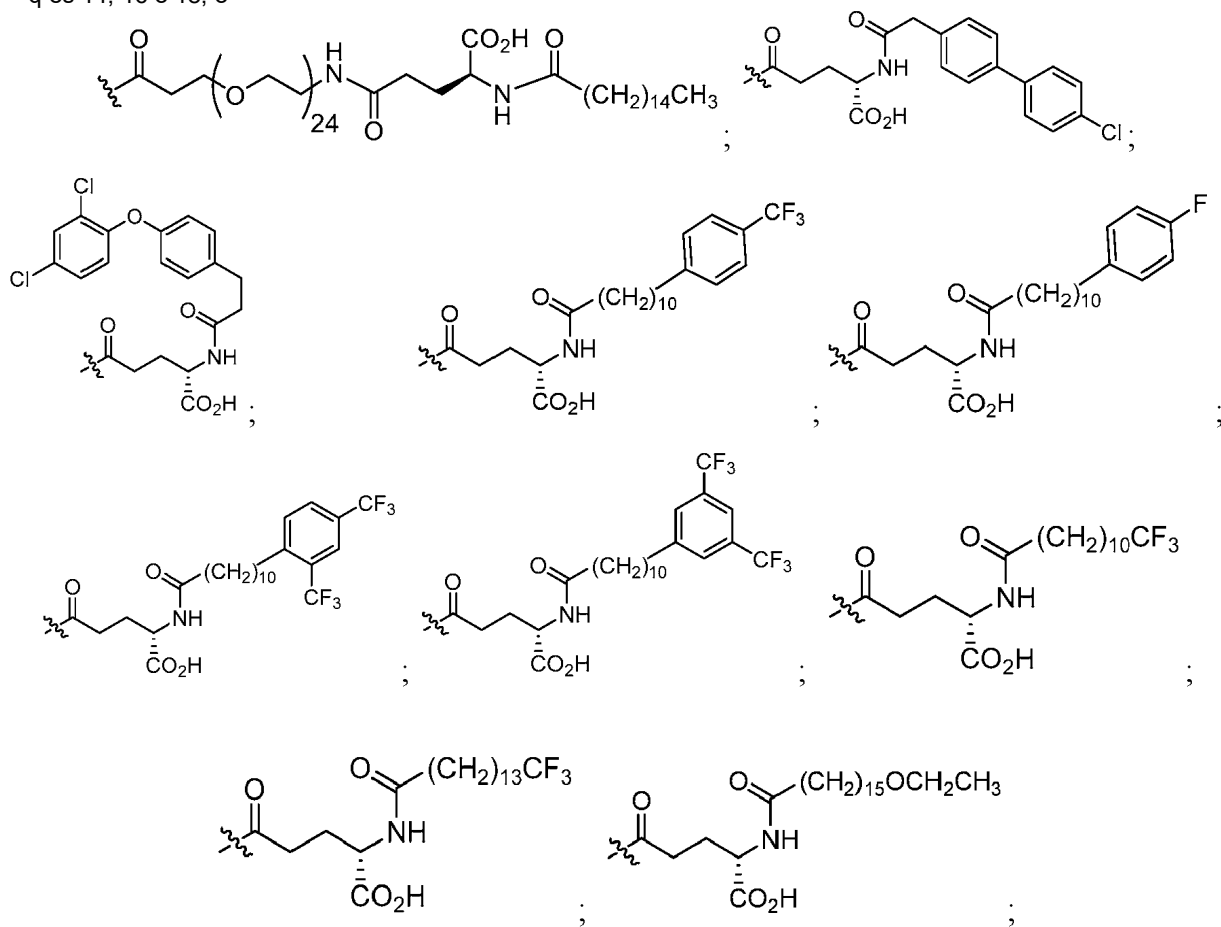
Z₂₆ es A o H;
Z₃₀ es L o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con

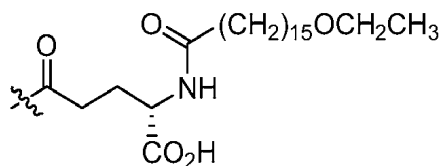




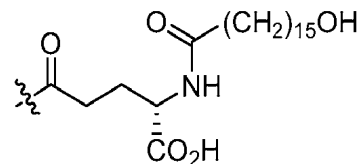
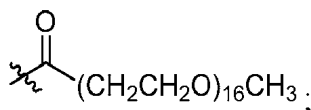
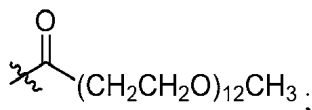
en donde r es 0 o 2;

s es 1; y
q es 14, 16 o 18; o

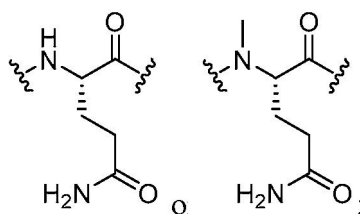
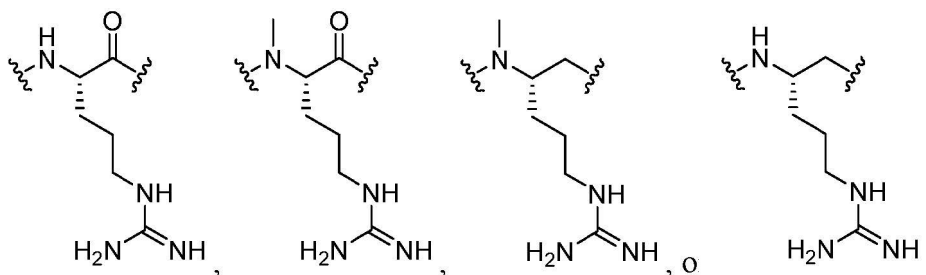




;



;

Z₃₄ esZ₃₅ es

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 ID NO: 147-156.

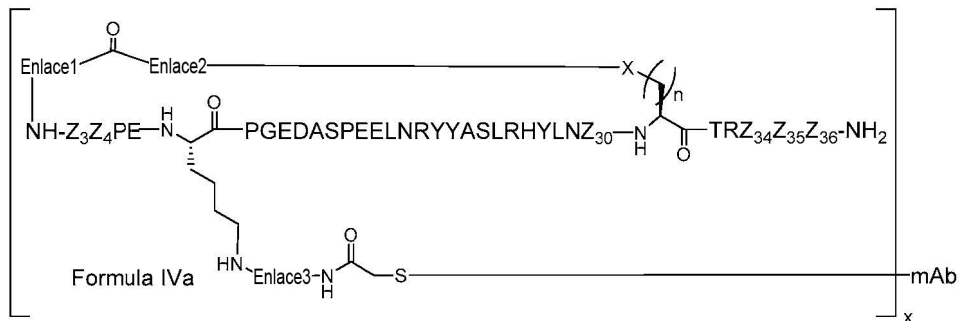
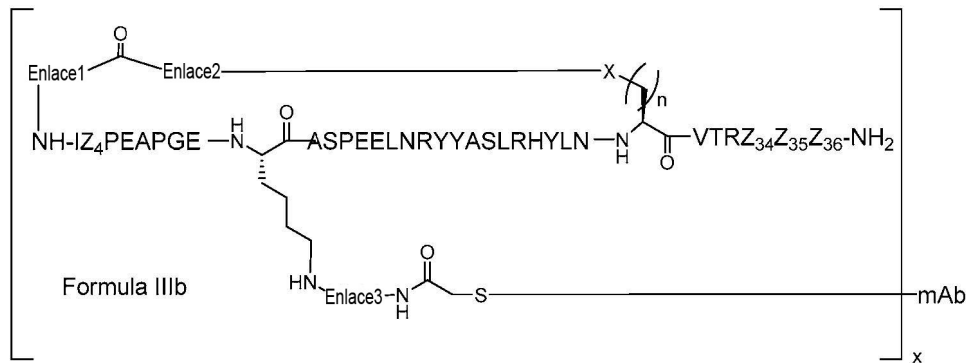
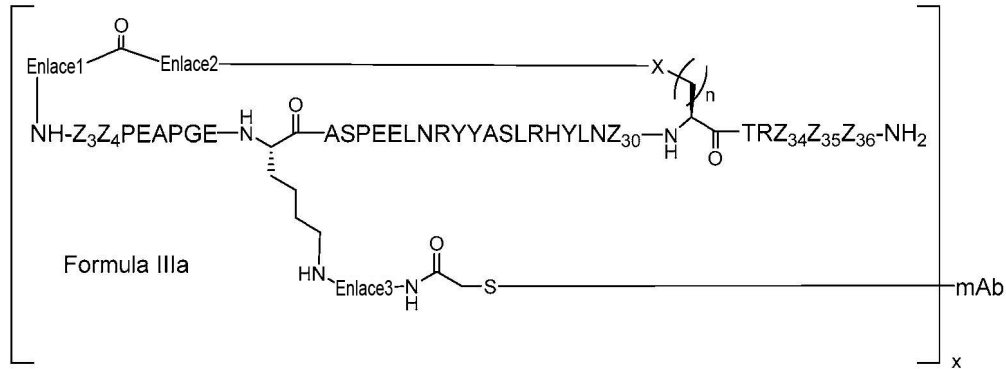
En ciertas realizaciones, un anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo está enlazado covalentemente al péptido PYY cíclico en un residuo de lisina del péptido PYY cíclico mediante un conector. El conector puede comprender, por ejemplo, un conector seleccionado del grupo que consiste de polietilenglicol (PEG)8-triazolil- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ -PEG4, una cadena de PEG de 2-24 unidades de PEG, una cadena de alquilo que contiene 2-10 átomos de carbono, $(\text{Gly}_4\text{Ser})_j$ en donde $j = 1-4$, $(\text{AlaPro})_u$ en donde $u = 1-10$, o un enlace.

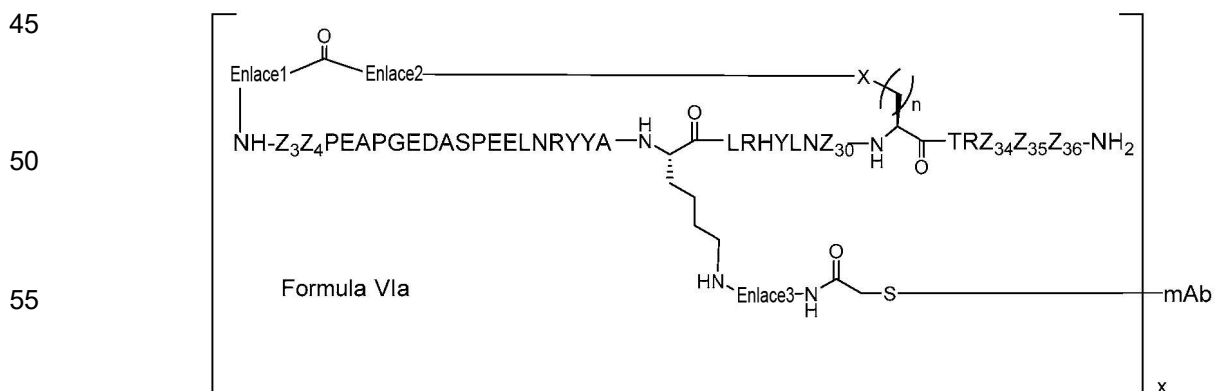
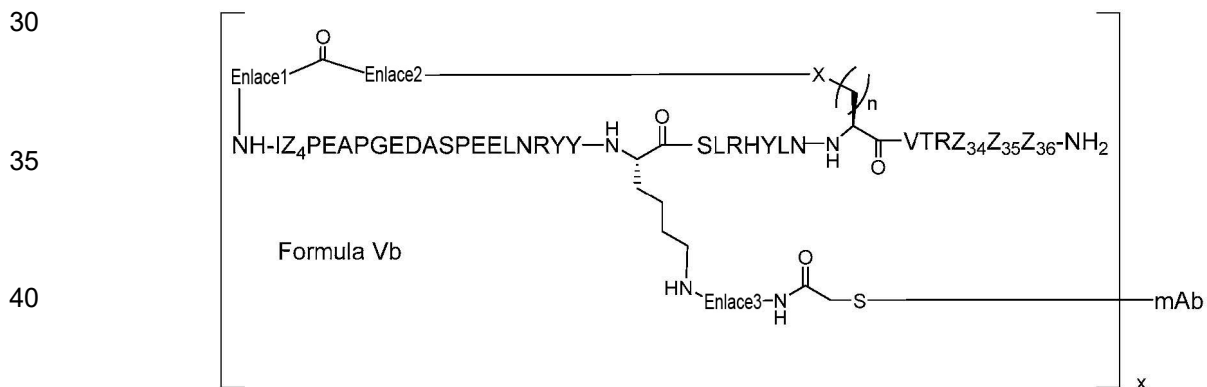
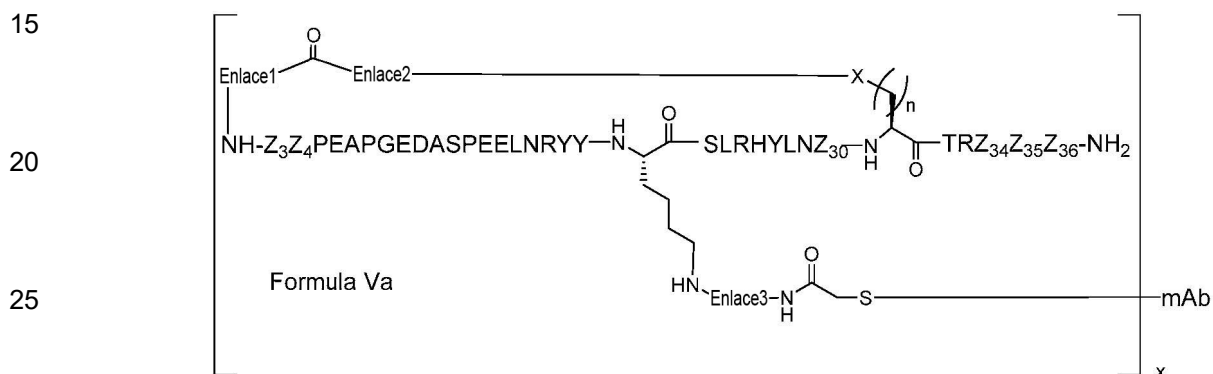
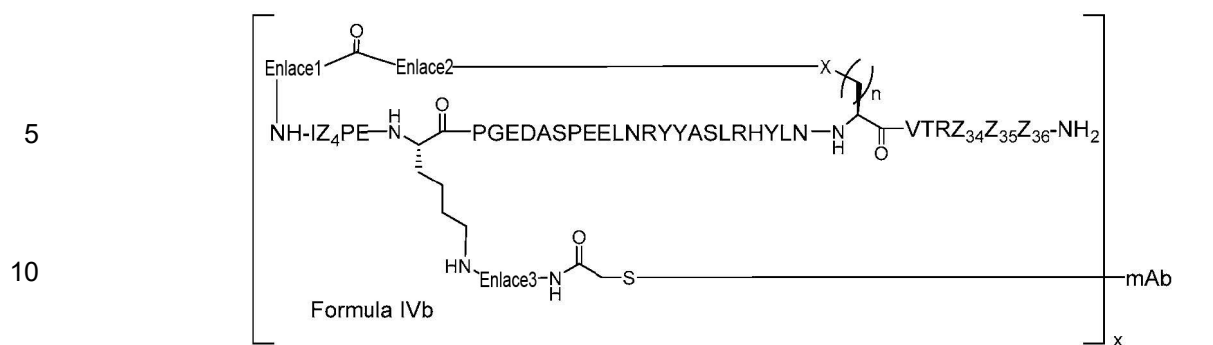
Un anticuerpo monoclonal o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una realización de la invención puede conjugarse con un péptido PYY cíclico en una o más posiciones de aminoácidos del PYY cíclico, como el residuo de aminoácido 4, 7, 9, 10, 11., 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 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

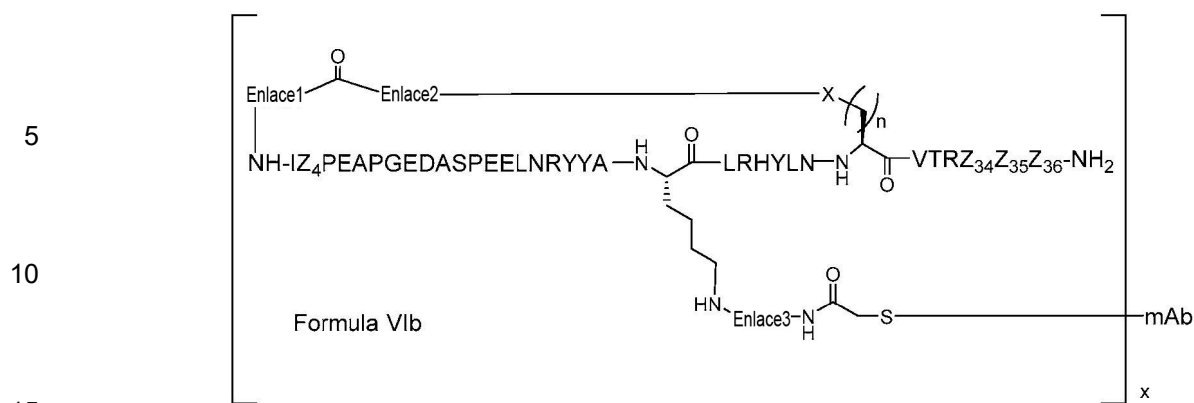
preferiblemente, el péptido PYY cíclico se selecciona del grupo que consiste de la SEQ ID NO: 1, las SEQ ID NO: 73-100 y las SEQ ID NO: 147-156. En una realización, el electrófilo se introduce directamente en la cadena lateral de un PYY cíclico. En otra realización, el electrófilo se introduce en la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

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

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.







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

x puede ser, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o 6, preferiblemente 2.

el enlace 1 puede ser, por ejemplo, G, β A, $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$, γ -aminobutanoilo, GG, $-\text{CO}(\text{CH}_2)_m\text{SCH}_2-$ (siempre que cuando el enlace 2 $=-\text{NH}-$, $m=1, 2$) 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;

X puede ser, por ejemplo, -S- o -CH₂-:

Z_3 puede ser, por ejemplo, 1 o un enlace;

Z_4 puede ser, por ejemplo, K , S , o R ;

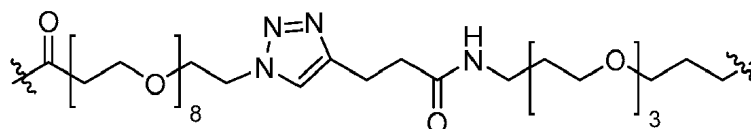
Z₃₀ puede ser, por ejemplo, L, W, K (mPEG16) o K (mPEG12);

Z₃₄ puede ser, por ejemplo, Q, en donde dicho Q está opcionalmente N-metilado en el nitrógeno de alfa-amida;

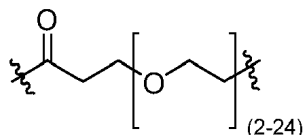
Z₃₅ puede ser, por ejemplo, R, en donde dicho R está opcionalmente N-metilado en el nitrógeno de alfa-amida, o R está descarbonilado dando como resultado un enlace psi-(Z₃₅Z₃₆) amida, o R está tanto N-metilado en el nitrógeno de alfa-amida y descarbonilado dando como resultado un enlace *psi*-(Z₃₅Z₃₆) 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

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



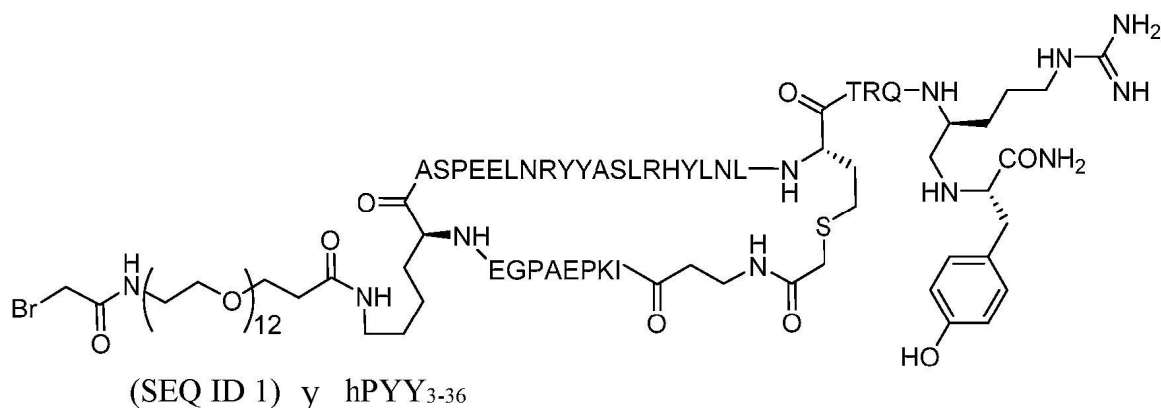
), una cadena de alquilo que contiene 2-10 átomos de carbono (incluyendo



), (Gly₄Ser)_j en donde j = 1-4, (AlaPro)_u donde u = 1-10, o-NH-Enlace 3- puede ser reemplazado por un enlace.

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 conjuga covalentemente con el mAb.

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 descarboxilado. Por consiguiente, en dicho ejemplo la identidad de secuencia es (34-3)/34 X 100.

Péptidos PYY cíclicos

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*.

En ciertas realizaciones de la invención, los péptidos PYY₃₋₃₆ modificados son péptidos PYY cíclicos. Los términos "péptido PYY cíclico", "análogo de PYY₃₋₃₆ cíclico" y "análogo de péptido PYY₃₋₃₆ cíclico" pueden usarse de manera intercambiable. Ejemplos de péptidos PYY cíclicos que pueden usarse en los conjugados se describen en la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 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.

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

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-(13-*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 metileno 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(y-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(y-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-olglutámico.

El término "K (y-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-olglutámico.

El término "K (y-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-olglutámico.

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-y-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-y-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-triazanonacontano-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.

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-hexadecaioxapentacontanoico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

35 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-dodecaoxaoctatriacontanoico a través de su funcionalidad de ácido 1-carboxílico.

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

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.

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-metil arginina 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 (dextrano, 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/aniónicas 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, gliceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaftoato, yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, pamoato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, tanato, tartrato, teocato, 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, sacarínico o trifluoroacético.

Las sales básicas/catiónicas 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, calcio, cloroprocaina, colina, ciclohexilamina, dietanolamina, etilendiamina, litio, L-lisina, magnesio, meglumina, N-metil-D-glucamina, piperidina, potasio, procaina, 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.

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, 21ª 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. Pueden usarse uno o más portadores farmacéuticamente aceptables para formular las composiciones farmacéuticas de la invención.

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.

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.

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.

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.

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

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.

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(hidroxitometil)-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.

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.

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-,

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 arabitól. 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-metiltoetanol, 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 zwitterónicos. 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.

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.

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.

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 dicitclohexilamino y sales con aminoácidos como arginina. Además, los grupos que contienen nitrógeno básico pueden cuaternizarse con, por ejemplo, haluros de alquilo.

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.

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.

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.

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.

En otra realización, la invención se refiere a los conjugados de la invención para su uso como un medicamento.

En general, los profármacos serán derivados funcionales de los conjugados que pueden convertirse fácilmente *in vivo* en el conjugado requerido. Por tanto, en los métodos de tratamiento, el término "administrar" abarcará el tratamiento de los varios trastornos descritos con el conjugado divulgado específicamente o con un conjugado que puede no ser divulgado específicamente, pero que se convierte en el conjugado especificado *in vivo* después de la administración al paciente. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación de derivados de profármacos adecuados se describen, por ejemplo, en "Design of Prodrugs", Ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

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 .

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 conformeros. Debe entenderse que todos estos conformeros y mezclas de los mismos están incluidos dentro del alcance de la presente invención.

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.

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.

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.

Métodos de uso

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.

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.

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), 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 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.

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

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.

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.

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.

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 un 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.

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.

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 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.

25 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.

30 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).

35 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, canaglifozin, dapaglifozin, empaglifozin, 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, glicopiramida, 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.

40 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), 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 de hígado graso no alcohólico (NAFLD),

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

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).

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.

EJEMPLOS

SÍNTESIS

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.

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. Ejemplos de agentes de condensación que se utilizan típicamente para la formación de enlaces peptídicos incluyen diisopropilcarbodiimida (DIC) con o sin 1-hidroxibenzotriazol (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-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrame, tilaminio (HATU), hexafluorofosfato de 2-(6-cloro-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilaminio (HCTU), hexafluorofosfato de 1-ciano-2-etoxi-2-oxoetilideneaminox-tris-pirrolidino-fosfonio (PyOxim), tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametilaminio (TBTU), hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidino-fosfonio (Py-BroP), y similares.

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).

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 amide MBHA, resina amide AM, resina Tentagel S RAM, resina Fmoc-PAL-PEG PS, resina de amida Spheri-Tide 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-metiltritol (Mtt) o 4-metoxitritol (Mmt), ambos

5 pudiéndose eliminar mediante tratamientos de ácido trifluoroacético (TFA)/diclorometano (DCM) al 1%, o preferiblemente aliloxicarbonilo (aloc; que puede eliminarse mediante tratamiento con $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (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; tritilo (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).

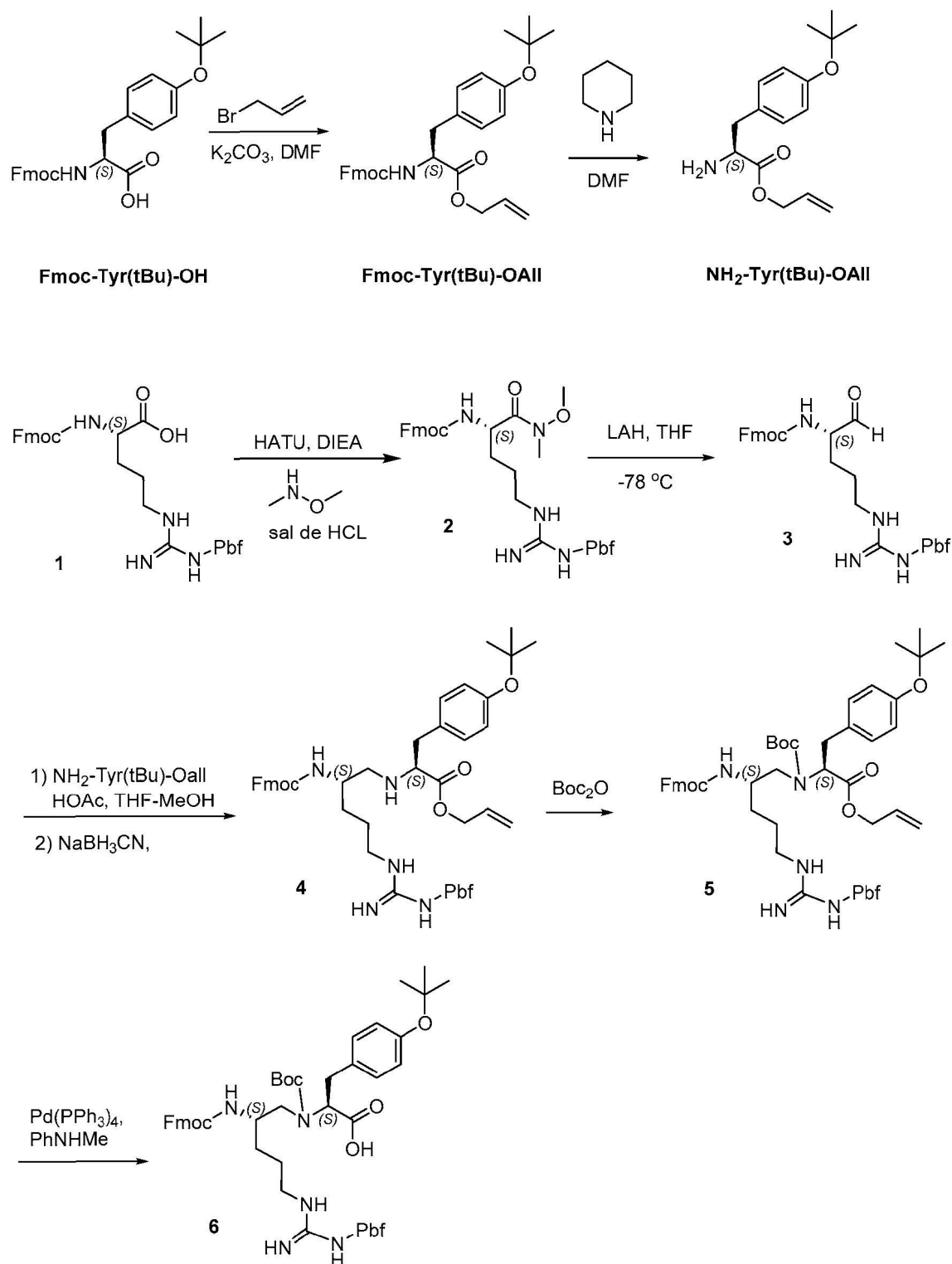
15 Una vez completado el SPPS, el péptido protegido de cadena lateral unido a resina se desprotege y se escinde concomitantemente de la resina usando un cóctel de escisión que consiste predominantemente de (TFA) junto con varias combinaciones de captadores de carbocatión, como triisopropilsilano (TIPS), 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).

30 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.

ESQUEMAS GENERALES

40 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 N° 62/413.613, presentada el 27 de octubre de 2016 y la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° _____, titulada "Cyclic peptide tyrosine compounds as modulators of neuropeptide receptors", presentada el mismo día que esta solicitud con el expediente de representante N° 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

Esquema 14. Síntesis de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-(N-Boc)Tyr(tBu)]-OH**1. 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 2 l). 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 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-*tert*-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 amarillento. 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 ta 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.

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

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 ta seguido de 15 min a 50° C, y se acopló doblemente Fmoc-His(Trt)-OH usando un protocolo de dos etapas: 4 min a ta seguido de 8 min a 50° C.

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

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.

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

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.

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

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.

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

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.

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.

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

El péptido bruto anterior se disolvió en MeCN/agua 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 ta 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 ta 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 XR_S C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μ m). 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 µm, 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 H₂N-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-Resina PEG

La resina de peptidilo 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*-BrCH₂PhCOHN-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNL(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*-BrCH₂PhCOHN-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNL(hC) TRQRY-CONH₂: 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 (H₂N)-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNL-(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(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNL-(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 $(\text{HCCH}(\text{CH}_2)_2\text{CONH})\text{-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNL-(azido-norLeu)-TRQRYPAL-CONH}_2$

La resina anterior se trató con 10 ml de cóctel de escisión que consistía de TFA/Dodt/ H_2O /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. 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.

4. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 3

Preparar 7 mg de CuSO_4 en 2 ml de H_2O 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 CuSO_4 y 4,8 ml de solución de TBTA. Preparar 30 mg de ascorbato de Na en 3 ml de H_2O desoxigenada.

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 CuSO_4 /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 puras se combinaron y luego se liofilizaron para dar el producto como un sólido similar al algodón.

Ejemplo 4: Síntesis del análogo de PYY cíclico

SEQ ID NO: 41. Síntesis de $(\text{Dde})\text{K}(\text{NH}_2)\text{ASPEELNRYASLRHYLNL}(\text{hc})\text{TRQRY-PAL-Resina PEG}$

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

2. Síntesis de $(\text{Dde})\text{K}(\text{NH-Glu-(OtBu)NH}_2)\text{ASPEELNRYASLRHYLNL}(\text{hc})\text{TRQRY-PAL-Resina PEG}$

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.

3. Síntesis de $(\text{Dde})\text{K}(\text{NH-Glu-(OtBu)NH-Pal})\text{ASPEELNRYASLRHYLNL}(\text{hc})\text{TRQRY-PAL-Resina PEG}$

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.

4. Síntesis de $(\text{H}_2\text{N})\text{K}(\text{NH-Glu-(OtBu)NH-Pal})\text{ASPEELNRYASLRHYLNL}(\text{hc})\text{TRQRY-PAL-Resina PEG}$

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.

5. Síntesis de $(\text{H}_2\text{N})\text{IKPEAPGEK}(\text{NH-Glu-(OtBu)NH-Pal})\text{ASPEELNRYASLRHYLNL}(\text{hc})\text{TRQRY-PAL-Resina PEG}$

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

6. Análogo de PYY cíclico SEQ ID NO: 4

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 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 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)-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNK(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)-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNK(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)-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNK(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)-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNK(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 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 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 μm) 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-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNL(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-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNL(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 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 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 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 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.

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.

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-oxoicosanoico (disponible de Key Organics, Inc.) en lugar de ácido octadecanodioico, mono-terc-butyl 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.

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.

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.

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.

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.

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-βAla-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.

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-A β u-OH en lugar de Fmoc-Ile-OH en la posición 3, y acoplado 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.

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-butilico. 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 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, 100Å, 5 μ m) 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 mpm) durante 5 min, y luego a una concentración final del 45% de B (40 mpm) 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 mpm) 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 XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) 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.

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 mpm) 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-βAla-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**. Se omitió el tratamiento modificado del **Ejemplo 19**. Se acopló Fmoc-βAla-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.

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.

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-βAla-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.

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-tocoferiloxiacético (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 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) 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.

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

1. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNK(Dde)-(azido-norLeu)-TRQ(ψi-R35Y36)-Resina Sieber

Se llevaron a cabo extensiones de aminoácidos sobre (ψi-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).

2. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNK(NH₂)-(azido-norLeu)-TRQ(ψi-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.

3. Síntesis de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNK((OEG)₂-γ-Glu-Pal)-(azido-norLeu)-TRQ(ψi-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)-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNK((OEG)₂-γ-Glu-Pal)-(azido-norLeu)-TRQ(ψi-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. Después 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 de 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(ψi-R35Y36)-Resina Sieber

Se llevaron a cabo extensiones de aminoácidos sobre (ψi-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(ψi-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(ψi-R35Y36)-Resina Sieber

El grupo protector alloc 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

El compuesto del título se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el **Ejemplo 43**, modificado de tal manera que las unidades en tándem 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

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 tándem 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

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 bruto 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

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

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 cromatografiar 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 tándem 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 tándem 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 tándem 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 (NH 10 mM₄ OH en agua, pH 9) y Tampón B (MeCN) en un intervalo del 10-28% de B (100 mpm) durante 40 min.

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-diclorofenoxi)fen-4-il]propiónico 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 mpm) 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 mpm) a una concentración final del 45% de B (40 mpm) durante 45 min.

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 mpm) durante 40 min.

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 palmítico 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 mpm) durante 36 min.

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 tándem 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 mpm) 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 mpm) 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 10-28% de B (100 mpm) durante 40 min.

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

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.

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

El compuesto del título se preparó siguiendo los procedimientos descritos en el **Ejemplo 11**, sustituyendo ácido 16-etoxipalmitico 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.

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

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-palmitico (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.

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

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.

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

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*-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 15-35% de B (100 mpm) durante 40 min.

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

1. Síntesis de (Fmoc)- β A-IKPEAPGEK(Alloc)ASPEELNRYASLRHYLNCVTRQ(*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 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).

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

ASPEELNRYASLRHYLNCVTRQ(*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)-βA-IKPEAPGEK((OEG)₂-γ-Glu-NHCO(CH₂)₁₆CO₂tBu)-ASPEELNRYASLRHYLNCVTRQ(*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)-βA-IKPEAPGEK((OEG)₂-γ-Glu-NHCO(CH₂)₁₆CO₂tBu)-ASPEELNRYASLRHYLNCVTRQ(*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. Después 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 puras 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)ASPEELNRYASLRHYLNLE(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)ASPEELNRYASLRHYLNLE(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)ASPEELNRYASLRHYLNLE(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. Después 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 puras 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)ASPEELNRYASYLRHYLNE(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.

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.

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-triazatetracontan-1-oico**

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-triazatetracontan-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.

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

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.

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

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

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

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

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

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. Después 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 mpm, 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. Después 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 mpm, monitorizando una longitud de onda de 214 nm, con un gradiente que variaba del 10 al 60% de ACN-agua/agua, ambos con TFA al 0,1% durante 36 minutos). La fracción deseada se recogió y liofilizó.

Después 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.

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.

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.

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.

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.

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

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

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

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

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

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

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) e IGHJ1*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) e IGKJ1*01 (PubMed ID: J00242) (SEQ ID NO: 136), con la única diferencia siendo de una desviación en la unión del gen V/gen J.

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 PH9H5/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.

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 (OXM) (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.

Manipulación de Fc de MSCB33

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 aleloIGHG4*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.

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.

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

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.

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.

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

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.

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

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 prepara 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 transfectan 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° C y 8% de CO₂, y dividiendo cuando la concentración de células está 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 Centrimate. 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 diálisis, el mAb se filtra de nuevo (filtro de 0,2 μm) 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; N° 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, N° 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 N° 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 Centrimate. 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 μm) 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 (Pyrotel®-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.

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, (NH₄)₂SO₄ 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, (NH₄)₂SO₄ 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.

Tabla 1: Datos analíticos para conjugados PYY-mAb.

Nº de Compuesto	Conjugación	MS (calculado) Da	MS (encontrado) Da	% de pureza SEC	% de pureza HIC
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
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
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
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
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
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
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 transfectaron 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 estreptomycin, 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/estreptomycin 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 transfectaron 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 x 10⁶ 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 µl/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-piperazinetanosulfónico), 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 (EC ₅₀ nM)				Potencia entre especies (EC ₅₀ 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						

(continuación)

Nº de compuesto	EC50 humana (nM)				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 (~5° 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 -80° 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 inmunoafinidad 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 inmunoafinidad 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
12	63,5
13	74,4
14	102
15	N/A
16	96
17	
18	77
19	87,4
20	74,4
21	85,8
22	
23	
24	
25	81,5
26	71,9

Ejemplo 107: Farmacocinética (PK)PK del ratón DIO

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).

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 µl 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 µl) se recogieron en tubos Sarstedt Microvette® recubiertos con K3E (EDTA) que contenían 12 µl (proporción del 4%) de solución inhibidora de proteasa completa y 3 µl (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.

PK de rata

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 µl 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 µl (proporción del 4%) de solución inhibidora de proteasa completa y 5 µl (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 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.

PK de mono Cynomolgus (Cyno)

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 DPP-IV. Las muestras de

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.

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

Las muestras de plasma se procesaron mediante captura de inmunoafinidad 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 deconvolucionaron 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.

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

Ejemplo 108: Estudios de eficacia *in vivo*

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

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.

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).

Pérdida de peso en ratones obesos inducidos por dieta: 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 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.

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 \pm SEM (Figura 7, Figura 8 y Tablas 8-11).

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)
Día	n/a	0,1	0,3	1,0	3,0	0,3
-1	46,3 \pm 0,6	46,3 \pm 0,6	46,7 \pm 0,8	46,3 \pm 0,6	46,3 \pm 0,6	46,3 \pm 0,6
0	46,1 \pm 0,7	46,0 \pm 0,6	46,8 \pm 0,7	46,3 \pm 0,6	46,3 \pm 0,6	45,9 \pm 0,6
1	45,8 \pm 0,7	45,0 \pm 0,6	45,2 \pm 0,7	43,9 \pm 0,5	43,9 \pm 0,6	44,1 \pm 0,6
2	45,2 \pm 0,7	43,9 \pm 0,6	43,6 \pm 0,7	42,4 \pm 0,7 *	41,8 \pm 0,7 *	42,2 \pm 0,6 *
3	45,1 \pm 0,7	43,9 \pm 0,6	42,8 \pm 0,6	41,0 \pm 0,6 *	40,1 \pm 0,6 *	40,6 \pm 0,6 *
4	44,7 \pm 0,7	43,4 \pm 0,6	42,0 \pm 0,6	39,9 \pm 0,6 *	38,5 \pm 0,6 *	39,3 \pm 0,6 *
5	44,5 \pm 0,7	43,0 \pm 0,6	41,5 \pm 0,5 *	39,1 \pm 0,6 *	36,8 \pm 0,7 *	38,1 \pm 0,7 *
6	44,5 \pm 0,7	43,1 \pm 0,6	41,4 \pm 0,5 *	38,6 \pm 0,6 *	35,5 \pm 0,8 *	37,1 \pm 0,8 *
7	44,3 \pm 0,7	43,1 \pm 0,7	41,3 \pm 0,5 *	38,2 \pm 0,6 *	34,8 \pm 0,9 *	36,4 \pm 1,0 *
8	45,2 \pm 0,6	46,3 \pm 0,7	41,9 \pm 0,5 *	38,8 \pm 0,6	34,7 \pm 1,0 *	36,5 \pm 1,1 *

Los valores representan la media \pm 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 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	120		
Vehículo	N/A	148 ± 6	227 ± 15	272 ± 12	206 ± 9	209 ± 13	26492 ± 1232	8702 ± 1082
Comp. 1	0,1	151 ± 4	213 ± 9	249 ± 10	186 ± 11	194 ± 15	24598 ± 849	6433 ± 677
	0,3	137 ± 6	191 ± 11	208 ± 10 *	146 ± 8 *	160 ± 8 *	20786 ± 728 *	4379 ± 364 *
	1.0	117 ± 5	146 ± 9 *	203 ± 10 *	135 ± 8 *	136 ± 5 *	18285 ± 769 *	4319 ± 522 *
	3.0	73 ± 11 *	129 ± 5 *	149 ± 10 *	93 ± 9 *	101 ± 9 *	137032 ± 913 *	5004 ± 585
Dulaglutida	0,3	76 ± 9 *	151 ± 14 *	174 ± 17 *	104 ± 10 *	119 ± 9 *	15758 ± 1054 *	6668 ± 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)	Tiempo después de la prueba de glucosa (min)			AUC total (mg/dl/120 min)
		0	30	90	
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).

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	Vehículo	Compuesto 1 (nmol/kg)				
		0,1	1.0	n/A	0,1	1.0
		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 ^A	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 ^A	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 ^A	0,3 ± 0,1 ^A
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 ^A
8	2,9 ± 0,2	2,2 ± 0,1 ^A	2,3 ± 0,1 *	1,8 ± 0,1 *	1,4 ± 0,1 *	0,5 ± 0,2 ^A
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 ^A

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	Vehículo	Compuesto 1 (nmol/kg)				
		0,1	1.0	n/a	0,1	1.0
		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	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	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		Compuesto 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
		Liraglutida (nmol/kg)				
	Vehículo	n/a	n/a	10,0	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 trataron 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 \pm 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 \pm 0,7	28,6 \pm 1,0	29,4 \pm 0,7	29,7 \pm 0,8	87,7 \pm 1,6
Compuesto 1	0,1	25,9 \pm 1,0	27,6 \pm 1,0	29,1 \pm 1,0	29,1 \pm 1,0	85,7 \pm 2,7
	0,3	24,3 \pm 0,7	25,8 \pm 1,1	27,2 \pm 1,3	27,9 \pm 0,9	80,9 \pm 2,7
	1	27,0 \pm 1,1	23,7 \pm 0,6 *	25,0 \pm 2,0 *	27,1 \pm 0,9	75,8 \pm 3,2 *
	3	27,0 \pm 0,8	19,6 \pm 1,4 *	19,1 \pm 1,0 *	23,6 \pm 1,0 *	62,3 \pm 2,5 *
Dulaglutida	0,3	26,6 \pm 0,8	27,3 \pm 1,2	30,0 \pm 0,7	30,1 \pm 0,7	87,4 \pm 2,0

Los valores representan la media \pm 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 \pm 4,9	271,6 \pm 4,7	281,2 \pm 5,0	289,5 \pm 5,3	299,0 \pm 5,9
Compuesto 1	0,1	266,0 \pm 2,3	274,1 \pm 2,9	284,3 \pm 2,7	293,3 \pm 2,8	301,4 \pm 2,8
	0,3	264,9 \pm 3,6	270,8 \pm 3,8	278,2 \pm 4,5	285,9 \pm 4,8	294,3 \pm 4,9
	1	266,5 \pm 3,6	276,1 \pm 3,7	280,9 \pm 3,7	287,1 \pm 4,5	294,3 \pm 4,1
	3	265,1 \pm 3,6	272,7 \pm 3,4	274,8 \pm 3,8	275,7 \pm 3,4 *	282,1 \pm 3,7 *
Dulaglutida	0,3	264,0 \pm 3,1	270,3 \pm 3,0	280,8 \pm 4,2	292,47 \pm 3,6	299,0 \pm 3,3

Los valores representan la media \pm 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 \pm 1,5	0,0 \pm 0,0	9,6 \pm 1,5	18,0 \pm 1,4	27,4 \pm 1,8
Compuesto 1	0,1	-8,2 \pm 0,9	0,0 \pm 0,0	10,2 \pm 1,6	19,1 \pm 1,0	27,3 \pm 1,4
	0,3	-5,9 \pm 0,9	0,0 \pm 0,0	7,3 \pm 1,1	15,1 \pm 1,1	23,4 \pm 1,7
	1	-9,7 \pm 0,8	0,0 \pm 0,0	4,7 \pm 0,8 *	11,0 \pm 1,4 *	18,2 \pm 1,0 *
	3	-7,6 \pm 1,4	0,0 \pm 0,0	2,2 \pm 1,6 *	3,0 \pm 1,5 *	9,4 \pm 1,9 *
Dulaglutida	0,3	-6,3 \pm 0,8	0,0 \pm 0,0	10,6 \pm 1,6	22,5 \pm 0,8	28,7 \pm 0,6

Los valores representan la media \pm 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 sc 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 \pm 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 \pm SEM (Tablas 21-22 y Figuras 11 y 12).

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 \pm 15			
1	160 \pm 9	149 \pm 12	117 \pm 18	50 \pm 11
2	167 \pm 19	149 \pm 14	72 \pm 14	13 \pm 5
3	175 \pm 13	94 \pm 16	72 \pm 12	15 \pm 10
4	196 \pm 14	181 \pm 13	86 \pm 14	34 \pm 17
5	166 \pm 15	101 \pm 12	77 \pm 8	34 \pm 12
6	180 \pm 14	99 \pm 27	91 \pm 12	
7	146 \pm 12	73 \pm 11	75 \pm 4	
8			97 \pm 12	
9			118 \pm 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 \pm 0,9
Compuesto 1	0,01	15,9 \pm 0,9
	0,03	15,7 \pm 0,9
	0,015	15,4 \pm 0,8 *
	0,015	15,0 \pm 0,8 *
Los valores representan la media + SEM para los datos de 8 animales por grupo		
*p<0,05, frente a vehículo		

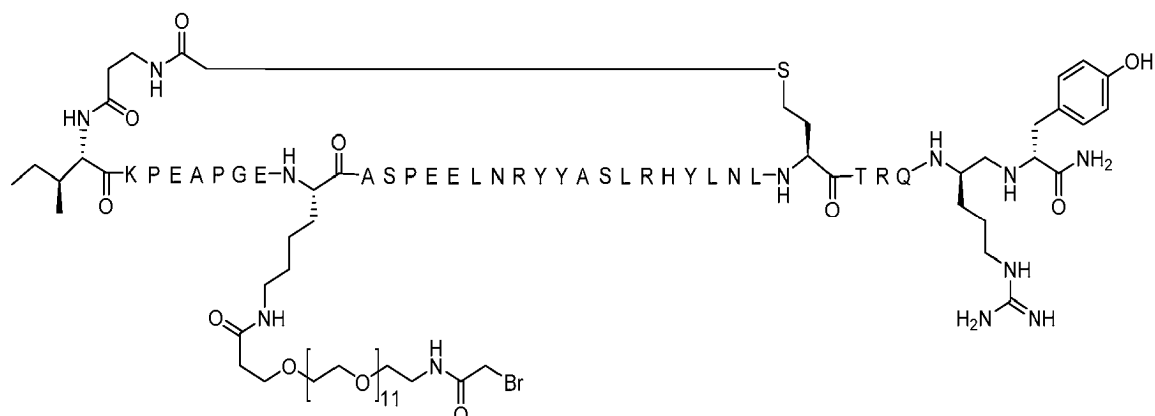
ANOVA unidireccional RM, prueba de comparación múltiple de Dunnett

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

SEQ ID NO: 1

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(35R,36Y)]-PYY2-36

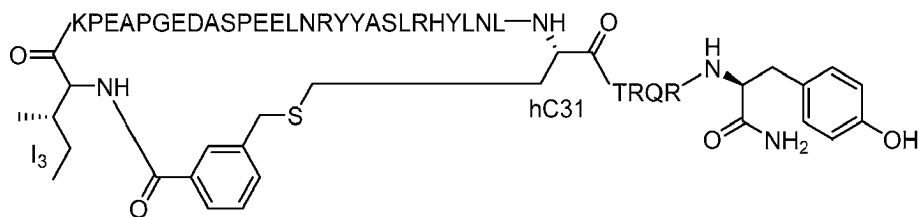
Estructura:



SEQ ID NO: 2

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

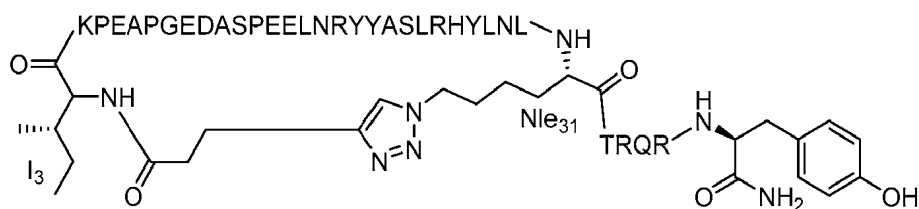
Estructura:



SEQ ID NO: 3

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

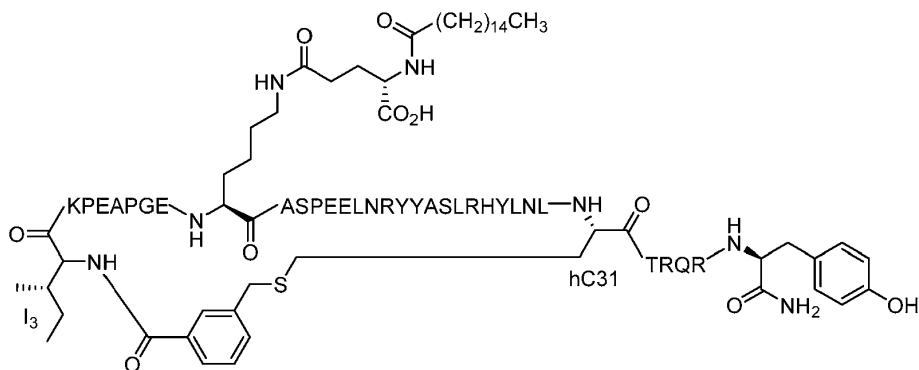
Estructura:



SEQ ID NO: 4

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

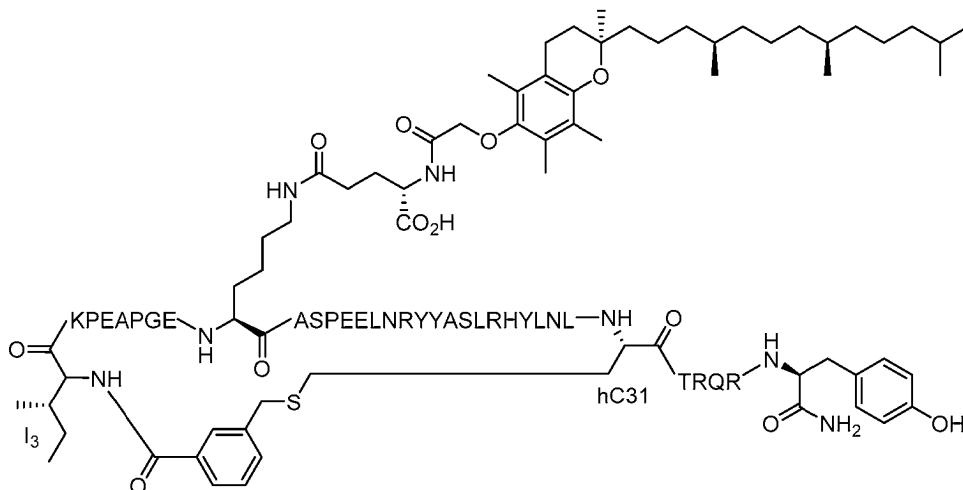
Estructura:



SEQ ID NO: 5

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

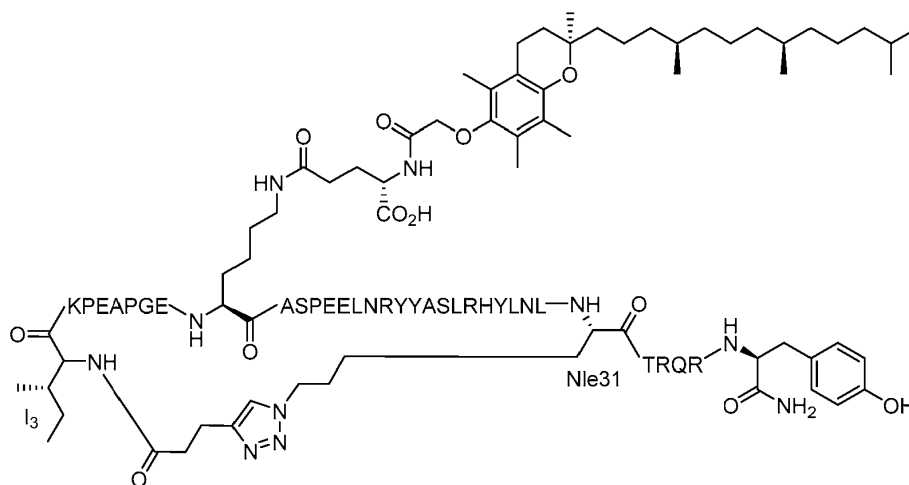
Estructura:



SEQ ID NO: 6

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

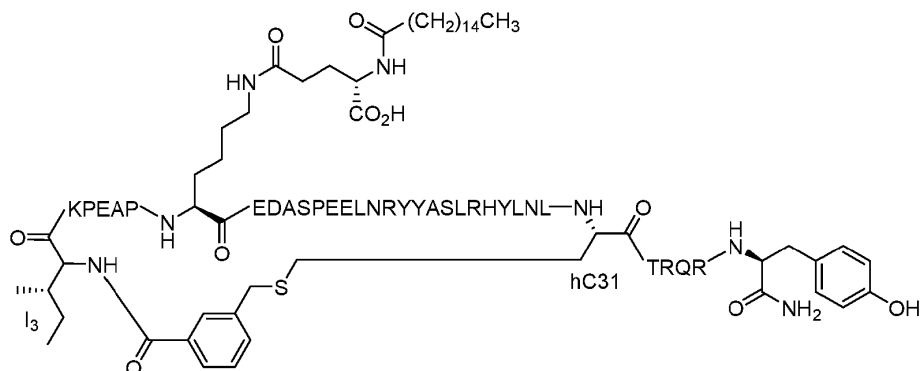
Estructura:



SEQ ID NO: 7

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

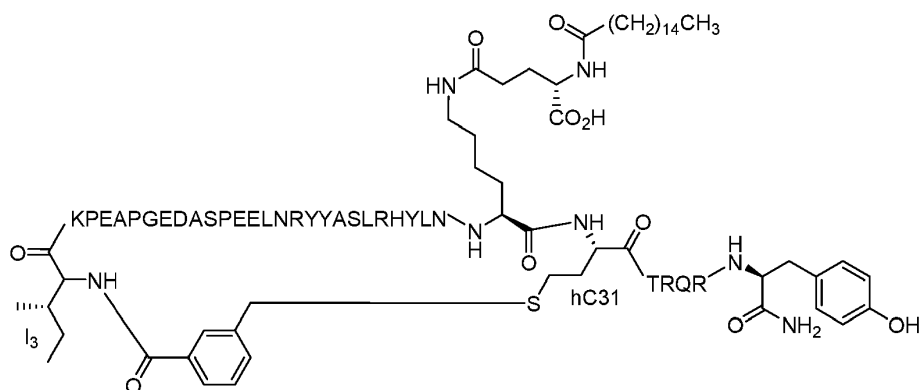
Estructura:



SEQ ID NO: 8

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

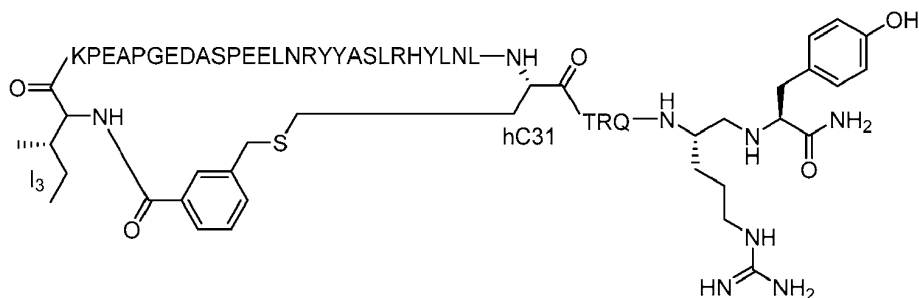
Estructura:



SEQ ID NO: 9

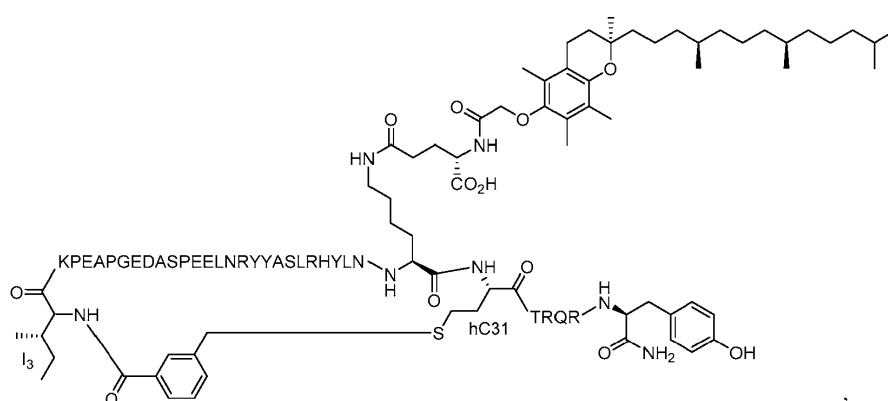
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), psi-(R35Y36)]-PYY3-36

Estructura:



SEQ ID NO: 10

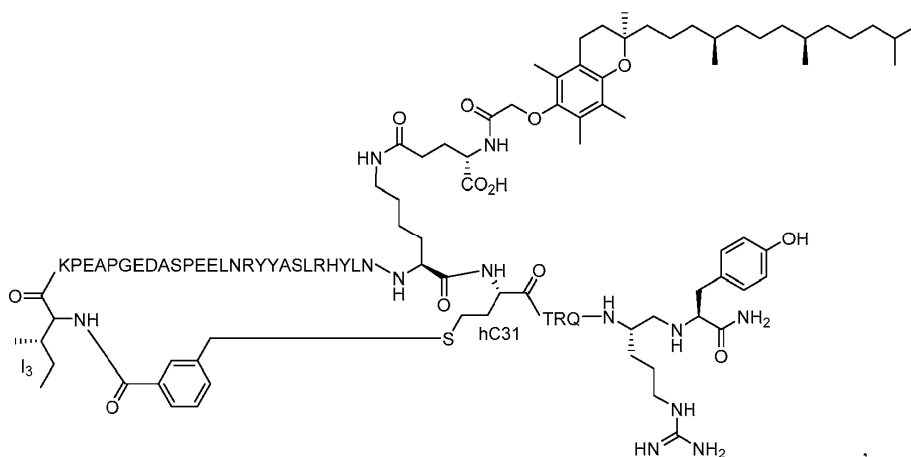
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-AcVitE)30]-PYY3-36 Estructura:



SEQ ID NO: 11

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

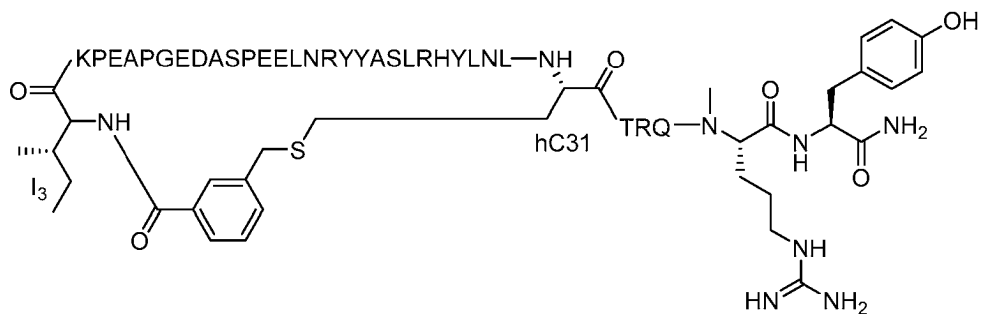
Estructura:



SEQ ID NO: 12

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), (N-Me-R35)]-PYY3-36

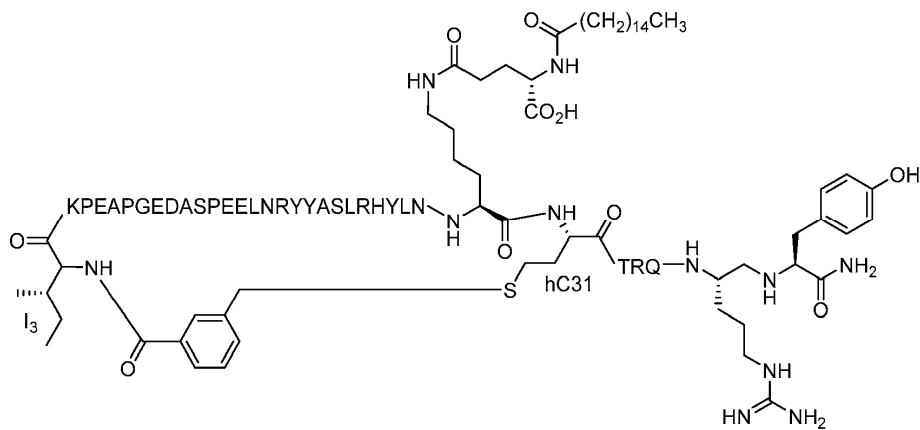
Estructura:



SEQ ID NO: 13

Nombre: [ciclo-(13-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

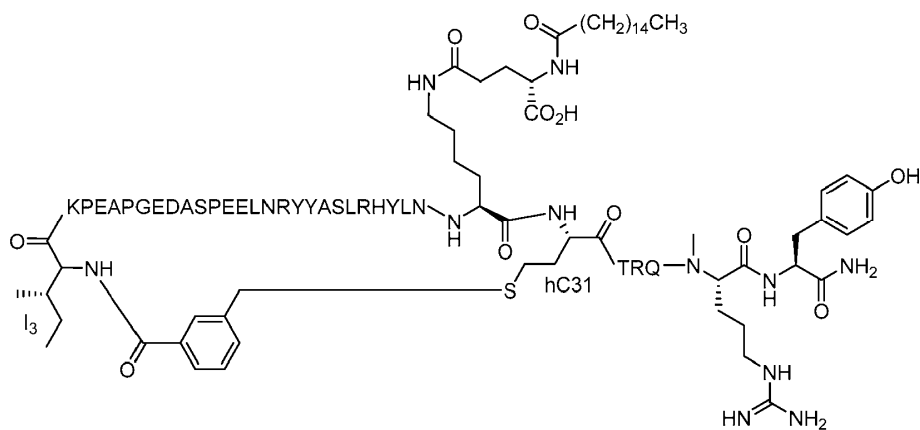
Estructura:



SEQ ID NO: 14

Nombre: [ciclo-(13-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36

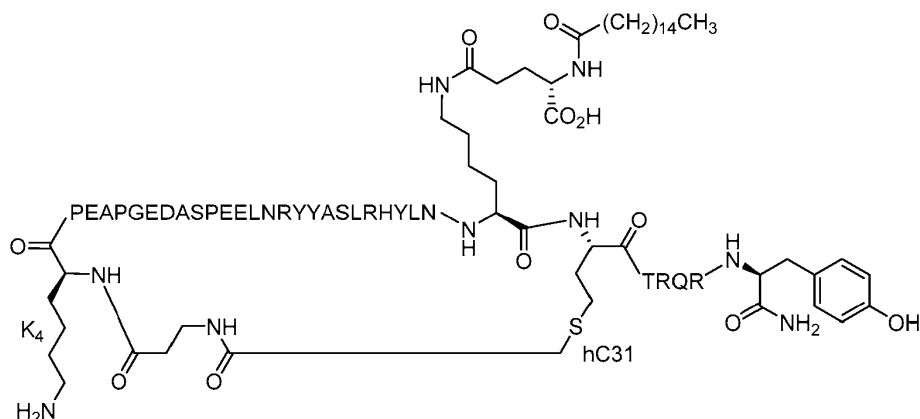
Estructura:



SEQ ID NO: 15

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

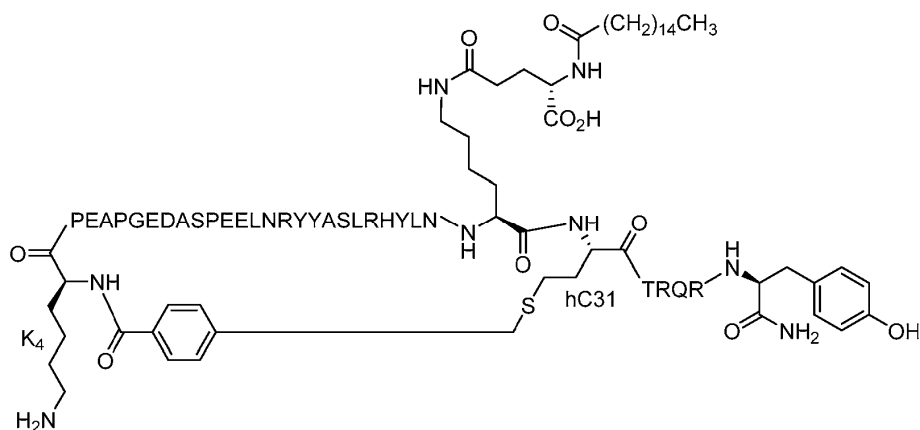
Estructura:



SEQ ID NO: 16

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

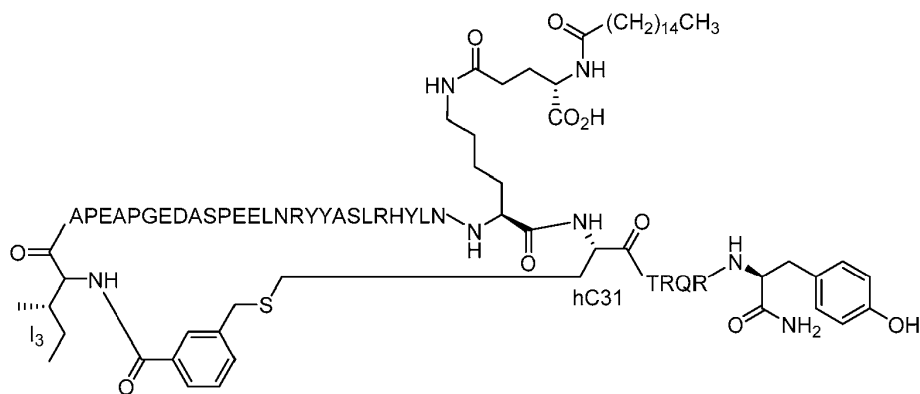
Estructura:



SEQ ID NO: 17

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), A4, K(γ-Glu-Pal)30]-PYY3-36

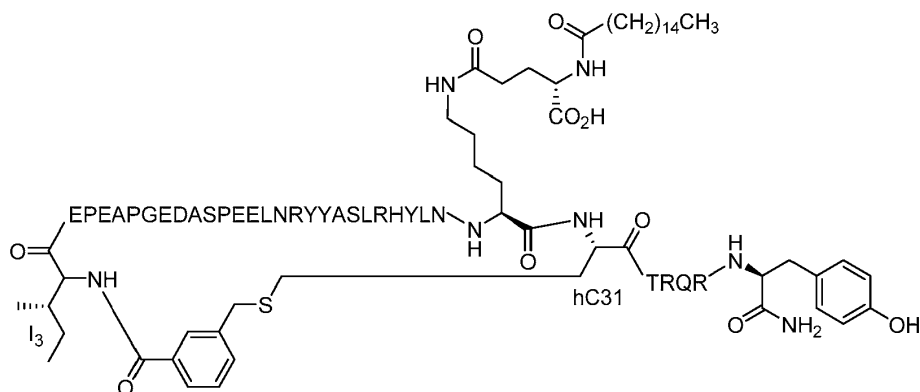
Estructura:



SEQ ID NO: 18

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), E4, K(γ-Glu-Pal)30]-PYY3-36

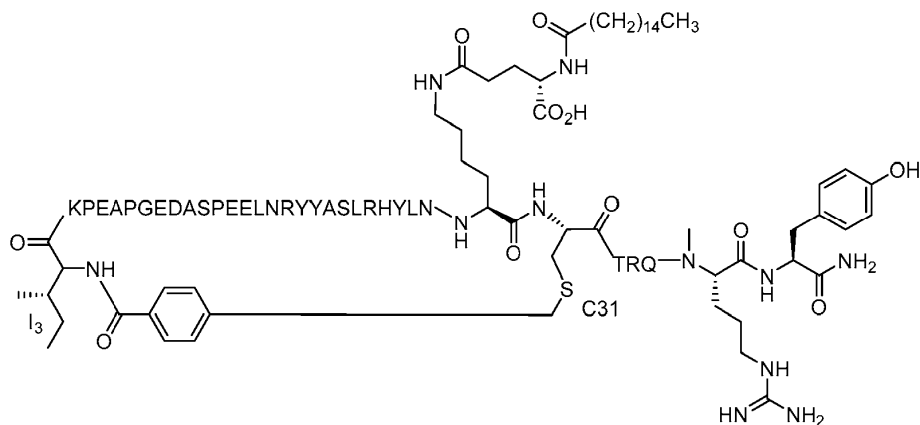
Estructura:



SEQ ID NO: 19

Nombre: [ciclo-(I3-*p*-COPhCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36

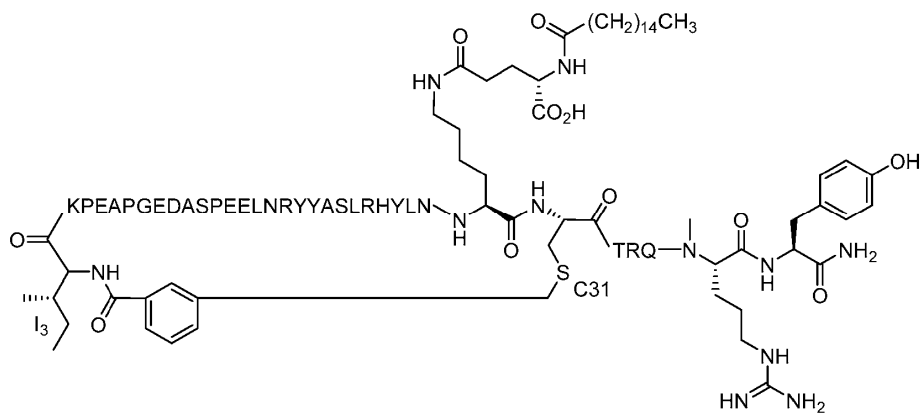
Estructura:



SEQ ID NO: 20

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36

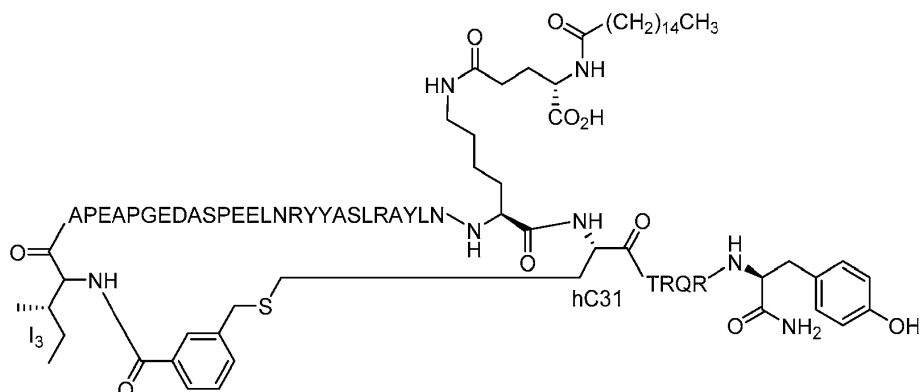
Estructura:



SEQ ID NO: 21

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

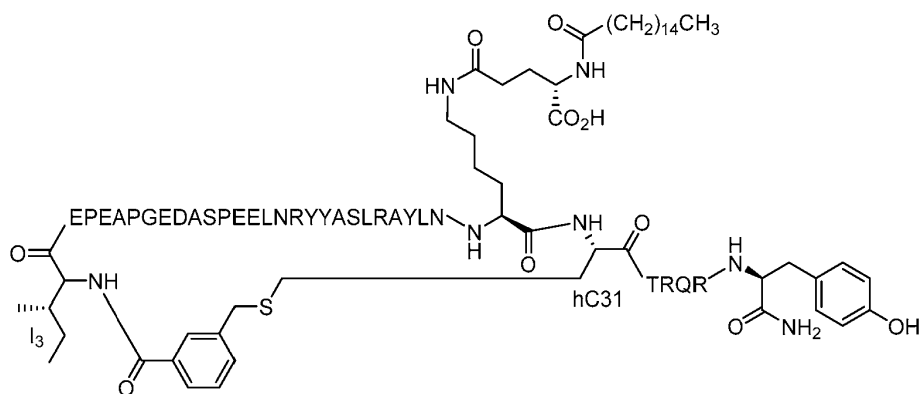
Estructura:



SEQ ID NO: 22

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), E4, A26, K(γ -Glu-Pal)30]-PYY3-36

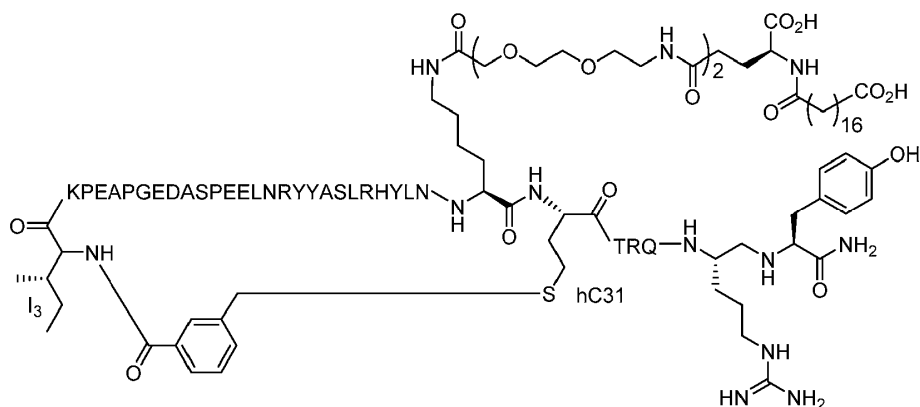
Estructura:



SEQ ID NO: 23

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

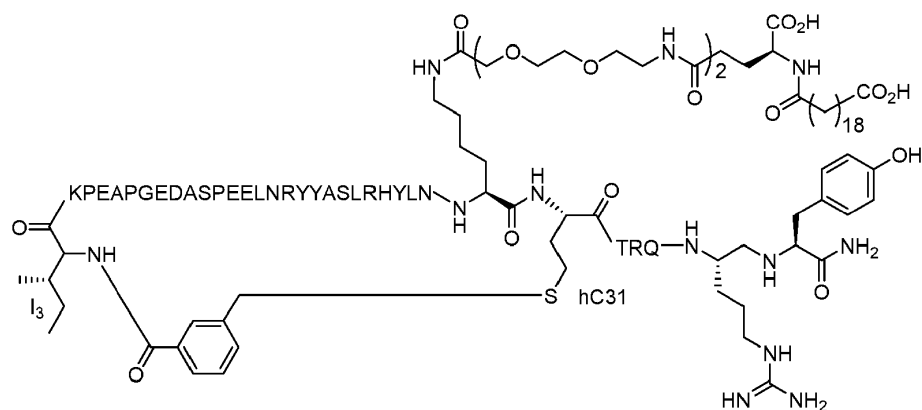
Estructura:



SEQ ID NO: 24

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂- γ -Glu-COC₁₈CO₂H)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

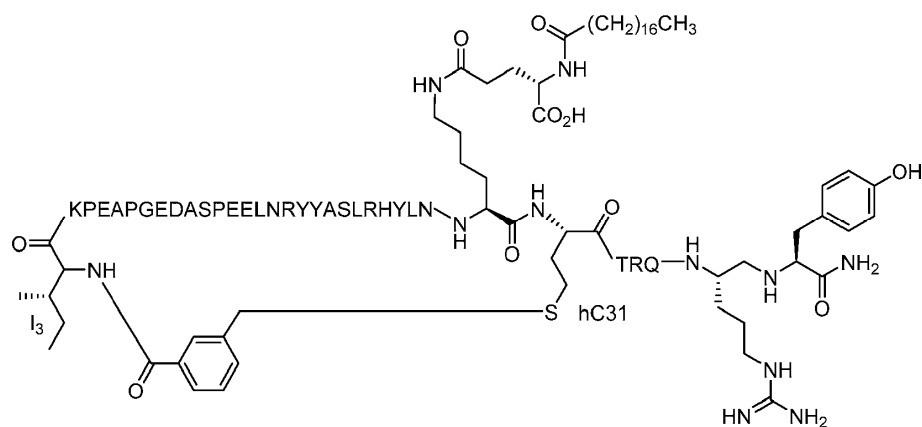
Estructura:



SEQ ID NO: 25

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

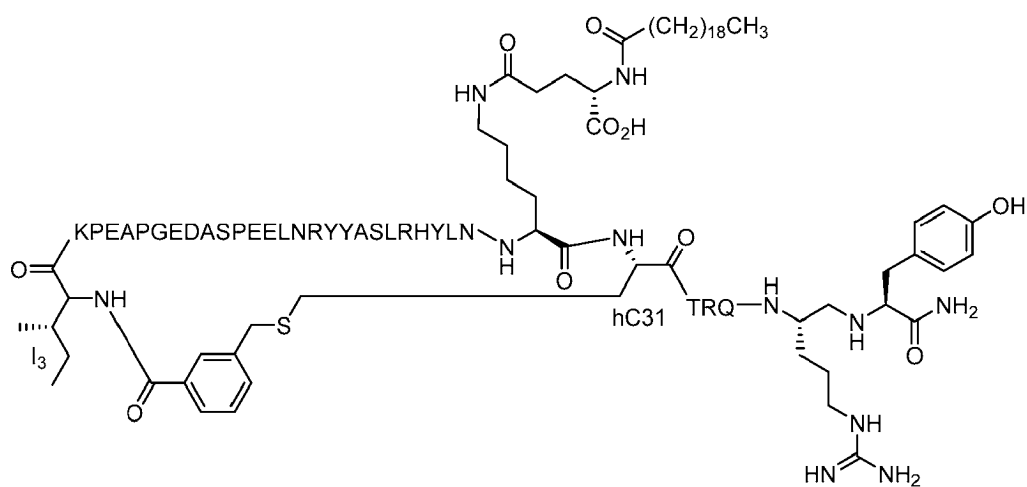
Estructura:



SEQ ID NO: 26

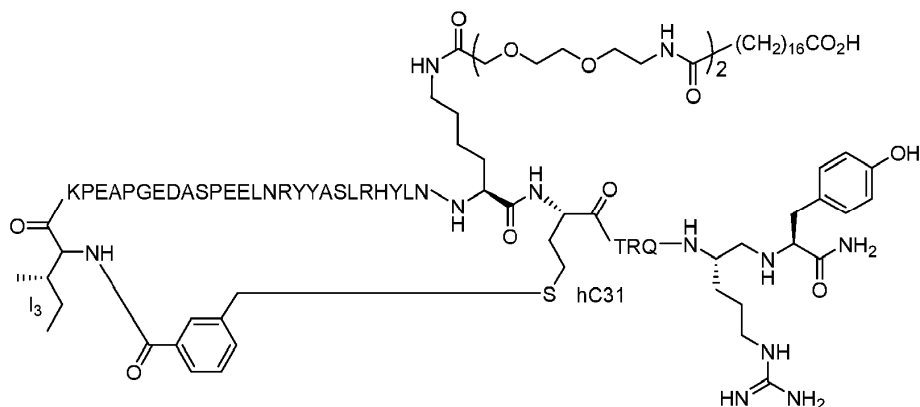
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Arach)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Estructura:



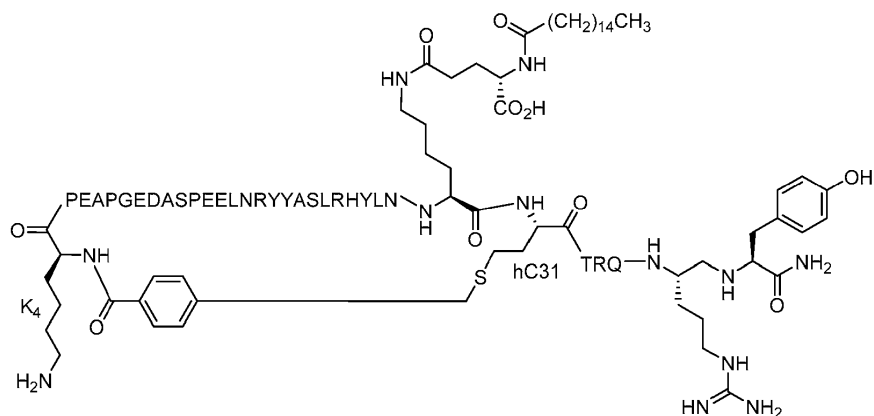
SEQ ID NO: 27

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



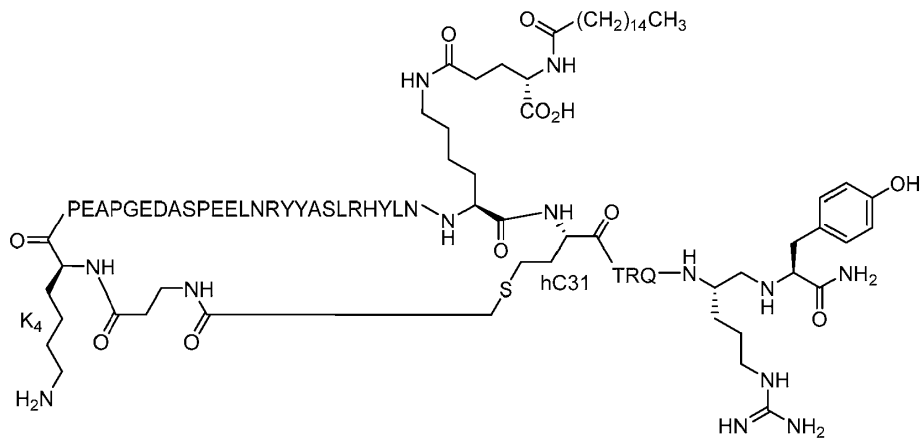
SEQ ID NO: 28

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



SEQ ID NO: 29

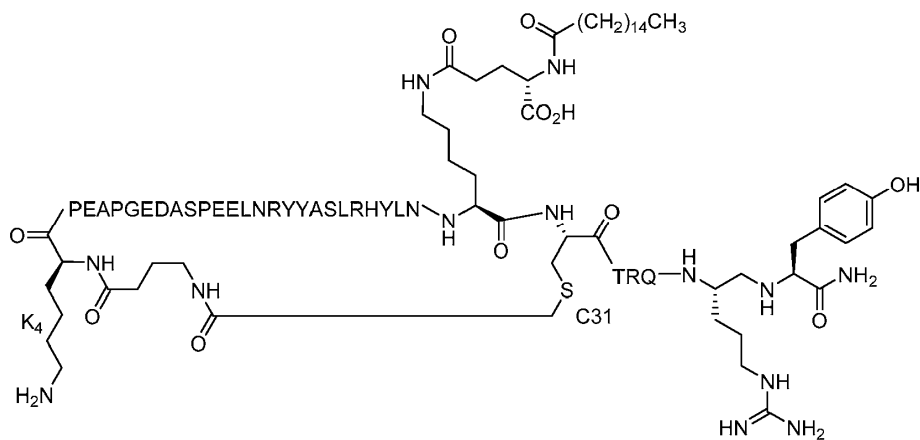
Nombre: [ciclo-(K4-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36
Estructura:



SEQ ID NO: 30

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

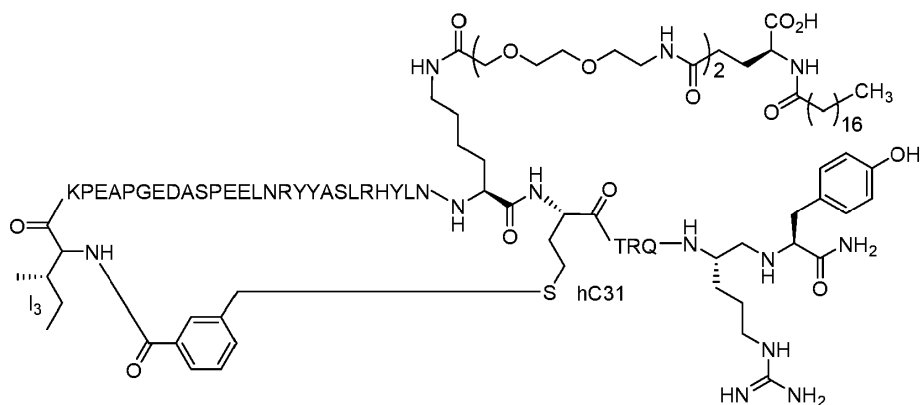
Estructura:



SEQ ID NO: 31

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

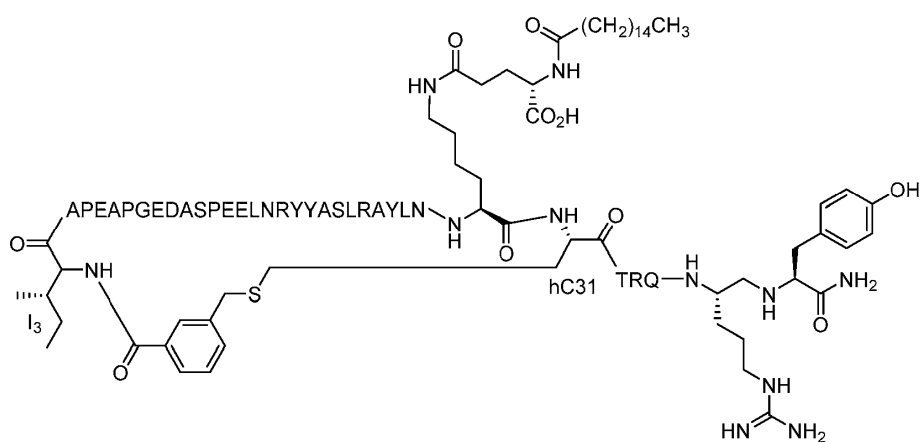
Estructura:



SEQ ID NO: 32

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

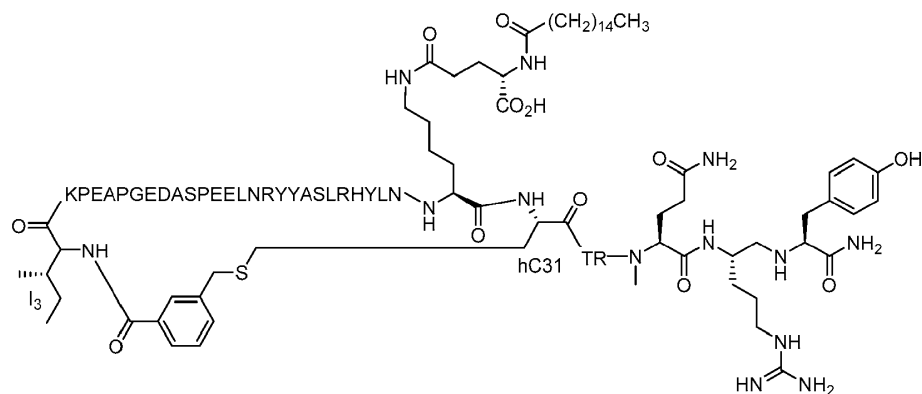
Estructura:



SEQ ID NO: 33

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

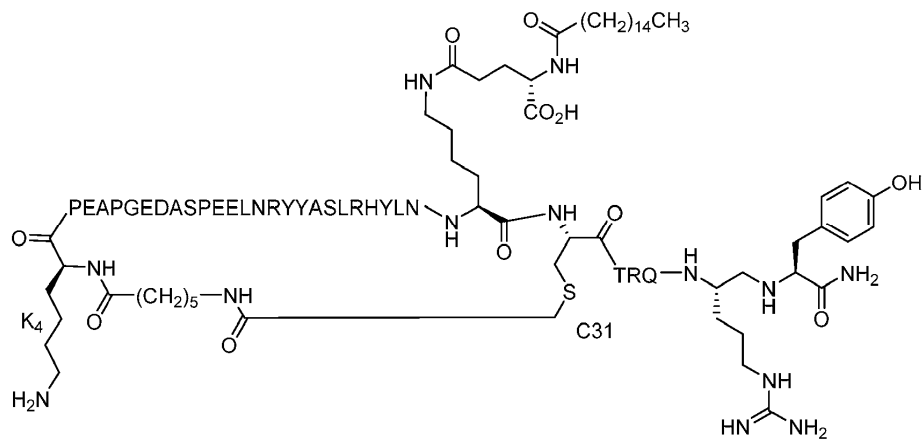
Estructura:



SEQ ID NO: 34

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

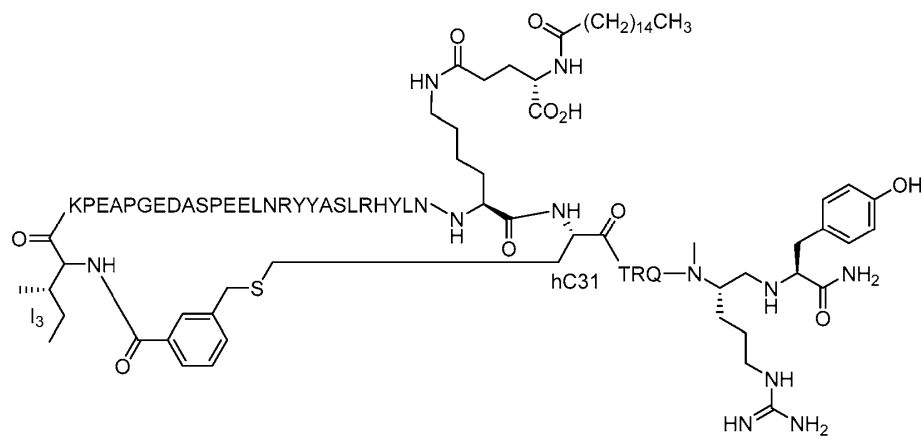
Estructura:



SEQ ID NO: 35

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

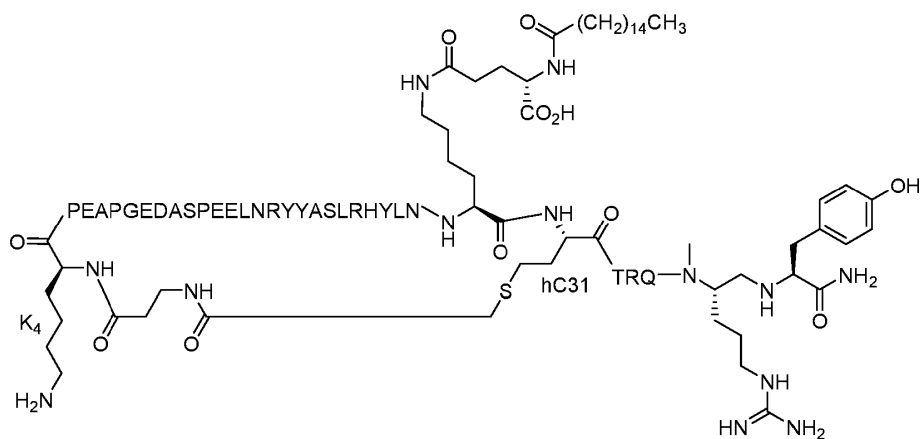
Estructura:



SEQ ID NO: 36

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

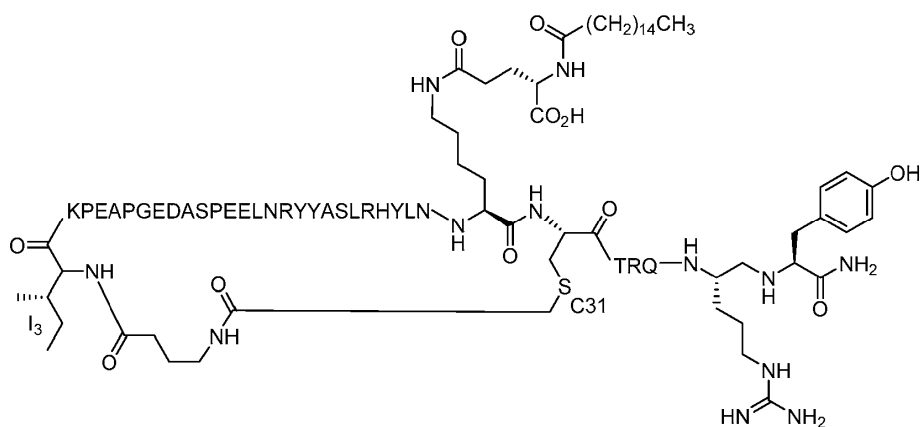
Estructura:



SEQ ID NO: 37

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

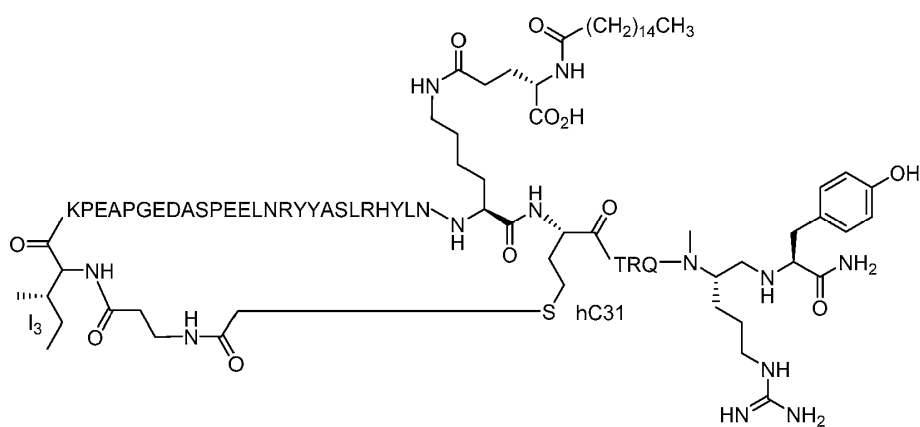
Estructura:



SEQ ID NO: 38

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

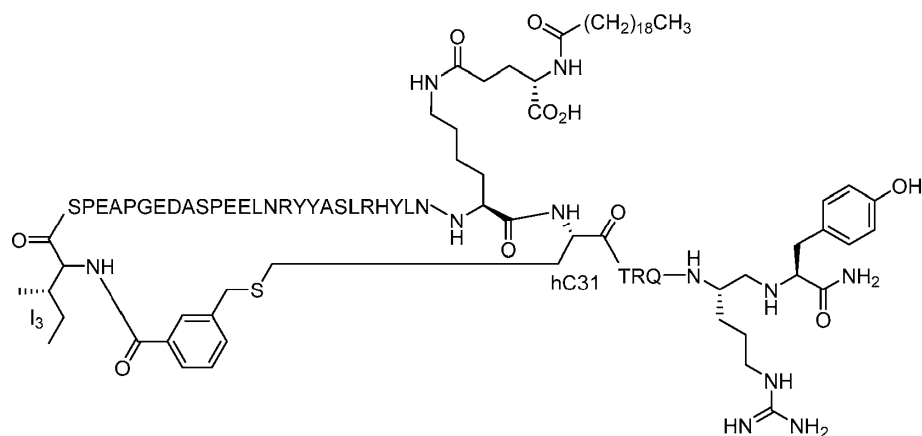
Estructura:



SEQ ID NO: 39

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

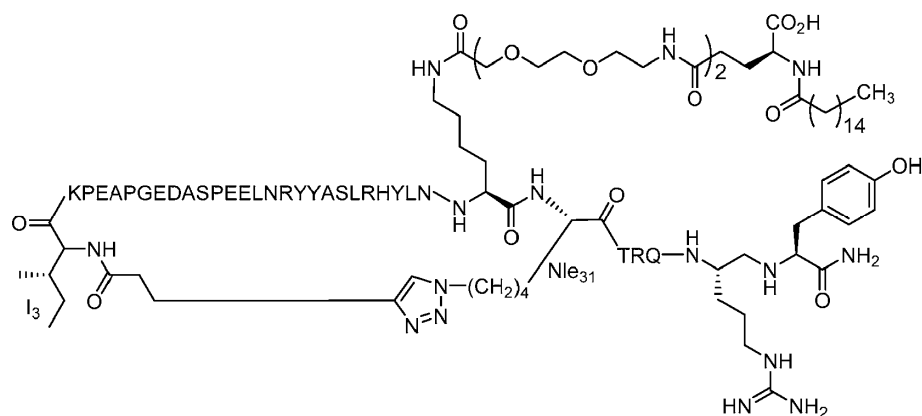
Estructura:



SEQ ID NO: 40

Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazolyl-Nle31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

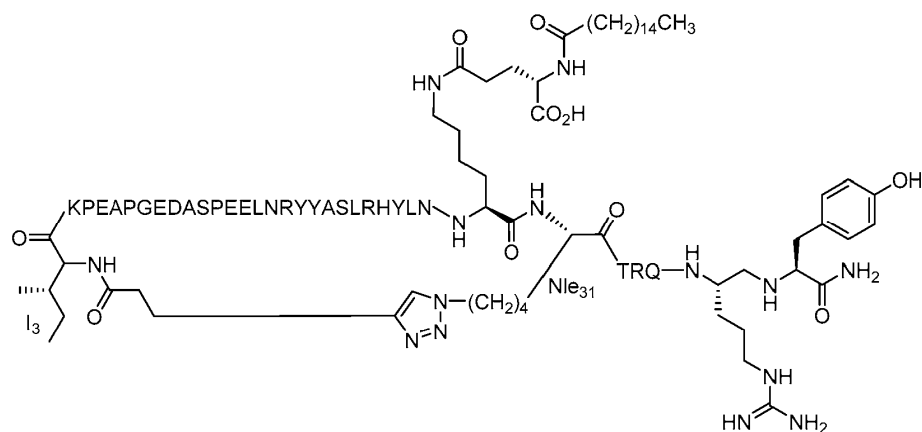
Estructura:



SEQ ID NO: 41

Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazolyl-Nle31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

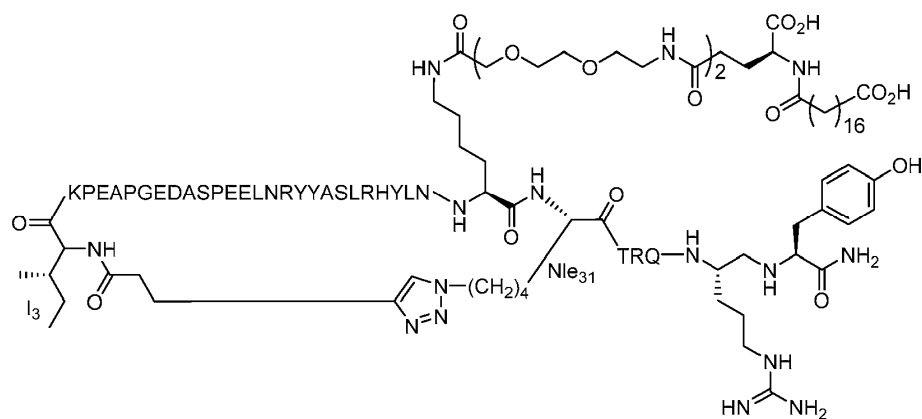
Estructura:



SEQ ID NO: 42

Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazolyl-Nle31), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

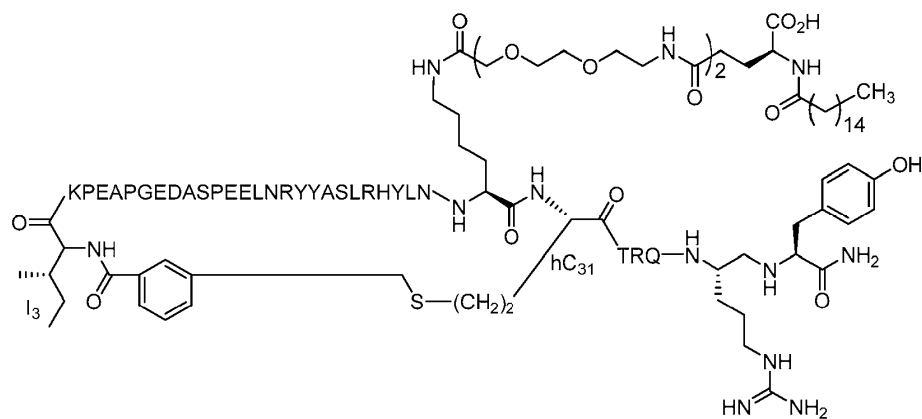
Estructura:



SEQ ID NO: 43

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

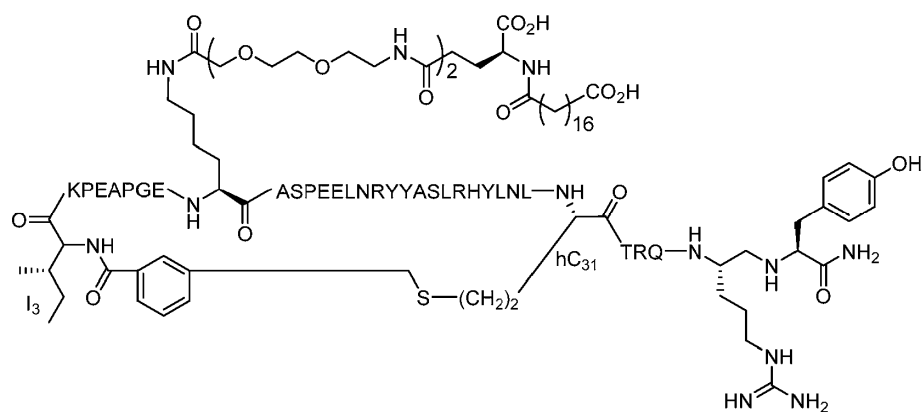
Estructura:



SEQ ID NO: 44

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu- COC₁₆CO₂H)₁₁, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

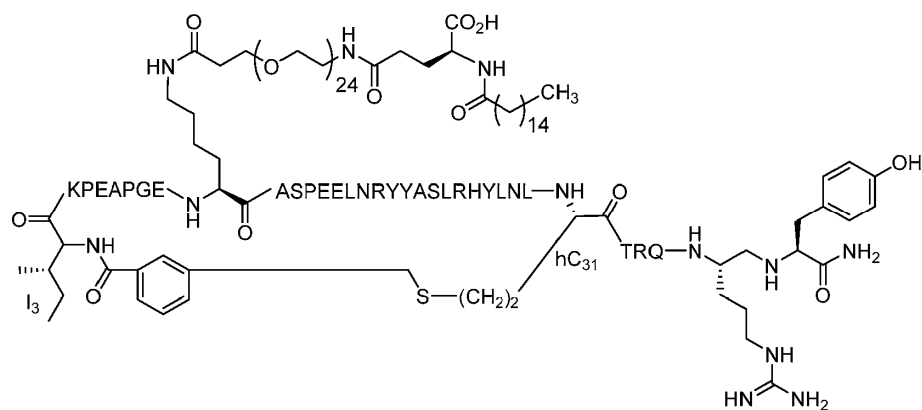
Estructura:



SEQ ID NO: 45

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(COCH₂CH₂(OCH₂CH₂)₂₄NH-γ-Glu-Pal)₁₁, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

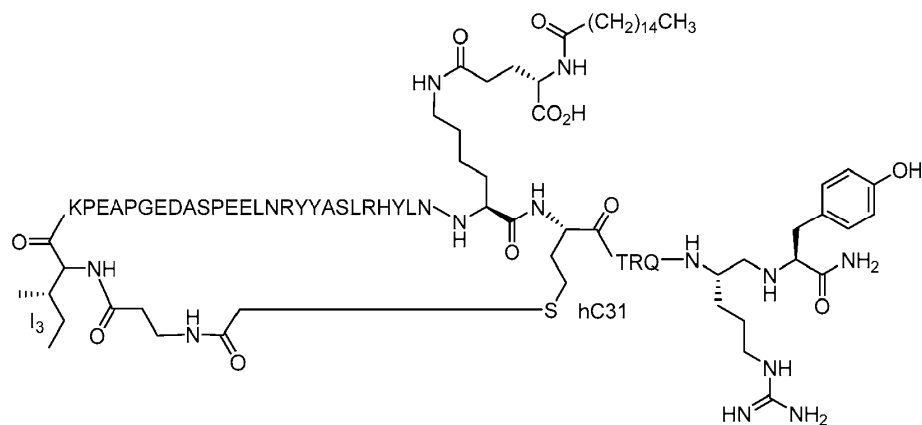
Estructura:



SEQ ID NO: 46

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

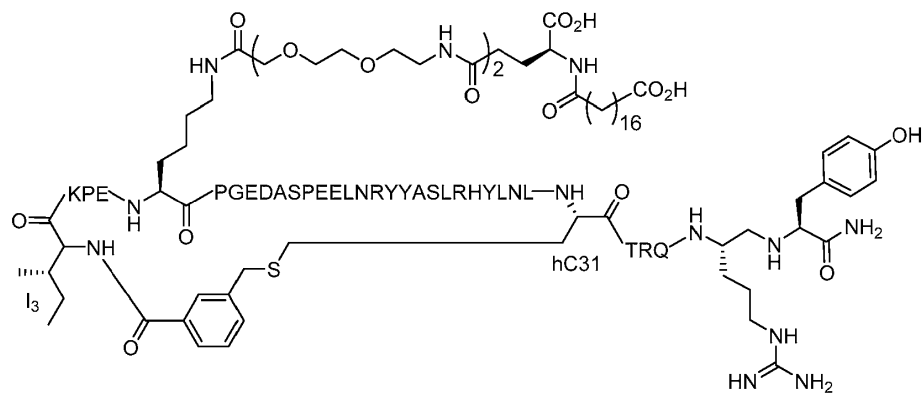
Estructura:



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:



SEQ ID NO: 49

Nombre: [ciclo-(13-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-(Pal-16-OH))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

20



SEQ ID NO: 50

Nombre: [ciclo-(13-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)23, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

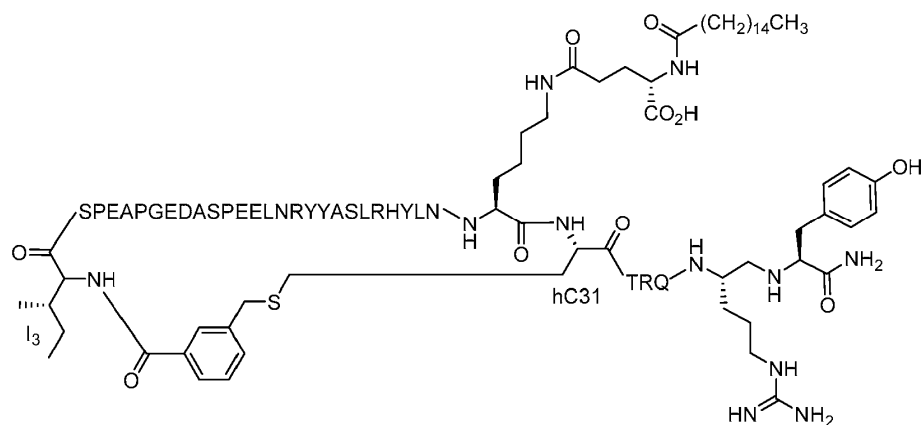
40



SEQ ID NO: 51

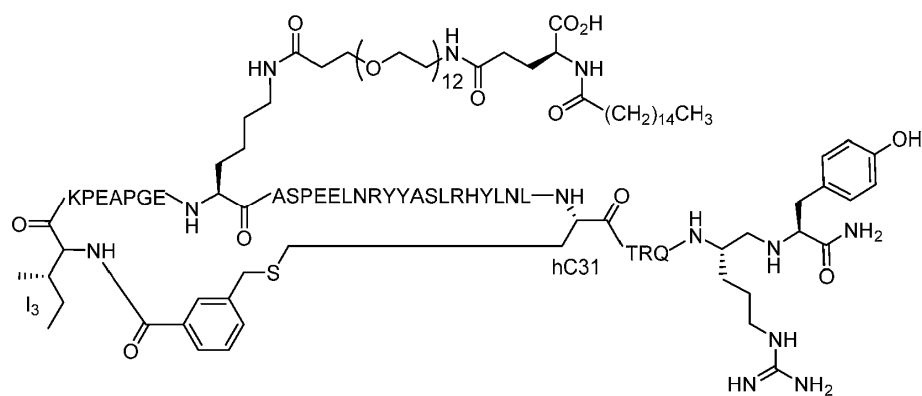
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), S4, K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

60



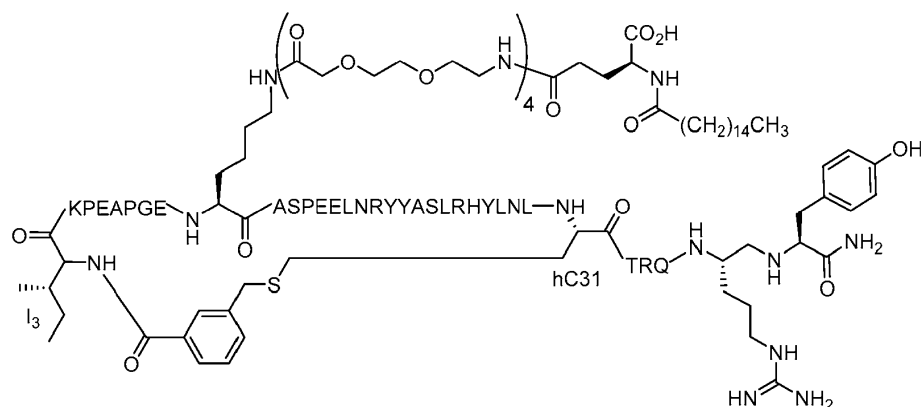
SEQ ID NO: 52

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(COCH₂CH₂(OCH₂CH₂)₁₂NH-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:



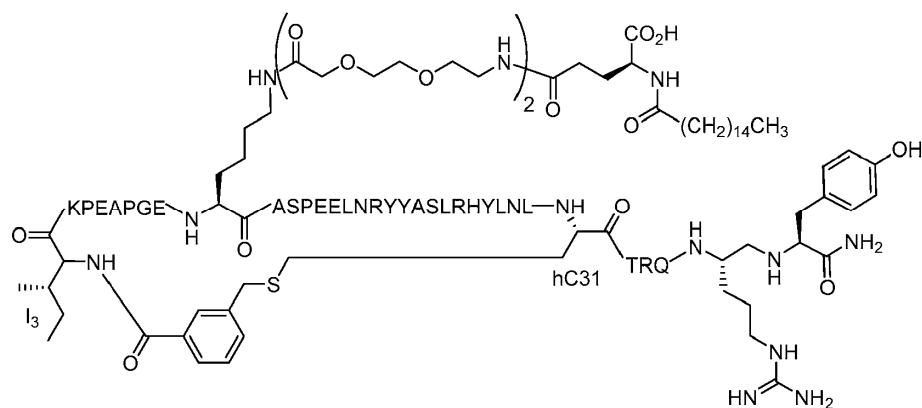
SEQ ID NO: 53

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₄-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:



SEQ ID NO: 54

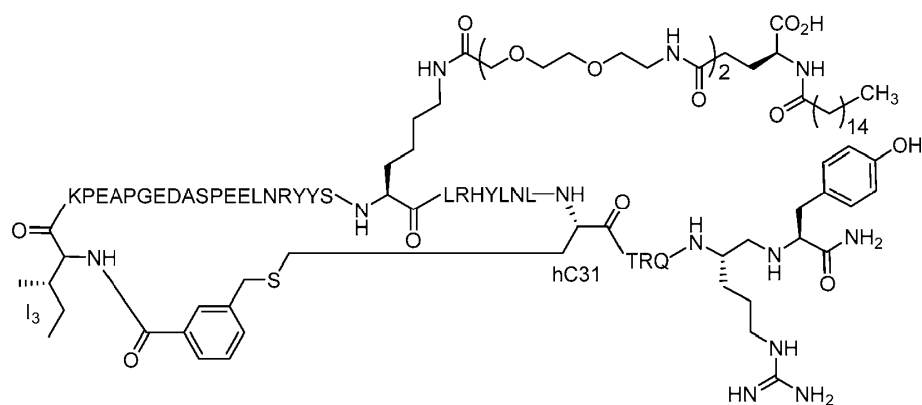
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:



SEQ ID NO: 55

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)₂₃, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

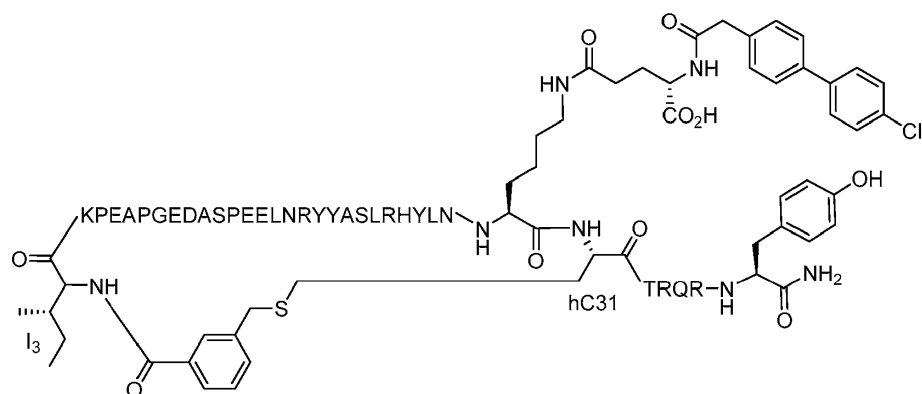
Estructura:



SEQ ID NO: 56

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-COCH₂Ph-(4-ClPh)₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

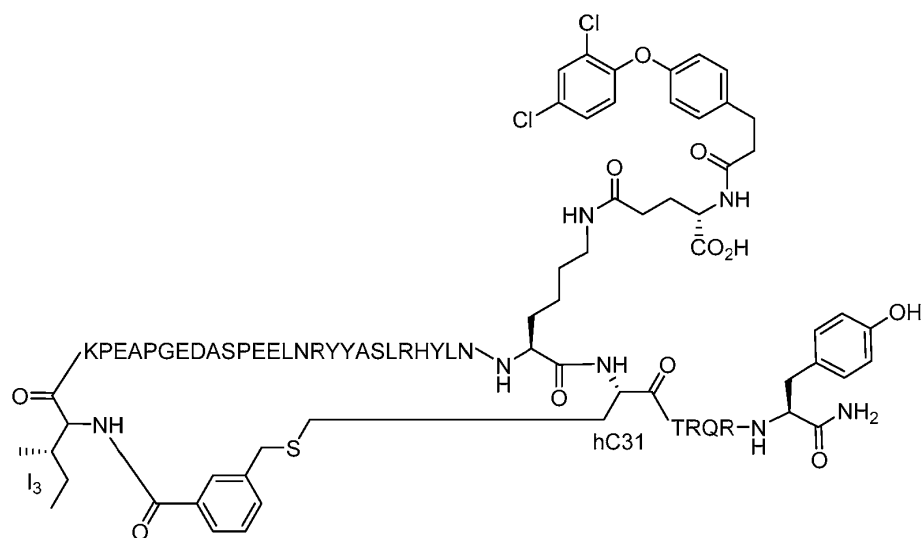
Estructura:



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

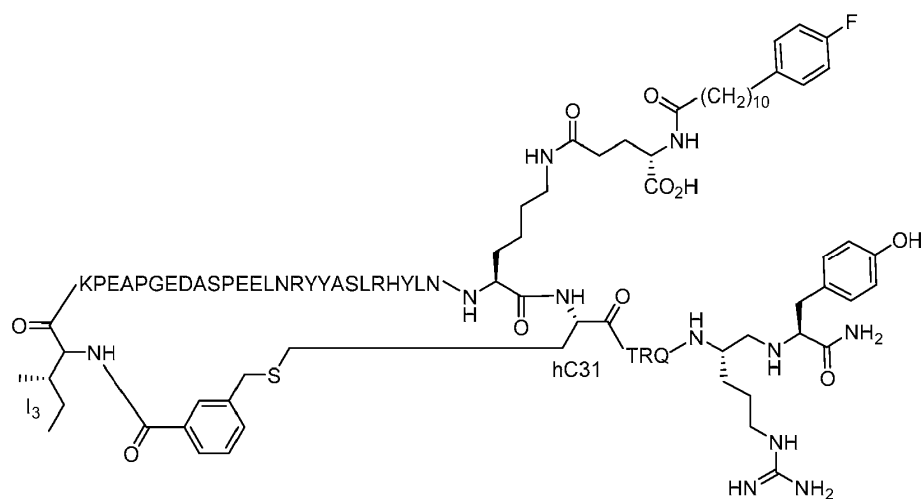
Estructura:



SEQ ID NO: 58

Nombre: [ciclo-(13-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-CO(CH₂)₁₀-(4-F-Ph))₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

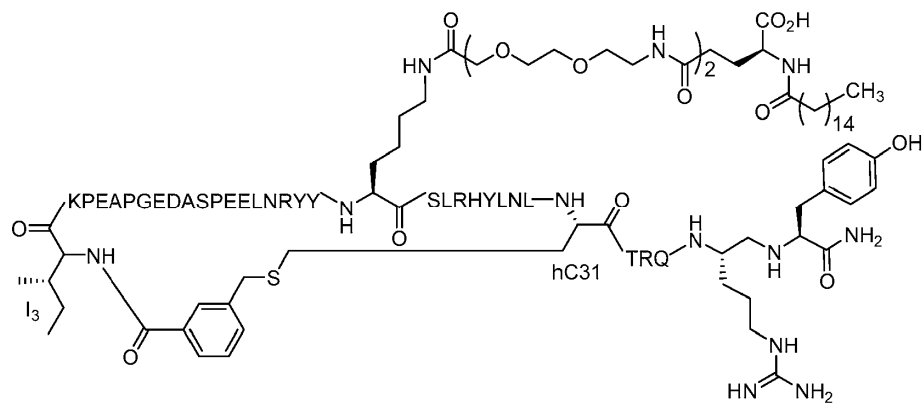
Estructura:



SEQ ID NO: 59

Nombre: [ciclo-(13-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)₂₂, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

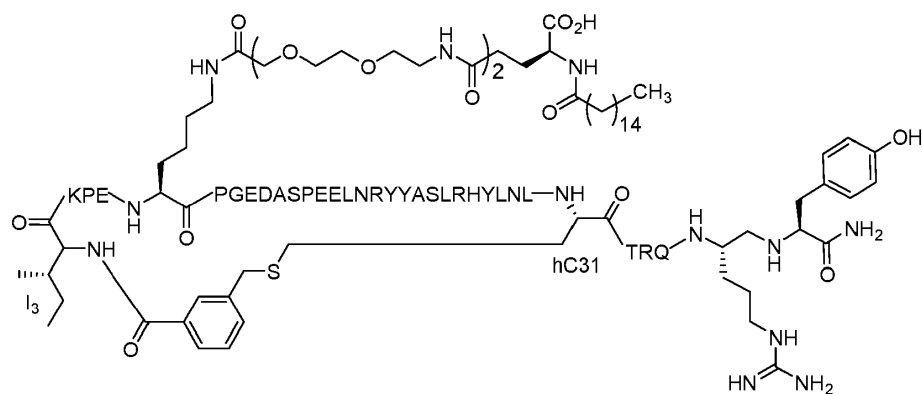
Estructura:



SEQ ID NO: 60

Nombre: [ciclo-(13-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)₇, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

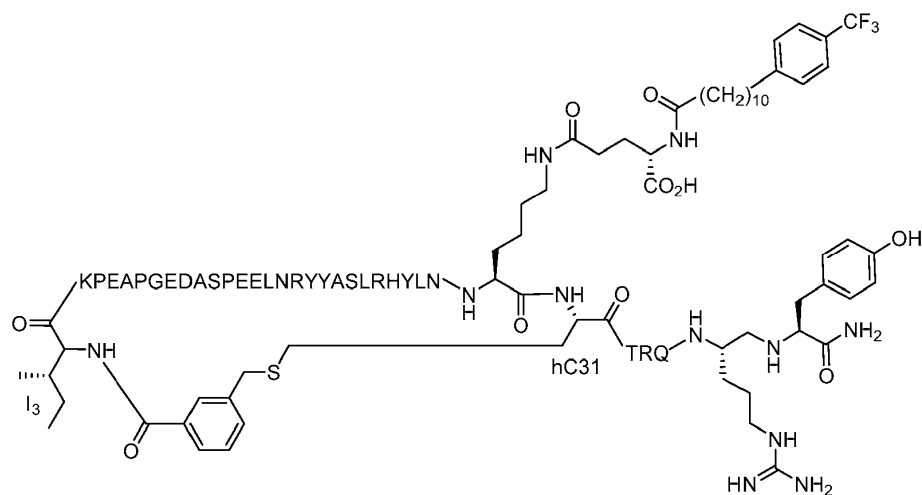
Estructura:



SEQ ID NO: 61

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-CO(CH₂)₁₀-(4-F₃C-Ph))₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

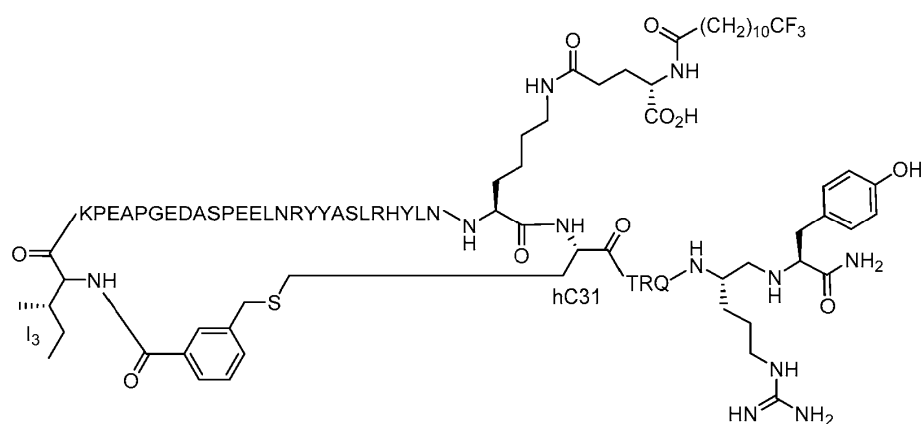
Estructura:



SEQ ID NO: 62

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-CO(CH₂)₁₀-CF₃)₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

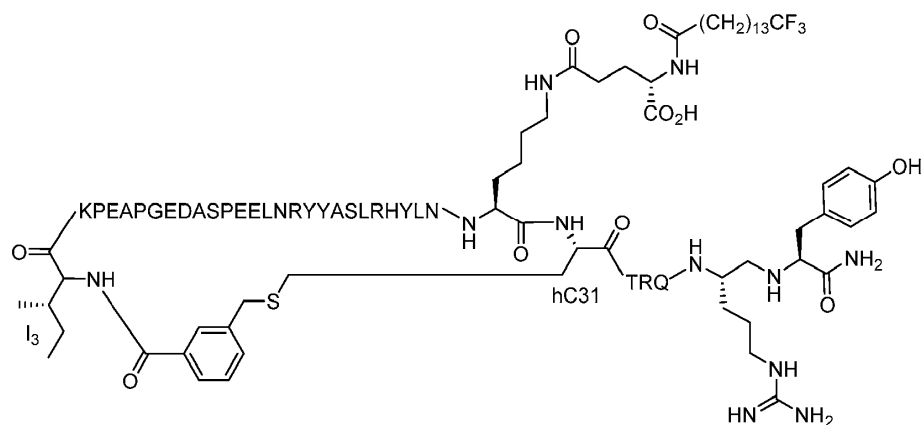
Estructura:



SEQ ID NO: 63

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-CO(CH₂)₁₃-CF₃)₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

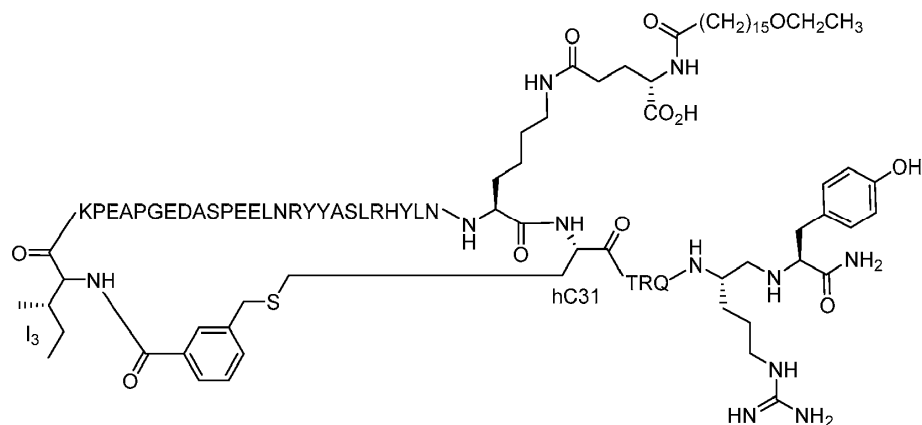
Estructura:



SEQ ID NO: 64

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-(Pal-16-OEt))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

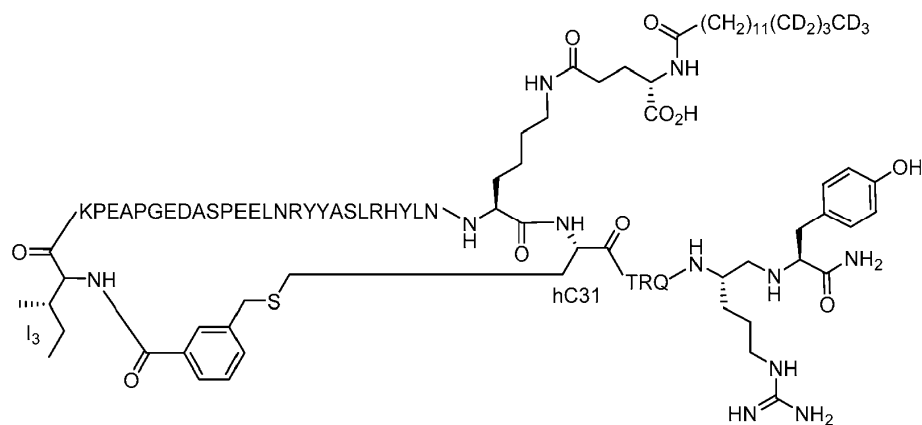
Estructura:



SEQ ID NO: 65

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-CO(CH₂)₁₁(CD₂)₃CD₃)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

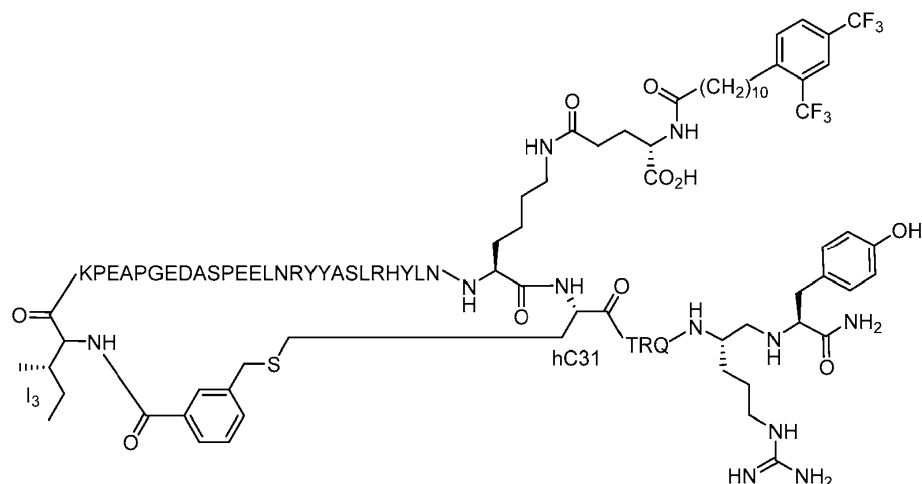
Estructura:



SEQ ID NO: 66

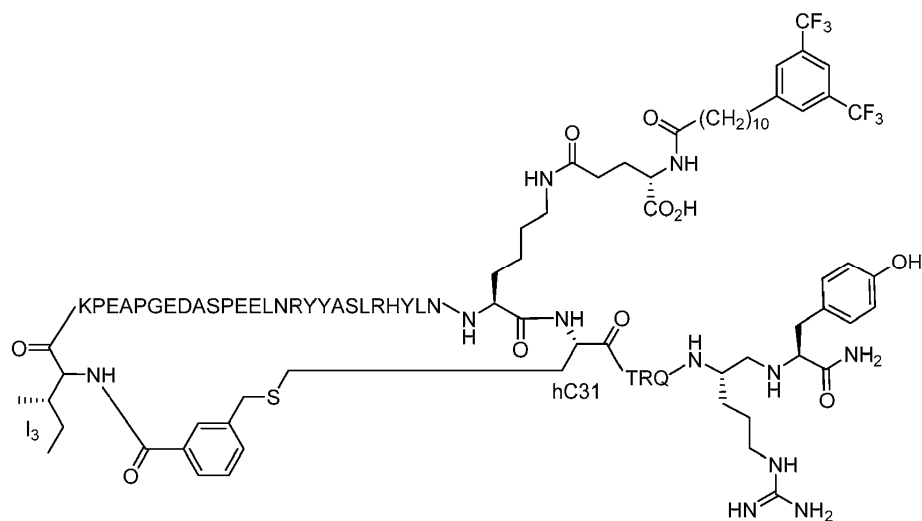
Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-CO(CH₂)₁₀-(2,4-(CF₃)₂-Ph))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Estructura:



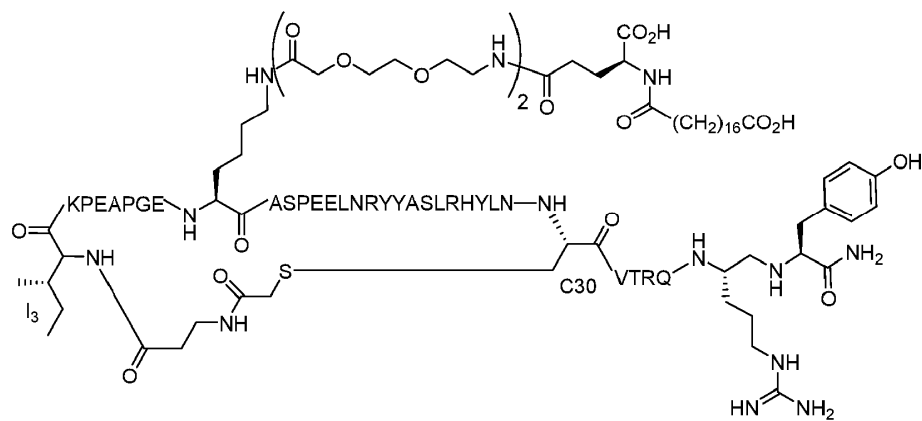
SEQ ID NO: 67

Nombre: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-CO(CH₂)₁₀-(3,5-(CF₃)₂-Ph))₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:



SEQ ID NO: 68

Nombre: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-C30), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H))₁₁, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36
Estructura:

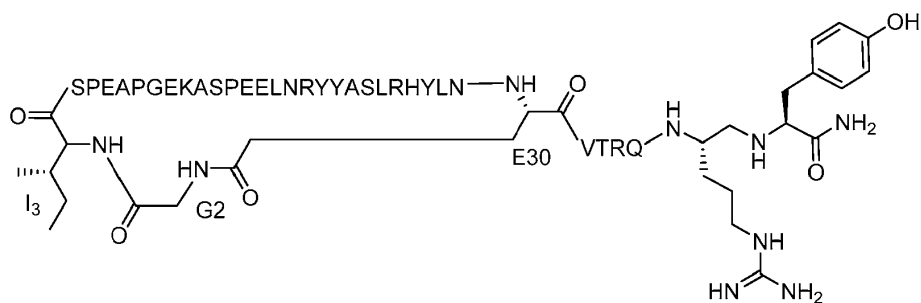


SEQ ID NO: 69

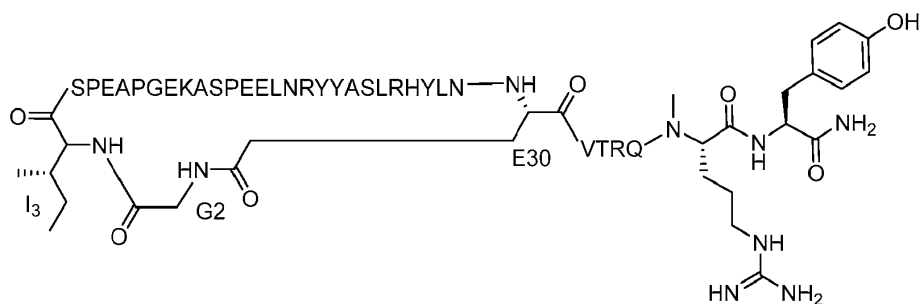
Nombre: [ciclo-(G2-E31), S4, K11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

[illegible]

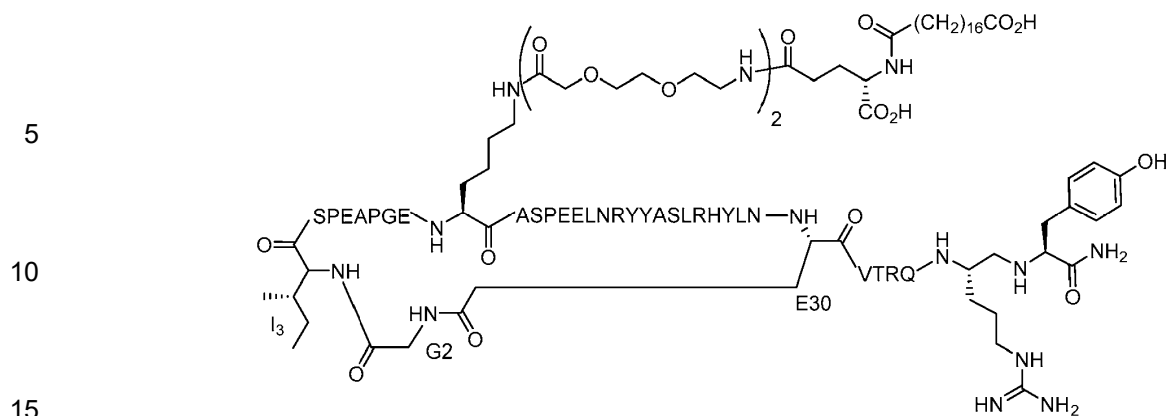
Estructura:



Estructura:



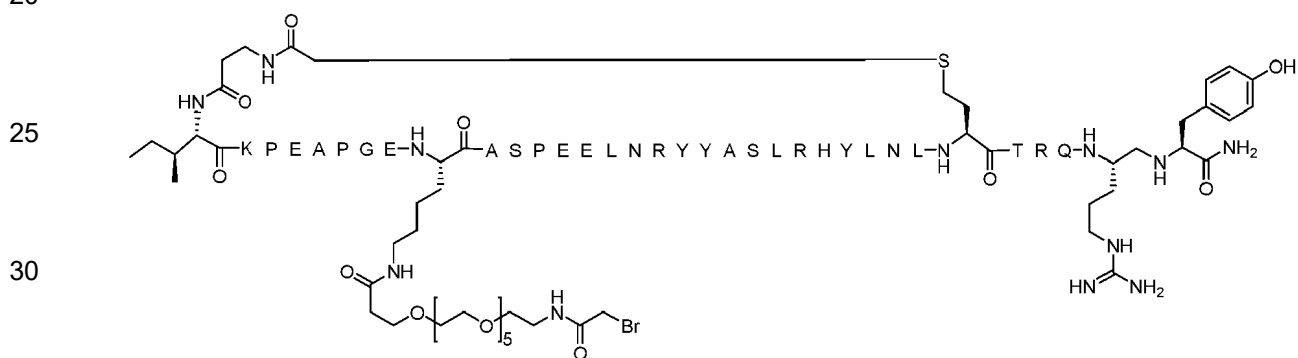
Estructura:



SEQ ID NO: 73

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG6-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

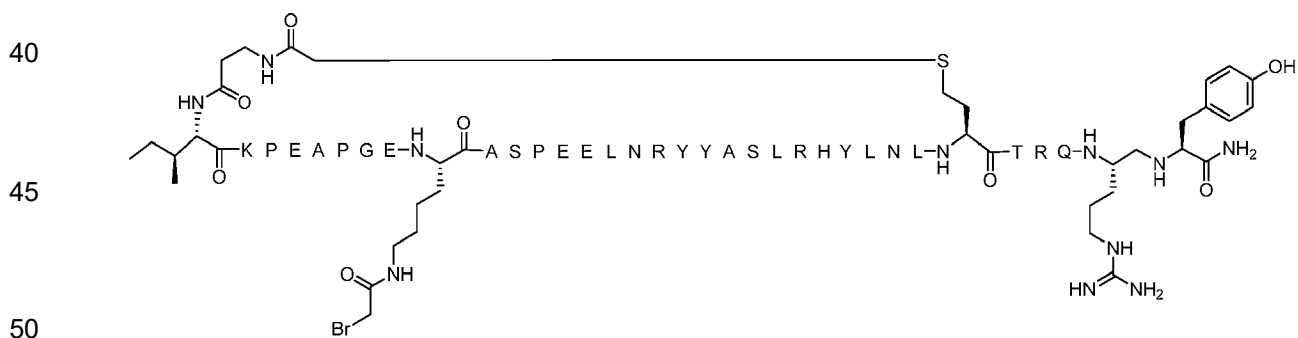
Estructura:



SEQ ID NO: 74

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

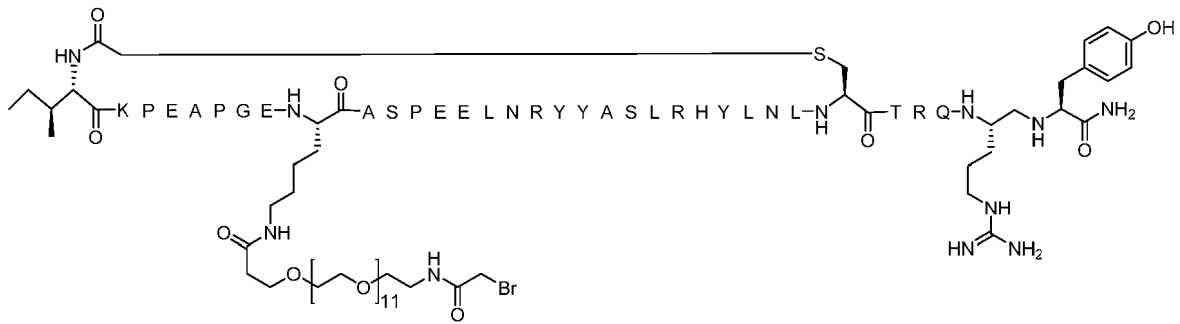
Estructura:



SEQ ID NO: 75

Nombre: [Ciclo-(I3-COCH₂-C31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36

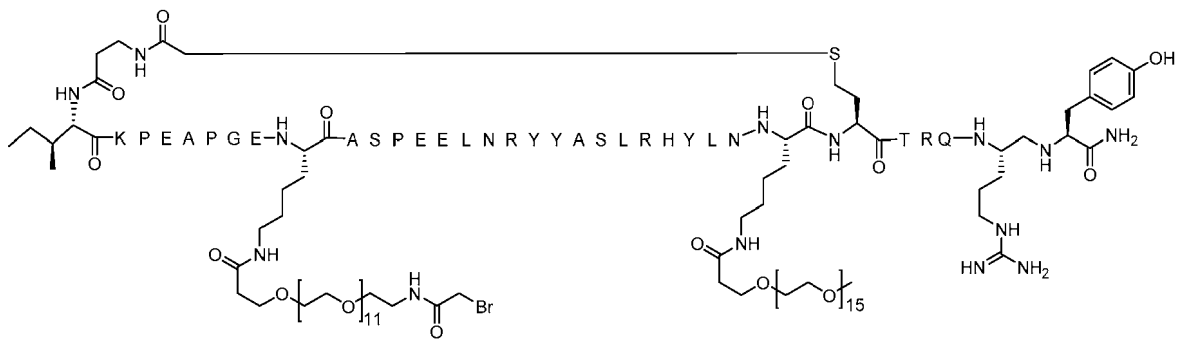
Estructura:



SEQ ID NO: 76

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, K(mPEG16)30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

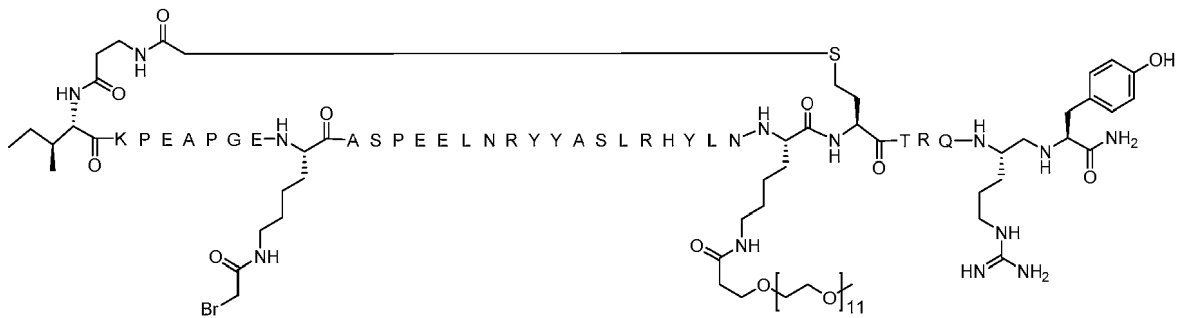
Estructura:



SEQ ID NO: 77

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(AcBr)11, K(mPEG12)20, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

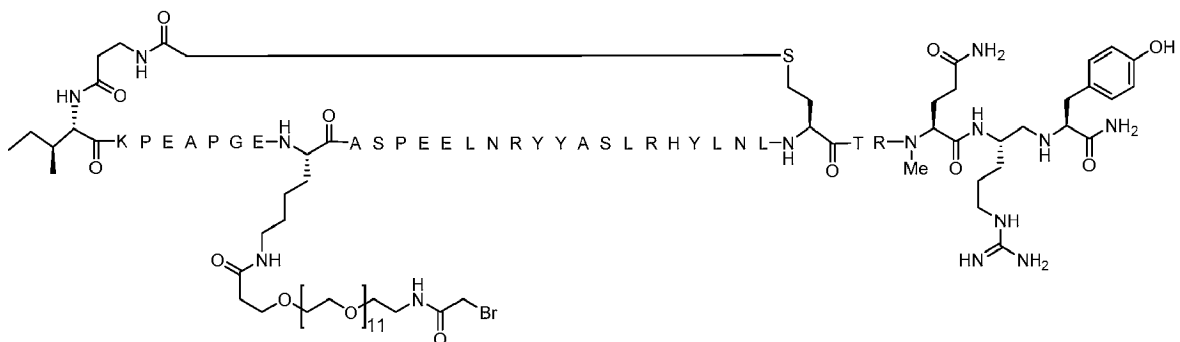
Estructura:



SEQ ID NO: 78

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, (N-Me)Q34, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

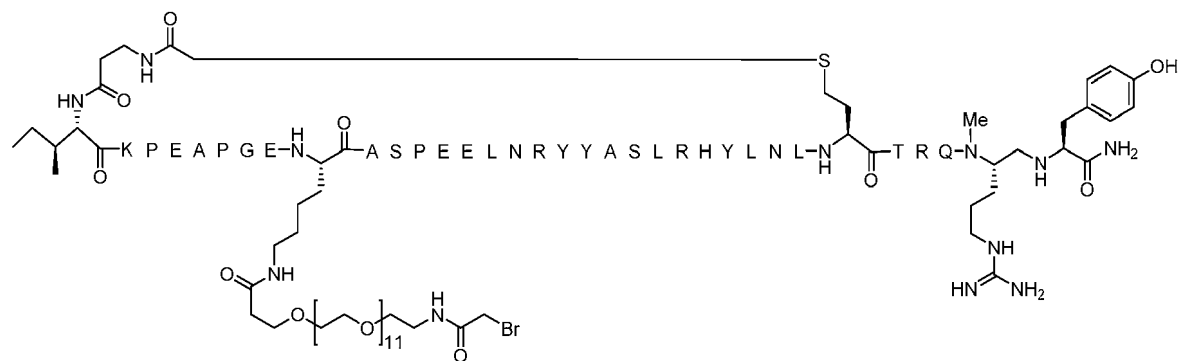
Estructura:



SEQ ID NO: 79

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35, *psi*-(R35,36Y)]-PYY2-36

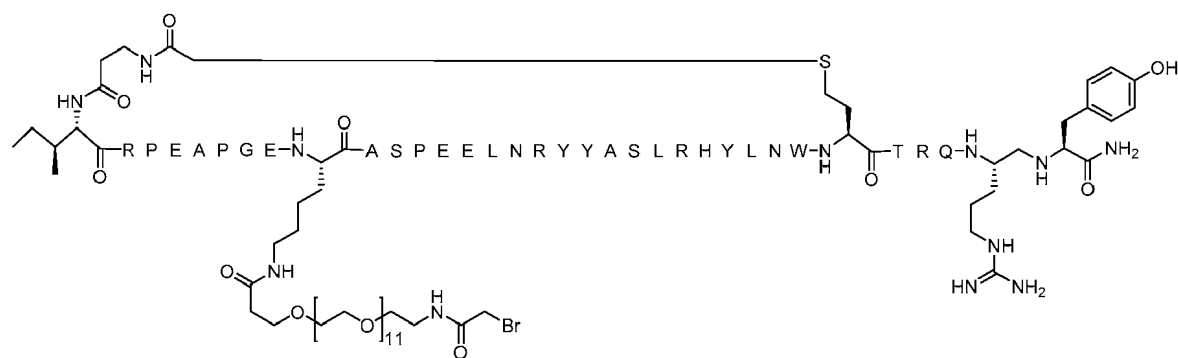
Estructura:



SEQ ID NO: 80

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), R4, K(PEG12-AcBr)₁₁, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

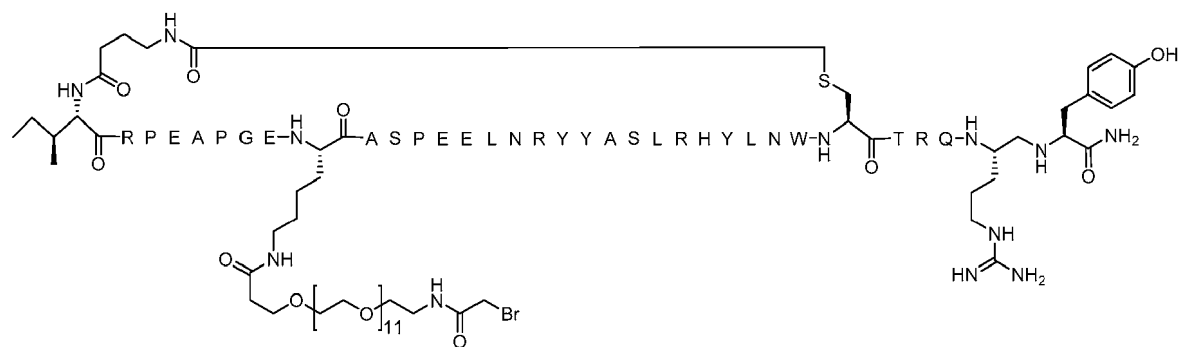
Estructura:



SEQ ID NO: 81

Nombre: [Ciclo-(3I-COCH₂CH₂CH₂NHCOCH₂-C31), R4, K(PEG12-AcBr)₁₁, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36

Estructura:



SEQ ID NO: 82

Nombre: [Ciclo-(K4-OEG-COCH₂-C31), K(PEG12-AcBr)₁₁, *psi*-(R35,Y36)]-PYY4-36

Estructura:



15

Nombre: [Ciclo-(I3-COCH₂CH₂triazolyl)Nle31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36

Estructura



25

30

Nombre: : [Ciclo-(I3-*m*-CO-benzyl-hC31), K(PEG8-triazolyl-CH₂CH₂CO-PEG4-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36

Estructura:



40

45

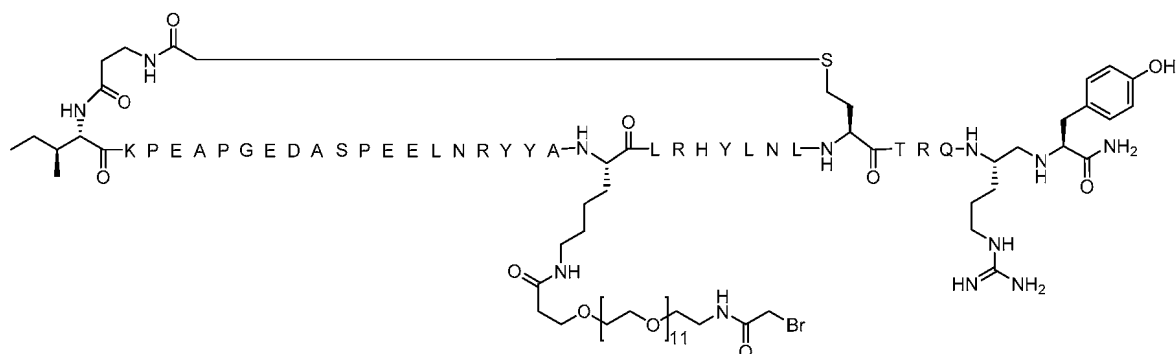
50

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)23, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36,

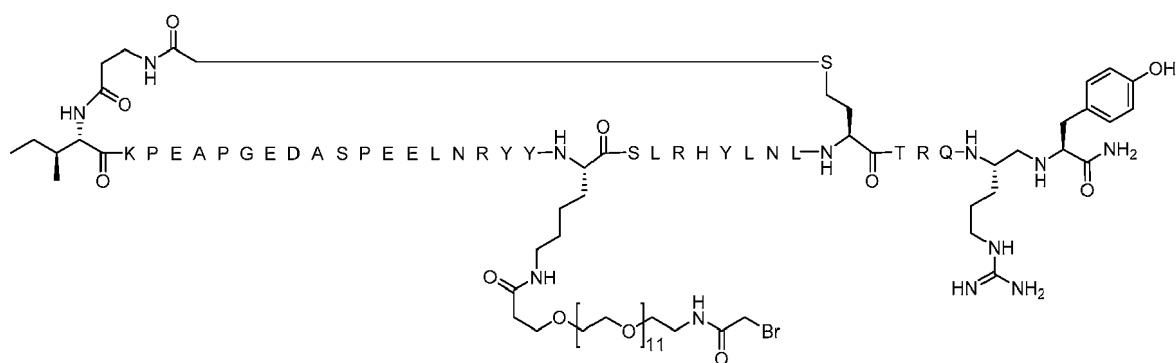
Estructura:

60

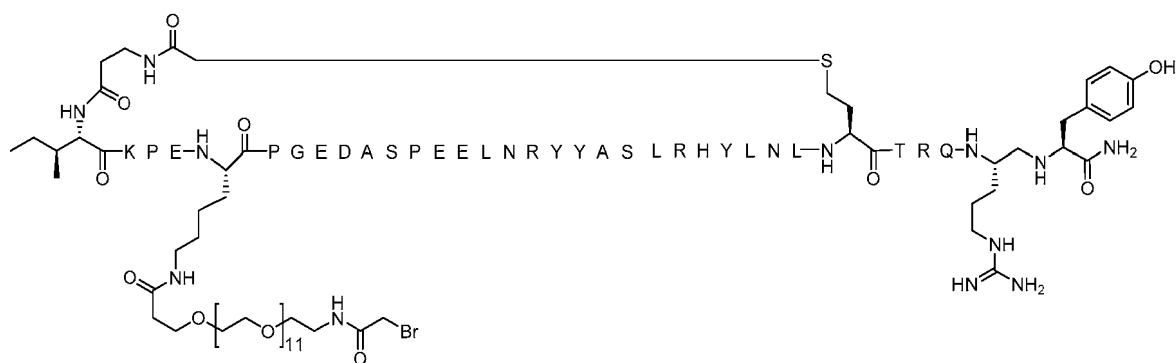
65



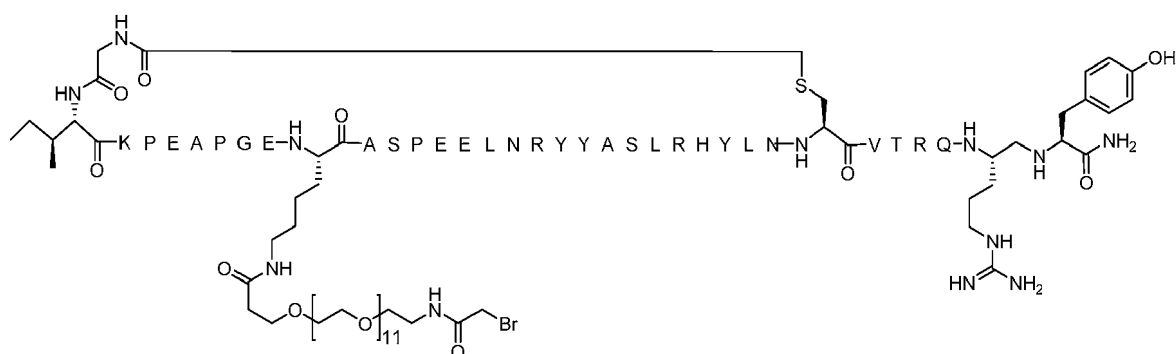
SEQ ID NO: 86

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)22, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 Estructura:

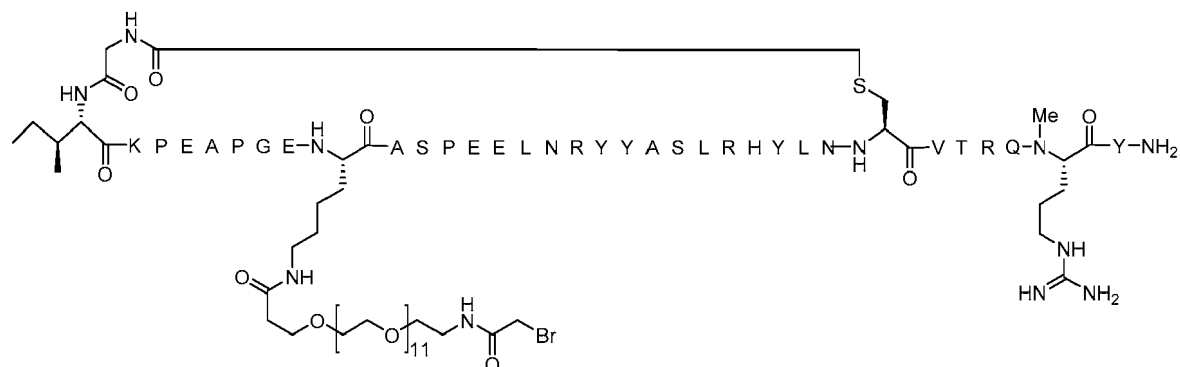
SEQ ID NO: 87

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)7, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 Estructura:

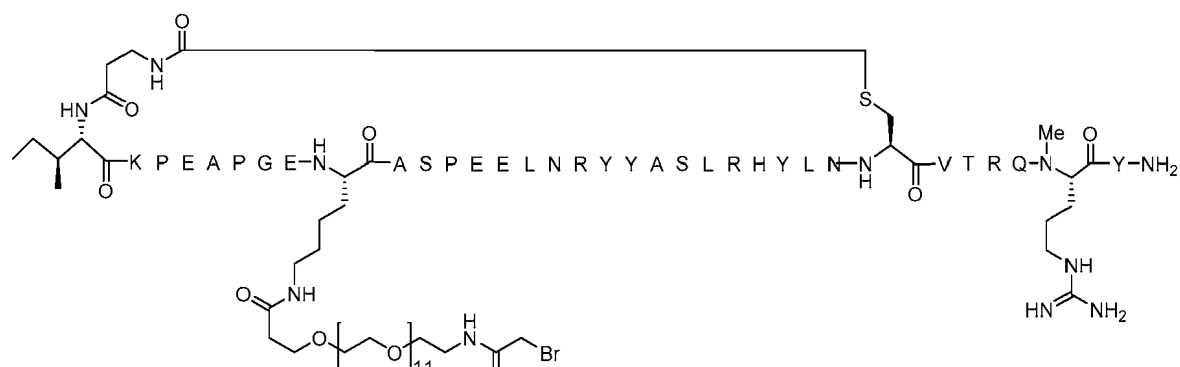
SEQ ID NO: 88

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 Estructura:

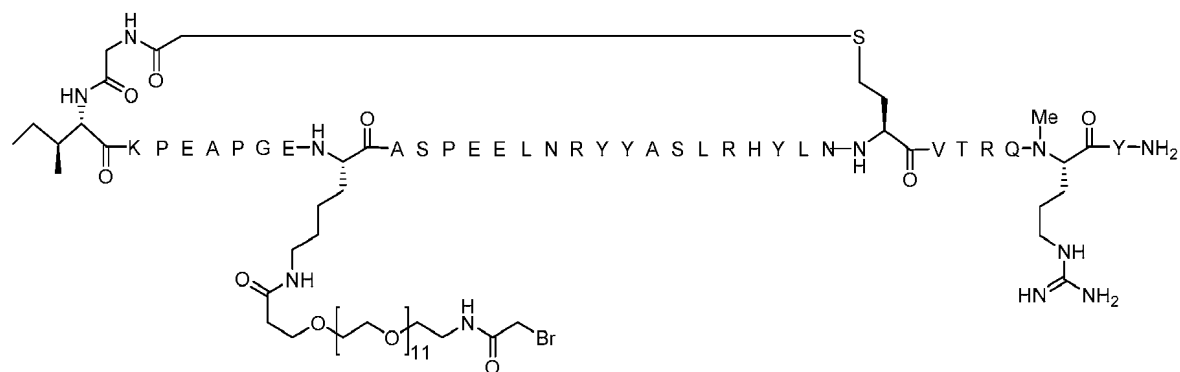
SEQ ID NO: 89

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36 Estructura:

SEQ ID NO: 90

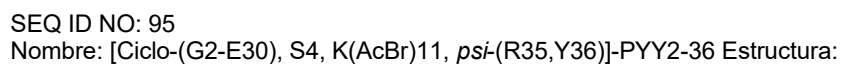
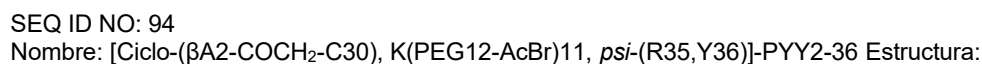
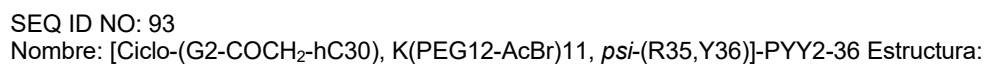
Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-C30), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36 Estructura:

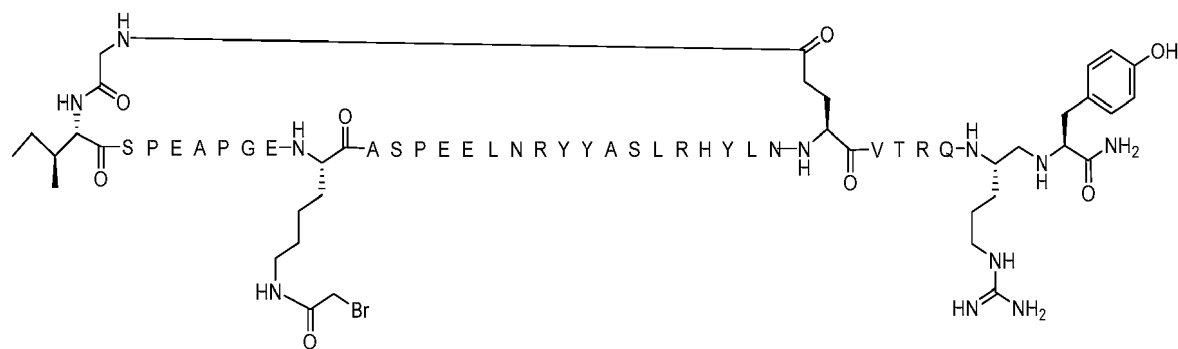
SEQ ID NO: 91

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-hC30), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36 Estructura:

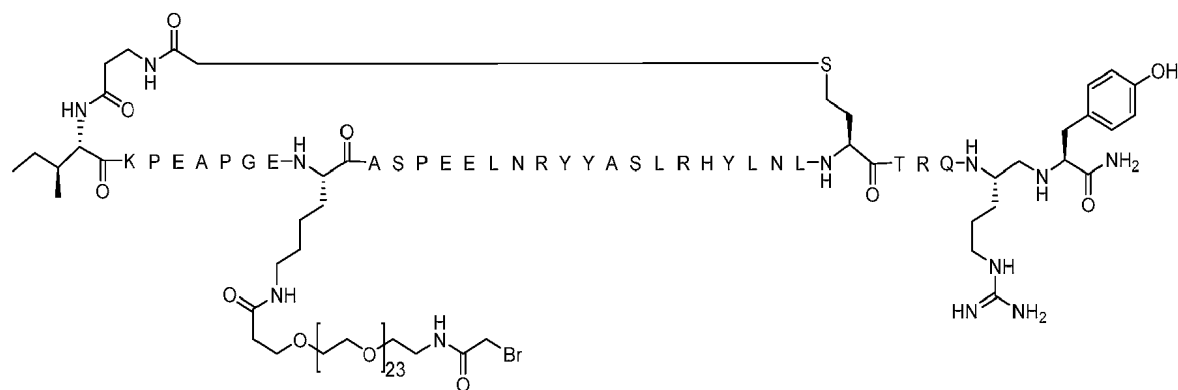
SEQ ID NO: 92

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36 Estructura:

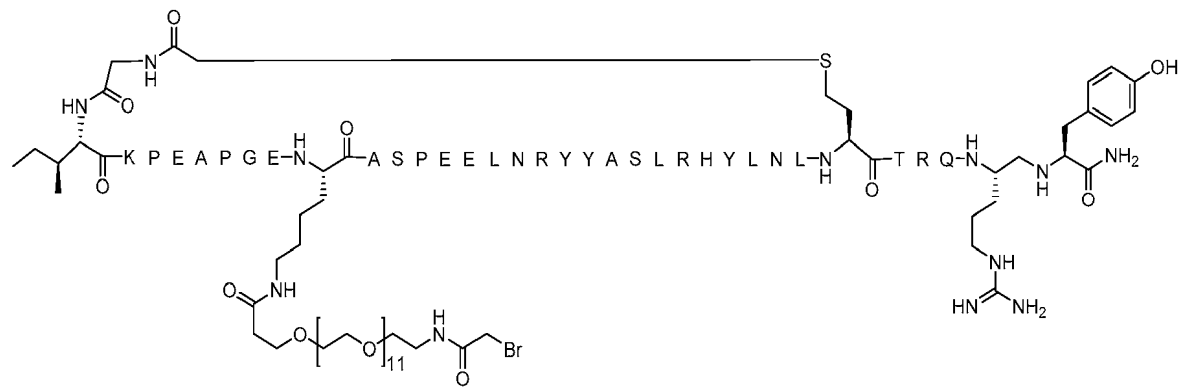




SEQ ID NO: 96

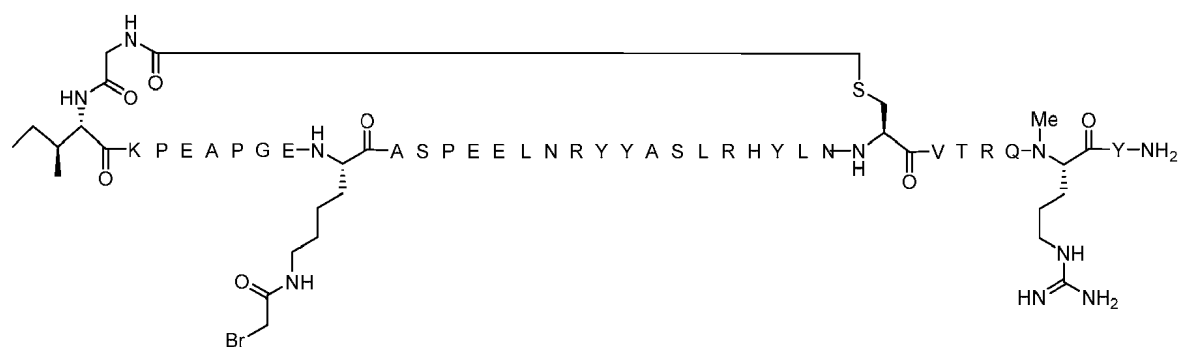
Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG24-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 Estructura:

SEQ ID NO: 97

Nombre: [Ciclo-(G2-Ac-hC31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35-Y36)]-PYY2-36 Estructura:

SEQ ID NO: 98

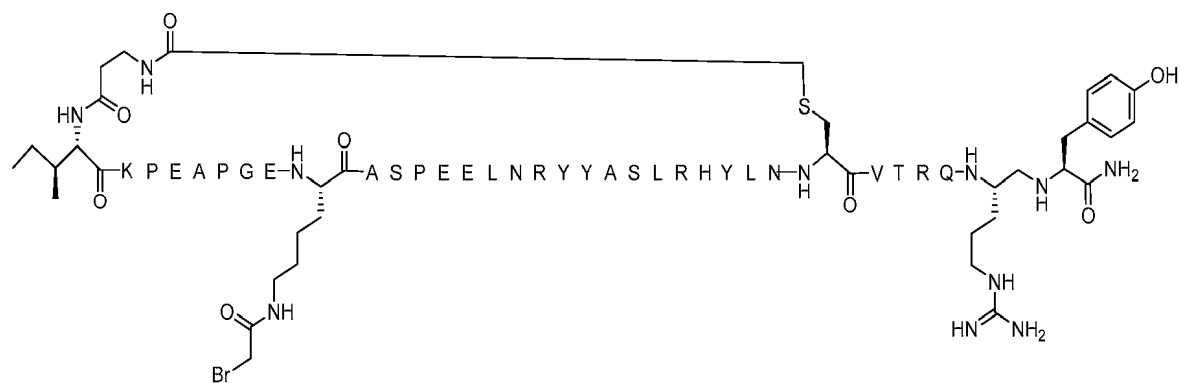
Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), K(AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36 Estructura:



SEQ ID NO: 99

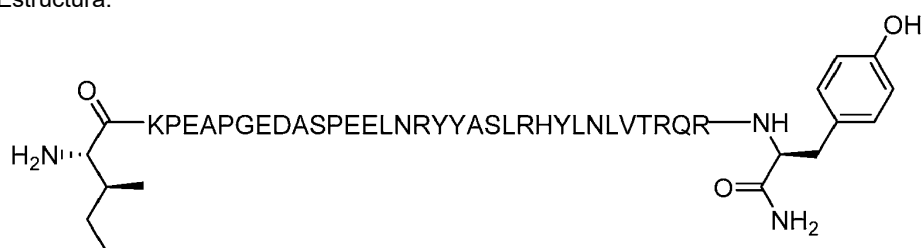
Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), K(AcBr)11, N-Me-R35]-PYY2-36 Estructura:

SEQ ID NO: 100

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), K(AcBr)11, *psi*-(R35, Y36)]-PYY2-36 Estructura:

SEQ ID NO: 101

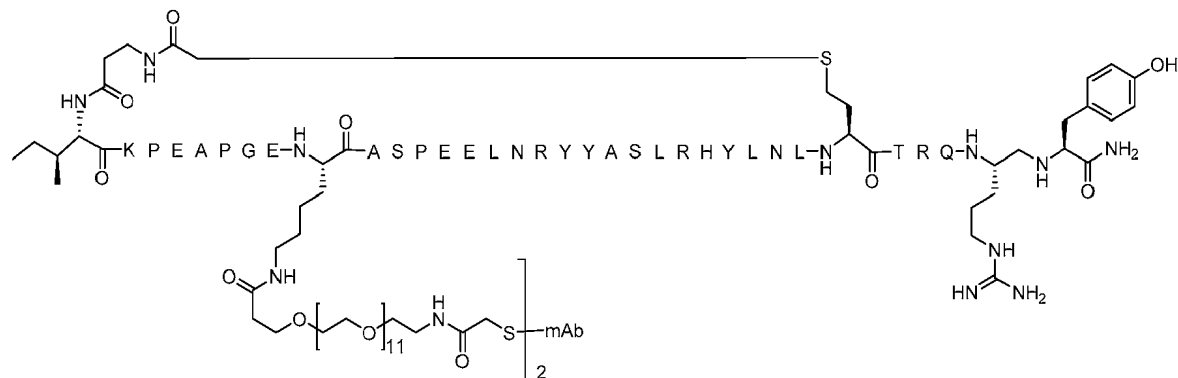
hPYY3-36 Estructura:



SEQ ID NO: 102

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12)11, *psi*-(35R,36Y)]-PYY2-36 mAb homodimero conjugado (Compuesto 1)

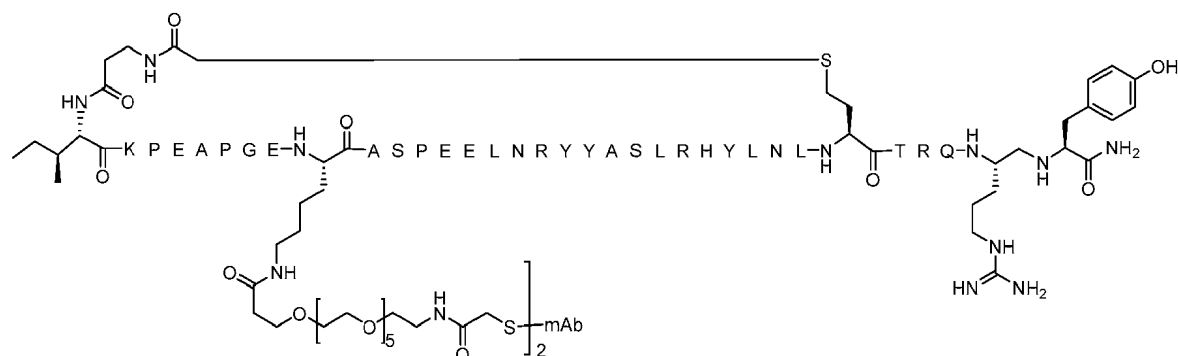
Estructura:



SEQ ID NO: 103

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG6)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 2)

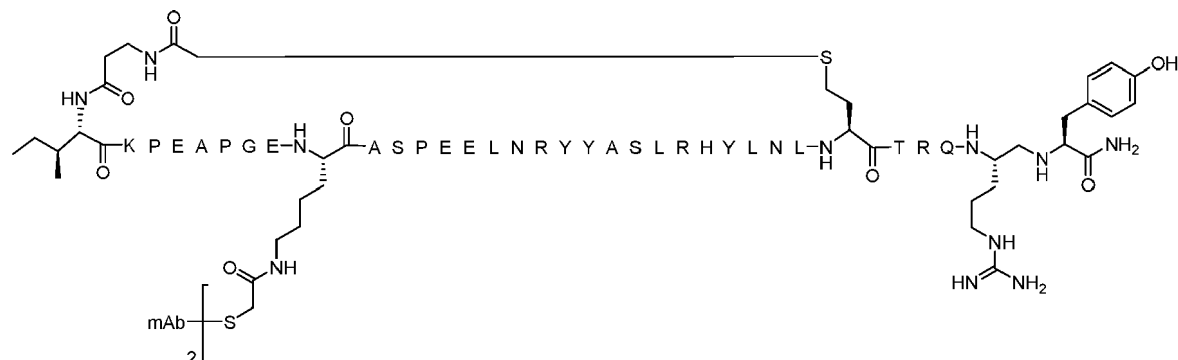
Estructura:



SEQ ID NO: 104

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 3)
Estructura:

Estructura:

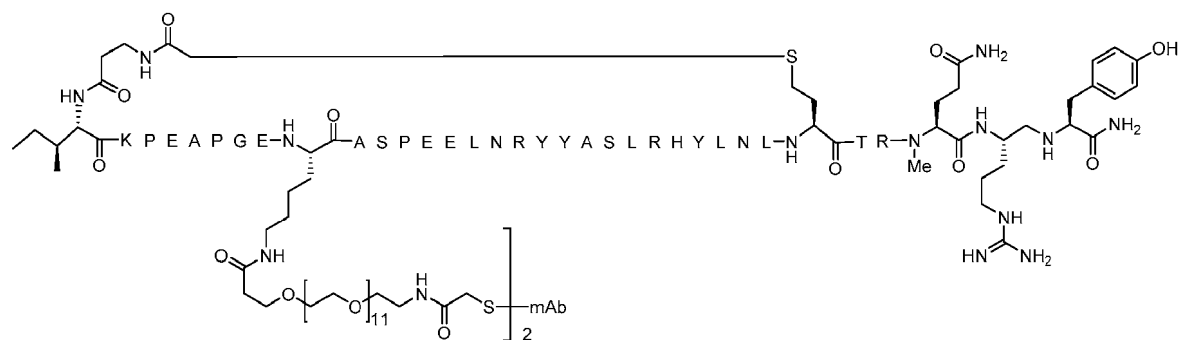


SEQ ID NO: 105

Nombre: [Ciclo-(13-COCH₂-C31), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 mAb homodimero conjugado (Compuesto 4)

Estructura:

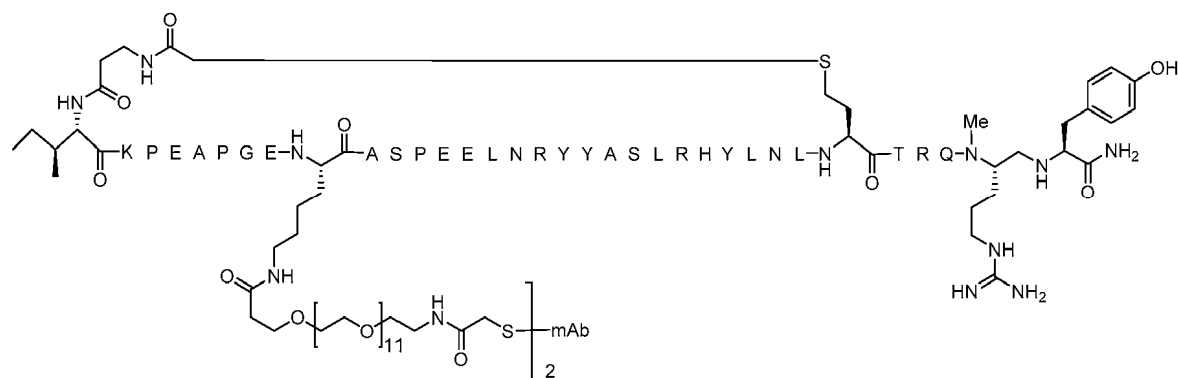
Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12)11, (N-Me)Q34, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 7)
Estructura:



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)

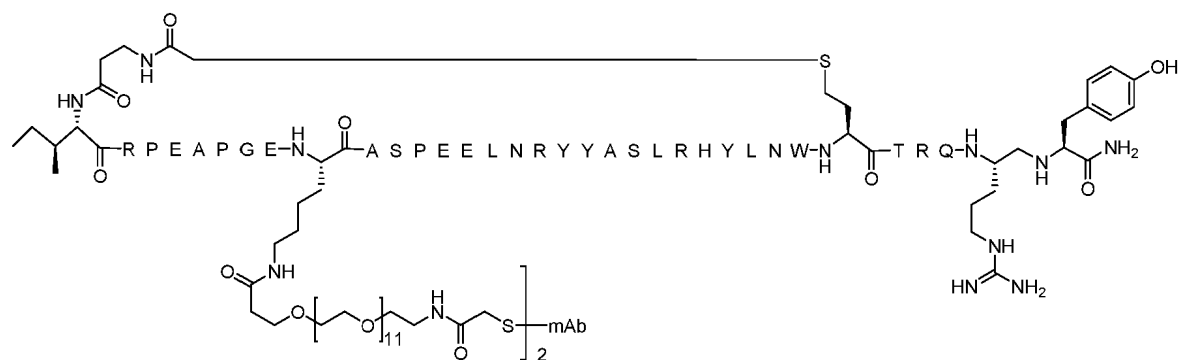
Estructura:



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)

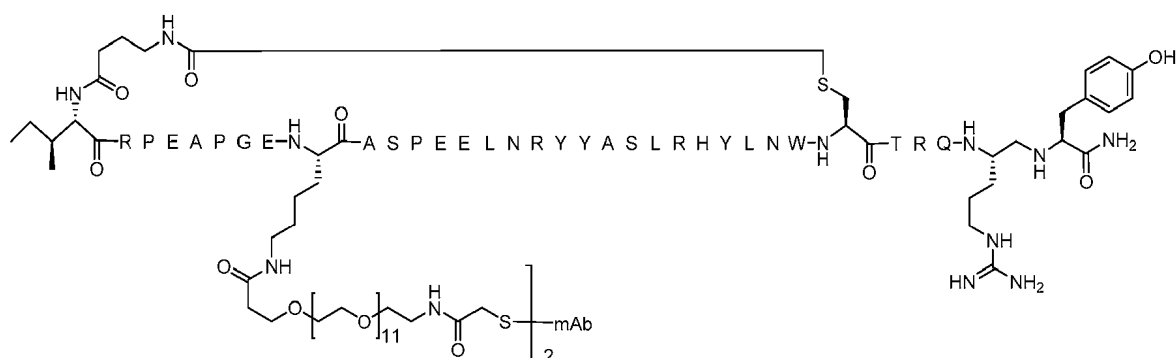
Estructura:



SEQ IDNO: 111

Nombre: [Ciclo-(3I-COCH₂CH₂CH₂NHCOCH₂-C31), R4, K(PEG12)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 10)

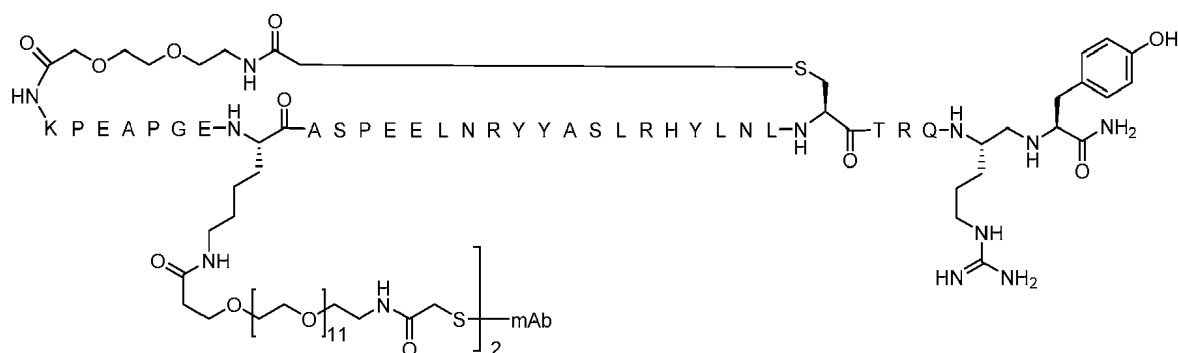
Estructura:



SEQ ID NO: 112

Nombre: [Ciclo-(K4-OEG-COCH₂-C31), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY4-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 11)

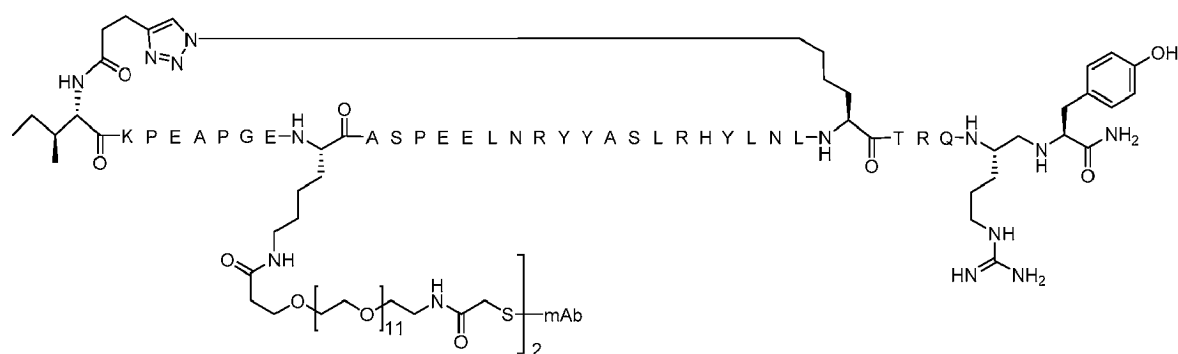
Estructura:



SEQ ID NO: 113

Nombre: [Ciclo-(I3-COCH₂CH₂triazolyl)Nle31], K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 12)

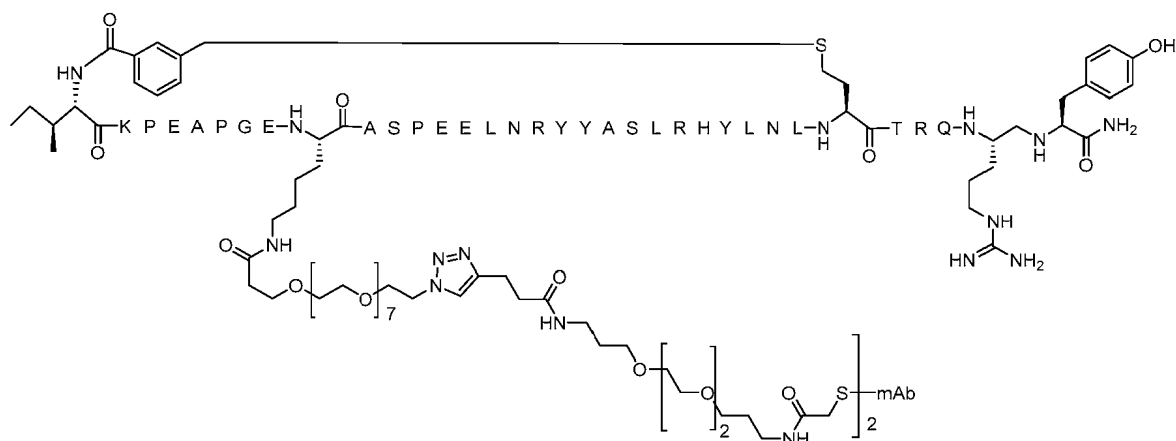
Estructura



SEQ ID NO: 114

Nombre: [Ciclo-(I3-*m*-CO-benzyl-hC31), K(PEG8-triazolyl-CH₂CH₂CO-PEG4)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 13)

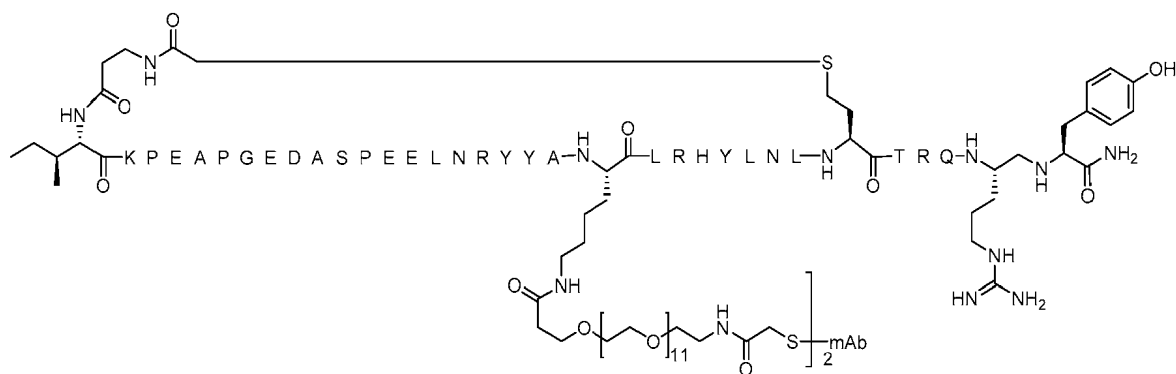
Estructura:



SEQ ID NO: 115

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12)23, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado
(Compuesto 14)

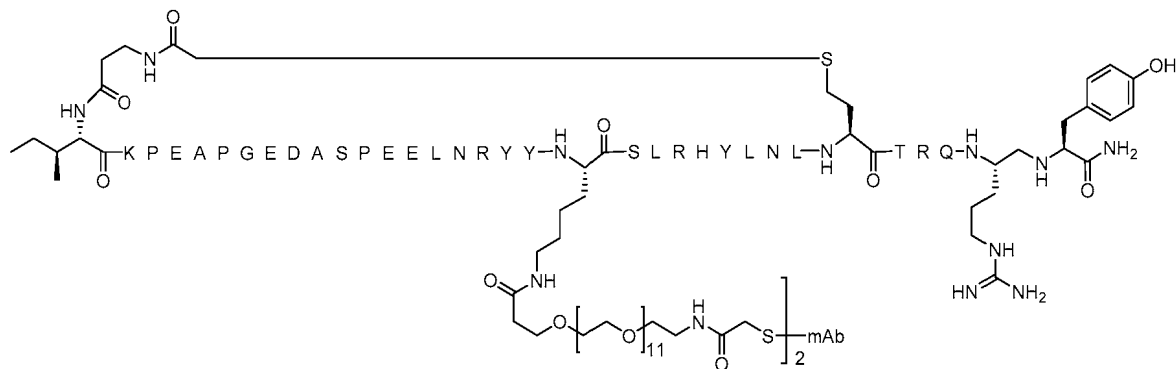
Estructura:



SEQ ID NO: 116

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12)22, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodimero conjugado (Compuesto 15)

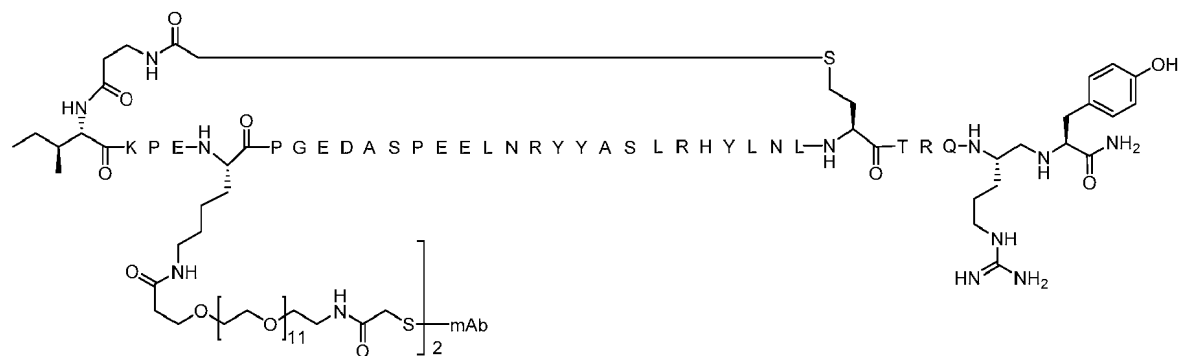
Estructura:



SEQ ID NO: 117

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12)7, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado
(Compuesto 16)

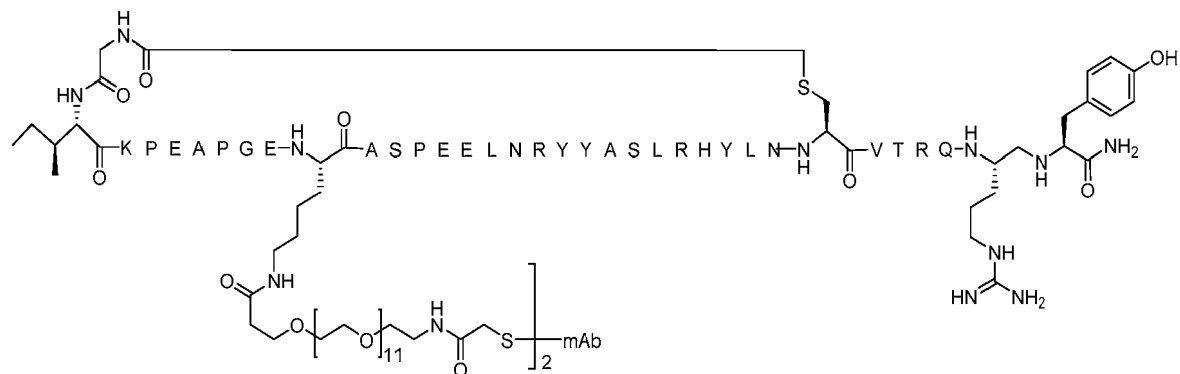
Estructura:



SEQ ID NO: 118

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 17)

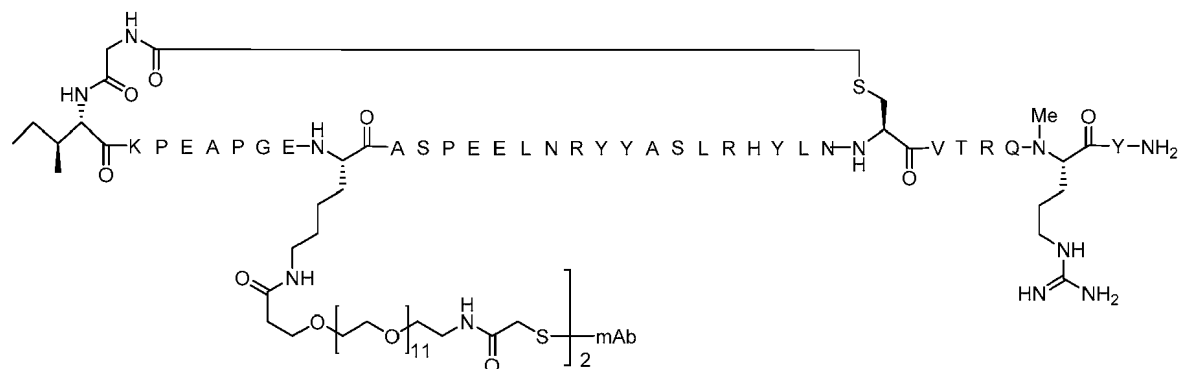
Estructura:



SEQ ID NO: 119

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), K(PEG12)11, N-Me-R35]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 18)

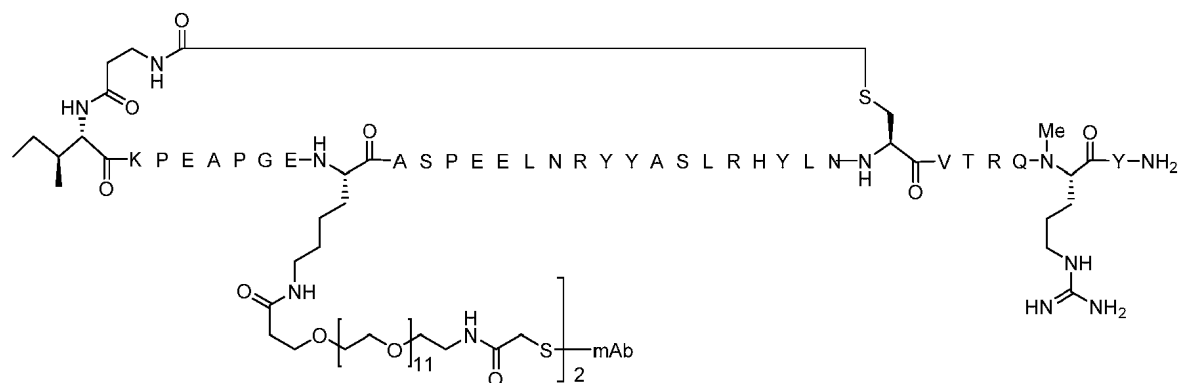
Estructura:



SEQ ID NO: 120

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-C30), K(PEG12)11, N-Me-R35]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 19)

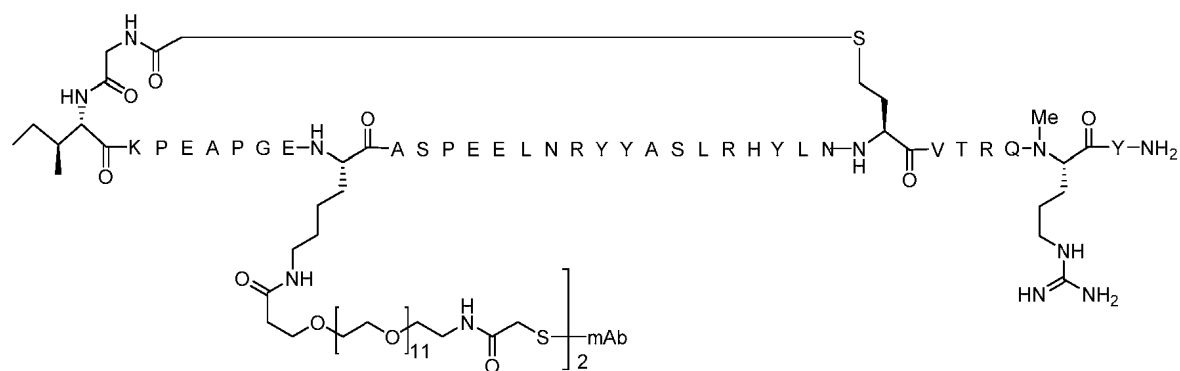
Estructura:



SEQ ID NO: 121

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-hC30), K(PEG12)11, N-Me-R35]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 20)

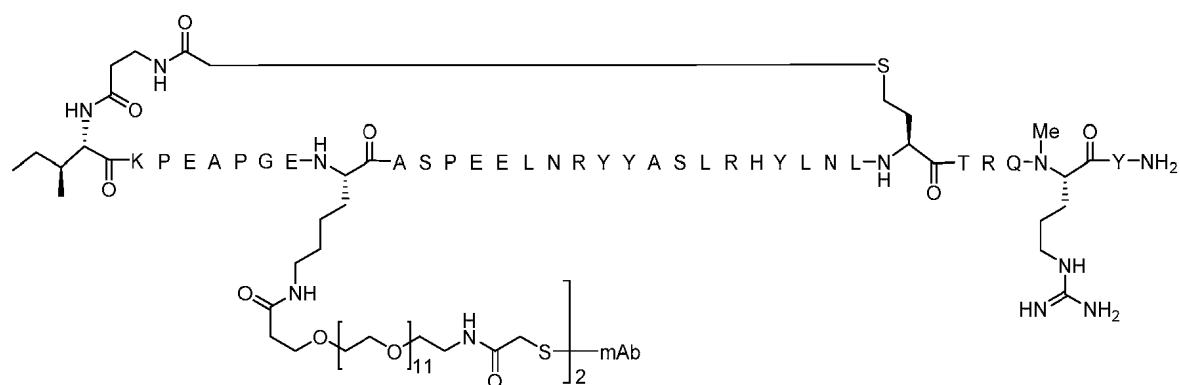
Estructura:



SEQ ID NO: 122

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)11, N-Me-R35]PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 21)

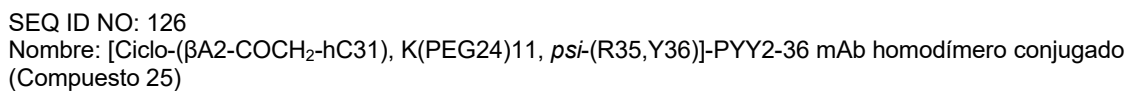
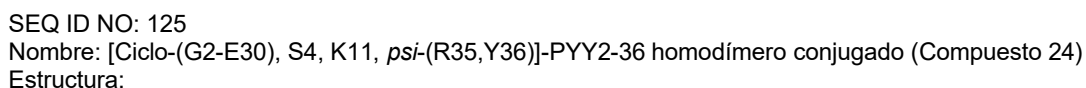
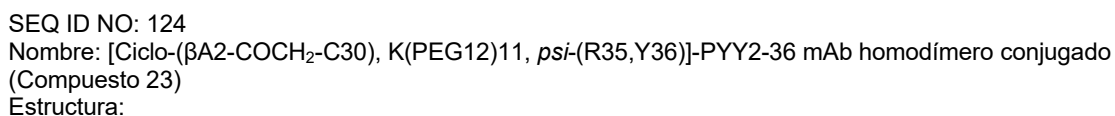
Estructura:

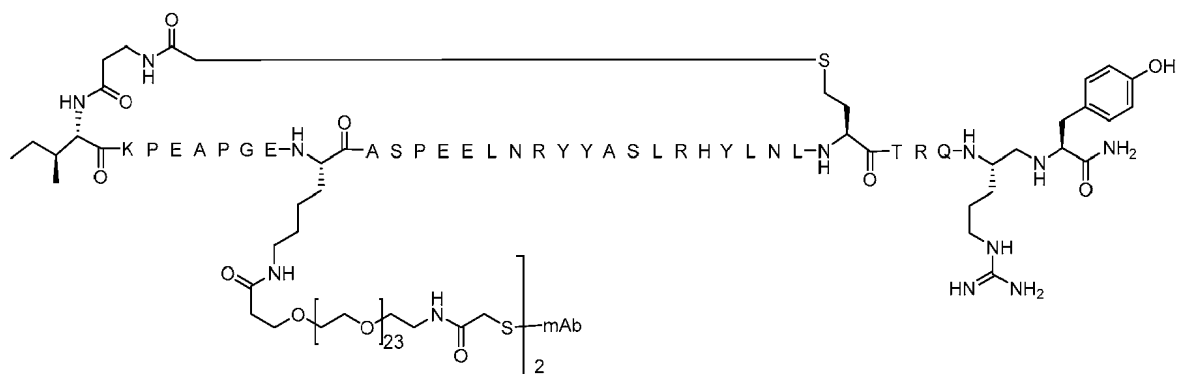


SEQ ID NO: 123

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-hC30), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 22)

Estructura:

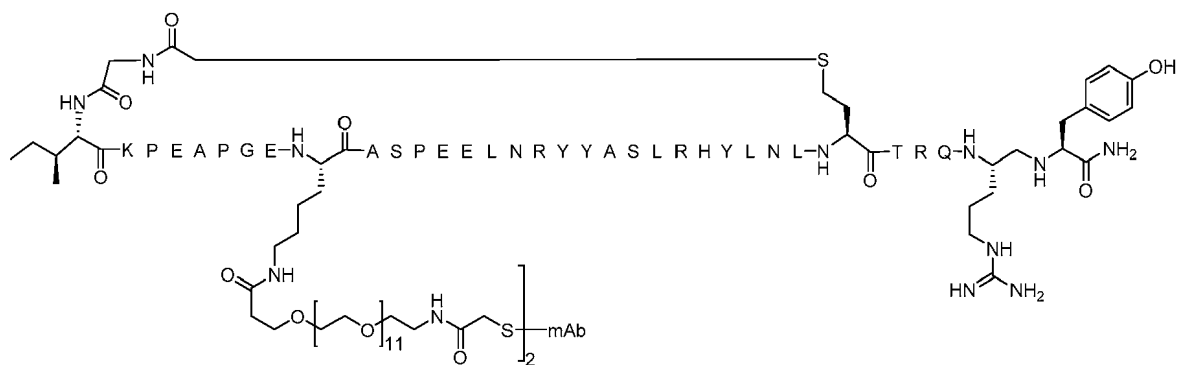




SEQ ID NO: 127

Nombre: [Ciclo-(G2-Ac-hC31), K(PEG12)11, *psi*-(R35-Y36)]-PYY2-36 mAb homodímero conjugado (Compuesto 26)

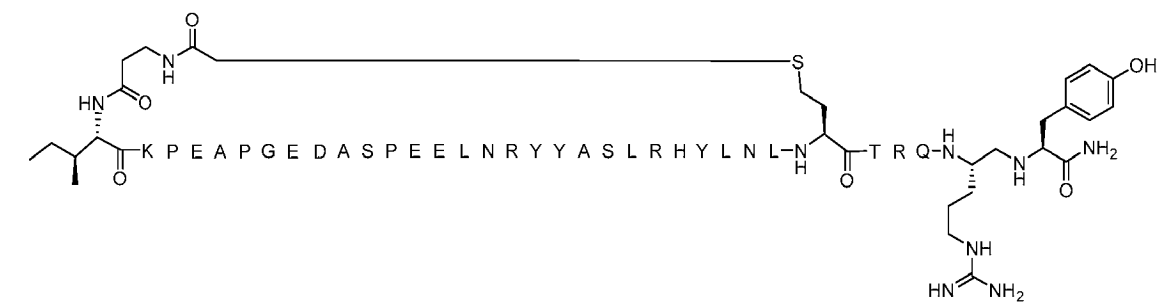
Estructura:



SEQ ID NO: 147

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

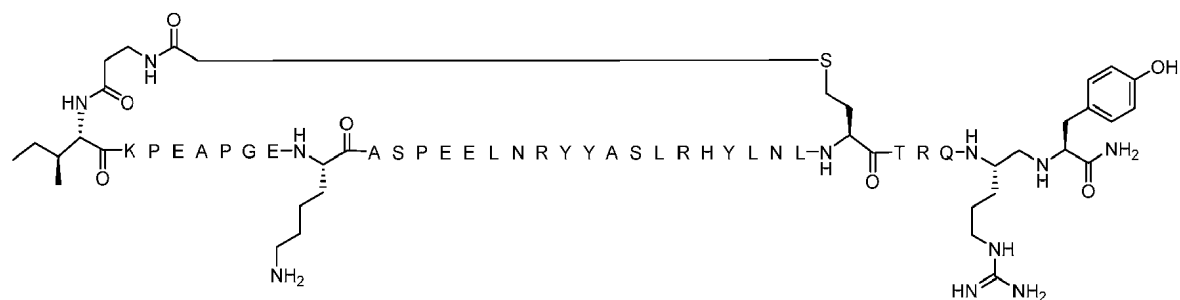
Estructura:



SEQ ID NO: 148

Nombre: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

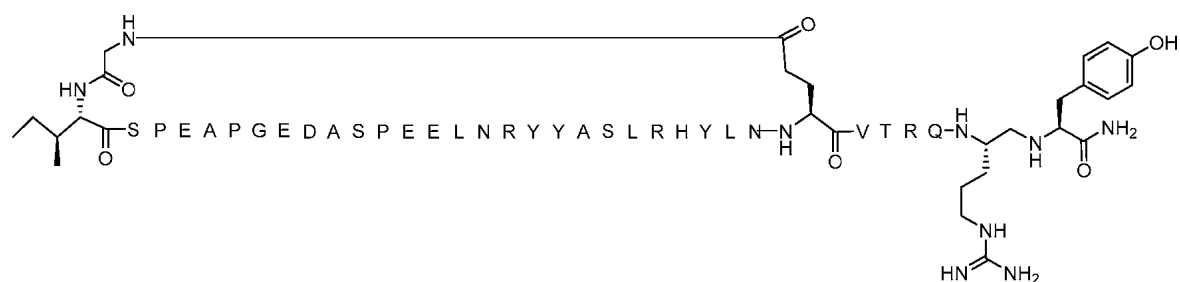
Estructura:



SEQ ID NO: 149

Nombre: [Ciclo-(G2-E30), S4, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

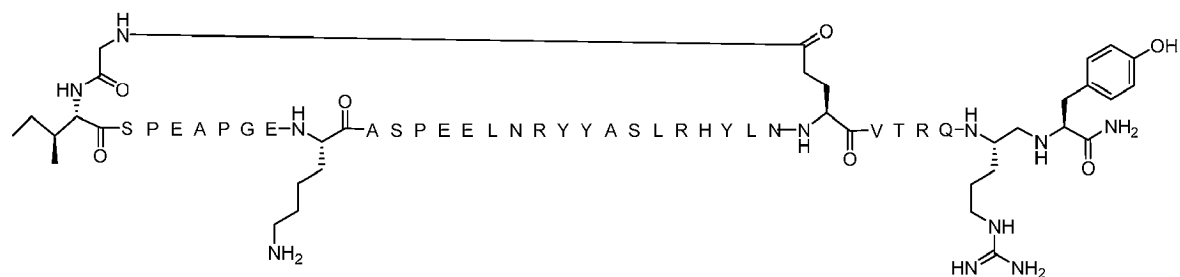
Estructura:



SEQ ID NO: 150

Nombre: [Ciclo-(G2-E30), S4,K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

Estructura:



SEQ ID NO: 151

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), N-Me-R35]-PYY2-36

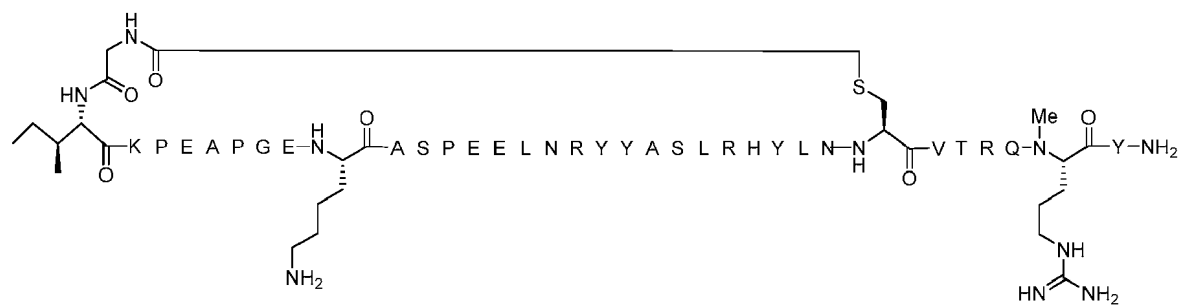
Estructura:



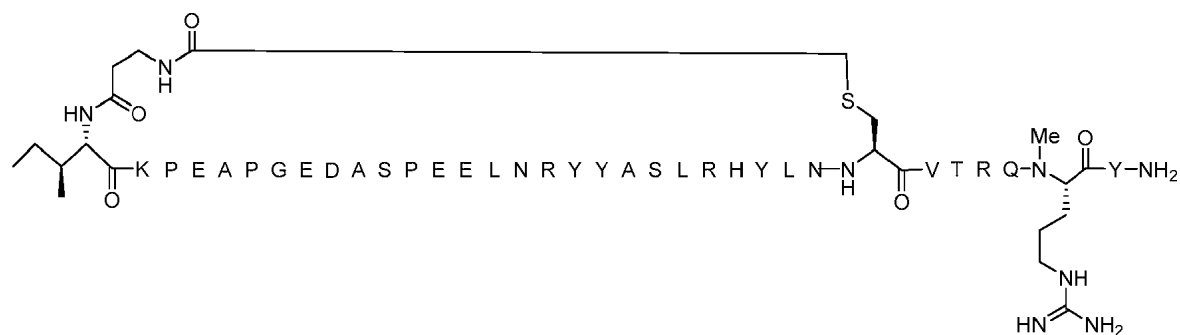
SEQ ID NO: 152

Nombre: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), K11, N-Me-R35]-PYY2-36

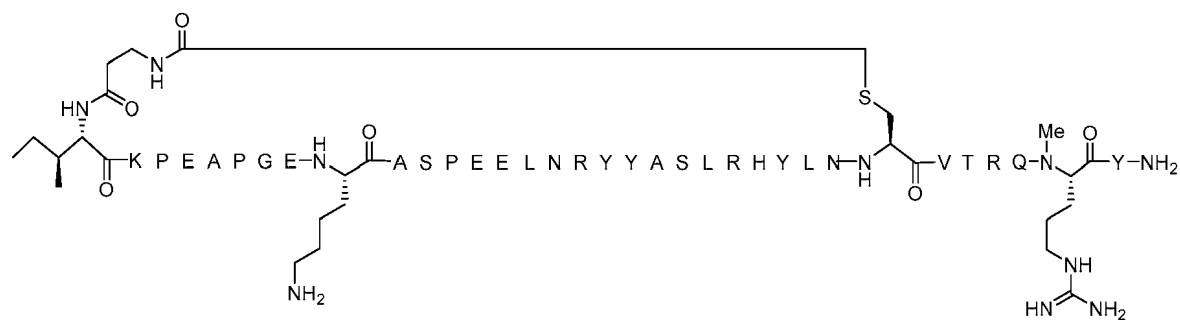
Estructura:



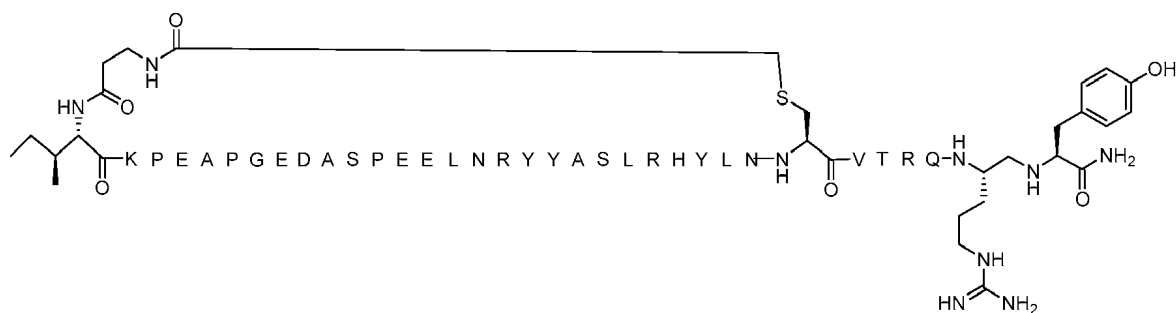
SEQ ID NO: 153
Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), N-Me-R35]-PYY2-36
Estructura:



SEQ ID NO: 154
Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), K11, N-Me-R35]-PYY2-36
Estructura:



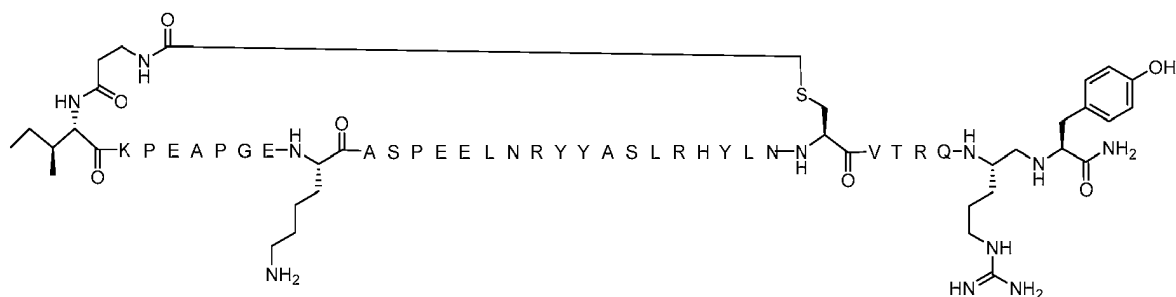
SEQ ID NO: 155
Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), psi-(R35,Y36)]-PYY2-36
Estructura:



SEQ ID NO: 156

Nombre: [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), K11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

Estructura:



LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Janssen Pharmaceutica NV

<120> Compuestos de péptido tirosina tirosina acoplados a anticuerpos como moduladores de los receptores Y de neuropéptidos

<130> PRD3436

<150> US62/413,613

<151> 2016-10-27

<150> US62/413,586

<151> 2016-10-27

<160> 156

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<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 como se describe en la memoria descriptiva

<220>

<221> Lys

$\langle 222 \rangle$ (10)..(10)

<223> Lys con modificación química como se describe en la memoria descriptiva

$\langle 220 \rangle$

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, en donde Cys es una homocisteína con modificación química como se describe en la memoria descriptiva

 $\langle 220 \rangle$

<221> Arg

$\langle 222 \rangle$ (34)..(34)

<223> Arg con modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<400> 1

Ala Ile Lys 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 Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

 $\langle 210 \rangle$ 2 $\langle 211 \rangle$ 34

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

 $\langle 220 \rangle$

<221> Ile

$\langle 222 \rangle$ (1)..(1)

<223> Lle con modificación química como se describe en la memoria descriptiva

 $\langle 220 \rangle$

$\langle 221 \rangle$ Cvs

<222> (29)..(29)

<223> Cyse, en donde Cys es homocisteína con modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<400> 2

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 Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

 $\langle 210 \rangle$ 3 $\langle 211 \rangle$ 34

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<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> Leu
<222> (29)..(29)
<223> Leu, en donde Leu es una norleucina con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

15 <400> 3

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	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	

60

Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Leu	Cys	Thr	Arg	Gln
			20					25					30		

65

Arg Tyr

<210> 5

	<211> 34
	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
5	<220>
	<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
	<220>
	<221> Ile
10	<222> (1)..(1)
	<223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Lys
15	<222> (9)..(9)
	<223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Cys
20	<222> (29)..(29)
	<223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
	<400> 5
25	
	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
	<210> 6
	<211> 34
	<212> PRT
40	<213> Secuencia Artificial
	<220>
	<223> 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> (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
40	1 5 10 15
	Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
	20 25 30
45	Arg Tyr
	<210> 8 <211> 34 <212> PRT 50 <213> Secuencia Artificial
	<220> 55 <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

<220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 <400> 8

 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

 Arg Tyr

 <210> 9
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

 <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

 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 <400> 9

 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 Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

 Arg Tyr

 <210> 10
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

5	<p><220> <221> Ile <222> (1)..(1) <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva</p>
10	<p><220> <221> Lys <222> (28)..(28) <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva</p>
15	<p><220> <221> Cys <222> (29)..(29) <223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva</p>
20	<p><400> 10</p> <p>Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn 1 5 10 15</p>
25	<p>Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Lys Cys Thr Arg 20 25 30</p>
30	<p>Gln Arg Tyr 35</p>
35	<p><210> 11 <211> 35 <212> PRT <213> Secuencia Artificial</p>
40	<p><220> <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico</p>
45	<p><220> <221> Ile <222> (1)..(1) <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva</p>
50	<p><220> <221> Lys <222> (28)..(28) <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva</p>
55	<p><220> <221> Cys <222> (29)..(29) <223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva</p>
60	<p><220> <221> Arg <222> (33)..(33) <223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva</p>
65	<p><400> 11</p>

	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>
20	<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
	<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
	Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
45	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)

<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

<220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<400> 13

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		

Arg Tyr

<210> 14
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <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

<220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<400> 14

	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 <213> Secuencia Artificial
15	<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
40	1 5 10 15
	Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
	20 25 30
45	Tyr
50	<210> 16 <211> 33 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
55	<220> <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
60	<220> <221> Lys <222> (1)..(1) <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
65	<220> <221> Lys <222> (27)..(27) <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva

<220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 5 <223> Cys, en donde la cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 <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**
 20 25 30
 20 **Tyr**
 <210> 17
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 30 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 35 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 40 <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**
 20 25 30
 55 **Arg Tyr**
 <210> 18
 <211> 34
 60 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 65

<220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 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 homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
 15
 <400> 18
 20
 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> 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 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> 19
 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> 20 <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 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 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
55	<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	

	<220>
	<221> Lys
	<222> (28)..(28)
5	<223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Cys
	<222> (29)..(29)
10	<223> Cys, en donde cys es una homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
	<400> 21
15	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 20 25 30
	Arg Tyr
25	<210> 22 <211> 34 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
30	<220> <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
	<220>
	<221> Ile
35	<222> (1)..(1)
	<223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Lys
40	<222> (28)..(28)
	<223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Cys
45	<222> (29)..(29)
	<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
	<400> 22
50	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 20 25 30
60	Arg Tyr
	<210> 23 <211> 34 <212> PRT
65	<213> Secuencia Artificial

	<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 una homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
20	<220> <221> Arg <222> (33)..(33) <223> Arg con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
25	<400> 23
30	Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn 1 5 10 15
35	Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln 20 25 30
40	Arg Tyr
40	<210> 24 <211> 34 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
45	<220> <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
50	<220> <221> Ile <222> (1)..(1) <223> Ile con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
55	<220> <221> Lys <222> (28)..(28) <223> Lys con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
60	<220> <221> Cys <222> (29)..(29) <223> Cys, en donde cys es homocisteína con la modificación química como se describe en la memoria descriptiva
65	<220> <221> Arg

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>
 <221> Ile
 5 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la solicitud

<220>
 <221> Lys
 10 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la solicitud

<220>
 <221> Cys
 15 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la solicitud

<220>
 <221> Arg
 20 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la solicitud

<400> 26

25

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
			20					25					30		

35

Arg Tyr

<210> 27
 <211> 34
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

<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 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> 27

[illegible]

<220>
 <221> Lys
 <222> (27)..(27)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 5
 <220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10
 <220>
 <221> Arg
 <222> (32)..(32)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15
 <400> 29
 Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15
 20
 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30
 25
 Tyr
 <210> 30
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 35
 <220>
 <221> Lys
 <222> (1)..(1)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 40
 <220>
 <221> Lys
 <222> (27)..(27)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45
 <220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50
 <220>
 <221> Arg
 <222> (32)..(32)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55
 <400> 30
 60
 65

	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																

<220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 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
 10

<220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15

<400> 32

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
			20					25					30		

25

Arg Tyr

<210> 33
 <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
 50

<220>
 <221> Gln
 <222> (32)..(32)
 <223> Gln 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> 33

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> 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

 <400> 35

 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 Lys Cys Thr Arg Gln**
20 25 30

 30 **Arg Tyr**

 35 <210> 36
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 40 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (1)..(1)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 50 <220>
 <221> Lys
 <222> (27)..(27)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

 55 <220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína 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> 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																

<220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 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
 10
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15
 <400> 38
 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> 39
 <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
 50
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55
 <400> 39
 60
 65

	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	

<220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 5
 <220>
 <221> Leu
 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, en donde la leu es una norleucina con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 10
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15
 <400> 41
 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 Leu Thr Arg Gln
 20 25 30
 25
 Arg Tyr
 <210> 42
 <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> Leu
 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, en donde la leu es una norleucina con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55
 <400> 42
 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 Leu Thr Arg Gln
	20 25 30
10	Arg Tyr
	<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
	<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>

<221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

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

10

<220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

15

<400> 44

Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Lys	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	Asn
1				5					10					15	

20

Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Leu	Cys	Thr	Arg	Gln
			20					25					30		

25

Arg Tyr

30

<210> 45
 <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> (9)..(9)
 <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> 45

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	Leu	Cys	Thr	Arg	Gln
				20					25					30		
10																
	Arg	Tyr														
	<210> 46															
	<211> 34															
15	<212> PRT															
	<213> Secuencia Artificial															
	<220>															
20	<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico															
	<220>															
	<221> Ile															
	<222> (1)..(1)															
25	<223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva															
	<220>															
	<221> Lys															
	<222> (28)..(28)															
30	<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva															
	<220>															
	<221> Cys															
	<222> (29)..(29)															
35	<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva															
	<220>															
	<221> Arg															
	<222> (33)..(33)															
40	<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva															
	<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															
55	<211> 34															
	<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

<400> 47

20 **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>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45 <220>
 <221> Lys
 <222> (20)..(20)
 <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> 48

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 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	

<220>
 <221> Lys
 <222> (21)..(21)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 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
 10
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15
 <400> 50
 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 Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 25
 Arg Tyr
 <210> 51
 <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
 50
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55
 <400> 51
 60
 65

	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>

<221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 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
 10 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15 <400> 53
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 20 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 25 Arg Tyr
 <210> 54
 <211> 34
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <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> (9)..(9)
 <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
 50 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55 <400> 54
 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 Leu Cys Thr Arg Gln
	20 25 30
10	Arg Tyr
	<210> 55 <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> (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 <213> Secuencia Artificial
55	<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>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 5 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 10 <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
				20					25					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
				20					25					30		

Arg Tyr

60 <210> 58
 <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 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 20 25 30
35	Arg Tyr
40	<210> 59 <211> 34 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
45	<220> <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
50	<220> <221> Ile <222> (1)..(1) <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
55	<220> <221> Lys <222> (20)..(20) <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
60	<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
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

55 Arg Tyr

60

<210>	61
<211>	34
<212>	PRT
<213>	Secuencia Artificial

<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

<210> 62
 <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> 62

65

[illegible]

<220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 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
 10
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15
 <400> 64
 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> 65
 <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
 50
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55
 <400> 65
 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> 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																	

<220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 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
 10
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 15
 <400> 67
 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 Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 30
 Arg Tyr
 <210> 68
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35
 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 40
 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 45
 <220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 50
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 55
 <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
	<210> 69 <211> 35 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
15	<220> <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
20	<220> <221> Gly <222> (1)..(1) <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
25	<220> <221> Glu <222> (30)..(30) <223> Glu con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
30	<220> <221> Arg <222> (34)..(34) <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
35	<400> 69
	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

<220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 5
 <400> 70
 Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
 10
 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
 30
 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly 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> 71
 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> 72
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 65
 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

5	<p><220> <221> Gly <222> (1)..(1) <223> Gly con la modificación química descrita en la memoria descriptiva</p>																																
10	<p><220> <221> Lys <222> (10)..(10) <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva</p>																																
15	<p><220> <221> Glu <222> (29)..(29) <223> Glu con la modificación química descrita en la memoria descriptiva</p>																																
20	<p><220> <221> Arg <222> (34)..(34) <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva</p>																																
25	<p><400> 72</p> <table><tr><td>Gly</td><td>Ile</td><td>Ser</td><td>Pro</td><td>Glu</td><td>Ala</td><td>Pro</td><td>Gly</td><td>Glu</td><td>Lys</td><td>Ala</td><td>Ser</td><td>Pro</td><td>Glu</td><td>Glu</td><td>Leu</td></tr><tr><td>1</td><td></td><td></td><td></td><td>5</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>10</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>15</td><td></td></tr></table>	Gly	Ile	Ser	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Lys	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	1				5					10					15	
Gly	Ile	Ser	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Lys	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu																		
1				5					10					15																			
30	<table><tr><td>Asn</td><td>Arg</td><td>Tyr</td><td>Tyr</td><td>Ala</td><td>Ser</td><td>Leu</td><td>Arg</td><td>His</td><td>Tyr</td><td>Leu</td><td>Asn</td><td>Glu</td><td>Val</td><td>Thr</td><td>Arg</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td>20</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>25</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>30</td><td></td><td></td></tr></table>	Asn	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Glu	Val	Thr	Arg				20					25					30		
Asn	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Glu	Val	Thr	Arg																		
			20					25					30																				
35	<table><tr><td>Gln</td><td>Arg</td><td>Tyr</td></tr><tr><td></td><td></td><td>35</td></tr></table>	Gln	Arg	Tyr			35																										
Gln	Arg	Tyr																															
		35																															
40	<p><210> 73 <211> 35 <212> PRT <213> Secuencia Artificial</p>																																
45	<p><220> <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico</p>																																
50	<p><220> <221> Ala <222> (1)..(1) <223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva</p>																																
55	<p><220> <221> Lys <222> (10)..(10) <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva</p>																																
60	<p><220> <221> Cys <222> (30)..(30) <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva</p>																																
65	<p><220> <221> Arg <222> (34)..(34) <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva</p> <p><400> 73</p>																																

	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>
20	<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
	<220>
	<221> Ala
	<222> (1)..(1)
25	<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Lys
	<222> (10)..(10)
30	<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Cys
	<222> (30)..(30)
35	<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Arg
	<222> (34)..(34)
40	<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
	<400> 74
	Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
45	1 5 10 15
	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
	<220>
65	<221> Ile

	<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 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 <div> <div>Ile</div> <div>Lys</div> <div>Pro</div> <div>Glu</div> <div>Ala</div> <div>Pro</div> <div>Gly</div> <div>Glu</div> <div>Lys</div> <div>Ala</div> <div>Ser</div> <div>Pro</div> <div>Glu</div> <div>Glu</div> <div>Leu</div> <div>Asn</div> </div> <div> <div>1</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>5</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>10</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>15</div> <div></div> </div>
25	<div> <div>Arg</div> <div>Tyr</div> <div>Tyr</div> <div>Ala</div> <div>Ser</div> <div>Leu</div> <div>Arg</div> <div>His</div> <div>Tyr</div> <div>Leu</div> <div>Asn</div> <div>Leu</div> <div>Cys</div> <div>Thr</div> <div>Arg</div> <div>Gln</div> </div> <div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>20</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>25</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>30</div> <div></div> </div>
30	Arg Tyr
35	<210> 76 <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> 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
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> Lys <222> (19)..(19) <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
40	<220> <221> Cys <222> (30)..(30) <223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
45	<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
55	Asn Arg Lys Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
	20 25 30
60	Gln Arg Tyr
	35
65	<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

<220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 <400> 79

 Ala Ile Lys 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 Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

 Gln Arg Tyr
 35

 <210> 80
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <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> 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> 80

 Ala Ile Arg 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 Trp Cys Thr Arg
 20 25 30

 Gln Arg Tyr
 35

 <210> 81
 <211> 34
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 5
 <220>
 <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
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
 25
 <400> 81
 Ile Arg 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 Trp Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 35
 Arg Tyr
 <210> 82
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
 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> 82

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30

Tyr

<210> 83

<211> 35

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>

<221> Ile

<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

<220>

<221> Leu

<222> (29)..(29)

<223> Leu, en donde la leu es una norleucina con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 83

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 Leu Val Thr Arg
 20 25 30

Gln Arg Tyr
 35

<210> 84

<211> 35

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

<220>

<221> Ile

<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

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

<400> 85

65

	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>
20	<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
	<220>
	<221> Ala
	<222> (1)..(1)
25	<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Lys
	<222> (21)..(21)
30	<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Cys
	<222> (30)..(30)
35	<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Arg
	<222> (34)..(34)
40	<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
	<400> 86
	Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
45	1 5 10 15
	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>
65	<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, 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	<table><tr><td>Ala</td><td>Ile</td><td>Lys</td><td>Pro</td><td>Glu</td><td>Lys</td><td>Pro</td><td>Gly</td><td>Glu</td><td>Asp</td><td>Ala</td><td>Ser</td><td>Pro</td><td>Glu</td><td>Glu</td><td>Leu</td></tr><tr><td>1</td><td></td><td></td><td></td><td>5</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>10</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>15</td><td></td></tr></table>	Ala	Ile	Lys	Pro	Glu	Lys	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	1				5					10					15	
Ala	Ile	Lys	Pro	Glu	Lys	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu																		
1				5					10					15																			
30	<table><tr><td>Asn</td><td>Arg</td><td>Tyr</td><td>Tyr</td><td>Ala</td><td>Ser</td><td>Leu</td><td>Arg</td><td>His</td><td>Tyr</td><td>Leu</td><td>Asn</td><td>Leu</td><td>Cys</td><td>Val</td><td>Thr</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td>20</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>25</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>30</td><td></td><td></td></tr></table>	Asn	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Leu	Cys	Val	Thr				20					25					30		
Asn	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Leu	Cys	Val	Thr																		
			20					25					30																				
35	<table><tr><td>Arg</td><td>Gln</td><td>Arg</td><td>Tyr</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td>35</td></tr></table>	Arg	Gln	Arg	Tyr				35																								
Arg	Gln	Arg	Tyr																														
			35																														
40	<210> 88 <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> (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> 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
	<400> 89
45	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
	<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> 90																																
25	<table><tr><td>Ala</td><td>Ile</td><td>Lys</td><td>Pro</td><td>Glu</td><td>Ala</td><td>Pro</td><td>Gly</td><td>Glu</td><td>Lys</td><td>Ala</td><td>Ser</td><td>Pro</td><td>Glu</td><td>Glu</td><td>Leu</td></tr><tr><td>1</td><td></td><td></td><td></td><td>5</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>10</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>15</td><td></td></tr></table>	Ala	Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Lys	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	1				5					10					15	
Ala	Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Lys	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu																		
1				5					10					15																			
30	<table><tr><td>Asn</td><td>Arg</td><td>Tyr</td><td>Tyr</td><td>Ala</td><td>Ser</td><td>Leu</td><td>Arg</td><td>His</td><td>Tyr</td><td>Leu</td><td>Asn</td><td>Cys</td><td>Val</td><td>Thr</td><td>Arg</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td>20</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>25</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>30</td><td></td><td></td></tr></table>	Asn	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Cys	Val	Thr	Arg				20					25					30		
Asn	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Cys	Val	Thr	Arg																		
			20					25					30																				
35	<table><tr><td>Gln</td><td>Arg</td><td>Tyr</td></tr><tr><td></td><td></td><td>35</td></tr></table>	Gln	Arg	Tyr			35																										
Gln	Arg	Tyr																															
		35																															
40	<210> 91																																
	<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> (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
	<400> 92
45	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
	<220> <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
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> 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

<400> 94

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 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
	<400> 95
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> 96 <211> 35 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
65	<220> <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
	<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> (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 <div> <div>Ala</div> <div>Ile</div> <div>Lys</div> <div>Pro</div> <div>Glu</div> <div>Ala</div> <div>Pro</div> <div>Gly</div> <div>Glu</div> <div>Lys</div> <div>Ala</div> <div>Ser</div> <div>Pro</div> <div>Glu</div> <div>Glu</div> <div>Leu</div> </div> <div> <div>1</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>5</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>10</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>15</div> <div></div> </div>
25	<div> <div>Asn</div> <div>Arg</div> <div>Tyr</div> <div>Tyr</div> <div>Ala</div> <div>Ser</div> <div>Leu</div> <div>Arg</div> <div>His</div> <div>Tyr</div> <div>Leu</div> <div>Asn</div> <div>Leu</div> <div>Cys</div> <div>Thr</div> <div>Arg</div> </div> <div> <div></div> <div></div> <div>20</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>25</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>30</div> <div></div> </div>
30	<div>Gln</div> <div>Arg</div> <div>Tyr</div> <div>35</div>
35	<210> 97 <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> (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> 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

<400> 98

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 45 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

<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

<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

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 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
	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
	<220> <223> Conjugado 1
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
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> 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
	<400> 103
45	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> 104 <211> 35 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
65	<220> <223> Conjugado 3
	<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> (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 <div> <div>Ala</div> <div>Ile</div> <div>Lys</div> <div>Pro</div> <div>Glu</div> <div>Ala</div> <div>Pro</div> <div>Gly</div> <div>Glu</div> <div>Lys</div> <div>Ala</div> <div>Ser</div> <div>Pro</div> <div>Glu</div> <div>Glu</div> <div>Leu</div> </div> <div> <div>1</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>5</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>10</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>15</div> <div></div> </div>
25	<div> <div>Asn</div> <div>Arg</div> <div>Tyr</div> <div>Tyr</div> <div>Ala</div> <div>Ser</div> <div>Leu</div> <div>Arg</div> <div>His</div> <div>Tyr</div> <div>Leu</div> <div>Asn</div> <div>Leu</div> <div>Cys</div> <div>Thr</div> <div>Arg</div> </div> <div> <div></div> <div></div> <div>20</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>25</div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div></div> <div>30</div> <div></div> </div>
30	<div>Gln</div> <div>Arg</div> <div>Tyr</div> <div>35</div>
35	<210> 105 <211> 34 <212> PRT <213> Secuencia Artificial
40	<220> <223> Conjugado 4
45	<220> <221> Ile <222> (1)..(1) <223> Ile con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
50	<220> <221> Lys <222> (9)..(9) <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> (33)..(33) <223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva
65	<400> 105

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

Arg Tyr

<210> 106
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Conjugado 5

<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> (29)..(29)
 <223> Lys 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> 106

Ala Ile Lys 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 Lys Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr

35

<210> 107
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Conjugado 6

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> Lys
<222> (19)..(19)
<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)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

$\langle 220 \rangle$

<221> Gln

 $\langle 222 \rangle$ (33)..(33)

<223> Gln con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

$\langle 220 \rangle$

<221> Arg

$$\langle 222 \rangle \quad (34) \dots (34)$$

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 108

Ala Ile Lys 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 Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 109

<211> 35

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

 $\langle 220 \rangle$

<223> Conjugado 8

 $\langle 220 \rangle$

<221> Ala

 $\langle 222 \rangle (1) \dots (1)$

<223> Ala con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>

<221> Lys

 $\langle 222 \rangle$ (10).. $\bar{1}$ (10)

<223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>

<221> Cys

$\langle 222 \rangle$ (30)..(30)

<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<220>

<221> Arg

$\langle 222 \rangle$ (34)..(34)

<223> Arg con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 109

	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
	<400> 110
45	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
	<220> <223> Conjugado 10
65	<220>

<221> Ile
 <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 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> 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

<210> 112
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35

<220>
 <223> Conjugado 11

40

<220>
 <221> Lys
 <222> (1)..(1)
 <223> Lys con la modificación química descrita en la memoria descriptiva

45

<220>
 <221> Lys
 <222> (8)..(8)
 <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> 112

65

	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

<400> 115

65

	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
	<400> 116
45	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
	<220> <223> Conjugado 16
65	<220>

	<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	<table><tr><td>Ala</td><td>Ile</td><td>Lys</td><td>Pro</td><td>Glu</td><td>Lys</td><td>Pro</td><td>Gly</td><td>Glu</td><td>Asp</td><td>Ala</td><td>Ser</td><td>Pro</td><td>Glu</td><td>Glu</td><td>Leu</td></tr><tr><td>1</td><td></td><td></td><td></td><td>5</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>10</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>15</td><td></td></tr></table>	Ala	Ile	Lys	Pro	Glu	Lys	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	1				5					10					15	
Ala	Ile	Lys	Pro	Glu	Lys	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu																		
1				5					10					15																			
30	<table><tr><td>Asn</td><td>Arg</td><td>Tyr</td><td>Tyr</td><td>Ala</td><td>Ser</td><td>Leu</td><td>Arg</td><td>His</td><td>Tyr</td><td>Leu</td><td>Asn</td><td>Leu</td><td>Cys</td><td>Val</td><td>Thr</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td>20</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>25</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>30</td><td></td><td></td></tr></table>	Asn	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Leu	Cys	Val	Thr				20					25					30		
Asn	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Leu	Cys	Val	Thr																		
			20					25					30																				
35	<table><tr><td>Arg</td><td>Gln</td><td>Arg</td><td>Tyr</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td>35</td></tr></table>	Arg	Gln	Arg	Tyr				35																								
Arg	Gln	Arg	Tyr																														
			35																														
40	<210> 118																																
	<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> (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> 118																																

	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
	<400> 119
45	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
	<220> <223> Conjugado 19
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> 120																																
25	<table><tr><td>Ala</td><td>Ile</td><td>Lys</td><td>Pro</td><td>Glu</td><td>Ala</td><td>Pro</td><td>Gly</td><td>Glu</td><td>Lys</td><td>Ala</td><td>Ser</td><td>Pro</td><td>Glu</td><td>Glu</td><td>Leu</td></tr><tr><td>1</td><td></td><td></td><td></td><td>5</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>10</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>15</td><td></td></tr></table>	Ala	Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Lys	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	1				5					10					15	
Ala	Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Lys	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu																		
1				5					10					15																			
30	<table><tr><td>Asn</td><td>Arg</td><td>Tyr</td><td>Tyr</td><td>Ala</td><td>Ser</td><td>Leu</td><td>Arg</td><td>His</td><td>Tyr</td><td>Leu</td><td>Asn</td><td>Cys</td><td>Val</td><td>Thr</td><td>Arg</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td>20</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>25</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>30</td><td></td><td></td></tr></table>	Asn	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Cys	Val	Thr	Arg				20					25					30		
Asn	Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Cys	Val	Thr	Arg																		
			20					25					30																				
35	<table><tr><td>Gln</td><td>Arg</td><td>Tyr</td></tr><tr><td></td><td></td><td>35</td></tr></table>	Gln	Arg	Tyr			35																										
Gln	Arg	Tyr																															
		35																															
40	<210> 121																																
	<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> (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
	<400> 122
45	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
	<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>

<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> (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> 126

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> 127
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40

<220>
 <223> Conjugado 26

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

ES 2 897 480 T3

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
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 25 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 30 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 35 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 40 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 45 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
 85 90 95
 50 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 55 <210> 129
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60 <400> 129
 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 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	
	<400> 130	
45	Tyr Asp Gly Ile Tyr Gly Glu Leu Asp Phe	
	1 5 10	
50	<210> 131 <211> 115 <212> PRT <213> Secuencia Artificial	
55	<220> <223> concatenación de IGHV3-23*01 y IGHJ1*01 <400> 131	
60		
65		

[illegible]

35 <210> 132
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

40 <400> 132

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

 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

		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	

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Trp
 85 90 95

5 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

10 <210> 135
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 135
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

20 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

25 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

30 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

35 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80

40 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro
 85 90 95

45 <210> 136
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

50 <400> 136
 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

55 <210> 137
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

60 <220>
 <223> MSCB97 VH

65 <400> 137
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

	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														
30	<210> 138																
	<211> 446																
	<212> PRT																
	<213> Secuencia Artificial																
35	<220>																
	<223> MSCB97 HC																
	<400> 138																
40	Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
	1				5					10					15		
45	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	
				20					25					30			
50	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
			35					40					45				
55	Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
		50					55					60					
60	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
	65					70					75					80	
65	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			

	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																
	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
	1				5					10					15		
40	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Tyr	
				20					25					30			
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								

<210> 140
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5

<220>
 <223> MSCB97 LC

<400> 140

10

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

40

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

45

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

50

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

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

60

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

65

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

5 <210> 141
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> MSCB97 HCDR1
 <400> 141

15 **Ser Tyr Ala Met Ser**
 1 5

20 <210> 142
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> MSCB97 HCDR2
 <400> 142

30 **Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys**
 1 5 10 15

Gly

35 <210> 143
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> MSCB97 HCDR3
 <400> 143

45 **Tyr Asp Gly Cys Tyr Gly Glu Leu Asp Phe**
 1 5 10

50 <210> 144
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> MSCB97 LCDR1
 <400> 144

60 **Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala**
 1 5 10

65 <210> 145
 <211> 7

<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> MSCB97 LCDR2
 <400> 145

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

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

30 <210> 147
 <211> 35
 <212> PRT
 <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

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

55

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

60 Gln Arg Tyr
 35

65 $\langle 210 \rangle$ 148
 $\langle 211 \rangle$ 35
 $\langle 212 \rangle$ PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

5

<220>
<221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala con modificación química descrita en la memoria descriptiva

10

<220>
<221> Lys
<222> (10)..(10)
<223> Lys con modificación química descrita en la memoria descriptiva

15

<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, en donde la cys es una homocisteína con modificación química descrita en la memoria descriptiva

20

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con modificación química descrita en la memoria descriptiva

25

<400> 148

30

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

<210> 149
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45

<220>
<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

50

<220>
<221> Gly
<222> (1)..(1)
<223> Gly con modificación química descrita en la memoria descriptiva

55

<220>
<221> Glu
<222> (29)..(29)
<223> Glu con modificación química descrita en la memoria descriptiva

60

<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg con modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 149

65

	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
	<400> 150
45	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
	<220> <223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
65	<220>

<221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly con modificación química descrita en la memoria descriptiva

5

<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

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

<400> 152

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
	<210> 153
	<211> 35
15	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
	<220>
20	<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
	<220>
	<221> Ala
	<222> (1)..(1)
25	<223> Ala con modificación química descrita en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Cys
	<222> (29)..(29)
30	<223> Cys con modificación química descrita en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Arg
	<222> (34)..(34)
35	<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
40	1 5 10 15
	Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
	20 25 30
45	Gln Arg Tyr
	35
50	<210> 154
	<211> 35
	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
55	<220>
	<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico
	<220>
	<221> Ala
60	<222> (1)..(1)
	<223> Ala con modificación química descrita en la memoria descriptiva
	<220>
	<221> Lys
65	<222> (10)..(10)

<223> Lys con modificación química descrita en la memoria descriptiva

$\langle 220 \rangle$

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys con modificación química descrita en la memoria descriptiva

$\langle 220 \rangle$

<221> Arg

$$\langle 222 \rangle \quad (34) \dots (34)$$

<223> Arg con modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 154

Ala Ile Lys 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	Cys	Val	Thr	Arg
			20					25					30		

Gln Arg Tyr
35

<210> 155

<211> 35

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Compuesto de Péptido PYY Cíclico

 $\langle 220 \rangle$

<221> Ala

 $\langle 222 \rangle (1) \dots (1)$

<223> Ala con modificación química descrita en la memoria descriptiva

$\langle 220 \rangle$

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys con modificación química descrita en la memoria descriptiva

$\langle 220 \rangle$

<221> Arg

$\langle 222 \rangle$ (34)..(34)

<223> Arg con modificación química descrita en la memoria descriptiva

<400> 155

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<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

 <400> 156

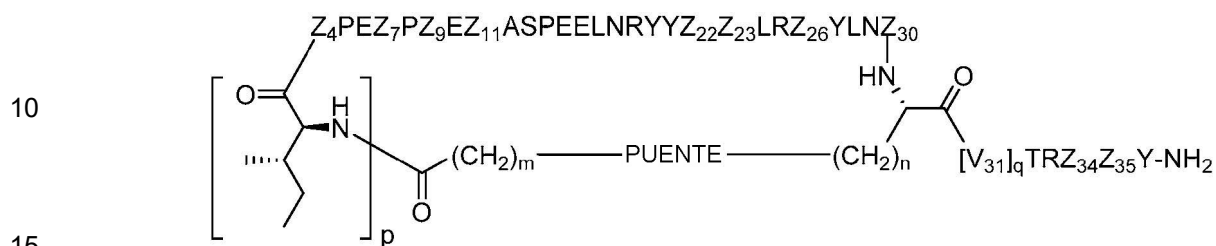
 30 **Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu**
 1 5 10 15

 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 35 20 25 30

 Gln Arg Tyr
 35
 40

REIVINDICACIONES

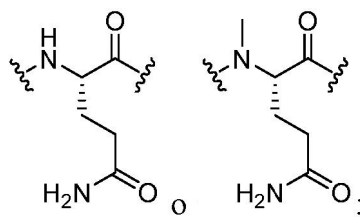
1. Un conjugado que comprende un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno del mismo acoplado a un péptido PYY cíclico, en donde el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o un derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



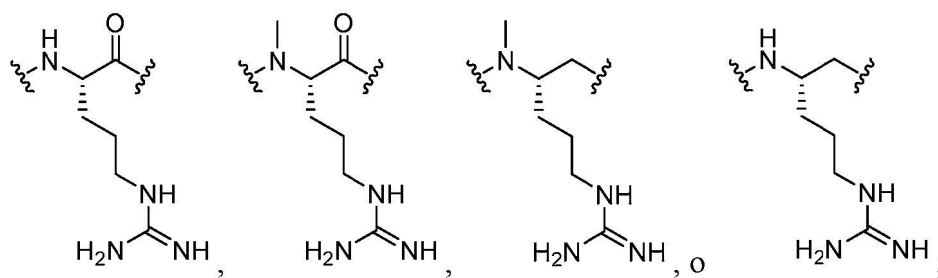
Formula I

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 es



Z₃₅ 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

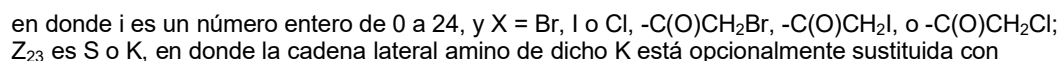
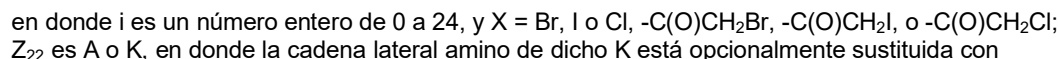
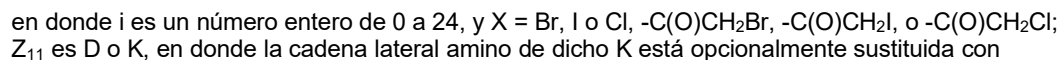
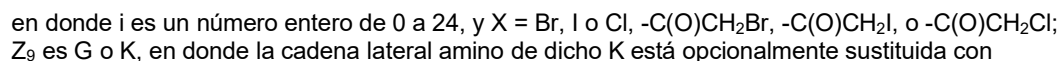
3. El conjugado de la reivindicación 1, en donde el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o el derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

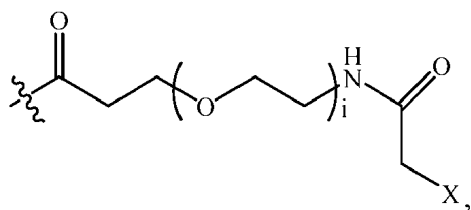
m es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

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

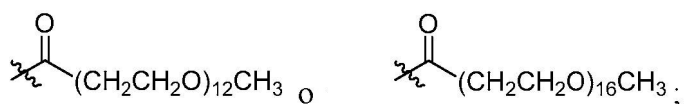
$$-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{S}-, -\text{NHC}(\text{O})-\text{o}-\text{CH}_2\text{S}-;$$

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

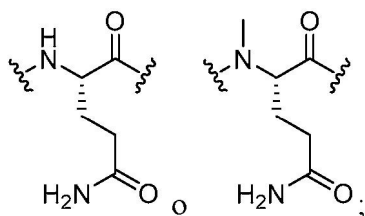




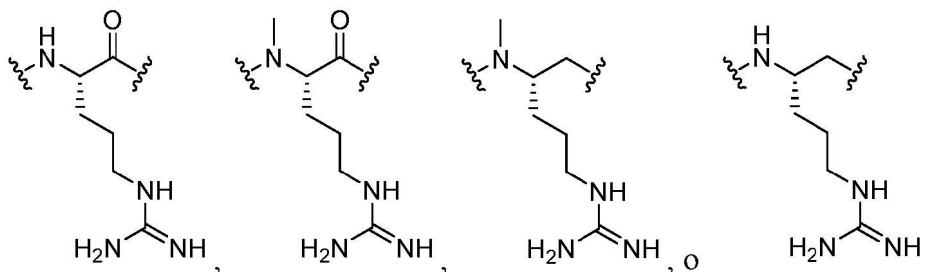
en donde i es un número entero de 0 a 24, y $X = \text{Br}$, I o Cl , $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I}$, o $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$;
 Z_{26} es A o H;
 Z_{30} es L o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



Z_{34} es

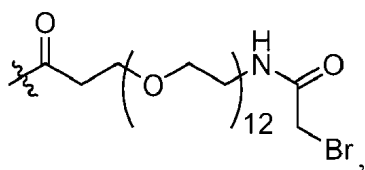


y
 Z_{35} es

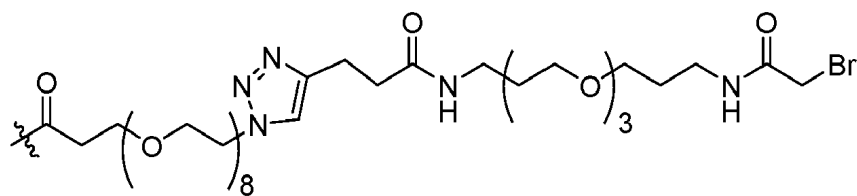
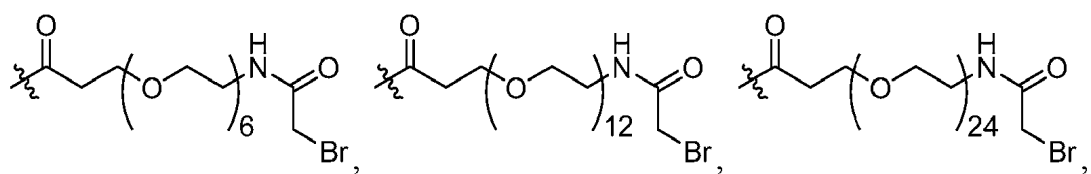


4. El conjugado de la reivindicación 1, en donde el péptido PYY cíclico está representado por la Fórmula I o el derivado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

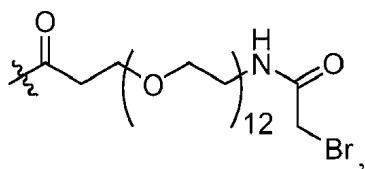
p es 0 o 1;
 m es 0, 1, 2, 3 o 5;
 n es 1, 2 o 4;
 q es 0 o 1; siempre que q pueda ser 1 solo cuando Z_{30} esté ausente;
 PUENTE es $-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{S}-$, $-\text{triazolilo}-$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{S}-$, $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{S}$, $-\text{NHC}(\text{O})-$, o $-\text{CH}_2\text{S}-$;
 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 sustituida con



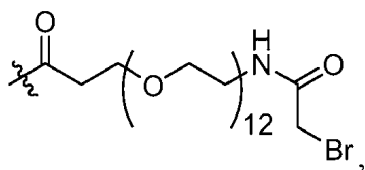
Z_9 es G o K,
 Z_{11} es D o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con


$$-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br},$$

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

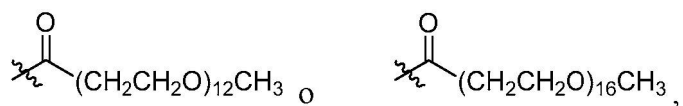


Z₂₃ es S o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con

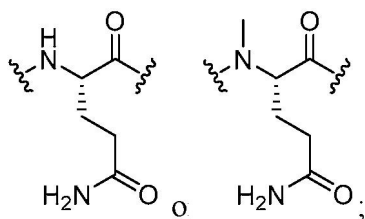


Z_{26} es A o H,

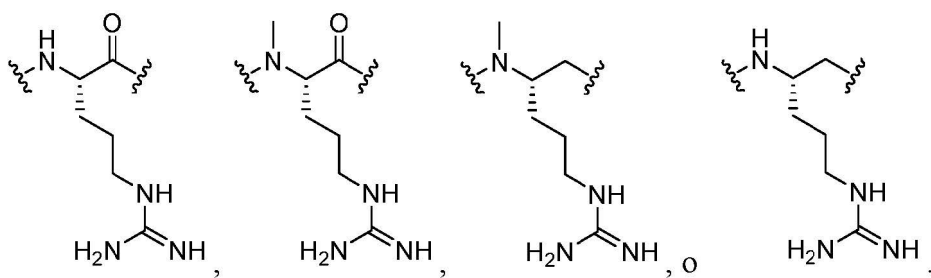
Z₃₀ es L o K, en donde la cadena lateral amino de dicho K está sustituida con



Z₃₄ es



Z35 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.

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, (Gly4Ser)_j en donde j = 1-4, (AlaPro)_u en donde u = 1-10, y un enlace.

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.

8. Un conjugado que comprende una molécula de acuerdo con la siguiente fórmula:

cPYY-L]₂-mAb
en donde:

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

]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.

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.

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;

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.

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 sulfhidrido 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.

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 eccema, el método comprendiendo administrar al sujeto con necesidad de ello una cantidad eficaz de la composición farmacéutica.
10
- 15 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
- 20 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.
- 25 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.
- 30 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.
- 35 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.
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

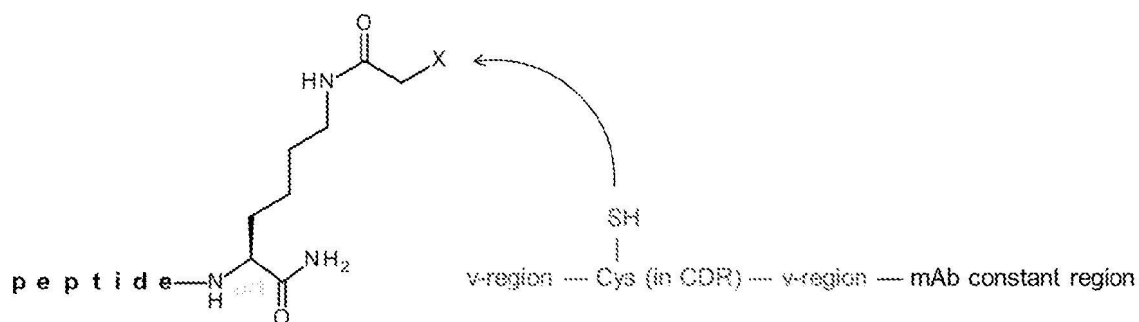


Fig. 2

PH9H5 VH (SEQ ID NO:129)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYADSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYDGIYGELDFWGQGLTVTVSS

PH9L3 VL (SEQ ID NO:128)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSG
SGSGTDFTLTISLPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIK

Fig. 3

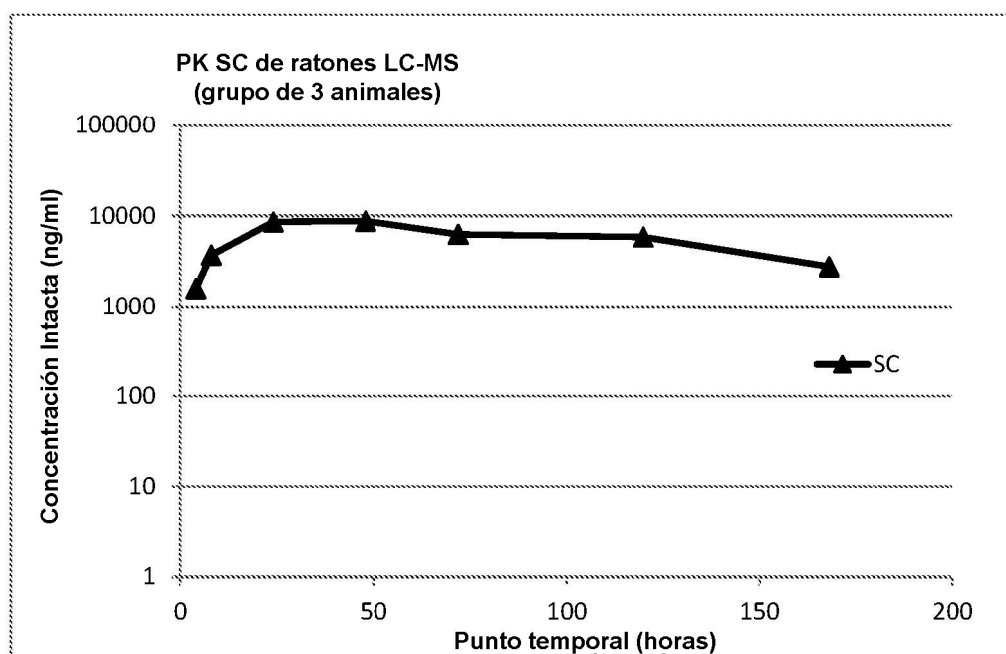


Fig. 4

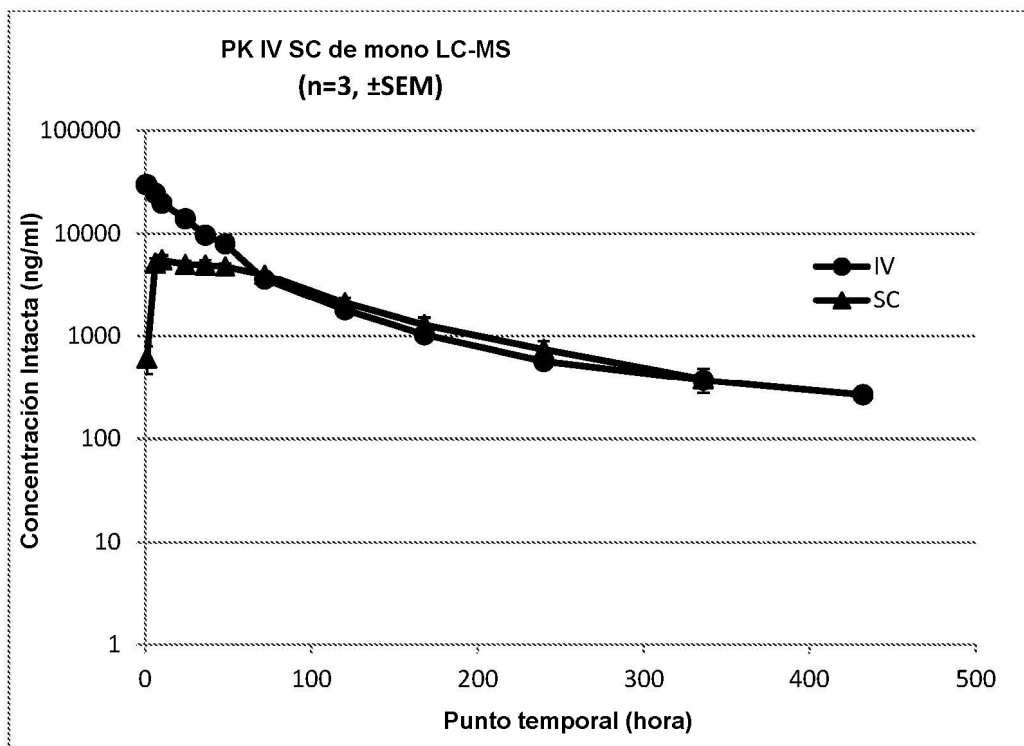
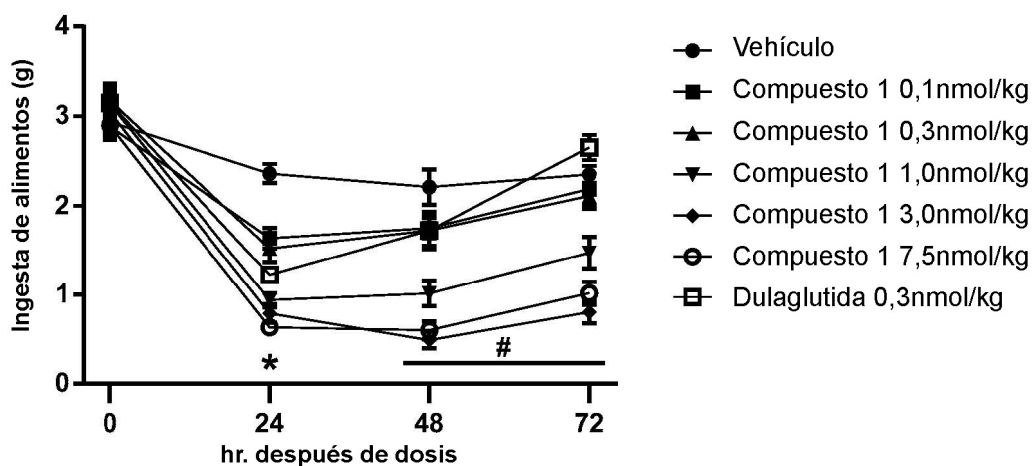


Fig. 5

Ingesta de alimentos en ratones DIO después del Compuesto 1



Anova RM Bldireccional, Tukey

* $p < 0,05$ vehículo frente a todos los grupos

$p < 0,05$ vehículo frente a Compuesto 1

1,0, 3,0, y 7,5 nmol/kg

Fig. 6

Cambio de PC en ratones DIO después del Compuesto1

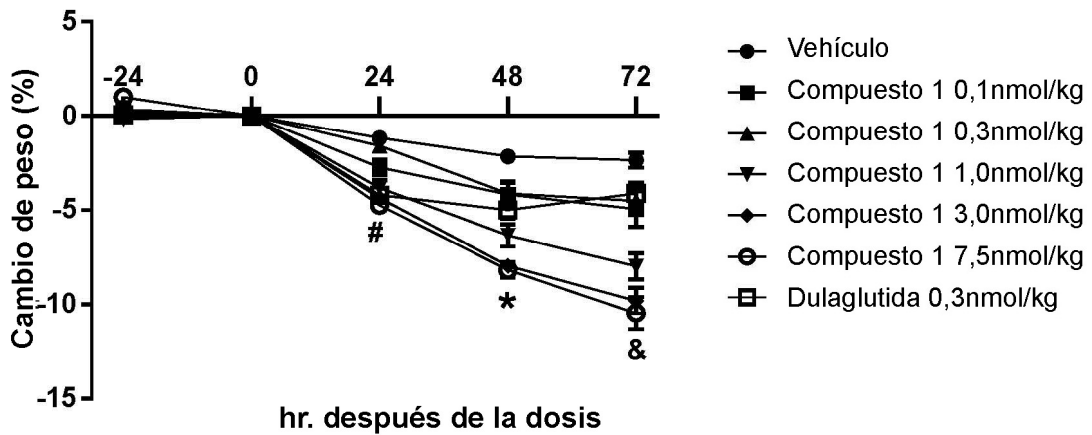


Fig. 7

Ingesta de alimentos en ratones DIO después del Compuesto1

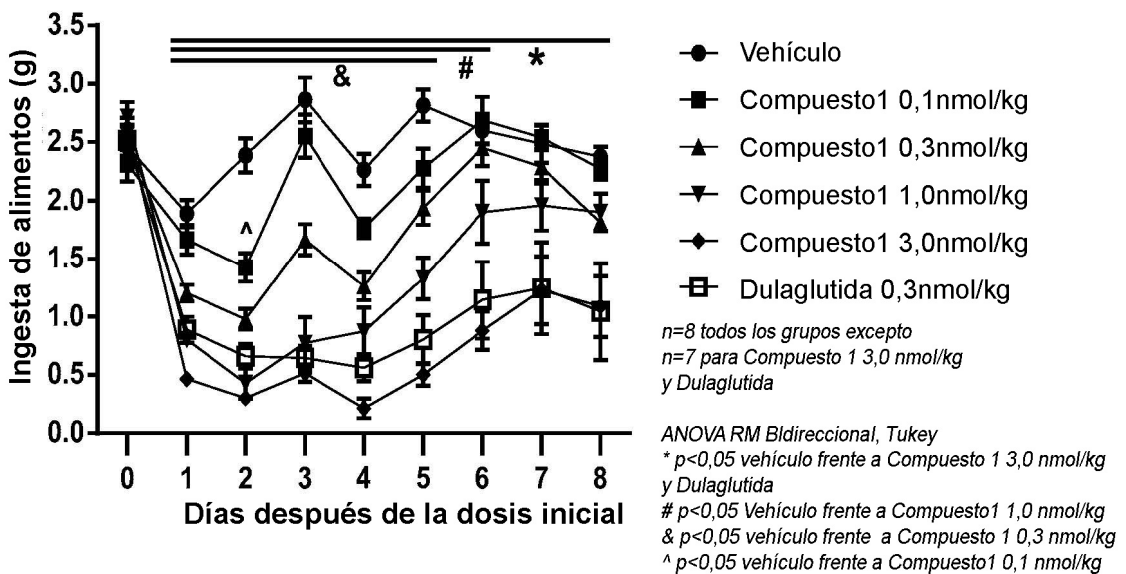


Fig. 8

Cambio en PS en ratones DIO después del Compuesto 1

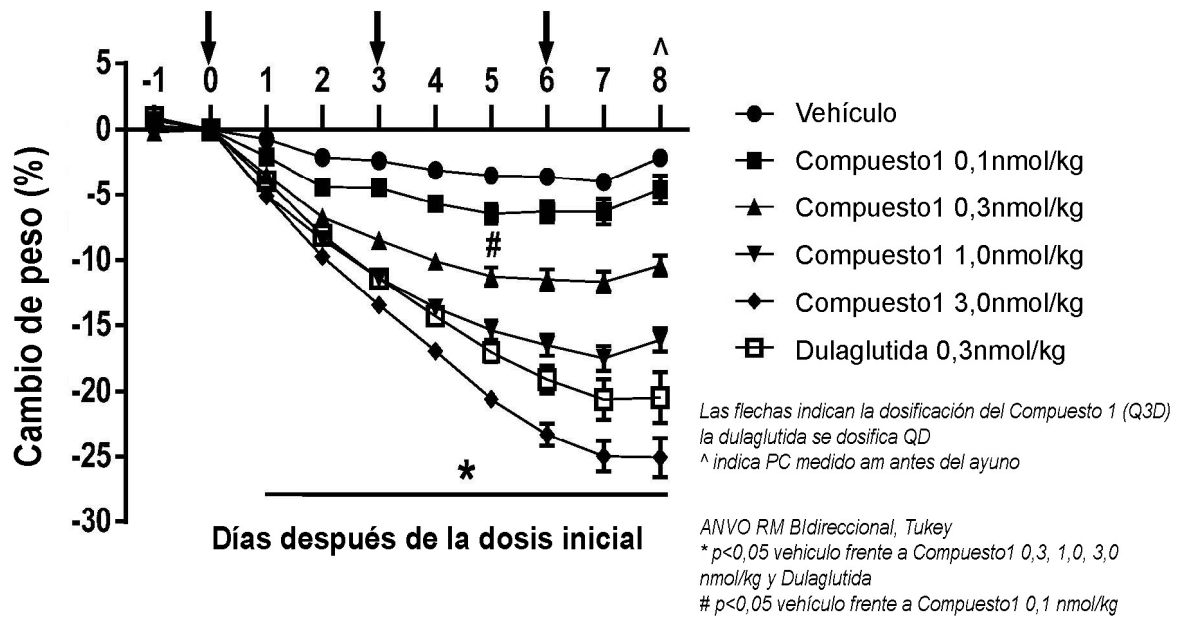


Fig. 9

Cambio en peso corporal en ratones DIO

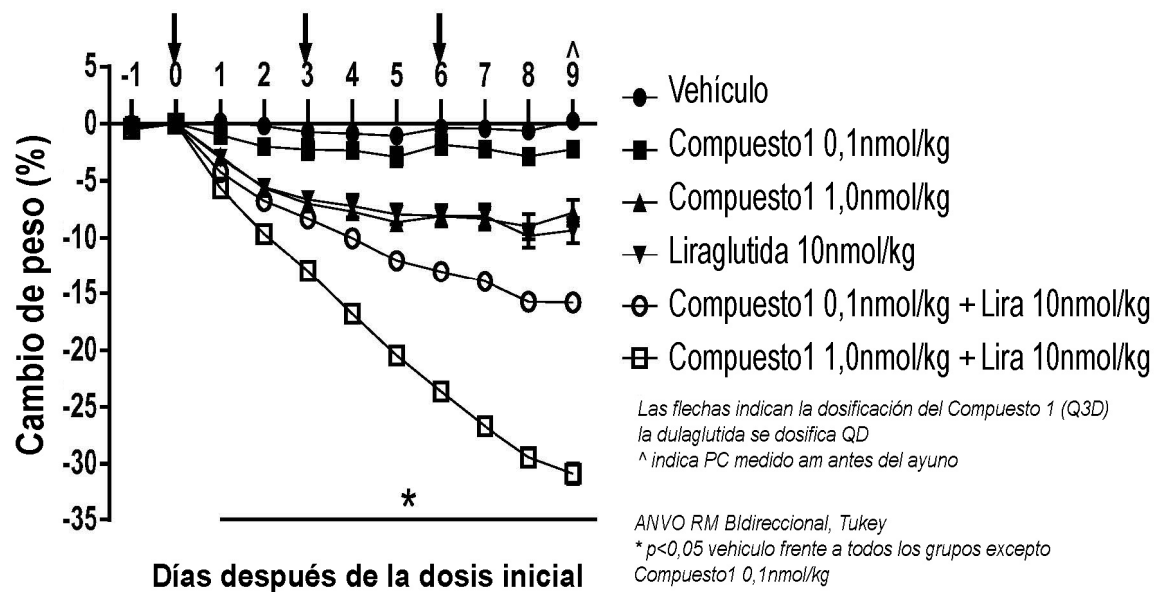


Fig. 10

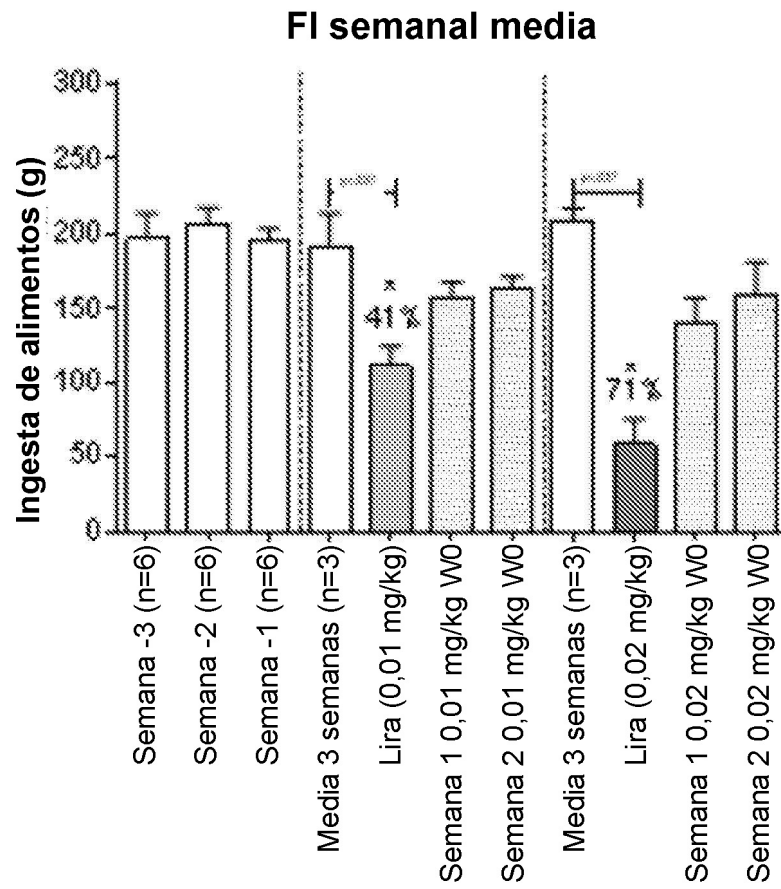


Fig. 11A

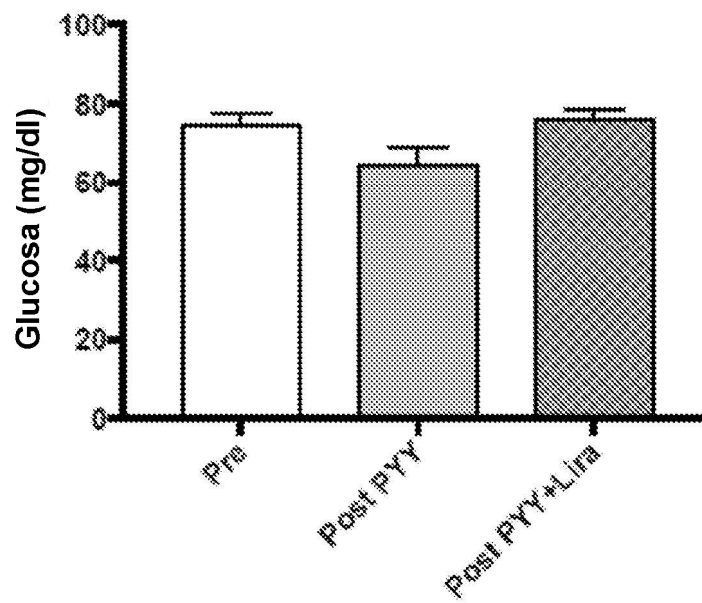


Fig. 11B

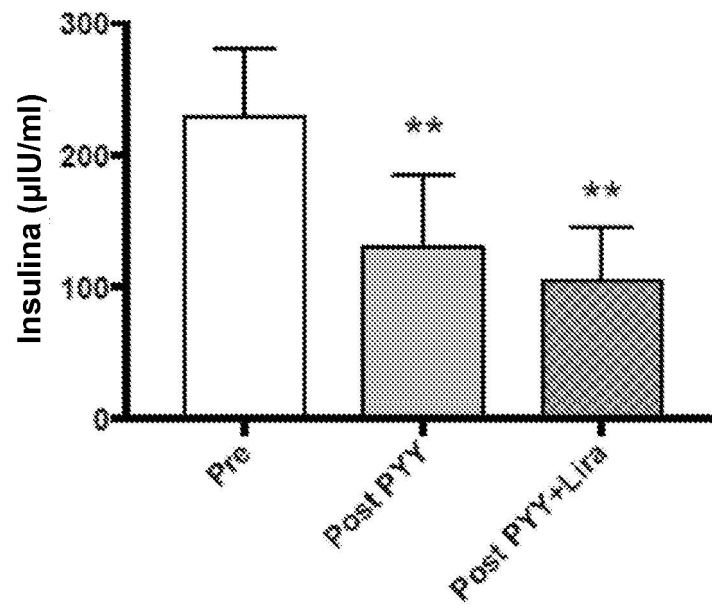


Fig. 11C

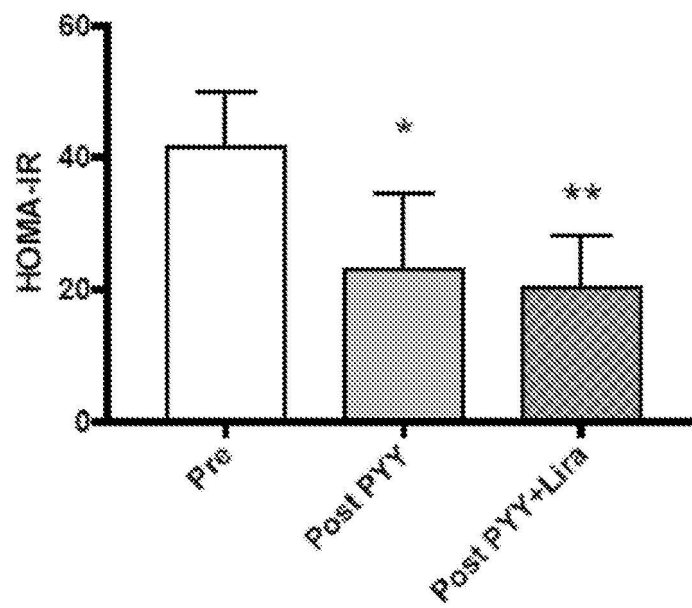


Fig. 11D

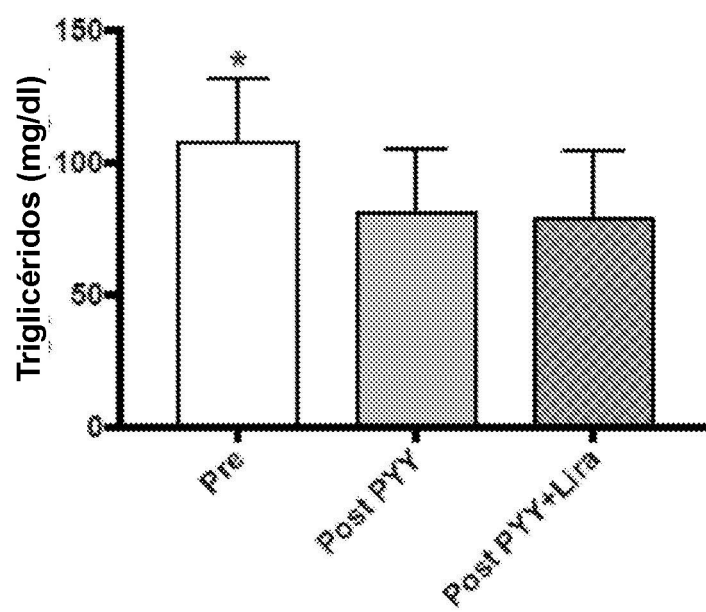


Fig. 12A

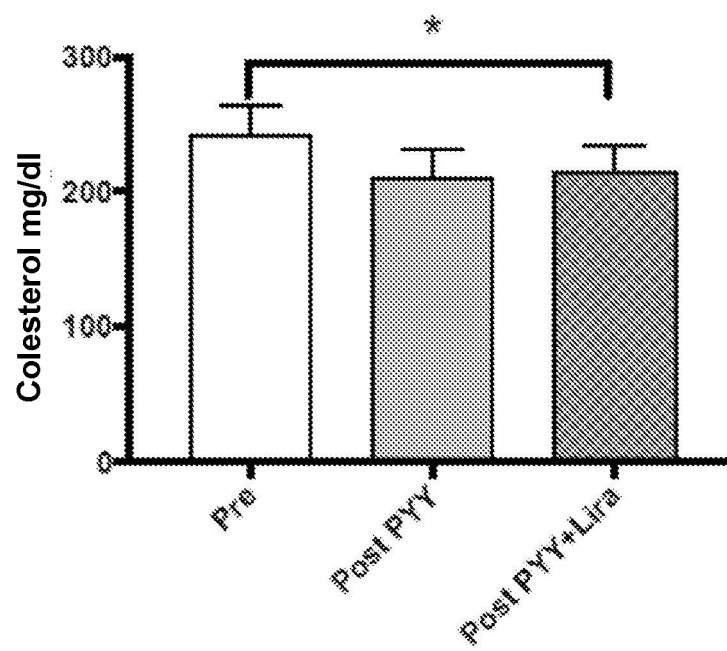


Fig. 12B

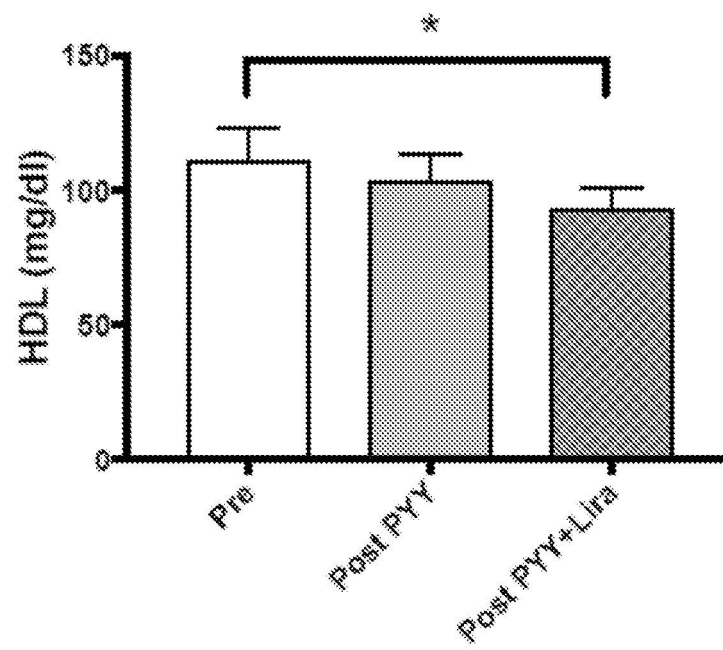


Fig. 12C

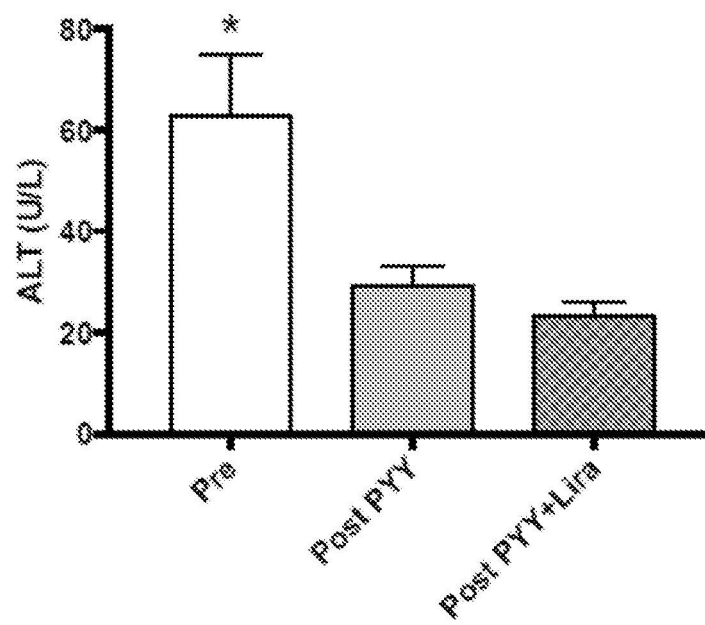


Fig. 12D

