

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-298527-00000-0000

Fecha: 2013-12-19 15:05:59

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 157

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO: PEPTIDOS DE AMILINA Y DERIVADOS Y USOS DE LOS MISMOS

51. CLASIFICACION INTRNACIONAL

71. SOLICITANTE: AMYLIN PHARMACEUTICALS, INC.
ASTRAZENECAPHARMACEUTICALS LP.

DOMICILIO: California, Estados Unidos de América.

74. APODERADO SILVANA MARIA LÓPEZ DÍAZ

22. BOGOTÁ, D.C.

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 13-296527- -00000-0000 Fecha: 2013-12-19 15:05:59 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 157 adicación
--	---

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL – PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/US2012/039431	Fecha 24 de mayo de 2012
Publicación Internacional No.		WO 2012/162542 A1	Fecha 29 de Noviembre de 2012
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)		
PEPTIDOS DE AMILINA Y DERIVADOS Y USOS DE LOS MISMOS			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP) A61K 38/17		
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN
AMYLIN PHARMACEUTICALS, INC.			
ASTRAZENECA PHARMACEUTICALS LP.			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN: 9360 Towne Centre Drive, San Diego, California 92121 Y 1800 Concord Pike.			
No. TELÉFONO:			
CORREO ELECTRONICO:			
CIUDAD: San Diego y Wilmington			
PAÍS DE RESIDENCIA: Estados Unidos de América LUGAR DE CONSTITUCIÓN: Estados Unidos de América			
7	INVENTOR (ES)		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1.SUN,		1.Chengzao	Estadounidense
2.SAMANT,		2.Manoj P.	Estadounidense
3.NERAVETLA,		3.Swetha	Estadounidense
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
DIRECCIÓN		CIUDAD	ESTADO
1. 9360 Towne Centre Drive		San Diego	California
2. 9360 Towne Centre Drive		San Diego	California
3. 9360 Towne Centre Drive		San Diego	California
PAÍS RESIDENCIA			
Estados Unidos			
Estados Unidos			
Estados Unidos			
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
LÓPEZ DÍAZ		SILVANA MARIA	C.C. 22.468.787 T.P. 147463 CSJ
DIRECCIÓN	Cra. 11 No. 86 – 53, Piso 6	No. TELÉFONO	6181088
CIUDAD	Bogotá, D.C.	CORREO ELECTRÓNICO	notificaciones@clarkemodet.com.co.
PAÍS	Colombia		
10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☐ SI ☐ NO		
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO
1.Estados Unidos de América		US	61/489.781
			(32) FECHA AAA/MM/DD
			2011/05/25

11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.			
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES		
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.			
13	REDUCCIÓN DE TASAS		
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.			
☐ SI ☐ NO			
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐			
Universidades públicas o privadas ☐			
Entidades sin ánimo de lucro ☐			
Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☐ SI ☐ NO		
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.			
15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N° 13-129479// 13-	Fecha 13/12/2013
16	FIRMA DEL APODERADO :		
SILVANA MARIA LÓPEZ DÍAZ C.C. 22.468.787 T.P. 147463 CSJ			
17	ANEXOS		
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano		Documentación Jurídica	
1. ☒ Descripción N° de folios: 113		9. ☒ Podere de Amylin Pharmaceuticals, Inc.	
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 13		10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante. Regla 4.17	
3. ☐ Dibujos y/o figuras N° folios:		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.	
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. Reducción de tasas	
6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		Micro, pequeñas o medianas empresas	
7. ☐ Arte final 12 x 12.		☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.	
8. ☐ Anexo formato digital.		☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	
		Universidades públicas o privadas	
		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación	
		Entidades sin ánimo de lucro	
		☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
		☐ Hoja de información complementaria.	
		☐ Otros, especificar	
		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.	
		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.	
		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.	
		17. ☒ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.	

PÉPTIDOS DE AMILINA Y DERIVADOS Y USOS DE LOS MISMOS

REFERENCIA AL LISTADO DE SECUENCIAS

5 La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que ha sido enviado en formato ASCII vía EFS-Web y es incorporado en la presente como referencia en su totalidad. Dicha copia en ASCII, creada el 18 de Mayo de 2012, se denomina 123USPRO.txt y tiene 28,832 bits de tamaño.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Se proporcionan conjugados de polipéptido que tienen un aumento en la duración de la actividad biológica, y métodos para el uso de los mismos. Los conjugados de polipéptido incluyen un componente de polipéptido que se une a una o más porciones que aumentan la duración, 15 opcionalmente a través de un enlazador. Los componentes de polipéptido incluidos dentro de los conjugados de polipéptido están relacionados a la amilina, calcitonina y quimera del mismo. Los conjugados de polipéptido incluyen además porciones que aumentan la duración, incluyendo pero no 20 limitado a polímeros solubles en agua, unidos al componente de polipéptido del conjugado de polipéptido, opcionalmente a través de un enlazador. Los métodos incluyen tratamiento de la obesidad, de la diabetes, y de otros trastornos metabólicos.

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica seria que se define por la presencia de niveles crónicamente elevados de glucosa en sangre (hiperglucemia). Este estado de hiperglucemia es el resultado de una falta relativa o absoluta de actividad de la hormona peptídica, la insulina. La

5 insulina se produce y secreta por las células β del páncreas. Se reporta que la insulina promueve la utilización de glucosa, la síntesis de proteína, y la formación y el almacenamiento de lípidos neutrales. La glucosa, la principal fuente de energía de carbohidrato, es almacenada en el cuerpo como glicógeno, una forma de glucosa polimerizada, que puede ser convertida de

10 nuevo en glucosa para cumplir con los requerimientos del metabolismo. Bajo condiciones normales, la insulina es secretada tanto a una velocidad elemental como a velocidades aumentadas después de un estímulo de glucosa, todo para mantener la homeóstasis metabólica por la conversión de glucosa en glicógeno.

15 El término diabetes mellitus abarca muchos estados hiperglucémicos diferentes. Estos estados incluyen la diabetes de Tipo 1 (diabetes mellitus dependiente de insulina o IDDM) y de Tipo 2 (diabetes mellitus no dependiente de insulina o NIDDM). La hiperglucemia presente en individuos con diabetes Tipo I está asociada con niveles deficientes, reducidos

20 o inexistentes de insulina que son insuficientes para mantener los niveles de glucosa en sangre dentro del intervalo fisiológico. El tratamiento de la diabetes Tipo I involucra la administración de dosis de reemplazo de insulina, generalmente por la ruta parenteral. La hiperglucemia presente en individuos

con diabetes Tipo II está asociada inicialmente con niveles normales o elevados de insulina; sin embargo, estos individuos no pueden mantener la homeóstasis metabólica debido a un estado de resistencia de insulina en los tejidos periféricos y el hígado y, a medida que avanza la enfermedad, debido a un deterioro progresivo de las células β pancreáticas que son responsables de la secreción de insulina. Así, la terapia inicial de diabetes Tipo 2 puede basarse en cambios de dieta y estilo de vida aumentados por terapia con agentes hipoglucémicos orales tales como sulfonilureas. Sin embargo, la terapia de insulina a menudo se requiere especialmente en las últimas etapas de la enfermedad, para procurar producir algún control de la hiperglucemia y minimizar las complicaciones de la enfermedad. Así, muchos diabéticos del Tipo 2 finalmente requieren insulina para sobrevivir.

La obesidad y sus trastornos asociados son problemas de salud pública comunes y muy serios en los Estados Unidos y en todo el mundo. La obesidad del cuerpo superior es el factor más fuerte de riesgo conocido para la diabetes mellitus Tipo 2 y es un factor fuerte de riesgo para la enfermedad cardiovascular. La obesidad es un factor reconocido de riesgo para la hipertensión, aterosclerosis, insuficiencia cardíaca congestiva, accidente cerebro-vascular, enfermedad de vesícula biliar, osteoartritis, apnea de sueño, trastornos reproductores tal como síndrome ovárico poliquístico, cánceres de mama, próstata, y colon, y aumento en la incidencia de complicaciones de anestesia general (vea, por ejemplo, Kopelman, *Nature* 404: 635-43, (2000)).

La obesidad reduce el tiempo de vida y porta un riesgo serio de

las co-morbididades listadas antes, así como trastornos tales como infecciones, venas varicosas, acanthosis nigricans, eczema, intolerancia al ejercicio, resistencia a la insulina, hipertensión hipercolesterolemia, colelitiasis, lesión ortopédica, y enfermedad tromboembólica (Rissanen *et al.*, *Br. Med. J.* 5 301: 835-7, (1990)). La obesidad es también un factor de riesgo para el grupo de condiciones llamado síndrome de resistencia a insulina, o "Síndrome X" y síndrome metabólico. El costo médico mundial de la obesidad y trastornos asociados es enorme.

La amilina, como se conoce en la técnica, es una hormona
10 peptídica sintetizada por las células β pancreáticas que se co-secreta con la insulina en respuesta a la ingesta de nutrientes. Así, la amilina tiene una función metabólica. La secuencia de la amilina es altamente conservada a través de la especie mamífera y tiene semejanzas estructurales al péptido relacionado a los genes calcitonina (CGRP), las calcitoninas, las intermedinas,
15 y adrenomedulina. Vea Young A., 2005, *Amylin: Physiology and Pharmacology*. In: August JT, Murad F, Granner, D (eds), *AMYLIN: PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY*, Elsevier Academic Press: San Diego, CA, USA, pp 1-18. Las acciones glucoregulatoras de la amilina complementan éstas de la insulina al regular la velocidad de aparición de la glucosa en la circulación a
20 través de la supresión de la secreción de glucagón estimulado por los nutrientes y haciendo más lento el vaciado gástrico. Vea Young, 1997, *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 4:282-290. Por ejemplo, en pacientes tratados con insulina con diabetes, pramlintida, un análogo sintético de la amilina humana,

reduce las excursiones de la glucosa después de las comidas suprimiendo la secreción inadecuadamente elevada de glucagón después de las comidas y haciendo más lento el vaciado gástrico. Vea por ejemplo, Janes et al., 1996, *Diabetes*, **45** (suppl 2):865 (resumen); Young et al., 1996, *Drug Dev Res* **37**:231-248; Weyer et al., 2001, *Curr Pharm Des* **7**:1353-1373; Hoogwerf et al., 2008, *Vasc Health Risk Manag* **4**:355-362; Edelman et al., 2008, *Biodrugs* **22**:375-386.

En la presente se proporcionan polipéptidos conjugados con polímeros solubles en agua que proporcionan un aumento en la duración de la acción.

Todas las referencias citadas en la presente se incorporan como referencia en su totalidad y para todo propósito.

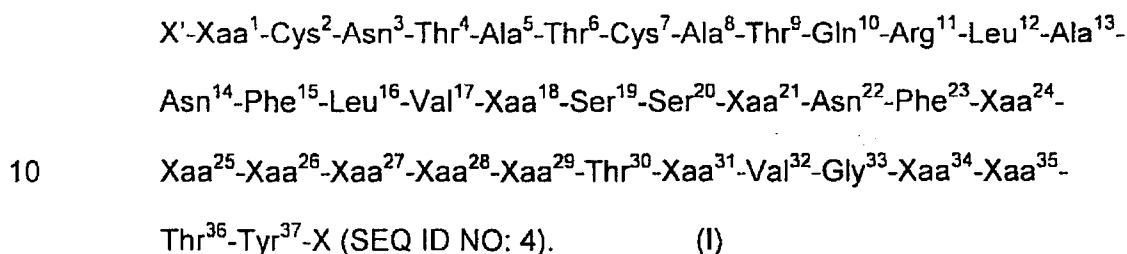
BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

15

En resumen, se proporcionan conjugados de polipéptido que tiene un aumento en la duración de la actividad biológica, y métodos de uso de los mismos. Los componentes de polipéptido incluidos dentro de los conjugados de polipéptido están relacionados a la amilina, calcitonina y quimera del mismo. Los conjugados de polipéptido incluye además porciones que aumentan la duración, incluyendo pero no limitado a polímeros solubles en agua, unidos a los componentes de polipéptido del conjugado de polipéptido, opcionalmente a través de enlazadores. Los métodos incluyen

tratamiento de la obesidad, de la diabetes, y de otros trastornos metabólicos.

En un primer aspecto, se proporciona un conjugado de polipéptido que incluye un componente de polipéptido y una porción que mejora la duración covalentemente enlazada al mismo. El componente de polipéptido incluye una secuencia de aminoácido de los residuos 1-37 de la
 5 Fórmula (I) siguiente, en donde hasta 25% de los aminoácidos asentados en la Fórmula (I) puede ser eliminado o sustituido con un aminoácido diferente:



Con relación a la Fórmula (I), X' es hidrógeno, un grupo tapón de N-terminal, un enlace a una porción que mejora la duración, o un enlazador a una porción que mejora la duración, Xaa¹ es Lys o un enlace, Xaa¹⁸ es Lys,
 15 Cys, o His, Xaa²¹ es Lys, Cys, o Asn, Xaa²⁴ es Lys, Cys, o Gly, Xaa²⁵ es Lys, Cys, o Pro, Xaa²⁶ es Lys, Cys, o Ile, Xaa²⁷ es Lys, Cys, o Leu, Xaa²⁸ es Lys, Cys, o Pro, Xaa²⁹ es Lys, Cys, o Pro, Xaa³¹ es Lys, Cys, o Asn, Xaa³⁴ es Lys, Cys, o Ser, y Xaa³⁵ es Lys, Cys, o Asn, y X es amino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido,
 20 cicloalquilamino sustituido o no sustituido, arilamino sustituido o no sustituido, aralquilamino sustituido o no sustituido, alquiloxi sustituido o no sustituido, ariloxi sustituido o no sustituido, aralquiloxi sustituido o no sustituido, hidroxilo, un enlace a una porción que mejora la duración, o un enlazador a una porción

que mejora la duración. La porción que mejora la duración puede ser enlazada covalentemente, opcionalmente a través de un enlazador, a una cadena secundaria de un residuo de aminoácido enlazante, X' o X. La porción que mejora la duración puede ser enlazada covalentemente, opcionalmente a través de un enlazador, a un átomo de la estructura principal del componente de polipéptido.

En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que incluye un compuesto como se describe en la presente en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, se proporciona un método para tratar obesidad, diabetes, u otro trastorno metabólico en un sujeto. El método incluye administrar un compuesto o composición farmacéutica como se describe en la presente a un sujeto necesitado de tratamiento en una cantidad efectiva para tratar la obesidad, la diabetes, u otro trastorno metabólico.

En incluso otro aspecto, se proporciona un método para el tratamiento en un sujeto en necesidad de tratamiento para un trastorno de la alimentación, resistencia a insulina, obesidad, sobrepeso, hiperglucemia anormal después de las comidas, diabetes de cualquier tipo incluyendo diabetes Tipo I, Tipo II y gestacional, síndrome metabólico, síndrome de Dumping, hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, hiperlipidemia, apnea del sueño, cáncer, hipertensión pulmonar, colescistitis, osteoartritis, o síndrome de intestino corto. El método incluye administrar a un sujeto necesitado de tratamiento un compuesto o composición farmacéutica

descrita en la presente en una cantidad efectiva para tratar la enfermedad o el trastorno.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

5

La figura 1A representa los resultados de la ganancia en peso corporal acumulativa diaria como se describe en la presente para los Cmps 21, 25, 24, 22, 26 y vehículo. La figura 1B representa los resultados de la ingesta de alimento diaria para los Cmps 21, 25, 24, 22, 26 y vehículo.

10 Leyenda: Cmp 21 (cuadro); Cmp 25 (triángulo punta arriba); Cmp 24 (triángulo punta abajo); Cmp 22 (diamante); Cmp 26 (círculo abierto); vehículo (círculo relleno).

La figura 2A representa los resultados de la comparación de la dosificación SC dos veces por semana del Cmp 26 y la dosificación continua del Cmp 1 por dos semanas en ratas DIO. Leyenda: Vehículo (círculo relleno);
15 Cmp 26 (triángulo); Cmp 1 (cuadro).

La figura 2B representa los resultados de la comparación de una dosificación SC a la semana de Cmp 23 e infusión continua de Cmp 1 por cuatro semanas en ratas DIO. Leyenda: Vehículo (círculo relleno); Cmp 23
20 (triángulo); Cmp 1 (cuadro).

La figura 3A representa los resultados de la ganancia de peso corporal acumulativa diaria de un estudio de respuesta a dosis para el Cmp 23. La figura 3B representa los resultados de la ingesta de alimentos diaria del

estudio de respuesta a dosis para el Cmp 23. Leyenda: vehículo (cuadro); 12 nmoles/kg (triángulo punta arriba); 25 nmoles/kg (triángulo punta abajo); 50 nmoles/kg (diamante); 125 nmoles/kg (círculo relleno); 250 nmoles/kg (cuadro abierto).

5 La figura 4A representa los resultados de la ganancia de peso corporal acumulativa de un estudio de respuesta a dosis para el Cmp 19. Leyenda: vehículo (cuadro); 50 nmoles/kg (triángulo punta arriba); 50 nmoles/kg (triángulo punta abajo); 50 nmoles/kg (diamante).

La figura 4B representa los resultados de la ganancia de peso corporal acumulativa diaria como se describe en la presente para los Cmps 10 23, 27 y vehículo. Leyenda: vehículo (cuadro relleno oscuro); Cmp 23 (cuadro relleno claro); Cmp 27 (triángulo).

La figura 5A representa los resultados de la ganancia de peso corporal acumulativa diaria como se describe en la presente para los Cmps 15 26, 28, 29, 30 y vehículo. La figura 5B representa los resultados de toma de alimento diaria para los Cmps 26, 28, 29, 30 y el vehículo. Leyenda: Cmp 26 (triángulo punta abajo); Cmp 28 (diamante); Cmp 29 (círculo grande relleno); Cmp 30 (cuadro abierto); vehículo (círculo pequeño relleno).

La figura 6A representa los resultados de la ganancia de peso corporal acumulativa diaria de un estudio de respuesta a dosis para el Cmp 20 29, y en comparación al Cmp 31. La figura 6B representa los resultados de toma de alimento diaria para el Cmp 29, y en comparación al Cmp 31. Leyenda: Cmp 31, 250 nmoles/kg (cuadro); Cmp 29, 250 nmoles/kg (triángulo

punta arriba); Cmp 29,125 nmoles/kg (triángulo punta abajo); Cmp 29,62.5 nmoles/kg (diamante); Cmp 29,31.25 nmoles/kg (círculo grande relleno); vehículo (círculo pequeño relleno).

La figura 7A representa los resultados de la ganancia de peso corporal acumulativa diaria como se describe en la presente para los Cmps 29, 32, 33, 34, 35, 36 y vehículo. La figura 7B representa los resultados de toma de alimento diaria para los Cmps 29, 32, 33, 34, 35, 36 y el vehículo. Leyenda: Cmp 29 (cuadrado); Cmp 32 (diamante); Cmp 33 (círculo relleno); Cmp 34 (cuadrado); Cmp 35 (triángulo punta arriba); Cmp 36 (triángulo punta abajo); vehículo (círculo pequeño relleno).

La figura 8A representa los resultados de la ganancia de peso corporal acumulativa diaria como se describe en la presente para los Cmps 29, 41, 42 y vehículo. La figura 8B representa los resultados de toma de alimento diaria para los Cmps 29, 41, 42 y el vehículo. Leyenda: Cmp 29 (cuadrado); Cmp 41 (triángulo punta arriba); Cmp 42 (triángulo punto abajo); vehículo (círculo pequeño relleno).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

20

I. Definiciones

Las abreviaturas usadas en la presente tienen su significado convencional dentro de las técnicas química y biológica. Las estructuras químicas y fórmulas presentadas aquí están construidas de conformidad con

reglas estándar de valencia química conocidas en la técnica química.

Donde los grupos sustituyentes se especifican por su fórmula química convencional, escrita de izquierda a derecha, ellos igualmente abarcan los sustituyentes químicamente idénticos que puedan resultar de
5 escribir la estructura de derecha a izquierda, por ejemplo, $-\text{CH}_2\text{O}-$ es equivalente a $-\text{OCH}_2-$.

El término "alquilo," por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa, a menos que se establezca lo contrario, una cadena recta (es decir, no ramificada) o ramificada, o una combinación de las mismas,
10 que puede estar completamente saturada, mono- o poliinsaturada y puede incluir radicales di- y multivalentes, que tienen el número de átomos de carbono designados (es decir, $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ significa uno a diez carbonos). Los ejemplos de radicales de hidrocarburo saturados incluyen, pero no están limitados a, grupos como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo,
15 isobutilo, sec-butilo (ciclohexilo)metilo, homólogos e isómeros de, por ejemplo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo y similares. Un grupo alquilo insaturado es uno que tiene uno o más dobles enlaces o triples enlaces. Los ejemplos de grupos alquilo insaturados incluyen, pero no están limitados a, vinilo, 2-propenilo, crotilo, 2-isopentenilo, 2-(butadienilo), 2,4-pentadienilo, 3-(1,4-
20 pentadienilo), etinilo, 1- y 3-propinilo, 3-butinilo, y los homólogos e isómeros más altos. Un alcoxi es un alquilo adjunto al resto de la molécula mediante un enlazador de oxígeno (O).

El término "alquilenos," por sí mismo o como parte de otro

sustituyente, significa a menos que se establezca lo contrario, un radical divalente derivado de un alquilo, como se ejemplifica, pero no limitado por, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$. Típicamente, un grupo alquilo (o alquileno) tendrá de 1 a 24 átomos de carbono, con esos grupos que tienen 10 o menos átomos de carbono siendo preferidos en la invención presente. Un "alquilo inferior" o "alquileno inferior" es un grupo alquilo o alquileno de cadena más corta, que tiene generalmente ocho o menos átomos de carbono. El término "alquenileno," por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa a menos que se establezca lo contrario, un radical divalente derivado de un alqueno.

El término "heteroalquilo," por sí mismo o en combinación con otro término, significa a menos que se establezca lo contrario, una cadena recta o ramificada, o combinaciones de las mismas, que consiste de por lo menos un átomo de carbono y por lo menos un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en O, N, P, Si, y S, y en donde los átomos de nitrógeno y azufre pueden ser opcionalmente oxidados, y el heteroátomo de nitrógeno puede ser opcionalmente cuaternizado. El o los heteroátomos O, N, P, S y Si pueden ser colocados en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo o en la posición en la que el grupo alquilo está adjunto al resto de la molécula.

Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a: $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(CH}_3\text{)-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S(O)-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S(O)}_2\text{-CH}_3$, $-\text{CH=CH-O-CH}_3$, $-\text{Si(CH}_3\text{)}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH=N-OCH}_3$, $-\text{CH=CH-N(CH}_3\text{)-CH}_3$, $-\text{O-CH}_3$, $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$, y $-\text{CN}$. Hasta

dos heteroátomos pueden ser consecutivos, tal como, por ejemplo, $-\text{CH}_2\text{-NH-OCH}_3$.

De manera similar, el término "heteroalquileo," por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa a menos que se establezca lo contrario, un radical divalente derivado de heteroalquilo, como se ejemplifica, pero no limitado por, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2-$ y $-\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CH}_2-$. Para el grupo heteroalquileo, los heteroátomos también pueden ocupar cualquiera o ambos de los extremos de la cadena (por ejemplo, alquilenoxi, alquilendioxi, alquilenamino, alquilendiamino, y similares). Más allá, para grupos de enlace de heteroalquileo y alquileo, no se implica orientación del grupo de enlace por la dirección en la que la fórmula del grupo de enlace está escrita. Por ejemplo, la fórmula $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ representa ambos de $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ y $-\text{R}'\text{C}(\text{O})_2-$. Como se describió antes, los grupos heteroalquilo, como se usa en la presente, incluyen esos grupos que están unidos al resto de la molécula a través de un heteroátomo, tal como $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'$, $-\text{NR}'\text{R}''$, $-\text{OR}'$, $-\text{SR}'$, y/o $-\text{SO}_2\text{R}'$. En donde "heteroalquilo" es recitado, seguido de recitaciones de grupos heteroalquilo específicos, como $\text{NR}'\text{R}''$ o similares, se entenderá que los términos heteroalquilo y $\text{NR}'\text{R}''$ no son redundantes o mutuamente exclusivos. En lugar de eso, los grupos heteroalquilo específicos están recitados para agregar claridad. Así, el término "heteroalquilo" no debe ser interpretado aquí como excluyente de grupos heteroalquilo específicos, como $\text{NR}'\text{R}''$ o similares.

Los términos "cicloalquilo" y "heterocicloalquilo," por sí mismos o

en combinación con otros términos, significan, a menos que se establezca lo contrario, versiones cíclicas de "alquilo" y "heteroalquilo," respectivamente. Adicionalmente, para heterocicloalquilo, un heteroátomo puede ocupar la posición en la que el heterociclo está adjunto al resto de la molécula. Los

5 ejemplos de cicloalquilo incluyen, pero no están limitados a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo 1-ciclohexenilo, 3-ciclohexenilo, cicloheptilo y similares. Ejemplos de heterocicloalquilo incluyen, pero no están limitados a, 1-(1,2,5,6-tetrahidropiridilo), 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4--morfolinilo, 3-morfolinilo, tetrahidrofuran-2-il, tetrahidrofuran-3-il, tetrahidrotien-

10 2-il, tetrahidrotien-3-il, 1-piperazinilo, 2-piperazinilo, y similares. Un "cicloalquileno" y un "heterocicloalquileno," solo o como parte de otro sustituyente, significa un radical divalente derivado de un cicloalquilo y heterocicloalquilo, respectivamente.

Los términos "halo" o "halógeno," por sí mismos o como parte de

15 otro sustituyente, significan, a menos que se establezca lo contrario, un átomo de flúor, cloro bromo, o yodo. Adicionalmente, los términos como "haloalquilo" deben incluir monohaloalquilo y polihaloalquilo. Por ejemplo, el término "haloalquilo de (C₁-C₄)" incluye, pero no se limita a, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo, y similares.

20 El término "acilo" significa a menos que se establezca lo contrario, -C(O)R donde R es un alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, o

heteroarilo sustituido o no sustituido.

El término "arilo" significa a menos que se establezca lo contrario, un sustituyente hidrocarburo poliinsaturado, aromático, que puede ser un solo anillo o múltiples anillos (preferiblemente de 1 a 3 anillos) que
5 están fusionados juntos (es decir, un arilo de anillo fusionado) o enlazado covalentemente. Un anillo fusionado se refiere a anillos múltiples fusionados en donde al menos uno de los anillos fusionados es un anillo de arilo. El término "heteroarilo" se refiere a grupos arilo (o anillos) que contienen de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de N, O y S, en donde los átomos de
10 nitrógeno y azufre están opcionalmente oxidados, y el o los átomos de nitrógeno están opcionalmente cuaternizados. Así, el término "heteroarilo" incluye grupos heteroarilo de anillo fusionado (es decir, múltiples anillos fusionados en donde al menos uno de los anillos fusionados es un anillo heteroaromático). Un 5,6-heteroarileno de anillo fusionado se refiere a dos
15 anillos fusionados, en donde un anillo tiene 5 miembros y el otro anillo tiene 6 miembros, y en donde al menos un anillo es un anillo heteroarilo. De igual manera, un 6,6-heteroarileno de anillo fusionado se refiere a dos anillos fusionados, en donde un anillo tiene 6 miembros y el otro anillo tiene 6 miembros, y en donde al menos un anillo es un anillo heteroarilo. Y un 6,5-
20 heteroarileno de anillo fusionado se refiere a dos anillos fusionados, en donde un anillo tiene 6 miembros y el otro anillo tiene 5 miembros, y en donde al menos un anillo es un anillo heteroarilo. Un grupo heteroarilo puede estar adjunto al resto de la molécula a través de un carbono o un heteroátomo.

Ejemplos no limitativos de grupos arilo y heteroarilo incluyen fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 4-bifenilo, 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 3-pirazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, pirazinilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 2-fenil-4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 5-benzotiazolilo, purinilo, 2-bencimidazolilo, 5-indolilo, 1-isoquinolilo, 5-isoquinolilo, 2-quinoxalinilo, 5-quinoxalinilo, 3-quinolilo, y 6-quinolilo. Los sustituyentes para cada uno de los sistemas de anillos de arilo y heteroarilo antes mencionados son seleccionados del grupo de sustituyentes aceptables descrito más adelante. Un "arileno" y un "heteroarileno", solos o como parte de otro sustituyente, significan un radical divalente derivado de un arilo y un heteroarilo, respectivamente.

Para ser breve, el término "arilo" cuando se usa en combinación con otros términos (por ejemplo, ariloxi, ariltioxi, arilalquilo) incluye ambos de los anillos arilo y heteroarilo como se definieron antes. Así, el término "arilalquilo" significa que incluye esos radicales en los que un grupo arilo está unido a un grupo alquilo (por ejemplo, bencilo, fenetilo, piridilmetilo, y similares) incluyendo esos grupos alquilo en los que un átomo de carbono (por ejemplo, un grupo metileno) ha sido reemplazado por, por ejemplo, un átomo de oxígeno (por ejemplo, fenoximetilo, 2-piridiloximetilo, 3-(1-naftiloxi)propilo, y similares).

El término "oxo," como se usa en la presente, significa un oxígeno que está doblemente unido a un átomo de carbono.

El término "alquilsulfonilo," como se usa en la presente, significa una porción que tiene la fórmula $-S(O_2)-R'$, donde R' es un grupo alquilo como se definió antes. R' puede tener un número específico de carbonos (por ejemplo, "alquilsulfonilo de C_1-C_4 ").

- 5 Cada uno de los términos anteriores (por ejemplo, "alquilo," "heteroalquilo," "arilo," y "heteroarilo") incluyen tanto las formas sustituidas como las no sustituidas del radical indicado. Los sustituyentes preferidos para cada tipo de radical se mencionan a continuación.

Los sustituyentes para los radicales alquilo y heteroalquilo
 10 (incluyendo esos grupos a menudo denominados alquilenilo, alquenilo, heteroalquilenilo, heteroalquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, cicloalquenilo, y heterocicloalquenilo) pueden ser uno o más de una variedad de grupos seleccionados de, pero no limitados a, $-OR'$, $=O$, $=NR'$, $=N-OR'$, $-NR'R''$, $-SR'$, -halógeno, $-SiR'R''R'''$, $-OC(O)R'$, $-C(O)R'$, $-CO_2R'$, $-CONR'R''$,
 15 $-OC(O)NR'R''$, $-NR''C(O)R'$, $-NR'-C(O)NR''R'''$, $-NR''C(O)_2R'$, $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$, $-NR-C(NR'R'')=NR''''$, $-S(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)_2NR'R''$, $-NRSO_2R'$, $-CN$, y $-NO_2$ en un número que varía de cero a $(2m'+1)$, donde m' es el número total de átomos de carbono en tal radical. R' , R'' , R''' , y R'''' cada uno preferiblemente de forma independiente se refiere a hidrógeno,
 20 heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, arilo sustituido con 1-3 halógenos), alquilo sustituido o no sustituido, alcoxi, o grupos tioalcoxi grupos, o grupos arilalquilo. Cuando un compuesto

de la invención incluye más de un grupo R, por ejemplo, cada uno de los grupos R es independientemente seleccionado como lo son los grupos R', R'', R''', y R'''' cuando más de uno de estos grupos está presente. Cuando R' y R'' están adjuntos al mismo átomo de nitrógeno, pueden ser combinados con el

5 átomo de nitrógeno para formar un anillo de 4, 5, 6 ó 7 miembros. Por ejemplo, NR'R'' incluye, pero no está limitado a, 1-pirrolidinilo y 4-morfolinilo.

De la discusión anterior de sustituyentes, un experto en la técnica comprenderá que el término "alquilo" significa que incluye grupos incluyendo átomos de carbono unidos a grupos diferentes de grupos hidrógeno, tal como

10 haloalquilo (por ejemplo, -CF₃ y -CH₂CF₃) y acilo (por ejemplo, -C(O)CH₃, -C(O)CF₃, -C(O)CH₂OCH₃, y similares).

De manera similar para los sustituyentes descritos para el radical alquilo, los sustituyentes para los grupos arilo y heteroarilo son variados y se seleccionan de, por ejemplo: -OR', -NR'R'', -SR', -halógeno, -SiR'R''R''',

15 -OC(O)R', -C(O)R', -CO₂R', -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR'-C(O)NR''R''', -NR''C(O)₂R', -NR-C(NR'R''R''')=NR''', -NR-C(NR'R'')=NR'', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -NRSO₂R', -CN, -NO₂, -R', -N₃, -CH(Ph)₂, fluoro alcoxi de (C₁-C₄), y fluoro alquilo de (C₁-C₄), en un número que varía de

20 cero al número total de valencias abiertas en el sistema de anillo aromático; y donde R', R'', R''', y R'''' preferiblemente e independientemente se seleccionan de hidrógeno, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, y heteroarilo sustituido o no

sustituido. Cuando un compuesto de la invención incluye más de un grupo R, por ejemplo, cada uno de los grupos R es independientemente seleccionado como lo son los grupos R', R'', R''', y R'''' cuando más de uno de estos grupos está presente.

5 Dos o más sustituyentes pueden opcionalmente ser unidos para formar grupos arilo, heteroarilo, cicloalquilo, o heterocicloalquilo. Dichos sustituyentes así llamados formadores de anillos son típicamente, aunque no necesariamente, encontrados adjuntos a una estructura base cíclica. En una modalidad, los sustituyentes formadores de anillos están adjuntos a miembros
10 adyacentes de la estructura base. Por ejemplo, dos sustituyentes formadores de anillos adjuntos a miembros adyacentes de una estructura de base cíclica crean una estructura de anillo fusionado. En otra modalidad, los sustituyentes formadores de anillos están adjuntos a un solo miembro de la estructura base. Por ejemplo, dos sustituyentes formadores de anillos adjuntos a un solo
15 miembro de una estructura de base cíclica crean una estructura espirocíclica. En incluso otra modalidad, los sustituyentes formadores de anillos están adjuntos a miembros no adyacentes de la estructura base.

Dos de los sustituyentes en átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo opcionalmente pueden formar un anillo de la fórmula
20 $-T-C(O)-(CRR')_q-U-$, en donde T y U son independientemente $-NR-$, $-O-$, $-CRR'-$, o un enlace sencillo, y q es un entero de 0 a 3. Alternativamente, dos de los sustituyentes en átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo opcionalmente pueden ser reemplazados con un sustituyente de la fórmula

-A-(CH₂)_r-B-, en donde A y B son independientemente -CRR'-, -O-, -NR-, -S-,
 -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂NR'-, o un enlace sencillo, y r es un entero de 1 a 4.
 Uno de los enlaces simples del nuevo anillo así formado puede opcionalmente
 ser reemplazado con un enlace doble. Alternativamente, dos de los
 5 sustituyentes en átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo
 opcionalmente pueden ser reemplazados con un sustituyente de la fórmula
 -(CRR')_s-X'-(C''R''')_d-, donde s y d son independientemente enteros de 0 a 3, y
 X' es -O-, -NR'-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, o -S(O)₂NR'-. Los sustituyentes R, R', R'',
 y R''' son preferiblemente seleccionados independientemente de hidrógeno,
 10 alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido,
 heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, y
 heteroarilo sustituido o no sustituido.

Como se usa en la presente, los términos "heteroátomo" o
 "heteroátomo de anillo" significa que incluyen oxígeno (O), nitrógeno (N),
 15 azufre (S), fósforo (P), y silicio (Si).

Un "grupo sustituyente," como se usa en la presente, significa un
 grupo seleccionado de las siguientes porciones:

(A) -OH, -NH₂, -SH, -CN, -CF₃, -NO₂, oxo, halógeno, alquilo no
 sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido,
 20 heterocicloalquilo no sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo no sustituido, y

(B) alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, y
 heteroarilo, sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado de:

(i) oxo, -OH, -NH₂, -SH, -CN, -CF₃, -NO₂, halógeno, alquilo no

sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo no sustituido, y

(ii) alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, y heteroarilo, sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado de:

5 (a) oxo, -OH, -NH₂, -SH, -CN, -CF₃, -NO₂, halógeno, alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo no sustituido, y

(b) alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, o heteroarilo, sustituido con por lo menos un sustituyente seleccionado de: oxo,
10 -OH, -NH₂, -SH, -CN, -CF₃, -NO₂, halógeno, alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo no sustituido.

Un "sustituyente limitado en tamaño" o "grupo sustituyente limitado en tamaño", como se usa en la presente, significa un grupo
15 seleccionado de todos los sustituyentes descritos antes para un "grupo sustituyente," en donde cada alquilo sustituido o no sustituido es un alquilo de C₁-C₂₀ sustituido o no sustituido, cada heteroalquilo sustituido o no sustituido es un heteroalquilo sustituido o no sustituido de 2 a 20 miembros, cada cicloalquilo sustituido o no sustituido es un cicloalquilo de C₄-C₈ sustituido o no
20 sustituido, y cada heterocicloalquilo sustituido o no sustituido es un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido de 4 a 8.

Un "sustituyente inferior" o "grupo sustituyente inferior", como se usa en la presente, significa un grupo seleccionado de todos los sustituyentes

descritos antes para un "grupo sustituyente", en donde cada alquilo sustituido o no sustituido es un alquilo de C_1-C_8 sustituido o no sustituido, cada heteroalquilo sustituido o no sustituido es un heteroalquilo sustituido o no sustituido de 2 a 8 miembros, cada cicloalquilo sustituido o no sustituido es un cicloalquilo de C_5-C_7 sustituido o no sustituido, y cada heterocicloalquilo sustituido o no sustituido es un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido de 5 a 7 miembros.

El término "sales farmacéuticamente aceptables" se entiende que incluyen sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares encontrados en los compuestos descritos en la presente. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente ácidas, las sales básicas de adición pueden ser obtenidas contactando la forma neutral de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, ya sea pura o en un solvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales básicas de adición farmacéuticamente aceptables incluyen sodio, potasio, calcio, amonio, amino orgánico, o sal de magnesio, o una sal similar. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funcionalidades relativamente ácidas, las sales básicas de adición pueden ser obtenidas contactando la forma neutral de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, ya sea puro o en un solvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales ácidas de adición farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos como clorhídrico,

bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrogenocarbónico, fosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, sulfúrico, monohidrogenosulfúrico, yodhídrico, o ácidos fosforosos y similares, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos como

5 acético, propiónico, isobutírico, maleico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, láctico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, oxálico, metansulfónico, y similares. También se incluyen sales de aminoácidos tal como arginato y similares, y sales de ácidos orgánicos como ácidos glucurónico o galactunórico y similares (vea, por

10 ejemplo, Berge et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Ciertos compuestos específicos de la presente invención contienen funcionalidades tanto ácidas como básicas que permiten que los compuestos sean convertidos ya sea en sales básicas o sales ácidas de adición.

15 Así, los compuestos de la invención presente pueden existir como sales, tal como con ácidos farmacéuticamente aceptables. La presente invención incluye dichas sales. Ejemplos de dichas sales incluyen clorhidratos, bromhidratos, sulfatos, metanosulfatos, nitratos, maleatos, acetatos, citratos, fumaratos, tartratos (por ejemplo, (+)-tartratos, (-)-tartratos, o mezclas de los

20 mismos incluyendo mezclas racémicas), succinatos, benzoatos, y sales con aminoácidos tal como el ácido glutámico. Estas sales se pueden preparar mediante métodos conocidos por aquellos con habilidad en la técnica.

Las formas neutras de los compuestos son preferiblemente

regeneradas al poner en contacto la sal con una base o ácido y aislando el compuesto progenitor de la manera convencional. La forma parental del compuesto difiere de las varias formas de sal en ciertas propiedades físicas, como la solubilidad en solventes polares.

5 Además de las formas de sal, la invención presente proporciona compuestos en una forma de profármaco. Los profármacos de los compuestos aquí descritos son aquellos compuestos que fácilmente se someten a cambios químicos bajo condiciones fisiológicas para proporcionar los compuestos de la presente invención. Además, los profármacos pueden ser convertidos a los
10 compuestos de la invención presente por métodos químicos o bioquímicos en un ambiente *ex vivo*. Por ejemplo, los profármacos pueden ser lentamente convertidos en los compuestos de la presente invención cuando se colocan en un reservorio de parche transdérmico con una enzima adecuada o un reactivo químico.

15 Ciertos compuestos de la invención presente pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y están abarcadas dentro del alcance de la presente invención. Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples
20 formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente invención y pretenden estar dentro del alcance de la presente invención.

Ciertos compuestos de la invención presente poseen átomos de

carbono asimétricos (centros ópticos) o dobles enlaces; los racematos, diastereómeros, tautómeros, isómeros geométricos, e isómeros individuales están comprendidos dentro del alcance de la invención presente. Los compuestos de la invención presente no incluyen esos que son conocidos en la técnica por ser inestables para sintetizar y/o aislar.

Los compuestos de la invención presente también pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen tales compuestos. Por ejemplo, los compuestos pueden ser radiomarcados con isótopos radioactivos, tal como por ejemplo tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I), o carbono-14 (^{14}C). Todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención, ya sean radioactivas o no, están abarcadas dentro del alcance de la presente invención.

El símbolo "~~~~" denota el punto de unión de una porción química al resto de una molécula o fórmula química.

"Ortolog" y términos similares en el contexto de péptidos se refiere a dos o más productos de gen peptídico en donde los genes que codifican el ortolog han evolucionado de un ancestro común, como se sabe en la técnica.

"Análogo" como se usa en la presente en el contexto de polipéptidos se refiere a un compuesto que tiene inserciones, deleciones y/o sustituciones de aminoácidos con relación a su compuesto progenitor. Un análogo puede tener estabilidad, solubilidad, eficacia, vida media superiores, y similares. En algunas modalidades, un análogo es un compuesto que tiene

por lo menos 50%, por ejemplo 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, o incluso mayor, identidad de secuencia al compuesto progenitor.

Los términos "identidad," "identidad de secuencia" y similares en
5 el contexto de comparar dos o más ácidos nucleicos o secuencias de
polipéptidos, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son
iguales o que tienen un porcentaje específico de residuos de aminoácidos o
nucleótidos que son iguales (es decir, aproximadamente 50% de identidad,
preferiblemente 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%,
10 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o mayor identidad sobre una
región específica, cuando se compara y alinea para una máxima
correspondencia sobre una ventana de comparación o región designada)
como se mide usando algoritmos de comparación de secuencia como se sabe
en la técnica, por ejemplo BLAST o BLAST 2.0. Esta definición incluyen
15 secuencias que tienen deleciones y/o adiciones, así como esas que tienen
sustituciones, así como variantes naturales, por ejemplo, variantes
polimórficas o alélicas, y variantes hechas por el hombre. En algoritmos
preferidos, se toman en cuenta los vacíos y similares, como se conoce en la
técnica. Para comparación de secuencia, típicamente una secuencia actúa
20 como una secuencia de referencia, con la que se comparan las secuencias de
prueba. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencia, las
secuencias de prueba y de referencia son introducidas en una computadora,
se designan coordenadas de subsecuencia si es necesario, y se designan

parámetros del programa de algoritmo de secuencia. Preferiblemente, los parámetros por defecto del programa pueden ser usados, o se pueden designar parámetros alternativos. El algoritmo de comparación de secuencia entonces calcula el porcentaje de identidades de secuencia para las

5 secuencias de prueba relativas a la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa. La alineación óptima de secuencias para la comparación puede realizarse, por ejemplo, por el algoritmo de homología local de Smith & Waterman, 1981, *Adv. Appl. Math.* 2:482, por el algoritmo de alineación de homología de Needleman & Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443,

10 por el método de búsqueda de semejanza de Pearson & Lipman, 1988, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444, por implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, y TFASTA en el Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), o por alineación manual e inspección visual. Vea por ejemplo,

15 *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel et al., eds. 1995 supplement)). Ejemplos preferidos de algoritmos que son adecuados para la determinación de por ciento de identidad de secuencia y semejanza de secuencia incluyen los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, que se describen en Altschul et al., 1977, *Nuci. Acids Res.* 25:3389-3402 y Altschul et al., 1990, *J.*

20 *Mol. Biol.* 215:403-410. BLAST y BLAST 2.0 se usan, como se sabe en la técnica, para determinar el porcentaje de identidad de secuencia para los ácidos nucleicos y proteínas de la invención. El software para realizar los análisis BLAST está disponible públicamente a través del sitio en la red del

National Center for Biotechnology Information (Centro Nacional para Información de Biotecnología). Este algoritmo implica primero identificar pares de secuencias de puntuación alta (HSPs) al identificar palabras cortas de longitud W en la secuencia de cola, ya sea que concuerden o satisfagan alguna puntuación de umbral T de valor positivo cuando se alinea con una palabra de la misma longitud en una secuencia de base de datos. T es denominado el umbral de puntuación de palabra vecina (Altschul et al., *Id.*). Estos aciertos de palabra vecinas iniciales actúan como semillas para iniciar búsquedas para encontrar HSPs más largos que los contienen. Los resultados de palabras se extienden en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia mientras sea posible aumentar el puntaje de alineación acumulativo. Las puntuaciones acumulativas se calculan usando, por ejemplo, para secuencias de nucleótidos, los parámetros M (puntuación de premio para un par de residuos coincidentes; siempre >0) y N (puntuación de penalización para residuos no coincidentes; siempre <0). Para secuencias de aminoácidos, se usa una matriz de puntuación para calcular la puntuación acumulativa. La ampliación de los aciertos de palabras en cada dirección se detiene cuando: la puntuación de alineación acumulativa cae del valor máximo alcanzado en la cantidad X ; la puntuación acumulativa desciende a cero o por debajo de éste debido a la acumulación de una o más alineaciones de residuos de puntuación negativa; o se llega al final de cualquier secuencia. Los parámetros de algoritmo BLAST, W , T y X determinan la sensibilidad y velocidad de la alineación. El programa BLASTN (para secuencias

nucleotídicas) usa como omisiones una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, M=5, N=-4, y una comparación de ambas cadenas. Para las secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP usa una longitud de palabra preestablecido de 3, y expectativa (E) de 10, y la matriz de puntuación BLOSUM62 (vea Henikoff & Henikoff, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915) alineaciones (B) de 50, expectativa (E) de 10, M=5, N=-4, y una comparación de ambas cadenas.

Para determinar el porcentaje de identidad o semejanza de dos secuencias de aminoácidos o de dos ácidos nucleicos, las secuencias son alineadas para propósitos de una comparación óptima (por ejemplo, pueden introducirse vacíos en la secuencia de una primera secuencia de aminoácido o ácido nucleico para una alineación óptima con una segunda secuencia de aminoácido o ácido nucleico). Entonces los residuos de aminoácidos o nucleótidos en posiciones correspondientes de aminoácido o posiciones de nucleótido se comparan. Cuando una posición en la primera secuencia es ocupada por el mismo o un residuo de aminoácido similar o nucleótido como la posición correspondiente en la segunda secuencia, entonces las moléculas son idénticas o similares en esa posición. El porcentaje de identidad o semejanza entre las dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas o similares compartidas por las secuencias (es decir, % identidad = # de posiciones idénticas/total # de posiciones (por ejemplo, posiciones superpuestas) x 100). La semejanza de dos aminoácidos puede ser evaluada mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los

residuos neutros no polares (por ejemplo, Ala, Cys, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val) pueden considerarse semejantes, igual que a su vez los residuos polares cargados ácidos polar (por ejemplo, Glu, Asp), polares cargados básicos (por ejemplo, Arg, His, Lys) y polares neutros (por ejemplo, Asn, Gln, Ser, Thr, Tyr).

Tanto la identidad como la semejanza pueden calcularse fácilmente. Por ejemplo, al calcular el porcentaje de identidad, solo las coincidencias exactas pueden ser contadas, y las alineaciones globales pueden ser realizadas en contraposición a alineaciones locales. Los métodos comúnmente usados para determinar la identidad o semejanza entre las secuencias incluyen, por ejemplo, esos revelados en Carillo et al., 1988, *SIAM J. Applied Math.* 48:1073. Los métodos ejemplares para determinar la identidad están diseñados para dar la coincidencia más grande entre las secuencias probadas. Los métodos ejemplares para determinar la identidad y semejanza son también proporcionados en programas computacionales comerciales. A particular ejemplo de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de dos secuencias es el algoritmo de Karlin et al., 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-2268, y modificado por ejemplo, como en Karlin et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877. Tal algoritmo está incorporado en los programas NBLAST y XBLAST de Altschul et al., 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410. Para obtener alineaciones con vacíos para propósitos de comparación, puede utilizarse Gapped BLAST como se describe en Altschul et al., 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402. Alternativamente, el

PSI-Blast puede ser usado para realizar una búsqueda iterada, que detecta relaciones distantes entre moléculas. Cuando se utilizan los programas BLAST, Gapped BLAST, y PSI-Blast, pueden usarse los parámetros preestablecidos de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y NBLAST), como se sabe en la técnica. Además, puede usarse el método FASTA (Atschul et al., 1990, *Id.*). Otro ejemplo particular de un algoritmo matemático útil para la comparación de secuencias es el algoritmo de Myers et al., 1988, *CABIOS* 4:11-17. Tal algoritmo está incorporado en el programa ALIGN (versión 2.0), que es parte del paquete de software de alineación de secuencia GCG (Devereux et al., 1984, *Nucleic Acids Res.* 12 (1):1387). El porcentaje de identidad puede ser determinado por análisis con el módulo AlignX® module en Vector NTI® (Invitrogen; CarlsbadCA).

"Obesidad" y "sobrepeso" se refieren a mamíferos que tienen un peso mayor que lo normalmente esperado, y puede determinarse, por ejemplo, por la apariencia física, índice de masa corporal (BMI) como se conoce en la técnica, proporciones de circunferencia de cintura a cadera, espesor del pliegue de la piel, circunferencia de la cintura, y similares. Los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) definen el sobrepeso como un adulto humano que tiene un IMC de 25 a 29.9; y definen como obeso a un adulto humano que tiene un IMC de 30 a mayor. Existen métricas adicionales para la determinación de la obesidad. Por ejemplo, el CDC afirma que una persona con una relación de cintura a cadera mayor de 1.0 tiene sobrepeso.

"El índice de masa magra" se refiere a la masa libre de grasa del cuerpo, es decir, el peso corporal total menos el peso de la grasa corporal es el peso de la masa magra. La masa corporal magra puede medirse por métodos tal como pesaje hidrostático, cámaras computarizadas, 5 absorciometría de rayos X de doble energía, calibradores de la piel, formación de imagen por resonancia magnética (MRI) y análisis de impedancia bioeléctrica (BIA) como se sabe en la técnica.

"Mamífero" se refiere a animales de sangre caliente que generalmente tiene pelo o cabello, que dan a luz a su progenie, y que 10 alimentan a su progenie con leche. Los mamíferos incluyen humanos; animales de compañía (por ejemplo, perros, gatos); animales de granja (por ejemplo, vacas, caballos, ovejas, cerdos, cabras); animales silvestres; y similares. En una modalidad, el mamífero es una hembra. En una modalidad, el mamífero es un humano hembra. En una modalidad, el mamífero es un 15 gato o perro. En una modalidad, el mamífero es un mamífero diabético, por ejemplo, un humano que tiene diabetes tipo 2. En una modalidad, el mamífero es un mamífero obeso diabético, por ejemplo, un mamífero obeso que tiene diabetes tipo 2.

"Compuestos agonistas de amilina" incluyen péptidos nativos de 20 amilina, péptidos análogos de amilina, y otros compuestos (por ejemplo, moléculas pequeñas) que tienen actividad agonista de amilina. Los "compuestos agonistas de amilina" pueden derivarse de fuentes naturales, pueden ser sintéticos, o pueden derivarse de técnicas de ADN recombinante.

Los compuestos agonistas de amilina tienen actividad de unión al receptor agonista de amilina y pueden comprender aminoácidos (por ejemplo, naturales, no naturales, o una combinación de los mismos), péptido miméticos, porciones químicas, y similares. Los expertos en la técnica

5 reconocerán los compuestos agonistas de amilina usando ensayos de unión al receptor de amilina o al medir la actividad agonista de la amilina en ensayos de músculo sóleo. Los compuestos agonistas de amilina pueden tener un IC_{50} de aproximadamente 200 nM o menor, aproximadamente 100 nM o menor, o aproximadamente 50 nM o menor, en un ensayo de receptor de amilina, tal

10 como ese descrito en la presente, en la Patente de EEUU No. 5,686,411, y la Publicación No. 2008/0176804, cuyas revelaciones se incorporan en la presente como referencia en su totalidad y para todo propósito. El término " IC_{50} " se refiere en el sentido de costumbre a la concentración inhibitoria máxima media de un compuesto que inhibe una función biológica o

15 bioquímica. Por consiguiente, en el contexto de los estudios de unión, IC_{50} se refiere a la concentración de un compuesto de prueba que compite la mitad de un ligando conocido de un receptor específico. Los compuestos agonistas de amilina pueden tener un EC_{50} de aproximadamente 20 nM o menor, aproximadamente nM 15 o menor, aproximadamente nM 10 o menor, o

20 aproximadamente nM 5 o menor en un ensayo de músculo sóleo, tal como ese descrito en la presente y en la Patente de EEUU No. 5,686,411. El término " EC_{50} " se refiere en el sentido de costumbre a la concentración efectiva de un compuesto que induce una respuesta a la mitad entre una

respuesta de línea de base y una respuesta máxima, como se sabe en la técnica. El compuesto agonista de amilina puede tener por lo menos 90% o 100% de identidad de secuencia a amilina humana^[25,28,29]Pro] (pramlintida). El compuesto agonista de amilina puede ser un péptido quimera de amilina (por ejemplo, amilina humana, amilina de rata, y similares) y calcitonina (por ejemplo calcitonina humana, calcitonina de salmón, y similares). Los compuestos convenientes y ejemplares de agonistas de amilina también se describen en la Publicación de EEUU No. 2008/0274952, cuya revelación se incorpora como referencia en la presente en su totalidad y para todo propósito. A menos que se indique de otra manera, el término "aproximadamente" en el contexto de un valor numérico se refiere a +/- 10% del valor numérico.

"Fragmento" en el contexto de polipéptidos se refiere en la presente al sentido químico de costumbre a una porción de un polipéptido. Por ejemplo, un fragmento puede resultar de la deleción N-terminal o deleción C-terminal de uno o más residuos de un polipéptido progenitor, y/o un fragmento puede resultar de la deleción interna de uno o más residuos de un polipéptido progenitor. El término "progenitor" en el contexto de polipéptidos se refiere, en el sentido de costumbre, a un polipéptido que sirve como una estructura de referencia antes de la modificación, por ejemplo, inserción, deleción y/o sustitución. Los términos "conjugado", "conjugado de péptido", "conjugado de polipéptido" y similares en el contexto de compuestos útiles en los métodos descritos en la presente se refieren a polipéptidos de componente que están

unidos a una o más porciones que aumentan la duración, opcionalmente a través de un enlazador.

Los términos "péptido" y "polipéptido" en el contexto de componentes de polipéptido de los conjugados de polipéptido descritos en la presente son sinónimos. El término "péptido" se refiere en el sentido acostumbrado a un polímero de aminoácidos unido por enlaces amina. Los términos "des-aminoácido", "des-AA," "desLys" y similares se refieren a la ausencia del aminoácido indicado, como es costumbre en la técnica. Un aminoácido (o funcionalidad) que está "ausente" significa que el residuo (o funcionalidad) antes unida al lado de N-terminal y C-terminal del aminoácido ausente (o funcionalidad) se han unido entre sí. Los términos "componente peptídico" y "componente de polipéptido" se refieren a polipéptidos incluidos dentro de un conjugado de polipéptido descrito en la presente.

"Derivado" en el contexto de un polipéptido se refiere a una molécula que tiene la secuencia de aminoácido de un progenitor o análogo del mismo, pero además tiene una modificación química de uno o más de sus grupos secundarios de aminoácido, átomos de carbono α , átomos de nitrógeno de estructura principal, grupo amino terminal, o grupo ácido carboxílico terminal. Una modificación química incluye, pero no está limitada a, agregar porciones químicas, crear nuevos enlaces, y remover porciones químicas. Las modificaciones en los grupos secundarios de aminoácido incluyen, pero no se limitan a, acilación de grupos lisina ϵ -amino, N-alquilación de arginina, histidina, o lisina, alquilación de grupos de ácido gluámico o

aspártico carboxílico, y desamidación de glutamina o asparagina. Las modificaciones del amino terminal incluyen, pero no se limitan a, las modificaciones desamino, N-alquilo inferior, N-di-alquilo inferior, alquilos restringidos (por ejemplo ramificados, cíclicos, fusionados, adamantilo) y N-
5 acilo. Las modificaciones del grupo carboxi terminal incluyen, pero no se limitan a, las modificaciones de amida, alquilo inferior amida, alquilos restringidos (por ejemplo ramificados, cíclicos, fusionados, adamantilo) alquilo, dialquilo amida, y alquilo inferior éster. Además, uno o más grupos laterales, o grupos terminales, pueden estar protegidos por grupos protectores conocidos
10 por el químico de síntesis de habilidad ordinaria. El carbono alfa de un aminoácido puede ser mono o dimetilado. Los derivados de los componentes de polipéptidos descritos en la presente también están contemplados en donde la estereoquímica de los aminoácidos individuales puede ser invertida de (L)/S a (D)/R en uno o más sitios específicos. También se contemplan los
15 componentes de polipéptido modificados por glucosilación, en por ejemplo, los residuos Asn, Ser y/o Thr. Los compuestos útiles en los métodos proporcionados también pueden ser fragmentos biológicamente activos de los péptidos (nativo, agonista, análogo, y derivado) descrito en la presente.

Los términos "mimético", "péptidomimético" y similares se
20 refieren en el sentido de costumbre a un compuesto que contiene elementos estructurales no peptídicos que son capaces de agonizar o antagonizar la acción(es) biológica(s) de un péptido progenitor natural.

Deberá apreciarse que a través de la solicitud se escriben las

alternativas en grupos Markush, por ejemplo, cada posición de aminoácido que contiene más de un posible aminoácido. Está específicamente contemplado que cada miembro del grupo Markush debe ser considerado separadamente, comprendiendo así otra modalidad, y el grupo Markush no debe ser leído como una sola unidad.

Como se usa en la presente, la forma singular "un", "una", y "el" incluyen las referencias plurales a menos que sea indicado de otro modo o claro a partir del contexto. Por ejemplo, como será aparente del contexto, "un" análogo puede incluir uno o más análogos.

10

II. Compuestos

En un primer aspecto, se proporciona un conjugado de polipéptido que incluye un componente de polipéptido al cual se enlaza una o más porciones que aumentan la duración, opcionalmente a través de un enlazador. Así, el componente de polipéptido sirve como una plantilla ("plantilla de polipéptido") a la que se une, preferiblemente por unión covalente, una o más porciones que aumentan la duración. El enlace de la porción que aumenta la duración al componente de polipéptido puede ser a través de un enlazador como se describe en la presente. Alternativamente, la unión de porción que aumenta la duración al componente de polipéptido puede ser a través de un enlace covalente directo. La porción que aumenta la duración puede ser un polímero soluble en agua como se describe en la presente. En algunas modalidades, una pluralidad de porciones que aumentan

la duración está unida al componente de polipéptido, en cuyo caso cada enlazador a cada porción que aumenta la duración es seleccionada independientemente de los enlazadores descritos en la presente.

En algunas modalidades, el componente de polipéptido incluyen
5 una secuencia de aminoácidos de los residuos 1-37 de la Fórmula (I) siguiente, en donde hasta 25% de los aminoácidos establecidos en la Fórmula (I) pueden ser eliminados o sustituidos con un aminoácido diferente:

X'-Xaa¹-Cys²-Asn³-Thr⁴-Ala⁵-Thr⁶-Cys⁷-Ala⁸-Thr⁹-Gln¹⁰-Arg¹¹-Leu¹²-Ala¹³-
Asn¹⁴-Phe¹⁵-Leu¹⁶-Val¹⁷-Xaa¹⁸-Ser¹⁹-Ser²⁰-Xaa²¹-Asn²²-Phe²³-Xaa²⁴-
10 Xaa²⁵-Xaa²⁶-Xaa²⁷-Xaa²⁸-Xaa²⁹-Thr³⁰-Xaa³¹-Val³²-Gly³³-Xaa³⁴-Xaa³⁵-
Thr³⁶-Tyr³⁷-X (SEQ ID NO: 4) (I).

En la Fórmula (I), X' es hidrógeno, un grupo tapón de N-terminal, un enlace para una porción que mejora la duración, o un enlazador para una porción que mejora la duración. Xaa¹ es Lys o un enlace, Xaa¹⁸ es Lys, Cys, o
15 His, Xaa²¹ es Lys, Cys, o Asn, Xaa²⁴ es Lys, Cys, o Gly, Xaa²⁵ es Lys, Cys, o Pro, Xaa²⁶ es Lys, Cys, o Ile, Xaa²⁷ es Lys, Cys, o Leu, Xaa²⁸ es Lys, Cys, o Pro, Xaa²⁹ es Lys, Cys, o Pro, Xaa³¹ es Lys, Cys, o Asn, Xaa³⁴ es Lys, Cys, o Ser, y Xaa³⁵ es Lys, Cys, o Asn. Una persona que tiene experiencia ordinaria en la técnica inmediatamente reconocerá que el componente de polipéptido
20 de la Fórmula (I), y otras fórmulas descritas en la presente, tienen una valencia adecuada para unirse a una o más porciones que aumentan la duración. Por ejemplo, donde una porción única que aumenta la duración está presente, el componente de polipéptido de Fórmula (I) es un péptido

monovalente, cuya valencia se une a la porción que aumenta la duración, opcionalmente a través de un enlazador. Por consiguiente, donde dos porciones que aumentan la duración están presentes, el componente de polipéptido de Fórmula (I) es un péptido divalente, etcétera.

- 5 Además con respecto a la Fórmula (I), la variable X representa una funcionalidad C-terminal (por ejemplo, un tapón C-terminal). X es amino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, cicloalquilamino sustituido o no sustituido, arilamino sustituido o no sustituido, aralquilamino sustituido o no sustituido, alquiloxi
- 10 sustituido o no sustituido, ariloxi sustituido o no sustituido, aralquiloxi sustituido o no sustituido, hidroxilo, un enlace a una porción que aumenta la duración, o un enlazador a una porción que aumenta la duración. En algunas modalidades, la porción que aumenta la duración está enlazada covalentemente, opcionalmente a través de un enlazador, a una cadena
- 15 secundaria de un residuo de aminoácido enlazante, X' o X. En algunas modalidades, la porción que aumenta la duración está enlazada covalentemente, opcionalmente a través de un enlazador, a un átomo de la estructura principal del componente de polipéptido. Si el C-terminal del componente de polipéptido con la secuencia de residuos 1-37 de Fórmula (I)
- 20 está tapado con una funcionalidad X, entonces X es preferiblemente amina con lo cual se forma una amida C-terminal. La N-terminal de los componentes de polipéptido descritos en la presente, incluyendo el componente de polipéptido según la Fórmula (I), puede ser enlazado covalentemente a una

variedad de funcionalidades incluyendo, pero no limitadas a, el grupo acetilo. El término "grupo tapón de N-terminal" se refiere en el sentido de costumbre a una porción unida covalentemente al nitrógeno del N-terminal de un polipéptido, por ejemplo, acilo sustituido o no sustituido, aciloxi sustituido o no sustituido, las bases de Schiff, y similares, como se conoce en la técnica. En algunas modalidades, la funcionalidad X' de N-terminal es un grupo protector de amina como se conoce en la técnica, preferiblemente Fmoc.

En algunas modalidades, hasta 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% o incluso 50% de los aminoácidos de los residuos 1-37 de Fórmula (I) son eliminados o sustituidos en un componente de polipéptido según la Fórmula (I). En algunas modalidades, el componente de polipéptido tiene 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o aún 16 sustituciones de aminoácido con respecto a la secuencia de aminoácido establecida en la Fórmula (I).

En algunas modalidades, el componente de polipéptido del conjugado de polipéptido tiene una secuencia que tiene una identidad de secuencia definida con respecto a los residuos 1-37 de la secuencia de aminoácidos según la Fórmula (I).

En algunas modalidades, la identidad de secuencia entre un componente de polipéptido descrito en la presente y los residuos 1-37 de la Fórmula (I) es 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o incluso mayor. En algunas modalidades, hasta 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% o incluso menos de los aminoácidos establecidos

en los residuos 1-37 de la Fórmula (I) pueden ser eliminados o sustituidos con un aminoácido diferente. En algunas modalidades, la identidad de secuencia está dentro del intervalo 75%-100%. En algunas modalidades, la identidad de secuencia está dentro del intervalo 75%-90%. En algunas modalidades, la
5 identidad de secuencia está dentro del intervalo 80%-90%. En algunas modalidades, la identidad de secuencia es por lo menos 75%. En algunas modalidades, el componente de polipéptido del conjugado tiene la secuencia de residuos 1-37 de la Fórmula (I).

En algunas modalidades, el componente de polipéptido tiene la
10 secuencia del Cmp 12. En algunas modalidades, el componente de polipéptido tiene la secuencia del Cmp 6. En algunas modalidades, el componente de polipéptido tiene una o más sustituciones conservadoras de aminoácido con respecto a la secuencia de la Fórmula (I). "Sustitución conservadora de aminoácido" se refiere en el sentido de costumbre a la
15 sustitución de aminoácidos que tienen propiedades bioquímicas semejantes en la cadena secundaria (por ejemplo, hidrofiliidad, hidrofobicidad, tipo de carga, radio de Van der Waals, y similares). "Sustitución no conservadora de aminoácido" se refiere en el sentido de costumbre a la sustitución de aminoácidos que tienen propiedades bioquímicas diferentes en la cadena
20 secundaria.

Se entiende que en el cálculo de la identidad de secuencia con respecto a cualquiera de los componentes de polipéptidos establecidos en la presente (por ejemplo, como se encuentra en los residuos 1-37 de la Fórmula

(I)), la secuencia a ser comparada se toma sobre los aminoácidos descritos en ella, independientemente de cualquier funcionalidad N-terminal (es decir, X') o C-terminal (es decir, X) presente. Se comprende además que la presencia de una porción que aumenta la duración covalentemente enlazada a la cadena
5 secundaria de un aminoácido es inmaterial al cálculo de identidad de secuencia. Por ejemplo, una lisina sustituida en cualquier posición de la Fórmula (I) y además unida, opcionalmente a través de un enlazador, con una porción que aumenta la duración es una lisina para propósitos de cálculo de identidad de secuencia.

10 Los polypéptidos que incluyen la secuencia de residuos 1-37 de la Fórmula (I) pueden ser considerados como combinaciones quiméricas de amilina y calcitonina, o análogos de los mismos. La amilina es una hormona peptídica sintetizada por las células β pancreáticas que son co-secretadas con la insulina en respuesta a una ingesta de nutrientes. La secuencia de la
15 amilina es altamente conservada a través de las especies de mamíferos, con semejanzas estructurales al péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), las calcitoninas, las intermedinas, y adrenomedulina. Las acciones glucoreguladoras de la amilina complementan éstas de la insulina al regular la velocidad de aparición de la glucosa en la circulación a través de la supresión
20 de la secreción de glucagón estimulado por los nutrientes y haciendo más lento el vaciado gástrico. En pacientes con diabetes tratados con insulina, la pramlintida, un análogo sintético y equipotente de la amilina humana, reduce las excursiones de glucosa después de las comidas suprimiendo la secreción

inadecuadamente elevada de secreción de glucagón después de las comidas y haciendo más lento el vaciado gástrico. Las secuencias de amilina de rata, amilina humana y pramlintida humana siguen, respectivamente:

KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY (SEQ ID
5 NO:1);

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFSGAILSSTNVGSNTY (SEQ ID
NO:2);

KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGPILPPTNVGSNTY (SEQ ID
NO:3).

10 En otro aspecto, se proporciona un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y un residuo de aminoácido en la posición 2 a 37 se ha sustituido con un residuo de lisina o residuo de cisteína y en donde dicho residuo de
15 lisina o residuo de cisteína está enlazado a un polímero de polietilén glicol, opcionalmente a través de un enlazador, en donde la numeración del aminoácido se conforma con el número de aminoácido en SEQ ID NO:3.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo
20 del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en cualquier posición 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, o 37 está sustituido

con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un enlazador.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en cualquier posición 18, 21, 24-29, 31, 34 o 35 está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un enlazador.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en la posición 18 está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un enlazador.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en la posición 21 está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un enlazador.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en la posición 24
5 está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un enlazador.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo
10 del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en la posición 25 está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un enlazador.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en la posición 26
15 está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un enlazador.
20

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo

del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en la posición 27 está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un

5 enlazador.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en la posición 28

10 está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un enlazador.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en la posición 29 está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un

15 enlazador.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en la posición 31

20

está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un enlazador.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en la posición 34 está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un enlazador.

En otro aspecto, la invención se relaciona a un conjugado de polipéptido, que es un derivado de pramlintida con SEQ ID NO:3 o un análogo del mismo, en donde el residuo de aminoácido en la posición 1 está ausente (es decir, des-Lys¹) y en donde un residuo de aminoácido en la posición 35 está sustituido con un residuo de lisina y en donde dicho residuo de lisina está enlazado a un polímero de polietilen glicol, opcionalmente a través de un enlazador.

Enlazadores

Los términos "enlazador" y similares, en el contexto de unión de porciones que aumentan la duración para un componente de polipéptido en un conjugado de polipéptido descrito en la presente, significa una especie bivalente (-L-) covalentemente unida a su vez a un componente de polipéptido

que tiene una valencia disponible para unión y para una porción que mejora la duración que tiene una valencia disponible para la unión. El sitio disponible de unión en el componente de polipéptido es convenientemente un residuo de cadena secundaria (por ejemplo, lisina, cisteína, ácido aspártico, y homólogos de los mismos). En algunas modalidades, el sitio disponible de unión en el componente de polipéptido es la cadena secundaria de una lisina o un residuo de cisteína. En algunas modalidades, el sitio disponible de unión en el componente de polipéptido es la amina del N-terminal. En algunas modalidades, el sitio disponible de unión en el componente de polipéptido es el carboxilo de C-terminal. En algunas modalidades, el sitio disponible de unión en el componente de polipéptido es un átomo de estructura principal del mismo. Como se utiliza en la presente, el término "residuo de aminoácido enlazante" significa un aminoácido dentro de los residuos 1-37 de la Fórmula (I) al que esta unido una porción que aumenta la duración, opcionalmente a través de un enlazador.

En algunas modalidades, se proporcionan compuestos que tienen un enlazador que enlaza covalentemente un componente de polipéptido con una porción que mejora la duración. El enlazador es opcional; es decir, cualquier enlazador puede ser simplemente un enlace. En algunas modalidades, el enlazador está unido a una cadena secundaria del componente de polipéptido. En algunas modalidades, el enlazador está unido a un átomo de la estructura principal del componente de polipéptido.

En una modalidad, el enlazador es un aminoácido polifuncional,

por ejemplo pero no limitado a, lisina y homólogos de la misma, ácido aspártico y homólogos del mismo, y similares. El término "polifuncional" en el contexto de un aminoácido se refiere a una funcionalidad de la cadena secundaria que puede reaccionar para formar un enlace, además de las

5 funcionalidades alfas de amina y carboxilo del aminoácido. Las funcionalidades ejemplares de aminoácidos polifuncionales incluyen, pero no se limitan a, funcionalidades amina, carboxilo y sulfhidrilo.

En algunas modalidades, el enlazador comprende de 1 a 30 aminoácidos ("enlazador peptídico") enlazados por enlaces peptídicos. Los

10 aminoácidos pueden seleccionarse de los 20 aminoácidos naturales. Alternativamente, los aminoácidos no naturales pueden ser incorporados y sea por síntesis química, modificación química post-traducciona l o por incorporación in vivo por expresión recombinante en una célula hospedera. Algunos de estos aminoácidos enlazadores pueden ser glucosilados. En otra

15 modalidad el 1 a 30 aminoácidos son seleccionados de glicina, alanina, prolina, asparagina, glutamina, y lisina. En algunas modalidades, el enlazador es formado de una mayoría de aminoácidos que son estéricamente libres, tal como glicina, alanina y/o serina. Las poliglicinas son particularmente útiles, por ejemplo (Gly)₃, (Gly)₄ (SEQ ID NO: 5), (Gly)₅ (SEQ ID NO: 6), como lo son

20 las polialaninas, poli(Gly-Ala) y poli(Gly-Ser). Otros ejemplos específicos de enlazadores son (Gly)₃Lys(Gly)₄ (SEQ ID NO: 7); (Gly)₃AsnGlySer(Gly)₂(SEQ ID NO: 8); (Gly)₃Cys(Gly)₄(SEQ ID NO: 9); y GlyProAsnGlyGly (SEQ ID NO: 10). Las combinaciones de Gly y Ala son particularmente útiles igual que la

combinación de Gly y Ser. Así en una modalidad adicional el enlazador peptídico es seleccionado del grupo que consiste en un péptido rico en glicina, por ejemplo Gly-Gly-Gly; las secuencias [Gly-Ser]_n (SEQ ID NO: 11), [Gly-Gly-Ser]_n (SEQ ID NO: 12), [Gly-Gly-Gly-Ser]_n (SEQ ID NO: 13) y [Gly-Gly-Gly-Gly-Ser]_n (SEQ ID NO: 14), donde n es 1, 2, 3, 4, 5 o 6, por ejemplo [Gly-Gly-Gly-Gly-Ser]₃ (SEQ ID NO: 15).

En algunas modalidades, el enlazador incluye un heteroátomo bivalente. En algunas modalidades, el enlazador es, o incluyen, -O-, -S-, -S-S-, -OCO-, -OCONH-, y -NHCONH-, alquileo sustituido o no sustituido, heteroalquileo sustituido o no sustituido, cicloalquileo sustituido o no sustituido, heterocicloalquileo sustituido o no sustituido, arileno sustituido o no sustituido, heteroarileno sustituido o no sustituido. Enlazadores representativos incluyen -O-, -S-, -S-S-, -OCO-, -OCONH-, y -NHCONH-, amida y/o uretano unido a la porción que mejora la duración y el componente de polipéptido.

En algunas modalidades, el enlazador resulta de la conjugación química directa entre una cadena secundaria de aminoácido de una funcionalidad de estructura principal (porción) del componente de polipéptido y una funcionalidad en la porción que mejora la duración. Ejemplo de este tipo de unión es la formación de un enlace amida logrado por métodos de síntesis estándar en fase sólida, bien conocidos en la técnica. Los enlazadores descritos en la presente son ejemplares, y los enlazadores dentro del alcance de esta invención pueden ser mucho más largos y pueden incluir otros

residuos.

En algunas modalidades, el enlazador incluyen dos o más de alquileo sustituido o no sustituido, heteroalquileo sustituido o no sustituido, cicloalquileo sustituido o no sustituido, heterocicloalquileo sustituido o no sustituido, arileno sustituido o no sustituido, o heteroarileno sustituido o no sustituido.

En algunas modalidades, el enlazador tiene la estructura $-L^1-L^2-$, en donde L^1 y L^2 son cada uno independientemente un heteroátomo bivalente, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-OCO-$, $-CONH-$, y $-NHCONH-$, alquileo sustituido o no sustituido, heteroalquileo sustituido o no sustituido, cicloalquileo sustituido o no sustituido, heterocicloalquileo sustituido o no sustituido, arileno sustituido o no sustituido, o heteroarileno sustituido o no sustituido. En algunas modalidades, L^1 y L^2 son cada uno independientemente $-OCO-(CH_2)_n-CO-$, $-O-(CH_2)_n-NHCO-$, $-O-(CH_2)_n-$, $-O-(CH_2)_n-CONH-(CH_2)_n-$, $-O-(CH_2)_n-$, $-SO_2-(CH_2)_n-$, $-SO_2-(CH_2)_n-S-$, en donde "n" es independientemente 1-5 en cada aparición.

En algunas modalidades, el enlazador tiene la estructura $-OCO-(CH_2)_n-CO-$, $-O-(CH_2)_n-NHCO-$, $-O-(CH_2)_n-$, $-O-(CH_2)_n-CONH-(CH_2)_n-$, $-O-(CH_2)_n-$, $-SO_2-(CH_2)_n-$, $-SO_2-(CH_2)_n-S-$, en donde "n" es independientemente 1-5 en cada aparición.

En algunas modalidades, un grupo sustituido dentro de un enlazador o un grupo enlazador sustituido descrito en la presente está sustituido con por lo menos un grupo sustituyente. Más específicamente, en

algunas modalidades, cada alquilo sustituido, heteroalquilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heterocicloalquilo sustituido, arilo sustituido, heteroarilo sustituido, alquilenos sustituido, heteroalquilenos sustituido, cicloalquilenos sustituido, heterocicloalquilenos sustituido, arilenos sustituido, o heteroarilenos sustituido dentro de un enlazador descrito en la presente está sustituido con por lo menos un grupo sustituyente. En otras modalidades, por lo menos uno o todos de estos grupos están sustituidos con por lo menos un grupo sustituyente limitado en tamaño. Alternativamente, por lo menos uno o todos de estos grupos están sustituidos con por lo menos un grupo sustituyente inferior.

En otras modalidades de los enlazadores descritos en la presente, cada alquilo sustituido o no sustituido es un alquilo de C_1 - C_{20} sustituido o no sustituido, cada heteroalquilo sustituido o no sustituido es un heteroalquilo de 2 a 20 miembros sustituido o no sustituido, cada cicloalquilo sustituido o no sustituido es un cicloalquilo de C_4 - C_8 sustituido o no sustituido, cada heterocicloalquilo sustituido o no sustituido es un heteroalquilo de 4 a 8 miembros sustituido o no sustituido, cada alquilenos sustituido o no sustituido es alquilenos de C_1 - C_{20} sustituido o no sustituido, cada heteroalquilenos sustituido o no sustituido es heteroalquilenos de 2 a 20 miembros sustituido o no sustituido, cada cicloalquilenos sustituido o no sustituido es un cicloalquilenos de C_4 - C_8 sustituido o no sustituido, y cada heterocicloalquilenos sustituido o no sustituido es un heterocicloalquilenos de 4 a 8 miembros sustituido o no sustituido.

Alternativamente, cada alquilo sustituido o no sustituido es un alquilo de C_1 - C_8 sustituido o no sustituido, cada heteroalquilo sustituido o no sustituido es un heteroalquilo de 2 a 8 miembros sustituido o no sustituido, cada cicloalquilo sustituido o no sustituido es un cicloalquilo de C_5 - C_7 sustituido o no sustituido, cada heterocicloalquilo sustituido o no sustituido es un heterocicloalquilo de 5 a 7 miembros sustituido o no sustituido, cada alquileno sustituido o no sustituido es un alquileno de C_1 - C_8 sustituido o no sustituido, cada heteroalquileno sustituido o no sustituido es un heteroalquileno de 2 a 8 miembros sustituido o no sustituido, cada cicloalquileno sustituido o no sustituido es un cicloalquileno de C_5 - C_6 sustituido o no sustituido, y cada heterocicloalquileno sustituido o no sustituido es a heterocicloalquileno de 5 a 7 miembros sustituido o no sustituido.

Componente de polipéptido

Los componentes de polipéptido útiles en los compuestos y métodos descritos en la presente incluyen, pero no se limitan a, los componentes de polipéptido establecidos en los residuos 1-37 de la Fórmula (I) proporcionados en el Cuadro 1 siguiente. A menos que se indique lo contrario, todos los péptidos descritos en la presente, incluyendo los péptidos que tiene una secuencia expresamente proporcionada, están contemplados tanto en la forma de carboxilato libre como amidada.

CUADRO 1

Polipéptidos componentes útiles en los compuestos descritos en la
presente

Cmp	Descripción (secuencia)	SEQ ID NO:
5	1 KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH ₂	16
	2 CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTNVGSNTY-NH ₂ ([desLys ¹]-Cmp 1)	17
	3 KCNTATCATQRLANFLVRSSKNLGPVLPPTNVGSNTY-NH ₂	18
	4 CNTATCATQRLANFLVRSSKNLGPVLPPTNVGSNTY-NH ₂ ([desLys ¹]-Cmp 3)	19
	5 KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPKLPTNVGSNTY-NH ₂	20
10	6 CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPKLPTNVGSNTY-NH ₂ ([desLys ¹]-Cmp 5)	21
	7 KCNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTKVGSNTY-NH ₂	22
	8 CNTATCATQRLANFLVRSSNNLGPVLPPTKVGSNTY-NH ₂ ([desLys ¹]-Cmp 7)	23
	9 KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH ₂	24
	10 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH ₂ ([desLys ¹]-Cmp 9)	25
	11 CNTATCATQRLANFLVHSSKNFGPILPPTNVGSNTY-NH ₂	26
15	12 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPKLPPTNVGSNTY-NH ₂	27
	13 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTKVGSNTY-NH ₂	28
	14 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPKLPPTNVGSNTY-NH ₂	29
	15 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGKILPPTNVGSNTY-NH ₂	30
	16 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPIKPPTNVGSNTY-NH ₂	31
	17 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILKPTNVGSNTY-NH ₂	32
	18 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPKTNVGSNTY-NH ₂	33
20	37 CNTATCATQRLANFLVKSSNFGPILPPTNVGSNTY-NH ₂	34
	38 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGKNTY-NH ₂	35
	39 CNTATCATQRLANFLVHSSNFGPILPPTNVGSKTY-NH ₂	36

Porciones que mejoran la duración

En algunas modalidades, la porción que mejora la duración está incluida dentro de una "porción que mejora la duración enlazada" con la fórmula -L-R, en donde R es una porción que mejora la duración como se describe en la presente, y L es un enlazador o un enlace. Donde L es un enlazador, L puede ser -C(O)-, -NH-, -O-, -S-, -S-S-, -OCO-, -OCONH-, -NHCONH-, alquilenos sustituido o no sustituido, alquenileno sustituido o no sustituido, uretano sustituido o no sustituido, alquilamida sustituido o no sustituido, alquilsulfona sustituido o no sustituido, heteroalquilenos sustituido o no sustituido, cicloalquilenos sustituido o no sustituido, heterocicloalquilenos sustituido o no sustituido, arilenos sustituido o no sustituido, o heteroarilenos sustituido o no sustituido, y similares, como se sabe en la técnica.

En algunas modalidades, L es R¹- alquilenos sustituido o no sustituido, R¹-alquenileno sustituido o no sustituido, R¹- uretano sustituido o no sustituido, R¹-alquilamida sustituido o no sustituido, R¹-alquilsulfona sustituido o no sustituido, R¹-heteroalquilenos sustituido o no sustituido, R¹-cicloalquilenos sustituido o no sustituido, R¹-heterocicloalquilenos sustituido o no sustituido, arilenos sustituido o no sustituido, o heteroarilenos sustituido o no sustituido. R¹ es R²-alquilo sustituido o no sustituido, R²-heteroalquilo sustituido o no sustituido, R²-cicloalquilo sustituido o no sustituido, R²-heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, R²-arilo sustituido o no sustituido, o R²-heteroarilo sustituido o no sustituido. R² es R³-alquilo sustituido o no sustituido, R³-heteroalquilo sustituido o no sustituido, R³-cicloalquilo sustituido

o no sustituido, R³-heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, R³-arilo sustituido o no sustituido, o R³-heteroarilo sustituido o no sustituido. R³ es alquilo no sustituido, heteroalquilo no sustituido, cicloalquilo no sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, arilo no sustituido o heteroarilo no sustituido.

- 5 En algunas modalidades, la porción que mejora la duración enlazada -L-R está unida covalentemente a una cadena secundaria de aminoácido del componente de polipéptido, o a un átomo de la estructura principal o porción del mismo. Las porciones ejemplares de la estructura principal incluyen una amina libre en el N-terminal, y un carboxilo o carboxilato
- 10 libre en el C-terminal. En algunas modalidades, una cadena secundaria de aminoácido o un átomo de estructura principal o la porción están unidos covalentemente a un polietilen glicol o un derivado del mismo.

Polímeros solubles en agua

- 15 En algunas modalidades, la porción que mejora la duración R es un polímero soluble en agua. Un "polímero soluble en agua" significa un polímero que es lo suficientemente soluble en agua bajo condiciones fisiológicas de por ejemplo, la temperatura, concentración iónica y similares, como se conoce en la técnica, para ser útil para los métodos descritos en la
- 20 presente. Un polímero soluble en agua puede aumentar la solubilidad de un péptido u otra biomolécula a la cual se une tal polímero soluble en agua. Verdaderamente, tal unión ha sido propuesta como un medio para mejorar la vida circulante, la solubilidad en agua y/o antigenicidad de proteínas

administradas, *in vivo*. Vea por ejemplo, la Pat. de EEUU No. 4,179,337; la Solicitud de EEUU publicada No. 2008/0032408. Muchos polímeros solubles en agua diferentes y químicas de unión han sido usadas hacia esta meta, tal como polietilen glicol, copolímeros de etilen glicol/propilen glicol, 5 carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico, polivinil pirrolidona, poli-1,3-dioxolano, poli-1,3,6-trioxano, copolímero de etileno/anhídrido maléico, poliaminoácidos (ya sea homopolímeros o copolímeros aleatorios), y similares.

10 Polietilen glicoles

En algunas modalidades, la porción que mejora la duración enlazada -L-R incluye un polietilen glicol. El polietilen glicol ("PEG") ha sido usado en esfuerzos de obtener polipéptidos terapéuticamente útiles. Vea por ejemplo, Zalipsky, S., 1995, *Bioconjugate Chemistry*, 6:150-165; Mehvar, R., 15 2000, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 3:125-136. Como se aprecia por un experto en la técnica, la estructura principal del PEG $[(CH_2CH_2-O)_n]$, n: número de monómeros repetitivos] es flexible y anfifílico. Sin desear limitarse por una teoría o mecanismo de acción, se cree que la molécula o porción de PEG larga y similar a una cadena que está muy hidratada y con movimiento rápido 20 cuando está en un medio acuoso. Se cree que este movimiento rápido causa que el PEG barra un volumen grande y prevenga el acercamiento y la interferencia de otras moléculas. Como resultado, cuando se une a otra entidad química (tal como un péptido), las cadenas de polímero PEG pueden

proteger a tal entidad química de la respuesta inmune y de otros mecanismos de eliminación. Como resultado, la pegilación puede llevar a una eficacia mejorada y seguridad del fármaco optimizando la farmacocinética, aumentando la biodisponibilidad, y disminuyendo la inmunogenicidad y la frecuencia de la dosificación. "Pegilación" se refiere en el sentido de costumbre a la conjugación de una porción de PEG con otro compuesto. Por ejemplo, la unión de PEG ha demostrado proteger a las proteínas contra la proteólisis. Vea por ejemplo, Blomhoff, H. K. et al., 1983, *Biochim Biophys Acta*, 757:202-208. A menos que se indique expresamente lo contrario, los términos "PEG," "polímero de polietilen glicol" y similares se refieren al polímero de polietilen glicol y derivados del mismo, incluyendo metoxi-PEG (mPEG).

Se ha utilizado una variedad de medios para unir las porciones de polímero tal como PEG y polímeros relacionados a grupos reactivos encontrados en la proteína. Vea por ejemplo, la Pat. de EEUU No. 4,179,337; Pat. de EEUU No. 4,002,531; Abuchowski et al., 1981, en "Enzymes as Drugs," J. S. Holcerberg y J. Roberts, (Eds.), pp. 367-383; Zalipsky, S., 1995, *Bioconjugate Chemistry*, 6:150-165. El uso de PEG y otros polímeros para modificar proteínas ha sido discutido. Vea por ejemplo, Cheng, T.-L. et al., 1999m, *Bioconjugate Chem.*, 10:520-528; Belcheva, N. et al., 1999, *Bioconjugate Chem.*, 10:932-937; Bettinger, T. et al., 1998, *Bioconjugate Chem.*, 9:842-846; Huang, S.-Y. et al., 1998, *Bioconjugate Chem.*, 9:612-617; Xu, B. et al. 1998, *Langmuir*, 13:2447-2456; Schwarz, J. B. et al., 1999, J.

Amer. Chem. Soc., 121:2662-2673; Reuter, J. D. et al., 1999, Bioconjugate Chem., 10:271-278; Chan, T.-H. et al., 1997, J. Org. Chem., 62:3500-3504.

Los sitios de unión típicos en las proteínas incluyen grupos amino primarios, tal como esos en el residuo de lisina o en el N-terminal, grupos tiol, tal como
5 esos en las cadenas secundarias de cisteína, y grupos carboxilo, tal como esos en los residuos de glutamato o aspartato o en el C-terminal. Los sitios comunes de unión son a los residuos de azúcares de las glucoproteínas, cisteínas o en el N-terminal y las lisinas del polipéptido objetivo. Los términos "pegilado" y similares se refieren a la unión covalente del glicol a un
10 polipéptido u otra biomolécula, opcionalmente a través de un enlazador como se describe en la presente y/o como se sabe en la técnica.

En algunas modalidades, una porción de PEG en un conjugado de polipéptido descrito en la presente tiene un peso molecular nominal dentro de un intervalo específico. Como es de costumbre en la técnica, el tamaño de
15 una porción de PEG es indicado por referencia al peso molecular nominal, típicamente proporcionado en kilodaltons (kD). El peso molecular es calculado en una variedad de maneras conocidas en la técnica, incluyendo número, el peso, la viscosidad y el peso molecular promedio "Z". Se comprende que los polímeros, tales como PEG y similares, existen como una distribución de
20 pesos moleculares alrededor de un valor promedio nominal.

Ejemplar de la terminología para el peso molecular para los PEGs, el término "mPEG40KD" se refiere a un polímero de metoxi polietilen glicol que tiene un peso molecular nominal de 40 kilodaltons. La referencia a

los PEG de otros pesos moleculares sigue esta convención. En algunas modalidades, la porción de PEG tiene un peso molecular nominal en el intervalo de 10-100 KD, 20-80 KD, 20-60 KD, o 20-40 KD. En algunas modalidades, la porción PEG tiene un peso molecular nominal de 10, 15, 20, 5 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o incluso 100 KD. Preferiblemente, la porción de PEG tiene un peso molecular de 20, 25, 30, 40, 60 o 80 KD.

Las moléculas de PEG útiles para la derivatización de polipéptidos se clasifican típicamente en las clases lineal, ramificado y 10 Warwick (es decir, PolyPEG®) de PEGs, como se sabe en la técnica. A menos que se indique expresamente lo contrario, las porciones de PEG descritas en la presente son PEGs lineales. Además, los términos "ramificado de dos brazos," forma de Y" y similares se refiere a porciones ramificadas de PEG, como conocido en la técnica. El término "Warwick" en el contexto de 15 PEGs, también conocido como PEGs "comb" o "de tipo Comb", se refiere a una variedad de PEGs de multi-brazos unidos a un estructura principal, típicamente poli(metacrilato), como se conoce en la técnica. Con respecto a convenciones de nomenclatura incluyendo la empleada en el cuadro proporcionado en la presente, una indicación ausente a lo contrario que una 20 porción de PEG está unida a la estructura principal del péptido. Por ejemplo, el Cmp 19 es el resultado de la conjugación de mPEG40KD al nitrógeno N-terminal del Cmp 1. Asimismo, el Cmp 20 es el resultado de la conjugación de mPEG40KD al nitrógeno del N-terminal del Cmp 2. Las abreviaturas estándar

de una sola letra para aminoácidos pueden ser utilizadas, igual que las abreviaturas estándar de tres letras. Por ejemplo, el Cmp 24 es un análogo del Cmp 10 en donde el residuo en la posición 26 del Cmp 9 es sustituido por lisina, y la funcionalidad pendiente de la amina de la lisina 26 (es decir, K²⁶) se 5 conjuga con una porción PEG40KD. Compuestos ejemplares se proporcionan en el Cuadro 2 siguiente.

CUADRO 2
Compuestos pegilados

10

15

20

Cmp	Descripción	SEQ ID NO:
19	mPEG40KD-Cmp 1	37
20	mPEG40KD-Cmp 2	38
21	[K ²¹ (mPEG40KD)]-Cmp 3	39
22	[K ²¹ (mPEG40KD)]-Cmp 4	40
23	[K ²⁶ (mPEG40KD)]-Cmp 5	41
24	[K ²⁶ (mPEG40KD)]-Cmp 6	42
25	[K ³¹ (mPEG40KD)]-Cmp 7	43
26	[K ³¹ (mPEG40KD)]-Cmp 8	44
27	[K ²⁶ (Y-shaped-mPEG40KD)]-Cmp 5	45
28	[K ²¹ (mPEG40KD)]-Cmp 11	46
29	[K ²⁶ (mPEG40KD)]-Cmp 12	47
30	[K ³¹ (mPEG40KD)]-Cmp 13	48
31	[K ²⁶ (Y-shaped-mPEG40KD)]-Cmp 12	49
32	[K ²⁴ (mPEG40KD)]-Cmp 14	50
33	[K ²⁵ (mPEG40KD)]-Cmp 15	51
34	[K ²⁷ (mPEG40KD)]-Cmp 16	52
35	[K28(mPEG40KD)]-Cmp 17	53
36	[K29(mPEG40KD)]-Cmp 18	54
40	[K18(mPEG40KD)]-Cmp 37	55
41	[K34(mPEG40KD)]-Cmp 38	56
42	[K35(mPEG40KD)]-Cmp 39	57

PEG Recombinante

En algunas modalidades, la porción que aumenta la duración-L-R conjugada con un polipéptido descrito en la presente incluye un polipéptido recombinante sin estructura. Vea por ejemplo, Schellenberger *et al.*, 2009, *Nature Biotechnology*, 27:1186-1192, incorporado en la presente como referencia y para todo propósito. Los términos "PEG recombinante," "rPEG," "porción que aumenta la duración de rPEG" y similares se refiere a secuencias de polipéptido recombinante substancialmente sin estructura que actúan como sustitutos para el PEG como porciones que aumentan la duración en conjugación con los componentes de polipéptido que tienen una identidad definida de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácido de la Fórmula (I). Los rPEGs y conjugados de polipéptido de los mismos tienen la ventaja potencialmente significativa de que la síntesis puede ser lograda por métodos recombinantes, no requiriendo los pasos de síntesis química de fase en solución o fase sólida de, por ejemplo pero no limitado a, la conjugación de PEG con el polipéptido.

Ha sido encontrado que los polipéptidos sin estructura, altamente expresados, estables, pueden conjugarse con moléculas biológicamente activas, lo que resulta en la modulación de una variedad de parámetros biológicos, incluyendo pero no limitado a, vida media en suero. Por ejemplo, al incorporar exclusivamente A, E, G, P, S y T, Schellenberger *et al.* (*Id.*) revelan que las vidas medias aparentes de los conjugados con exenatida, proteína fluorescente verde (GFP) y hormona del crecimiento humano (hGH) aumentan

significativamente con respecto a los polipéptidos sin conjugar.

En algunas modalidades, la porción que mejora la duración rPEG no incluye un residuo hidrofóbico (por ejemplo, F, I, L, M, V, W o Y), un residuo que contiene amida de cadena secundaria (por ejemplo, N o Q) o un
5 residuo de cadena secundaria cargado positivamente (por ejemplo, H, K o R). En algunas modalidades, la porción que mejora la duración rPEG incluyen A, E, G, P, S o T. En algunas modalidades, el rPEG incluye glicina a 10-20%, 20-30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, 60-70%, 70-80%, 80-90%, 90-99%, o incluso glicina a 100%.

10 En modalidades donde la porción que mejora la duración rPEG es conjugada en el N-terminal o C-terminal del polipéptido que es por lo menos 75% idéntico a la estructura de la Fórmula (I), el polipéptido conjugado y el rPEG se sintetizan por métodos recombinantes conocidos en la técnica. En modalidades donde la porción que aumenta la duración de rPEG es
15 conjugada en una cadena secundaria del polipéptido que es por lo menos 75% idéntico a la estructura de la Fórmula (I), la porción de rPEG es sintetizada por métodos recombinantes y subsiguientemente conjugado al polipéptido por métodos conocidos en la técnica y descritos en la presente.

20

Sustitución química

En algunas modalidades, cada grupo sustituido en un conjugado de polipéptido descrito en la presente es sustituido con por lo menos un grupo sustituyente. Más específicamente, en algunas modalidades, cada alquilo

sustituido, heteroalquilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heterocicloalquilo sustituido, arilo sustituido, heteroarilo sustituido, alquileno sustituido, heteroalquileno sustituido, cicloalquileno sustituido o no sustituido, heterocicloalquileno sustituido o no sustituido, arileno sustituido o no sustituido, o heteroarileno sustituido o no sustituido descrito en la presente es sustituido con por lo menos un grupo sustituyente. En algunas modalidades, por lo menos uno o todos de estos grupos son sustituidos con por lo menos un grupo sustituyente de tamaño limitado. En algunas modalidades, por lo menos uno o todos de estos grupos son sustituidos con por lo menos un grupo sustituyente inferior.

En algunas modalidades, cada alquilo sustituido o no sustituido es un alquilo de C_1 - C_{20} sustituido o no sustituido, cada heteroalquilo sustituido o no sustituido es un heteroalquilo de 2 a 20 miembros sustituido o no sustituido, cada cicloalquilo sustituido o no sustituido es un cicloalquilo de C_4 - C_8 , cada heterocicloalquilo sustituido o no sustituido es un heterocicloalquilo de 4 a 8 miembros sustituido o no sustituido, cada alquileno sustituido o no sustituido es un alquileno de C_1 - C_{20} sustituido o no sustituido, cada heteroalquileno sustituido o no sustituido es un heteroalquileno 2 a 20 miembros sustituido o no sustituido, cada cicloalquileno sustituido o no sustituido es un cicloalquileno de C_4 - C_8 sustituido o no sustituido, y cada heterocicloalquileno sustituido o no sustituido es un heterocicloalquileno de 4 a 8 miembros sustituido o no sustituido.

En algunas modalidades, cada alquilo sustituido o no sustituido

es un alquilo de C₁-C₈ sustituido o no sustituido, cada heteroalquilo sustituido o no sustituido es un heteroalquilo de 2 a 8 miembros, cada cicloalquilo sustituido o no sustituido es un cicloalquilo de C₅-C₇ sustituido o no sustituido, cada heterocicloalquilo sustituido o no sustituido es un heterocicloalquilo de 5 a 7 miembros sustituido o no sustituido, cada alquileno sustituido o no sustituido es alquileno de C₁-C₈ sustituido o no sustituido, cada heteroalquileno sustituido o no sustituido es un heteroalquileno de 2 a 8 miembros sustituido o no sustituido, cada cicloalquileno sustituido o no sustituido es un cicloalquileno de C₅-C₆ sustituido o no sustituido, y cada heterocicloalquileno sustituido o no sustituido es a heterocicloalquileno de 5 a 7 miembros sustituido o no sustituido.

III. Síntesis Ejemplares

Métodos generales de síntesis de polipéptido

Los componentes de polipéptido de los conjugados de polipéptido descritos en la presente pueden ser preparados usando técnicas de ADN biológicas, químicas, y/o recombinantes que son conocidas en la técnica. Métodos de ejemplo son descritos en la presente y en la Patente de EEUU No. 6,872,700; WO 2007/139941; WO 2007/140284; WO 2008/082274; WO 2009/011544; y la Publicación de EEUU No. 2007/0238669, cuyas descripciones se incorporan en la presente como referencia en su totalidad y para todo propósito. Otros métodos para preparar los compuestos son presentados aquí y/o conocidos en la técnica.

Por ejemplo, el componente de polipéptidos de los compuestos descritos en la presente pueden prepararse usando técnicas estándar de síntesis de péptido en fase sólida, tal como un sintetizador automatizado o semi-automatizado. Típicamente, usando tales técnicas, un aminoácido protegido alfa-N-carbamoylo y un aminoácido unido a la cadena de péptido en crecimiento en una resina se acoplan a temperatura ambiente en un solvente inerte (por ejemplo, dimetilformamida, N-metilpirrolidinona, cloruro de metileno, y similares) en la presencia de agentes de acoplamiento (por ejemplo, dicitclohexilcarbodiimida, 1-hidroxibenzo-triazol, y similares) en la presencia de una base (por ejemplo, diisopropiletilamina, y similares). El grupo protector alfa-N-carbamoylo es removido de la resina-péptido resultante usando un reactivo (por ejemplo, ácido trifluoroacético, piperidina, y similares) y la reacción de acoplamiento se repite con el siguiente aminoácido N- protegido deseado a ser agregado a la cadena del péptido. Los grupos N- protectores adecuados son bien conocidos en la técnica, como el tbutiloxycarbonil (tBoc) fluorenilmetoxycarbonil (Fmoc), y similares. Los solventes, derivados de aminoácido y resina de 4-metilbenzohidril-amina usados en el sintetizador de péptido pueden ser comprados en una variedad de fuentes comerciales, incluyendo por ejemplo Applied Biosystems Inc. (Foster City, Calif.).

Para la síntesis química, puede usarse una síntesis de péptido en fase sólida para los conjugados de polipéptido, ya que en general la síntesis en fase sólida es un enfoque directo con excelente capacidad de

escalación a la escala comercial, y es generalmente compatible con conjugados de polipéptido relativamente largos. La síntesis del péptido en fase sólida puede realizarse con un sintetizador automático de péptido (Model 430A, Applied Biosystems Inc., Foster City, Calif.) usando el sistema

5 NMP/HOBt (Option 1) y la química de tBoc o Fmoc (Vea Applied Biosystems User's Manual for the ABI 430A Peptide Synthesizer, Version 1.3B Jul. 1, 1988, section 6, pp. 49-70, Applied Biosystems, Inc., Foster City, Calif.) con taponado. Los Boc-péptido-resinas pueden disociarse con HF (-5°C a 0°C, 1 hora). El péptido puede ser extraído de la resina con agua y ácido acético

10 alternados, y los filtrados liofilizados. Las resinas de Fmoc-péptido pueden ser disociadas según métodos estándar (por ejemplo, Introduction to Cleavage Techniques, Applied Biosystems, Inc., 1990, pp. 6-12). Los péptidos también pueden ser ensamblados usando un Advanced Chem Tech Synthesizer (Model MPS 350, Louisville, Ky.).

15

Pegilación de amina

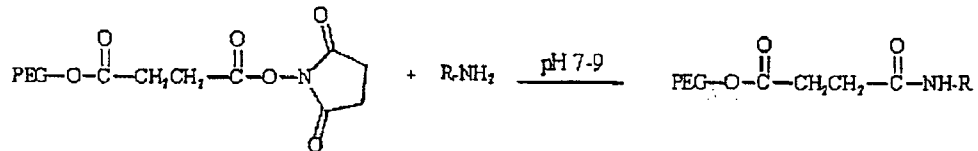
La unión covalente del PEG puede lograrse convenientemente por una variedad de métodos disponibles para un experto en la técnica de la química de síntesis. Para la pegilación en la estructura principal o amina de

20 cadena secundaria, los reactivos de PEG son reaccionados típicamente bajo condiciones suaves para proporcionar el compuesto pegilado. Opcionalmente, se emplean pasos adicionales incluyendo pero no limitado a reducción. En un esquema de conjugación típico de péptido-mPEG, mPEG funcionalizado con

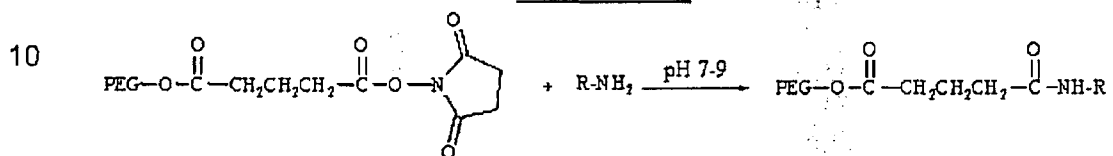
N-hidroxisuccinimida (NHS) puede mezclarse con un péptido que tiene una amina libre en un solvente adecuado (por ejemplo, DMF seco) bajo nitrógeno en la presencia de DIPEA (por ejemplo, 3 equivalentes por contraion de TFA) por un tiempo adecuado (por ejemplo, 24 hrs). El conjugado puede ser
5 precipitado por la adición de un reactivo de precipitación (por ejemplo, dietil éter frío). El precipitado puede ser aislado por centrifugación y disuelto en agua seguido por liofilización. La purificación puede lograrse por una variedad de procedimientos cromatográficos (por ejemplo, columna de intercambio iónico MacroCap SP usando gradiente de NaCl 0.5 M). La pureza puede
10 verificarse por SDS-PAGE. La espectrometría de masa (por ejemplo, MALDI) puede usarse para caracterizar el conjugado después de diálisis contra agua.

PEG-SS (succinimidil succinato)

El PEG-SS reacciona con grupos amina bajo condiciones suaves
15 para formar la amida, como se muestra en el Esquema 1. La funcionalización del NHS proporciona derivados de PEG aminoreactivos que pueden reaccionar con grupos amino primarios a pH 7-9 para formar enlaces amida estables. La reacción puede ser terminada en 1 hora o incluso en menos tiempo. Reacciones ejemplares siguen en los Esquemas 1 y 2.

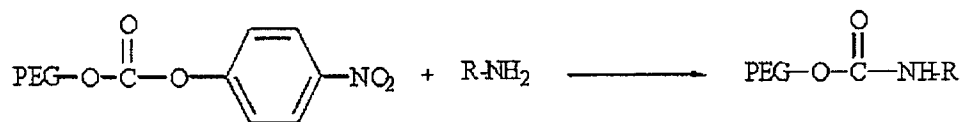
ESQUEMA 1

- 5 **PEG-SG (succinimidil glutarato).** Asimismo, el PEG-SG reacciona con grupos amina para formar la amida correspondiente, como se muestra en el Esquema 2.

ESQUEMA 2

PEG-NPC (carbonato de p-nitrofenilo). El PEG-NPC reacciona con funcionalidades amina para formar la funcionalidad uretano relativamente estable, como se muestra en el Esquema 3.

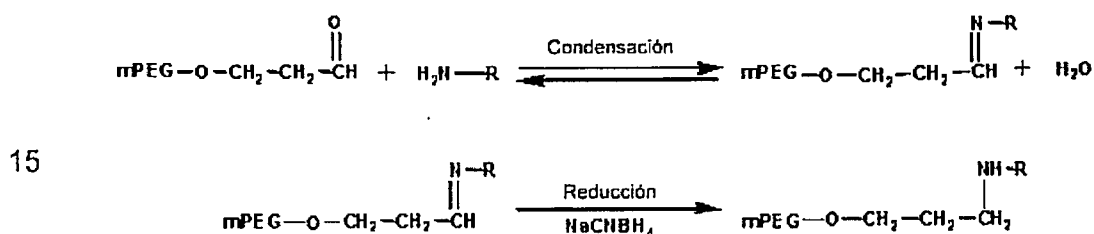
15

ESQUEMA 3

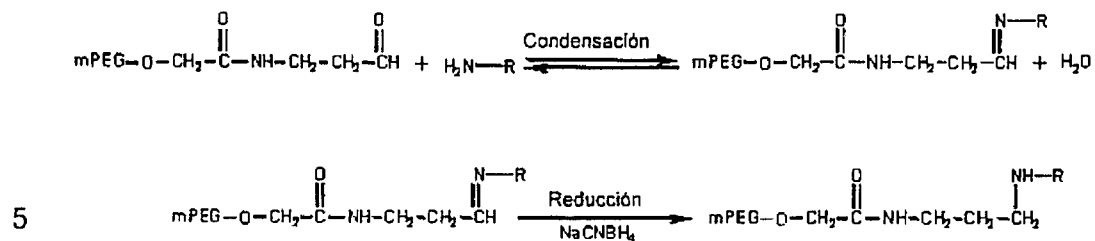
- 20 **PEG-isocianato.** Como se muestra en el Esquema 4, el PEG-isocianato puede reaccionar con la amina para formar el resultante enlace uretano relativamente estable.

ESQUEMA 4

- PEG-aldehído.** Una variedad de reacciones de PEG-aldehído con amina pueden producir la imina, que puede reducirse después para proporcionar la amina pegilada. El pH de la reacción puede ser importante para la selectividad del objetivo. La pegilación de la amina N-terminal puede estar alrededor de pH 5. Por ejemplo, la reacción de mPEG-propionaldehído con amina peptídica, seguido por reducción proporciona el compuesto representado en el Esquema 5 siguiente.

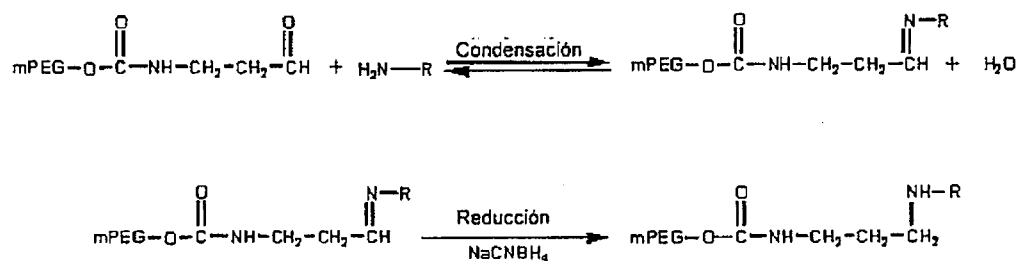
ESQUEMA 5

De manera similar, la condensación del mPEG-amida-propionaldehído con amina y subsiguiente reducción puede proporcionar los compuestos representados en el Esquema 6 siguiente.

ESQUEMA 6

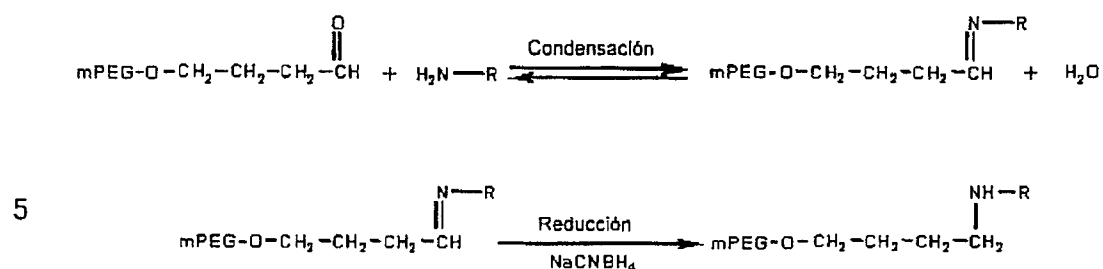
La reacción de mPEG-uretano-propionaldehído con amina y subsiguiente reducción puede proporcionar los compuestos representados en el Esquema 7 siguiente.

10

ESQUEMA 7

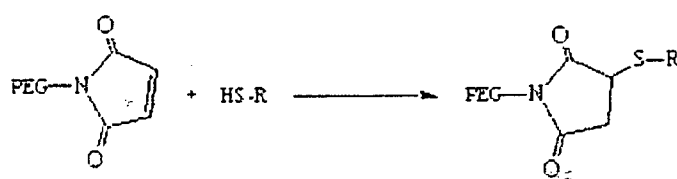
15

Además, la reacción de mPEG-butilaldehído con amina y subsiguiente reducción puede proporcionar los compuestos representados en el Esquema 8 siguiente.

ESQUEMA 8

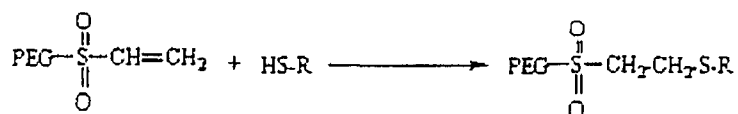
Pegilación de tiol: PEG-maleimida. La pegilación se logra convenientemente en grupos tiol libres por una variedad de métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, como es mostrado en el Esquema 9 siguiente, los tioles pegilados de PEG-maleimida del compuesto objetivo en el que el doble enlace del anillo maleímico se rompe para concetarse con el tiol. La velocidad de reacción es dependiente del pH y las mejores condiciones son encontradas alrededor de pH 8.

15

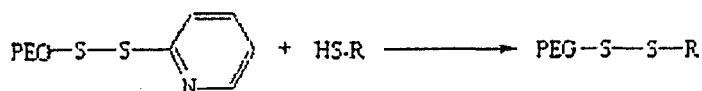
ESQUEMA 9

PEG-vinilsulfona. Adicionalmente, como es representado en el Esquema 10 siguiente, la PEG-vinilsulfona es útil para la pegilación de tiol libre.

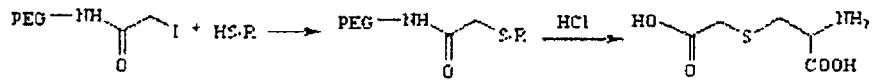
20

ESQUEMA 10

- 5 **PEG-ortopiridil-disulfuro (OPSS).** La formación de PEG
 enlazado a bisulfuro a un polipéptido se logra por una variedad de métodos
 conocidos en la técnica, incluyendo la reacción representada en el Esquema
 11 siguiente. En este tipo de unión, el conjugado de PEG resultante puede ser
 desacoplado del polipéptido por reducción con, por ejemplo pero no limitado a,
 10 borohidruro, ditiol de molécula pequeña (por ejemplo, ditioneritrol) y similares.

ESQUEMA 11

- 15 **PEG-yodoacetamida.** Las PEG-yodoacetamidas pegilan tioles
 para formar enlaces tioéter estables en medio básico suave. Este tipo de
 conjugación presenta un aspecto interesante en que por análisis de ácido
 fuerte el residuo de cisteína pegilado de la proteína puede ocasionar la
 carboximetilcisteína que puede ser evaluada por un análisis estándar de
 20 aminoácido (por ejemplo, secuenciación de aminoácido), así ofreciendo un
 método para verificar la ocurrencia de la reacción. Un esquema de reacción
 típico es mostrado en el Esquema 6 a continuación.

ESQUEMA 12

Purificación de compuestos. La purificación de compuestos descrita en la presente sigue generalmente los métodos disponibles por el técnico experto. En un procedimiento de purificación típico, un conjugado de péptido-PEG crudo se purifica inicialmente vía cromatografía de intercambio iónico, por ejemplo, columna de intercambio de cationes Macro Cap SP. Un procedimiento de purificación típico emplea Búfer A (20 mM de búfer de acetato de sodio, pH 5.0) y Búfer B (20 mM de búfer de acetato de sodio, pH 5.0, cloruro de sodio 0.5 M) en un programa de gradiente de elución, por ejemplo, 0-0% de Búfer B (20 min), seguido por 0-50% de Búfer B (50 min), luego 100% de Búfer B (20 min). La velocidad de flujo es típicamente 3 mL/min. Se realiza la visualización en gel de SDS poliacrilamida de las fracciones recolectadas, seguido de diálisis contra agua de la combinación adecuada de la fracción y liofilización del resultante. La caracterización analítica típicamente emplea espectroscopía de masa MALDI.

IV. Métodos de Uso

En un aspecto, se proporciona un método para el tratamiento en un sujeto en necesidad de tratamiento para trastornos metabólicos tales como, pero no limitado a obesidad, diabetes (*por ejemplo*, diabetes tipo 2 o no dependiente de insulina, diabetes tipo 1, y diabetes gestacional), dislipidemia,

trastornos de la alimentación, síndrome de resistencia a insulina, y/o enfermedad cardiovascular. En otro aspecto, se proporciona un método para el tratamiento en un sujeto en necesidad de tratamiento para hiperglicemia anormal después de las comidas, síndrome de Dumping, hipertensión, 5 hiperlipidemia, apnea del sueño, cáncer, hipertensión pulmonar, colescistitis, osteoartritis, y síndrome de intestino corto. El método incluye administrar a un sujeto en necesidad de tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto o composición farmacéutica descrita en la presente.

Como se usa en la presente, un "sujeto" puede incluir cualquier 10 mamífero, incluyendo pero no limitado a ratas, ratones y humanos. Un "sujeto" también incluye animales domésticos (por ejemplo, los perros, los gatos, los caballos), así como otros animales. Los sujetos pueden tener por lo menos uno de los trastornos metabólicos descritos en la presente. Los sujetos pueden ser de cualquier edad. Por consiguiente, estos trastornos pueden ser 15 encontrados en jóvenes adultos y adultos (definido en la presente como esos que tiene 65 años de edad o debajo) así como infantes, niños, adolescentes, y las personas mayores (definido en la presente como la edad sobre 65). De hecho, ciertos segmentos de la población pueden estar especialmente propensos a tener una condición particular, tal como trastornos alimenticios en 20 adolescentes y jóvenes adultos. Las personas mayores pueden ser especialmente susceptibles a condiciones tales como depresión.

Como se usa en la presente, y como es bien entendido en la técnica, "tratamiento" es un acercamiento para obtener resultados benéficos o

deseados, incluyendo resultados clínicos. "Tratar," "paliar," o "mejorar" una enfermedad, trastorno, o condición significa que el grado, las manifestaciones clínicas indeseables de una condición, o ambos, de un trastorno o un estado de enfermedad son disminuidos y/o el curso de tiempo de la progresión se
5 hace más lento (es decir, se alarga en el tiempo), en comparación con no tratar el trastorno. Para propósitos de los métodos revelados en la presente, los resultados clínicos benéficos o deseados incluyen, pero no se limitan a, el alivio o la mejora de uno o más síntomas, la disminución del grado del trastorno, estado estabilizado (es decir, no empeorándose) del trastorno, la
10 demora o la desaceleración de la progresión del trastorno, la mejora o la paliación del trastorno, y la remisión (ya sea parcial o total), ya sea perceptible o indetectable. El "tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Además, el tratamiento no ocurre necesariamente por la
15 administración de una dosis, pero a menudo ocurre con la administración de una serie de dosis. Así, una "cantidad terapéuticamente efectiva," una cantidad suficiente para paliar, o una cantidad suficiente para tratar una enfermedad, trastorno, o la condición puede ser administrada en una o más administraciones.

20 La obesidad y sus trastornos asociados incluyendo el sobrepeso son problemas de salud pública comunes y serios en los Estados Unidos y en todo el mundo. La obesidad del cuerpo superior es el factor más fuerte de riesgo conocido para la diabetes mellitus Tipo 2 y es un factor fuerte de riesgo

para la enfermedad cardiovascular. La obesidad es un factor reconocido de riesgo para la hipertensión, aterosclerosis, la insuficiencia cardíaca congestiva, accidente cerebro-vascular, la enfermedad de vesícula biliar, la osteoartritis, la apnea de sueño, trastornos reproductores como síndrome de ovario poliquístico, los cánceres de mama, próstata, y colon, y el aumento en la incidencia de complicaciones de anestesia general. Vea, por ejemplo, Kopelman, 2000, *Nature* 404:635-43.

La obesidad reduce la expectativa de vida y porta un riesgo serio de las co-morbididades listadas antes, así como trastornos tales como infecciones, venas varicosas, acanthosis nigricans, eczema, intolerancia al ejercicio, resistencia a insulina, hipertensión hipercolesterolemia, colelitiasis, lesión ortopédica, y enfermedad tromboembólica. Vea por ejemplo, Rissanen et al, 1990, *Br. Med. J.*, 301:835-7. La obesidad también es un factor de riesgo para el grupo de condiciones llamada síndrome de resistencia a insulina, o "Síndrome X" y síndrome metabólico. El costo médico mundial de la obesidad y trastornos asociados es enorme.

Se cree que la patogénesis de la obesidad es multi-factorial. Un problema es que, en sujetos obesos, la disponibilidad de nutrientes y el gasto de energía no entran en equilibrio hasta que hay un exceso de tejido adiposo. El sistema nervioso central (CNS) controla el equilibrio de energía y coordina una variedad de actividades de conducta, autonómicas y endócrinas apropiadas al estado metabólico del animal. Los mecanismos o los sistemas que controlan estas actividades se distribuyen ampliamente a través del

prosencéfalo (por ejemplo, el hipotálamo), rombencéfalo (por ejemplo, tronco encefálico), y la médula espinal. Finalmente, la información metabólica (es decir, la disponibilidad de combustible) y la cognoscitiva (es decir, preferencias aprendidos) de estos sistemas es integrada y la decisión de
5 entrar en las conductas de apetito (búsqueda de alimento) y consumación (ingestión) es ya sea encendida (adquisición e iniciación de comida) o apagado (terminación de comida). El hipotálamo es considerado el principal responsable de integrar estas señales y entonces emitir órdenes al tronco encefálico. Los núcleos del tronco encefálico que controlan los elementos del
10 sistema de control motor de consumación (por ejemplo, los músculos responsables de masticar y tragar). Como tal, estos núcleos de CNS han sido denominados literalmente como que constituyen la "trayectoria común final" para la conducta ingestiva.

Evidencia neuroanatómica y farmacológica soporta que las
15 señales de energía y homeostasis nutricional se integran en el núcleo del prosencéfalo y que el sistema de control motor de consumación reside en el núcleo del tronco encefálico, probablemente en las regiones que rodea al núcleo motor trigeminal. Hay conexiones recíprocas extensas entre el hipotálamo y el tronco encefálico. Una variedad de compuestos terapéuticos
20 anti-obesidad dirigidos al CNS (por ejemplo, pequeñas moléculas y los péptidos) se enfocan predominantemente sobre sustratos del prosencéfalo que residen en el hipotálamo y/o en sustratos del rombencéfalo que residen en el tronco encefálico.

La resistencia a la insulina es un aspecto patofisiológico principal tanto en la diabetes tipo 2 obesa y no obesa, y antes se creía que era debido principalmente a un defecto post-unión en la acción de la insulina. Vea por ejemplo, Berhanu et al., 1982, *J. Clin. Endoc. Metab.* 55:1226-1230. Tal defecto podría deberse a una propiedad intrínseca de las células periféricas, o causada por un cambio en la concentración de un factor humoral en el plasma, o los dos. Los intentos anteriores de demostrar un factor humoral responsable de la resistencia a la insulina ha producido resultados opuestos. Tampoco ha sido posible demostrar un defecto intrínseco post-unión en la resistencia a la insulina en la diabetes mellitus tipo 2 (vea: Howard, B. V. *Diabetes* 30: 562-567 (1981); Kolterman, O. G. et al., *J. Clin. Invest.*: 957-969, (1981)).

Los mecanismos de la resistencia a insulina en la diabetes tipo 2 son complejos. La evidencia, vista principalmente de estudios en el tejido adiposo, se dijo que sugiere que en los casos más ligeros, la resistencia a insulina podría ser justificada en gran parte por una deficiencia en números de receptores de insulina en células periféricas objetivo, pero a medida que aumenta el grado de hiperglucemia de ayuno, surge un defecto de postreceptor de acción de insulina y aumenta progresivamente en significado (vea: Kolterman et al., supra). La tolerancia deteriorada a la glucosa que acompaña la resistencia a la insulina en la diabetes tipo 2 se cree que es causada en gran medida por una disminución en la captación de glucosa en los tejidos periféricos, pero también se ha dicho que está implicada una

supresión incompleta de inducción de glucosa de la producción hepática de glucosa. Vea por ejemplo, Wajngot *et al.*, 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70:4432-4436. En los diabéticos de tipo 2 tanto obesos como no obesos, la curva de dosis-respuesta a la insulina cambia a la derecha y hay una
5 disminución marcada en el índice máximo de disposición de glucosa y del metabolismo de glucosa del cuerpo total en los diabéticos tipo 2 en comparación con los sujetos no diabéticos (Kolterman *et al.*, *Id.*; De Fronzo, R. A. *et al.*, 1985, *J. Clin. Invest.* 76:149-155).

En otro aspecto general, los compuestos de la invención pueden
10 ser útiles para reducir la ingesta de alimentos, reducir el apetito, inducir la saciedad, reducir los nutrientes disponibles al cuerpo para ser almacenados como grasa, causando pérdida de peso, afectando la composición del cuerpo, mejorando el perfil de lípidos (incluyendo reducir el colesterol LDL y los niveles de triglicéridos y/o cambiando los niveles de colesterol HDL), haciendo
15 más lenta la motilidad intestinal, demorando el vaciado gástrico, moderando las excursiones de glucosa en sangre después de las comidas, previniendo o inhibiendo la secreción de glucagón, y disminuyendo la presión sanguínea.

Así, en ciertas modalidades, los compuestos de la invención son
útiles para tratar o prevenir condiciones o trastornos que pueden ser aliviados
20 al reducir los nutrientes disponibles para el cuerpo para almacenarse como grasa. Tales condiciones y trastornos incluyen, pero no se limitan a, trastornos de la alimentación, resistencia a insulina, obesidad, hiperglucemia anormal después de las comidas, diabetes de cualquier tipo, incluyendo Tipo I, Tipo II,

y diabetes gestacional, síndrome metabólico, síndrome de Dumping, hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, hiperlipidemia, apnea del sueño, cáncer, hipertensión pulmonar, colecistitis, y osteoartritis.

Ejemplos no limitativos de una condición o enfermedad cardiovascular son hipertensión, isquemia de miocardio, y reperfusión del miocardio. Los compuestos de la invención también pueden ser útiles en tratar o prevenir otras condiciones asociadas con obesidad incluyendo accidente cerebro-vascular, cáncer (por ejemplo, cáncer endometrial, de mama, de próstata, y de colon), enfermedad de la vesícula biliar, apnea del sueño, reducción en fertilidad, y osteoartritis. En otras modalidades, los compuestos de la invención pueden ser utilizados para alterar la composición del cuerpo por razones estéticas, para aumentar las capacidades físicas, o para producir una fuente de carne más magra.

En otro aspecto general, los compuestos de la invención pueden usarse para inhibir la secreción de ghrelina. En consecuencia, los compuestos de la invención pueden ser utilizados para tratar o prevenir trastornos relacionados a ghrelina tales como síndrome de Prader-Willi, diabetes de todo tipo y sus complicaciones, obesidad, hiperfagia, hiperlipidemia, u otros trastornos asociados con la hipernutrición.

En otro aspecto general, los compuestos de la invención pueden ser útiles para tratar o prevenir el esófago de Barrett, La enfermedad de reflujo gastroesofágico (GERD) y condiciones asociadas con los mismos. Tales condiciones pueden incluir, pero no se limitan a, pirosis, pirosis acompañada

de regurgitación del contenido gástrico/intestinal en la boca o los pulmones, dificultad para tragar, tos, silbancia intermitente e inflamación de las cuerdas vocales (condiciones asociadas con GERD), erosión esofágica, úlcera esofágica, estrechamiento esofágico, metaplasia de Barrett (reemplazo del
5 epitelio esofágico normal con epitelio anormal), adenocarcinoma de Barrett, y aspiración pulmonar. La amilina y los agonistas de amilina tienen propiedades anti-secretores, tal como inhibición de ácidos gástricos, inhibición de ácidos biliares, e inhibición de enzimas pancreáticas. Más aún, se ha encontrado que la amilina tiene un efecto gastroprotector. En consecuencia, estas
10 propiedades de la amilina y agonistas de amilina las vuelven particularmente útiles en el tratamiento o prevención del esófago de Barrett, y/o GERD y condiciones relacionadas o asociadas como se describe en la presente.

En otro aspecto general, los compuestos de la invención pueden además ser útiles para tratar o prevenir pancreatitis, carcinoma pancreático, y
15 gastritis. Más aún, los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento y prevención de pancreatitis en pacientes que se han sometido a colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (ERCP). Ha sido descubierto además que la amilina y los agonistas de amilina pueden tener un efecto terapéutico sorprendentemente superior cuando se combinan con
20 somatostatina. Por consiguiente, en ciertas modalidades, los métodos para tratar o prevenir pancreatitis comprenden administrar compuestos de la invención y administrar somatostatina y agonistas de somatostatina.

En otro aspecto general, los compuestos de la invención también

pueden ser útiles para disminuir la resorción ósea, disminuir el calcio en plasma, e inducir un efecto analgésico. Por consiguiente, los compuestos de la invención pueden ser útiles para tratar trastorno de hueso tal como osteopenia y osteoporosis. En todavía otras modalidades, los compuestos de la invención pueden ser útiles para tratar dolor y neuropatía dolorosa.

En otro aspecto general, los compuestos de la invención también pueden ser útiles para tratar síndrome de intestino corto. El síndrome de intestino corto, o síndrome visceral corto, significa un síndrome gastrointestinal caracterizado por síntomas que resultan de la mala absorción de nutrientes tal como dolor abdominal, diarrea, retención de líquidos, pérdida de peso involuntaria, y fatiga extrema debido a un intestino subdesarrollado durante la gestación o después de corte quirúrgico de una longitud significativa del intestino delgado. Por consiguiente, como se utiliza en la presente, el término "síndrome de intestino corto" también incluye el síndrome visceral corto y corte de intestino delgado masivo. Los reflejos hormonales intestinales y circuitos de retroalimentación pueden ser interrumpidos llevando a un aumento en el volumen de las secciones gástricas próximas y del intestino delgado y a patrones alterados de motilidad. Las pérdidas de agua, de sodio y de magnesio pueden llevar a perturbaciones de los electrolitos. Ciertas funciones específicas de absorción también pueden ser dañadas que son únicas de ciertas partes del intestino, tal como la absorción de vitamina B12, sales biliares y otras vitaminas solubles grasas por el íleon. Los compuestos de la invención pueden proporcionar una mejora substancial en

los hábitos del intestino, estado nutricional y calidad de vida de los pacientes con síndrome de intestino corto, y además puede reducir la necesidad de nutrición parenteral y trasplante de intestino delgado.

5 V. Ensayos

Los métodos para la producción y ensayo de los compuestos descritos en la presente están disponibles en general para el experto en la técnica. Siguen ensayos representativos para los compuestos y para los métodos descritos en la presente.

10

Ingesta de alimento

Sin desear limitarse por alguna teoría, se cree que la ingesta de alimento es útil para la evaluación de la utilidad de un compuesto como se describe en la presente. Por ejemplo, es sabido que varias patologías metabólicas están relacionadas a la ingesta de alimento (por ejemplo, la diabetes, la obesidad). Por consiguiente, una investigación inicial puede ser realizada para determinar el grado al cual se modula la ingesta de alimento por la administración de compuestos descritos en la presente, y una investigación inicial positiva puede ser útil en el desarrollo subsiguiente de un compuesto.

15

20

Una variedad de ensayos de ingesta de alimento está disponible para un experto en la técnica. Por ejemplo, en el llamado "modelo de jaula de casa" de toma de alimento, los sujetos (por ejemplo, ratas) son mantenidas en

su jaula de casa, y la ingesta de alimento junto con el peso total del sujeto se mide después de la inyección del compuesto de prueba. En el llamado "modelo de patrones de alimentación" de ensayo de ingesta de alimento, los sujetos (por ejemplo, ratas) son acostumbradas a una cámara de alimentación y a inyecciones antes de la prueba. Después de la administración del compuesto de prueba, los sujetos son colocados inmediatamente en la cámara de alimentación, y la ingesta de alimento es determinada automáticamente como una función del tiempo (por ejemplo, intervalos de 1 min). Para ambas pruebas, el alimento es comida estándar o cualquiera de una variedad de comidas (por ejemplo, alta en grasa) conocido en la técnica. En el llamado ensayo de "ingesta de alimento de ratón", un compuesto de prueba puede ser probado para la supresión de apetito, o para un efecto en la ganancia de peso corporal en ratones con obesidad inducida por la dieta (DIO). En un ensayo típico de ingesta de alimento de ratón, ratones hembras NIH/suizos (8-24 semanas de edad) son agrupados en grupo con un ciclo de 12:12 horas de luz:oscuridad con luces encendidas a las 0600. Agua y una dieta estándar de comida de ratón en croquetas está disponible ad libitum, excepto como se indique. Los animales son puestos en ayuno aproximadamente a las 1500 Horas, 1 día antes del experimento. La mañana del experimento, los animales son divididos en grupos experimentales. En un estudio típico, $n = 4$ jaulas con 3 ratones/jaula. En el tiempo = 0 min, todos los animales reciben una inyección intraperitoneal de vehículo o compuesto, típicamente en una cantidad que varía de aproximadamente 10 nmoles/kg a

75 nmoles/kg, y reciben inmediatamente una cantidad pre-pesada (10-15 g) de la comida estándar. El alimento es quitado y es pesado varias veces, típicamente en 30, 60, y 120 minutos, para determinar la cantidad de alimento consumido. Vea por ejemplo, Morley et al., 1994, *Am. J. Physiol.* 267:R178-
5 R184). La ingesta de alimento es calculada restando el peso del alimento que queda en por ejemplo 30, 60, 120, 180 y/o 240 minutos del punto de tiempo, del peso del alimento proporcionado inicialmente en el tiempo = 0. Los efectos significativos del tratamiento son identificados por ANOVA ($P < 0.05$). Dónde una diferencia significativa existe, los medios de prueba son comparados al
10 medio de control utilizando la prueba de Dunnett (Prism V. 2.01, GraphPad Software Inc. San Diego, Calif.). Para cualquier prueba descrita en la presente, la administración de un compuesto de prueba puede ser por cualquier medio, incluyendo inyección (por ejemplo, subcutánea, intraperitoneal, y similares), oral, u otros métodos de administración conocidos
15 en la técnica.

Ensayos *in vitro*

Sin desear limitarse por alguna teoría o mecanismo de acción, se cree que existen correlaciones entre los resultados de los ensayos *in vitro* (por
20 ejemplo, receptor), y la utilidad de los agentes para el tratamiento de enfermedades y trastornos metabólicos. Por consiguiente, los ensayos *in vitro* (por ejemplo, ensayos a base de células) son útiles como una estrategia de investigación para agentes metabólicos potenciales, como se describe en la

presente. Una variedad de ensayos *in vitro* son conocidos en la técnica, incluyendo esos descritos a continuación.

Ensayo de calcitonina adenilato ciclasa (Ensayo funcional)

- 5 La activación del adenilato ciclasa mediado por el receptor calcitonina puede ser medida usando un kit de ensayo de cAMP basado en células HTRF (Fluorescencia Resuelta en Tiempo Homogénea) de CisBio. El kit es un inmunoensayo competitivo que usa cAMP marcado con el fluoróforo de aceptor d2 y un anticuerpo monoclonal anti-cAMP marcado con el donador
- 10 Criptato de Europio. Se registra el aumento en los niveles de cAMP como disminución de transferencia de energía de fluorescencia resuelta en tiempo entre el donador y el aceptor. Los péptidos pueden ser diluidos en serie con búfer y transferidos a, por ejemplo, una placa de compuesto de 384 pozos. Las células C1a-HEK que expresan establemente el receptor de calcitonina
- 15 C1a de rata pueden ser separadas de los matraces de cultivo celular y resuspendidas a 2×10^6 células/ml en búfer de estimulación que contiene 500 μ M de IBMX, y fluoróforo d2 a 1:40. Las células pueden ser añadidas a la placa de compuesto en una densidad de 12,500 por pozo e incubadas en la oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente para la activación del
- 20 receptor. Las células pueden ser subsiguientemente lisadas por la adición de solución de anti-cAMP Criptato diluida con el kit de conjugado/búfer de lisis (1:40). Después de 1 a 24 horas de incubación en la oscuridad, el placa puede ser contada con un Tecan Ultra capaz de medir la transferencia de energía de

fluorescencia resuelta en tiempo.

Ensayo de unión al receptor de amilina

Membranas de ARN pueden ser incubadas con
5 aproximadamente 20 pM (concentración final) de ^{125} I- amilina de rata (Bolton-Hunter labeled, PerkinElmer, Waltham, MA) y concentraciones incrementales del compuesto de prueba por 1 hora a temperatura ambiente en, por ejemplo, placas de poliestireno de 96 pozos. Las fracciones unidas del contenido del pozo pueden ser recolectadas en una placa de fibra de vidrio de 96 pozos
10 (pre-bloqueada por lo menos por 30 minutos en 0,5% de PEI (polietilenimina)) y lavada con 1 X PBS utilizando un cosechador de placa Perkin Elmer. Las placas secadas de fibra de vidrio pueden ser combinadas con un centellante y contadas con un contador de centelleo de multi-pozo Perkin Elmer.

Ensayo de unión al receptor de CGRP.

Membranas celulares SK-N-MC pueden ser incubadas con
aproximadamente 50 pM (concentración final) de ^{125} I-humo CGRP (PerkinElmer, Waltham, MA) y concentraciones incrementales del compuesto de prueba por 1 hora a temperatura ambiente en placas de poliestireno de 96
20 pozos. Las fracciones unidas del contenido del pozo pueden ser recolectadas en una placa de fibra de vidrio de 96 pozos (pre-bloqueada por lo menos por 30 minutos en 0.5% PEI) y lavadas con 1 X PBS usando un cosechador de placa Perkin Elmer. Las placas de fibra de vidrio secadas pueden ser

combinadas con centelleante y contadas en un contador de centelleo de multi-pozo Perkin Elmer.

Ensayo de unión al receptor de calcitonina

5 Membranas celulares de C1a-HEK pueden ser incubadas con aproximadamente 50 pM (concentración final) de calcitonina ¹²⁵I-humana (PerkinElmer, Waltham, MA) y concentraciones incrementales del compuesto de prueba por 1 hora a temperatura ambiente wn, por ejemplo, placas de poliestireno de 96 pozos. Las fracciones unidas del contenido del pozo
10 pueden ser recolectadas en una placa de fibra de vidrio de 96 pozos (pre-bloqueada por lo menos por 30 minutos en 0.5% PEI) y lavadas con 1 X PBS usando un cosechador de placa Perkin Elmer. Las placas de fibra de vidrio secadas pueden ser combinadas con centelleante y contadas en un contador de centelleo de multi-pozo Perkin Elmer.

15

VI. Composiciones farmacéuticas

En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que incluye un compuesto de la invención como se describe en la presente en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20

A. Formulaciones

Los compuestos descritos en la presente pueden ser preparados y administrados en una amplia variedad de formas de dosificación oral,

parenteral, y tópica. Así, los compuestos de la presente invención pueden ser administrados por inyección (por ejemplo, intravenosamente, intramuscularmente, intracutáneamente, subcutáneamente, intraduodenalmente, o intraperitonealmente). También, los compuestos aquí
5 descritos pueden ser administrados por inhalación, por ejemplo, intranasalmente. Adicionalmente, los compuestos de la presente invención pueden ser administrados transdérmicamente. También está previsto que se pueden usar múltiples rutas de administración (por ejemplo, intramuscular, oral, transdérmica) para administrar los compuestos de la invención. En
10 consecuencia, la presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable y uno o más compuestos de la invención.

Para preparar composiciones farmacéuticas de los compuestos de la invención presente, los portadores farmacéuticamente aceptables
15 pueden ser ya sea sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, tabletas, píldoras, cápsulas, sellos, supositorios y gránulos dispersables. Un portador sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes saborizantes, aglutinantes, conservadores, agentes desintegradores de tabletas, o un material
20 encapsulante.

En los polvos, el portador es un sólido finamente dividido en una mezcla con el componente activo finamente dividido. En las tabletas, el componente activo es mezclado con el portador que tiene las propiedades de

unión necesarias en proporciones adecuadas y compactado en la forma y tamaño deseados.

Los polvos y las tabletas preferiblemente contienen de 5% a 70% del compuesto activo. Los portadores adecuados son carbonato de magnesio, 5 estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao y similares. El término "preparación" pretende incluir la formulación del compuesto activo con material encapsulante como un portador que proporciona una cápsula en la que el 10 componente activo con o sin otros portadores, es rodeado por un portador, que está en asociación con él. Similarmente, se incluyen los sellos y comprimidos. Se pueden usar tabletas, polvos, cápsulas, píldoras, sellos y comprimidos como formas de dosificación sólidas adecuadas para administración oral.

15 Para preparar supositorios, una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácido graso o manteca de cacao, primero se funde y el componente activo se dispersa homogéneamente en la misma, como por agitación. Después, la mezcla homogénea fundida se vacía en moldes dimensionados convenientemente, se deja enfriar y con ello solidificar.

20 Las preparaciones en forma líquida incluyen soluciones, suspensiones, y emulsiones, por ejemplo, soluciones de agua/propilenglicol. Para inyección parenteral, las preparaciones líquidas pueden ser formuladas en solución en una solución acuosa de polietilenglicol.

Cuando se requiere o desea la aplicación parenteral, las mezclas particularmente adecuadas para los compuestos de la invención son soluciones inyectables, estériles, preferiblemente soluciones oleosas o acuosas, así como suspensiones, emulsiones, o implantes, incluyendo 5 supositorios. En particular, los portadores para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de dextrosa, salina, agua pura, etanol, glicerol, propilenglicol, aceite de cacahuate, aceite de sésamo, polímeros de bloque de polioxietileno y similares. Las ampollas son unidades de dosificación convenientes. Los compuestos de la invención pueden también ser 10 incorporados en liposomas o administrados mediante bombas transdérmicas o parches. Las mezclas farmacéuticas adecuadas para uso en la invención presente incluyen esas descritas, por ejemplo, en PHARMACEUTICAL SCIENCES (17ma Ed., Mack Pub. Co., Easton, PA) y WO 96/05309, y las enseñanzas de ambas están incorporadas aquí como referencia.

15 Las soluciones acuosas adecuadas para uso oral pueden prepararse al disolver el componente activo en agua y agregando colorantes adecuados, sabores, estabilizantes, y agentes espesantes, como se desee. Las suspensiones acuosas adecuadas para uso oral se pueden hacer dispersando el componente activo finamente dividido en agua con material 20 viscoso, como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y otros agentes de suspensión bien conocidos.

También se incluyen las preparaciones en forma sólida que pretenden convertirse, poco antes de su uso, en preparaciones en forma

líquida para administración oral. Tales formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, además del componente activo, colorantes, sabores, estabilizadores, reguladores de pH, edulcorantes artificiales o naturales, dispersantes, espesantes, agentes
5 solubilizadores y similares.

La preparación farmacéutica está preferiblemente en una forma de dosis unitaria. En tal forma la preparación se subdivide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación empaquetada, conteniendo el
10 paquete cantidades discretas de preparación, tales como tabletas, cápsulas, y polvos empaquetados en viales o ampollas. También, la forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula, tableta, sello, o comprimido en sí misma, o puede ser el número apropiado de cualquiera de éstas en forma empaquetada.

15 La cantidad de componente activo en una preparación de unidad de dosis puede variar o ajustarse de 0.1 mg a 10000 mg, más típicamente 1.0 mg a 1000 mg, más típicamente 10 mg a 500 mg, según la aplicación particular y la potencia del componente activo. La composición puede, si se desea, también contener otros agentes terapéuticos compatibles.

20 Algunos compuestos pueden tener solubilidad limitada en agua y por lo tanto pueden requerir un surfactante u otro co-solvente adecuado en la composición. Dichos co-solventes incluyen: Polisorbato 20, 60, y 80; Pluronic F-68, F-84, y P-103; ciclodextrina; y polioxi 35 aceite de ricino. Dichos co-

solventes son típicamente empleados a un nivel entre aproximadamente 0.01% y aproximadamente 2% en peso.

Puede ser deseable una viscosidad mayor que esa de las soluciones acuosas simples para disminuir la variabilidad en el surtido de las formulaciones, para disminuir la separación física de los componentes de una suspensión o emulsión de formulación, y/o de lo contrario para mejorar la formulación. Dichos agentes formadores de viscosidad incluyen, por ejemplo, alcohol polivinílico, polivinil pirrolidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietil celulosa, carboximetil celulosa, hidroxipropilcelulosa, sulfato de condroitina y sales de los mismos, ácido hialurónico y sales del mismo, y combinaciones de los anteriores. Dichos agentes son típicamente empleados a un nivel entre aproximadamente 0.01% y aproximadamente 2% en peso.

Las composiciones de la invención presente pueden incluir además componentes para proporcionar liberación sostenida y/o confort. Dichos componentes incluyen peso molecular alto, polímeros mucomiméticos aniónicos, polisacáridos gelificantes, y sustratos portadores de fármaco finamente divididos. Estos componentes son discutidos en más detalle en las Pat. de EE.UU. Nos. 4,911,920; 5,403,841; 5,212,162; y 4,861,760. El contenido completo de estas patentes está incorporado aquí como referencia en su totalidad para todos los propósitos.

B. Dosis efectivas

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la invención presente incluyen composiciones en donde el ingrediente activo está contenido en una cantidad terapéuticamente efectiva, es decir, en una cantidad efectiva para lograr su propósito destinado. La cantidad efectiva real para una aplicación particular dependerá, entre otras cosas, de la condición que se esté tratando. Por ejemplo, cuando se administra en métodos para tratar una enfermedad o trastorno metabólico, tales composiciones contendrán una cantidad de ingrediente activo efectiva para lograr el resultado deseado (por ejemplo alivio de los síntomas de la enfermedad o trastorno metabólico).

La frecuencia de la dosis (dosis sencilla o múltiple) del compuesto administrado puede variar dependiendo de una variedad de factores, incluyendo la ruta de administración; tamaño, edad, sexo, salud, peso corporal, índice de masa corporal, y dieta del recipiente; naturaleza y grado de los síntomas de la enfermedad que se trata; presencia de otras enfermedades u otros problemas de salud relacionados; tipo de tratamiento concurrente; y complicaciones de cualquier régimen de enfermedad o tratamiento. Otros regímenes terapéuticos o agentes se pueden usar en conjunción con los métodos y compuestos de la invención.

Para cualquier compuesto descrito en la presente, la cantidad terapéuticamente efectiva puede ser determinada inicialmente de una variedad de ensayos, incluyendo pero no limitado a ensayos de cultivo celular y ensayos de ingesta de alimento. Las concentraciones objetivo serán esas

concentraciones de compuesto(s) activos que son capaces de producir una respuesta biológica en un ensayo de cultivo celular, o producir una respuesta en la ingesta de alimento.

Cantidades terapéuticamente efectivas para uso en humanos
5 pueden determinarse de modelos animales. Por ejemplo, una dosis para humanos puede ser formulada para alcanzar una concentración que ha sido hallada efectiva en animales. La dosis en humanos puede ser ajustada al vigilar la enfermedad o trastorno metabólico subyacente y ajustando la dosis hacia arriba o hacia abajo, como se sabe en la técnica y/o como se describe
10 en la presente.

Las dosis pueden variar dependiendo de los requerimientos del paciente y el compuesto que se emplea. La dosis administrada a un paciente, en el contexto de la presente invención, debe ser suficiente para efectuar una respuesta terapéutica benéfica en el paciente con el paso del tiempo. El
15 tamaño de la dosis también será determinado por la existencia, naturaleza y extensión de cualquier efecto secundario adverso. Generalmente, el tratamiento es iniciado con dosificaciones más pequeñas, que son menores que la dosis óptima del compuesto. Posteriormente, la dosificación es incrementada en incrementos pequeños hasta que se alcanza el efecto óptimo
20 bajo las circunstancias. En una modalidad de la invención, el intervalo de dosificación es de 0.001% a 10% p/v. En otra modalidad, el intervalo de dosificación es de 0.1% a 5% p/v.

Las cantidades e intervalos de la dosis pueden ajustarse para

proporcionar niveles del compuesto administrado efectivas para la indicación clínica particular que es tratada. Esto proporcionará un régimen terapéutico que es conmensurado con la severidad del estado de la enfermedad del individuo.

- 5 Utilizando las enseñanzas proporcionadas en la presente, puede planearse un régimen de tratamiento profiláctico o terapéutico efectivo que no cause toxicidad sustancial y que sea enteramente efectivo para tratar los síntomas clínicos demostrados por el paciente particular. Esta planeación debe involucrar la elección cuidadosa del compuesto activo considerando
- 10 factores como la potencia del compuesto, biodisponibilidad relativa, peso corporal del paciente, presencia y severidad de efectos secundarios adversos, modo preferido de administración y el perfil de toxicidad del agente seleccionado.

15 C. Toxicidad

- La proporción entre la toxicidad y el efecto terapéutico para un compuesto particular es su índice terapéutico y puede expresarse como la proporción entre LD_{50} (la cantidad de compuesto letal en 50% de la población) y ED_{50} (la cantidad de compuesto efectiva en 50% de la población). Se
- 20 prefieren los compuestos que exhiben índices terapéuticos altos. Los datos de índice terapéutico a partir de ensayos de cultivo celular y/o estudios animales pueden ser usados en la formulación de un intervalo de dosificaciones para usarse en humanos. La dosificación de dichos compuestos preferiblemente

yace dentro de un intervalo de concentraciones de plasma que incluye la ED_{50} con poca o nula toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la ruta de administración utilizada. Veá, por ejemplo Fingl *et al.*, *In: THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS*, Ch.1, p.1, 1975. La formulación exacta, ruta de administración, y dosificación pueden ser elegidas por el médico individual en vista de la condición del paciente y el método particular en el que el compuesto es usado.

10

VII. EJEMPLOS

EJEMPLO 1

Preparación de compuestos

15

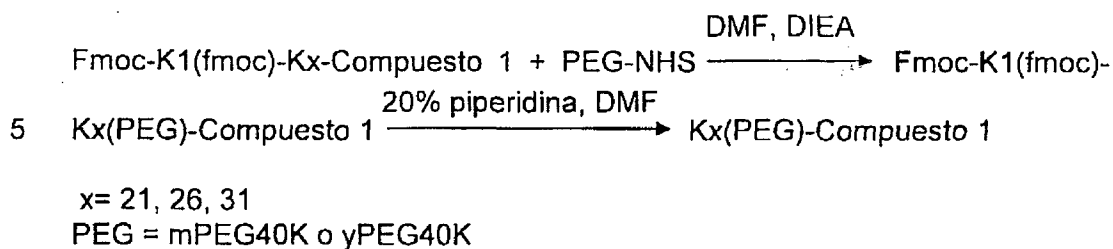
Los compuestos de la invención fueron sintetizados por varios métodos.

20

a) Por ejemplo, el Compuesto 19 se preparó tratando mPEG40K-aldehído con el N-terminal del Compuesto 1 en una reacción de alquilación reductiva para generar específicamente el Compuesto 1 pegilado en N-terminal.

b) En otro ejemplo, el Compuesto 20 se preparó al reaccionar el grupo amino N-terminal del Compuesto 2 con un mPEG40K-NHS (n-hidroxisuccinimida éster).

c) En otro ejemplo, los Compuestos 21, 23, 25, y 27 se prepararon como sigue:



Los análogos del Compuesto 1 con lisina 1 protegida con Fmoc y
 10 una lisina mutada en las posiciones 21, 26 y 31 se trataron con mPEG40K-NHS en DMF con DIEA. El péptido pegilado resultante fue desprotegido por piperidina para dar péptido libre pegilado.

d) En otro ejemplo, los Compuestos 26, 22, y 24 se prepararon por pegilación selectiva en una cadena secundaria de lisina. Los
 15 análogos del Compuesto 2 con una lisina mutada en las posiciones 21, 24-29 y 31 se trataron con mPEG40K-NHS en DMF con DIEA. El producto crudo fue purificado y fue analizado para la regio-especificidad.

EJEMPLO 2

20

Actividad de unión al receptor

Métodos

El ensayo de unión a amilina se realizó en membranas preparadas de la porción del núcleo *accumbens* del cerebro (rata), probando

compuestos de péptido en dilución serial de prueba descritos en la presente.

Primero, los péptidos se solvataron en agua destilada estéril a concentración de 200 μ M (donde el peso del péptido es aprox. 80%). Luego los péptidos son diluidos a una concentración de inicio de 2X a 10^{-6} M con 1X
5 búfer (20mM HEPES, 5mM $MgCl_2$, 1mM $CaCl_2$, 0.5% BSA) y diluidos serialmente con búfer usando un robot Perkin Elmer Multi-Probe II. Las membranas preparadas se diluyeron a (16 veces) o a 32.5 μ g/pozo y se combinaron con 1X búfer o diluciones seriales con los controles o compuestos de péptido y ^{125} I- rAmilina, respectivamente (Perkin Elmer Life Science, ID #I-
10 3248). La placa fue incubada durante 1 hora a temperatura ambiente en un sacudidor. La placa se secó por 1.5 horas a 50°C, luego durante la noche a temperatura ambiente. Se agregó centelleante (Microscint 20, Perkin Elmer Cat#6013621) y se determinó el CPM leyendo en un contador de centelleo de multipozo Perkin Elmer/Wallac TriLux capaz de leer yodo radiomarcado.

15 La actividad de unión al receptor puede expresarse, por ejemplo en el Cuadro 3, como un valor IC_{50} , calculado de datos en bruto usando un programa iterativo de ajuste de curva usando una ecuación de logística de 4 parámetros (PRISM®, GraphPAD Software, La Jolla, CA), como se sabe en la técnica.

20

Resultados

Como se muestra en el Cuadro 3 siguiente, los compuestos pegilados de la invención demuestran actividad de unión nanomolar en el

receptor de amilina.

CUADRO 3

Ensayo de unión al receptor

5

10

15

Compuesto	Unión de amilina IC50 (nM)
1	0.10
2	0.42
19	40
20	78
21	104
23	66
25	86
27	470
26	75
22	112
24	54
28	131
29	39
30	61
31	132
32	79
33	31
34	51
35	53
36	27

Se realizó un segundo ensayo de unión al receptor de amilina para medir la potencia de los compuestos de prueba, por ejemplo, los polipéptidos descritos en la presente, en desplazar ¹²⁵I-amilina (rata) del receptor de amilina humana 3 (AMY3) ectópicamente expresada en una línea celular, por ejemplo, una línea celular Codex ACTOne™. Esta línea celular se generó usando la línea celular ACTOne™ HEK293-CNG-hCalcR (CB-80200-

258) que expresa establemente RAMP3 humano (base de datos de proteína NCBI CAA04474) para producir el receptor de AMY3 humano.

Las membranas crudas de los cultivos celulares de AMY3 se prepararon por homogeneización en 20 mM HEPES enfriado en hielo que
5 contenía inhibidores de proteasa (Roche Cat#11873580001). Las membranas crudas fueron incubadas con 20 pM ^{125}I -amilina (Perkin Elmer Cat#NEX4480) (2000 Ci/mmoles) y concentración incremental de péptido de prueba. La incubación se realizó en 20 mM HEPES con 5 mM MgCl_2 y 1 mM CaCl_2 por 60 minutos a temperatura ambiente en placas de poliestireno de 96 pozos
10 (Costar Cat#3797). Las incubaciones se terminaron por filtración rápida a través de UniFilter® de 96 placas GF/B (Perkin Elmer, Cat#6005199), pre-remojado por al menos 30 minutos en 0.5% polietilenimina. Las placas Unifilter® se lavaron varias veces usando PBS enfriado en hielo usando un Cosechador de Células MicroMate 96 (Perkin Elmer). Las placas sin filtrar se
15 secaron, se agregó centelleante (Microscint 20, Perkin Elmer Cat#6013621) y se determinó el CPM leyendo en un contador de centelleo Perkin Elmer/Wallac TriLux de multipozo capaz de leer el yodo radiomarcado.

La potencia (IC_{50}) del péptido de prueba se determinó por el análisis de una curva de concentración-respuesta usando análisis de
20 regresión no lineal ajustado a una curva de 4 parámetros. Las afinidades de unión se calcularon usando el software GraphPad Prism® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Los resultados se muestran en el Cuadro 4 siguiente.

Resultados

Como se muestra en el Cuadro 4 siguiente, los compuestos pegilados de la invención demuestran actividad de unión nanomolar en el receptor AMY3.

5

CUADRO 4

Ensayo de unión al receptor

10

Compuesto	Unión de amilina IC50 (nM)
1	0.247
28	388
29	60
30	80
31	1132
32	111
33	48
34	87
35	46
36	47
40	238
41	77
42	143

15

EJEMPLO 3

Ensayo funcional de amilina

20

Método

Este ensayo se usa para medir aumentos en el cíclico-AMP (cAMP) en la línea celular Codex ACTOne™ vía la activación inducida por

péptido del receptor sobreexpresado humano de Amilina 3 (hAMY3, Gs acoplado). La acumulación de cAMP se midió después de 30 tratamientos de péptido usando el kit de ensayo de cAMP basado en célula HTRF (CisBio) en formato de 384 pozos. La eficacia de los péptidos fue determinada con respecto a un tratamiento de célula con 10uM forskolin (un activador constituyente de la adenilato ciclasa), y la potencia (EC₅₀) de los péptidos se determinó por el análisis de la curva de concentración-respuesta usando análisis de regresión no lineal ajustado a un modelo de 4 parámetros.

10 Resultados

Como se muestra en el Cuadro 5 abajo, los compuestos pegilados de la invención demuestran actividad funcional subnanomolar a nanomolar en el receptor AMY3.

15 CUADRO 5

Ensayo funcional de amilina

20

Compuesto	EC50 (nM)
1	0.005
28	2.577
29	0.114
30	0.145
31	2.560
32	0.598
33	0.126
34	0.296
35	0.295
36	0.159
40	0.85
41	0.034
42	0.122

EJEMPLO 4**Efecto de la pegilación en la ingesta de alimento: Cmps21, 25, 24, 22, 26**

Ratas magras recibieron una inyección subcutánea (SC) una vez
5 por semana de compuesto de prueba o vehículo. Las figuras 1A-1B
proporcionan el resultado de un ensayo de ingesta de alimento de multi-día.
Se investigó el efecto de la ingesta de alimento en 24 horas para los Cmps21,
25, 24, 22, y 26, utilizando vehículo como control. Los resultados de las
figuras 1A-1B demuestran que cada uno de los compuestos probados fue
10 eficaz en reducir el peso corporal y la ingesta de alimento durante tres días.
En el caso de algunos de los compuestos, la pérdida de peso fue todavía
evidente aún después de una semana.

EJEMPLO 5**Efecto de la pegilación en la ingesta de alimento: Cmps 26, 23**

Se investigó el efecto en la pérdida de peso, como se juzgó con
inyección SC, de una dosis dos veces por semana o una dosis una vez por
semana del Cmp 26. Cuando se dosificó dos veces por semana a 125
20 nmoles/kg en una rata DIO ("obesa inducida por dieta"), el Cmpd 26 tuvo
eficacia similar como una infusión continua de 12.5 nmoles/kg/d de Cmpd 1
(Fig. 2A). El Cmp 23 dosificado una vez a la semana a 125 nmoles/kg no fue
tan eficaz como el Cmp 1 infundido cuando se dio a ratas DIO por cuatro

semanas, pero mostró una disminución consistente del peso corporal (Fig. 2B). El Cmp 23 también redujo el peso corporal y la ingesta de alimento en un modo dependiente de dosis en ratas magras, como se mostrado en las figuras 3A-3B.

5

EJEMPLO 6

Efecto de la pegilación en la ingesta de alimento: Cmps 19, 23, 27

Se investigó el efecto en la ingesta de alimento de 24 horas, como se juzga por inyección SC, de una sola dosis de un compuesto que tiene ya sea un PEG y-ramificado (Cmp27) o un PEG N-terminal (Cmp 19). Como se muestra en la figura 4A, tres dosis del compuesto pegilado N-terminal, Cmp 19, no fueron tan eficaces como el vehículo en reducir el peso corporal en ratas DIO. El compuesto pegilado y-ramificado, Cmp 27, no fue tan eficiente como la versión pegilada lineal, Cmp 23, en reducir peso corporal en ratas magras, como se muestra en la figura 4B.

15

EJEMPLO 7

Efecto de la pegilación en la ingesta de alimento: Cmps 26, 28, 29, 30, 31

20

Se investigó el efecto de la ingesta de alimento en 24 horas, como se juzga con inyección SC, para los Cmps 26, 28, 29 y 30. Como se muestra en las figuras 5A-5B, cada uno de los compuestos pegilados de

prueba 28, 29, y 30 fueron al menos tan eficaces como el Cmpd 26 en la reducción de peso corporal e ingesta de alimentos en ratas magras. El compuesto pegilado y-ramificado, Cmpd 31, no fue tan eficaz como la versión pegilada lineal, Cmpd 29, en la reducción de peso corporal e ingesta de
5 alimento en ratas magras, como se muestra en las figuras 6A-6B. El Cmp 29 también mostró una eficacia dependiente de la dosis, como se demuestra en las figuras 6A-6B.

EJEMPLO 8

10 Efecto de la pegilación en la ingesta de alimento: Cmps 29, 32, 33, 34, 35
y 36

Se investigó el efecto acumulativo en la reducción de ingesta de alimento y peso corporal, como se juzga con inyección SC, para los Cmps 29,
15 32, 33, 34, 35 y 36. Como se muestra en las figuras 7A-7B, cada uno de los compuestos pegilados probados fue eficaz en la reducción de peso corporal e ingesta de alimento en ratas magras a 125 nmoles/kg. En el caso de la mayor parte de los compuestos, la pérdida de peso corporal fue todavía evidente aún después de una semana.

EJEMPLO 9**Efecto de la pegilación en la ingesta de alimento: Cmps 41 y 42**

Se investigó el efecto acumulativo de la reducción de peso corporal e ingesta de alimento, como se juzga con inyección SC, para los Cmps 41 y 42. Como se muestra en las figuras 8A-8B, cada uno de los compuestos pegilados probados fue eficaz en la reducción de peso corporal e ingesta de alimento en ratas magras a 125 nmoles/kg.

En resumen, los datos de ingesta de alimento asentados en los Ejemplos 4-9 proporcionan observaciones valiosas con respecto a la eficiencia y el efecto en la duración de la acción de la pegilación del elemento de polipéptido en los compuestos probados. Específicamente, los derivados de PEG 40KD de los componentes de polipéptido exhibieron un tiempo extendido de curso de la acción en comparación con el péptido no pegilado. La unión del PEG en las posiciones 21, 26 ó 31 aumentaron ambas la duración de la acción y la magnitud de la respuesta de ingesta de alimento. Los compuestos lineales de PEG demuestran eficacia más grande en el ensayo de ingesta de alimento en comparación a los compuestos ramificados de PEG.

NOVEDAD DE LA INVENCION**REIVINDICACIONES**

- 5 1.- Un conjugado de polipéptido que comprende un componente de polipéptido enlazado covalentemente a una porción que aumenta la duración, en donde el componente de polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos de residuos 1 a 37 de la Fórmula (I): X'-Xaa¹-Cys²-Asn³-Thr⁴-Ala⁵-Thr⁶-Cys⁷-Ala⁸-Thr⁹-Gln¹⁰-Arg¹¹-Leu¹²-Ala¹³-Asn¹⁴-Phe¹⁵-Leu¹⁶-Val¹⁷-
- 10 Xaa¹⁸-Ser¹⁹-Ser²⁰-Xaa²¹-Asn²²-Phe²³-Xaa²⁴-Xaa²⁵-Xaa²⁶-Xaa²⁷-Xaa²⁸-Xaa²⁹-Thr³⁰-Xaa³¹-Val³²-Gly³³-Xaa³⁴-Xaa³⁵-Thr³⁶-Tyr³⁷-X (SEQ ID NO: 4) (I) en donde hasta 25% de los aminoácidos establecidos en la Fórmula (I) pueden ser eliminados o sustituidos con un aminoácido diferente; en donde X' es hidrógeno, un grupo tapón de N-terminal, un enlace a una porción que
- 15 aumenta la duración, o un enlazador a una porción que aumenta la duración; Xaa¹ es Lys o un enlace; Xaa¹⁸ es Lys, Cys, o His, Xaa²¹ es Lys, Cys, o Asn; Xaa²⁴ es Lys, Cys, o Gly; Xaa²⁵ es Lys, Cys, o Pro; Xaa²⁶ es Lys, Cys, o Ile; Xaa²⁷ es Lys, Cys, o Leu; Xaa²⁸ es Lys, Cys, o Pro; Xaa²⁹ es Lys, Cys, o Pro; Xaa³¹ es Lys, Cys, o Asn; Xaa³⁴ es Lys, Cys, o Ser; y Xaa³⁵ es Lys, Cys, o
- 20 Asn, X es amino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, cicloalquilamino sustituido o no sustituido, arilamino sustituido o no sustituido, aralquiloamino sustituido o no sustituido, alquiloxi sustituido o no sustituido, ariloxi sustituido o no

sustituido, aralquiloxi sustituido o no sustituido, hidroxilo, un enlace a una porción que aumenta la duración, o un enlazador a una porción que aumenta la duración; en donde la porción que aumenta la duración está enlazada covalentemente, opcionalmente a través de un enlazador, a una cadena
5 secundaria de un residuo de aminoácido enlazante, X' o X.

2.- El conjugado de polipéptido de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado además porque la porción que aumenta la duración es un polietilenglicol o un derivado del mismo.

3.- El conjugado de polipéptido de conformidad con cualquiera
10 de las reivindicaciones 1 a 2, caracterizado además porque el residuo de aminoácido enlazador es cisteína o lisina.

4.- El conjugado de polipéptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado además porque el polietilenglicol es del tipo lineal, ramificado o de peine.

15 5.- El conjugado de polipéptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado además porque el conjugado de polipéptido comprende una porción que aumenta la duración.

6.- El conjugado de polipéptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado además porque la porción que
20 aumenta la duración está unida al residuo de aminoácido N-terminal del polipéptido.

7.- El conjugado de polipéptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado además porque la porción que

aumenta la duración está unida al residuo de aminoácido C-terminal del polipéptido.

8.- El conjugado de polipéptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado además porque la porción que
5 aumenta la duración está unida a la cadena secundaria del aminoácido en la posición 11, 18, 24 a 29, 31, 34, ó 35.

9.- Una composición farmacéutica que comprende un conjugado de polipéptido de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 10.- El uso de una composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 9, en la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto.

11.- El uso como el que se reclama en la reivindicación 10, en donde la enfermedad o trastorno es un trastorno de la alimentación,
15 resistencia a insulina, obesidad, sobrepeso, hiperglucemia anormal después de las comidas, diabetes Tipo I, diabetes Tipo II, diabetes gestacional, síndrome metabólico, síndrome de Dumping, hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, hiperlipidemia, apnea de sueño, cáncer, hipertensión pulmonar, colecistitis, osteoartritis o síndrome de intestino corto.

20 12.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 9, para usarse en el tratamiento de una enfermedad o trastorno en un sujeto.

13.- La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 12, caracterizada además porque la enfermedad o trastorno es un trastorno de la alimentación, resistencia a insulina, obesidad, sobrepeso, hiperglucemia anormal después de las comidas, diabetes Tipo I, diabetes Tipo 5 II, diabetes gestacional, síndrome metabólico, síndrome de Dumping, hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, hiperlipidemia, apnea de sueño, cáncer, hipertensión pulmonar, colecistitis, osteoartritis o síndrome de intestino corto.

RESUMEN DE LA INVENCION

Se proporcionan conjugados de polipéptido que tienen un aumento en la duración de la actividad biológica, y los métodos de uso de los

5 mismos; los conjugados de polipéptido incluyen porciones que aumentan la duración, incluyendo polímeros solubles en agua, unidos a los componentes de polipéptido de secuencia definida; los métodos de uso son proporcionados para el tratamiento de trastornos metabólicos; los métodos de uso son proporcionados para el tratamiento de un trastorno de la alimentación,

10 resistencia de insulina, obesidad, sobrepeso, hiperglucemia anormal después de las comidas, diabetes tipo I y tipo II, diabetes gestacional, síndrome metabólico, síndrome de Dumping, hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, hiperlipidemia, apnea de sueño, cáncer, hipertensión pulmonar, colescistitis, la osteoartritis, o síndrome de intestino corto.

41B

P13/1507F

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Solicitante: AMYLIN PHARMACEUTICALS, INC.
ASTRAZENECA PHARMACEUTICAL LP

<120> Titulo de la invención: PÉPTIDOS DE AMILINA Y DERIVADOS Y USOS DE LOS MISMOS

<130> Número de referencia: 0123WO1

<140> Número de solicitud actual: PCT/US2012/039431

<141> Fecha de presentación actual: 2012-05-24

<150> Número de solicitud previa: 61/489,781

<151> Fecha de presentación de la solicitud previa: 2011-05-25

<160> Número de secuencias: 57

<170> Software: PatentIn versión 3.5

<210> SEQ ID NO: 1

<211> Longitud: 37

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Rattus sp.

<400> Secuencia: 1

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1 5 10 15

Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 2

<211> Longitud: 37

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Homo sapiens

<400> Secuencia: 2

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1 5 10 15

Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Ala Ile Leu Ser Ser Thr Asn Val
20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 3

<211> Longitud: 37
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<400> Secuencia: 3

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15

Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 4
 <211> Longitud: 37
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<223> Otra información: N-term es hidrógeno, un grupo tapón de N-terminal, un enlace a una porción que mejora la duración, o un enlazador a una porción que mejora la duración

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (1)..(1)
 <223> Otra información: Puede o no estar presente

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (18)..(18)
 <223> Otra información: Lys, Cys, o His

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (21)..(21)
 <223> Otra información: Lys, Cys, o Asn

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (24)..(24)
 <223> Otra información: Lys, Cys, o Gly

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (25)..(25)
 <223> Otra información: Lys, Cys, o Pro

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (26)..(26)
 <223> Otra información: Lys, Cys, o Ile

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (27)..(27)
 <223> Otra información: Lys, Cys, o Leu

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (28)..(29)
 <223> Otra información: Lys, Cys, o Pro

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (31)..(31)
 <223> Otra información: Lys, Cys, o Asn

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (34)..(34)
 <223> Otra información: Lys, Cys, o Ser

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (35)..(35)
 <223> Otra información: Lys, Cys, o Asn

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term amino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, cicloalquilamino sustituido o no sustituido, alilamino sustituido o no sustituido

<220> Característica:
 <223> Otra información: cont. de la sección anterior; aralquilamino sustituido
 o no sustituido, alquiloxi sustituido o no sustituido, ariloxi sustituido
 o no sustituido, aralquiloxi sustituido o no sustituido, hidroxilo, o un
 enlace o enlazador a una porción que mejora la duración

<400> Secuencia: 4
 Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Val Xaa Ser Ser Xaa Asn Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Val

20

25

30

Gly Xaa Xaa Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 5
<211> Longitud: 4
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> Secuencia: 5
Gly Gly Gly Gly
1

<210> SEQ ID NO: 6
<211> Longitud: 5
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> Secuencia: 6
Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> SEQ ID NO: 7
<211> Longitud: 8
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial 0123WO1

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> Secuencia: 7
Gly Gly Gly Lys Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> SEQ ID NO: 8
<211> Longitud: 8
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> Secuencia: 8
Gly Gly Gly Asn Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> SEQ ID NO: 9
<211> Longitud: 8
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> Secuencia: 9
Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> SEQ ID NO: 10
<211> Longitud: 5
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> Secuencia: 10
Gly Pro Asn Gly Gly
1 5

<210> SEQ ID NO: 11
<211> Longitud: 12
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220> Característica:
<221> Nombre/Clave: misc_caracteristica
<222> Ubicación: (1)..(12)
<223> Otra información: Esta secuencia puede abarcar las unidades de repetición "Gly Ser" 1, 2, 3, 4, 5, ó 6

<400> Secuencia: 11
Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5 10

<210> SEQ ID NO: 12
 <211> Longitud: 18
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: misc_caracteristica
 <222> Ubicación: (1)..(18)
 <223> Otra información: Esta secuencia puede abarcar las unidades de repetición "Gly Gly Ser" 1, 2, 3, 4, 5, ó 6

<400> Secuencia: 12
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Gly Ser

<210> SEQ ID NO: 13
 <211> Longitud: 24
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: misc_caracteristica
 <222> Ubicación: (1)..(24)
 <223> Otra información: Esta secuencia puede abarcar las unidades de repetición "Gly Gly Gly Ser" 1, 2, 3, 4, 5, ó 6

<400> Secuencia: 13
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20

<210> SEQ ID NO: 14
 <211> Longitud: 30
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: misc_caracteristica
 <222> Ubicación: (1)..(30)
 <223> Otra información: Esta secuencia puede abarcar las unidades de repetición "Gly Gly Gly Gly Ser" 1, 2, 3, 4, 5, o 6

<400> Secuencia: 14
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 20 25 30

<210> SEQ ID NO: 15
 <211> Longitud: 15
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Péptido sintético

<400> Secuencia: 15
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> SEQ ID NO: 16
 <211> Longitud: 37
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 16
 Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15

Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 17
<211> Longitud: 36
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 17
Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 18
<211> Longitud: 37
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 18
Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1 5 10 15

Val Arg Ser Ser Lys Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 19
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 19
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

Arg Ser Ser Lys Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 20
 <211> Longitud: 37
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 20
 Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
 1 5 10 15

Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 21
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 21

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 22

<211> Longitud: 37

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 22

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1 5 10 15

Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Lys Val
20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 23

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 23

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Lys Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 24

<211> Longitud: 37

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 24

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1 5 10 15

Val His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 25

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 25

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 26

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 26

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

His Ser Ser Lys Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 27

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 27

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val

1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 28
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 28
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Lys Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 29
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 29
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Lys Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly

20

25

30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 30
<211> Longitud: 36
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 30
Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Lys Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 31
<211> Longitud: 36
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 31
Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Lys Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr

35

<210> SEQ ID NO: 32
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial
 <220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 32
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Lys Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 33
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 33
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Lys Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 34

<211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 34
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

Lys Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 35
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 35
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Lys Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 36
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 36

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Lys Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 37

<211> Longitud: 37

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<223> Otra información: N-term mPEG40KD

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 37

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1 5 10 15

Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 38

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<223> Otra información: N-term mPEG40KD

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 38

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 39

<211> Longitud: 37

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES

<222> Ubicación: (21)..(21)

<223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 39

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1 5 10 15

Val Arg Ser Ser Lys Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Asn Val
20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 40

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES

<222> Ubicación: (20)..(20)

<223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 40

Cys	Asn	Thr	Ala	Thr	Cys	Ala	Thr	Gln	Arg	Leu	Ala	Asn	Phe	Leu	Val
1			5					10					15		

Arg	Ser	Ser	Lys	Asn	Leu	Gly	Pro	Val	Leu	Pro	Pro	Thr	Asn	Val	Gly
			20					25					30		

Ser	Asn	Thr	Tyr
			35

<210> SEQ ID NO: 41

<211> Longitud: 37

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES

<222> Ubicación: (26)..(26)

<223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 41

Lys	Cys	Asn	Thr	Ala	Thr	Cys	Ala	Thr	Gln	Arg	Leu	Ala	Asn	Phe	Leu
1			5					10					15		

Val	Arg	Ser	Ser	Asn	Asn	Leu	Gly	Pro	Lys	Leu	Pro	Pro	Thr	Asn	Val
				20				25					30		

Gly Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 42
<211> Longitud: 36
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
<221> Nombre/Clave: MOD_RES
<222> Ubicación: (25)..(25)
<223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:
<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 42
Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 43
<211> Longitud: 37
<212> Tipo: PRT
<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
<221> Nombre/Clave: MOD_RES
<222> Ubicación: (31)..(31)
<223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:
<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 43
Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1 5 10 15

Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Lys Val
 20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 44

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES

<222> Ubicación: (30)..(30)

<223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 44

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Val Leu Pro Pro Thr Lys Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 45

<211> Longitud: 37

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES

<222> Ubicación: (26)..(26)

<223> Otra información: Lys(Y-shaped-mPEG40KD)

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 45

Lys Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu
1 5 10 15

Val Arg Ser Ser Asn Asn Leu Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val
20 25 30

Gly Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 46

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES

<222> Ubicación: (20)..(20)

<223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 46

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

His Ser Ser Lys Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 47

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (25)..(25)
 <223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 47
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 48
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (30)..(30)
 <223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 48
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Lys Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 49
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES

<222> Ubicación: (25)..(25)

<223> Otra información: Lys(mPEG40KD en forma de Y)

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 49

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Lys Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 50

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES

<222> Ubicación: (23)..(23)

<223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 50

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Lys Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr

35

<210> SEQ ID NO: 51
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

 <220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (24)..(24)
 <223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 51
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Lys Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 52
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (26)..(26)
 <223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 52
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Lys Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 53
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (27)..(27)
 <223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 53
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Lys Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 54
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (28)..(28)
 <223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 54

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Lys Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 55

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Synthetic Polipéptido sintético

<220> Característica:

<221> Nombre/Clave: MOD_RES

<222> Ubicación: (17)..(17)

<223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:

<223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 55

Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
1 5 10 15

Lys Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
20 25 30

Ser Asn Thr Tyr
35

<210> SEQ ID NO: 56

<211> Longitud: 36

<212> Tipo: PRT

<213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:

<223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (33)..(33)
 <223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 56
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Lys Asn Thr Tyr
 35

<210> SEQ ID NO: 57
 <211> Longitud: 36
 <212> Tipo: PRT
 <213> Organismo: Secuencia Artificial

<220> Característica:
 <223> Otra información: Descripción de la Secuencia Artificial: Polipéptido sintético

<220> Característica:
 <221> Nombre/Clave: MOD_RES
 <222> Ubicación: (34)..(34)
 <223> Otra información: Lys(mPEG40KD)

<220> Característica:
 <223> Otra información: C-term NH2

<400> Secuencia: 57
 Cys Asn Thr Ala Thr Cys Ala Thr Gln Arg Leu Ala Asn Phe Leu Val
 1 5 10 15

His Ser Ser Asn Asn Phe Gly Pro Ile Leu Pro Pro Thr Asn Val Gly
 20 25 30

Ser Lys Thr Tyr
 35

FIG. 1A

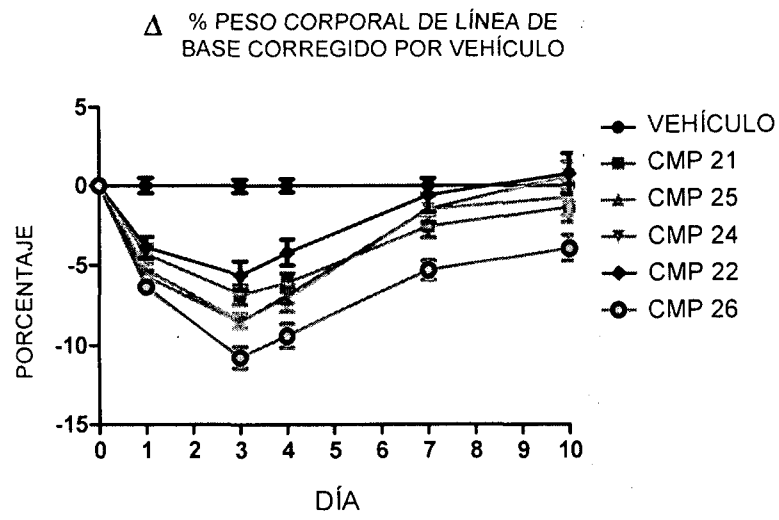


FIG. 1B

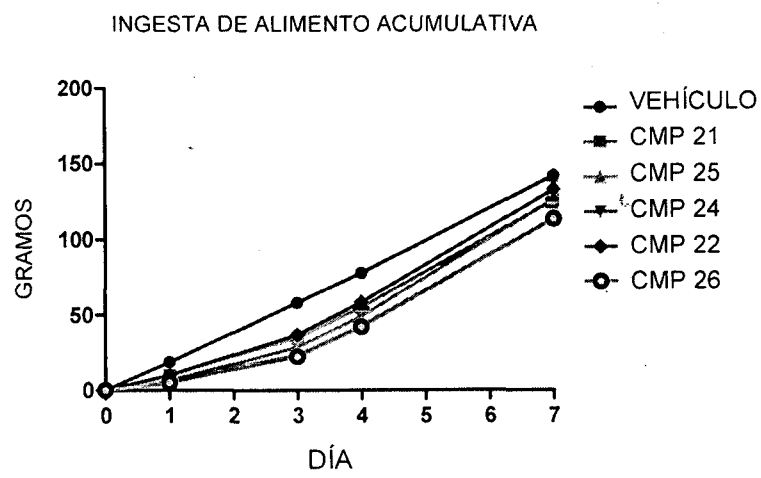


FIG. 2A

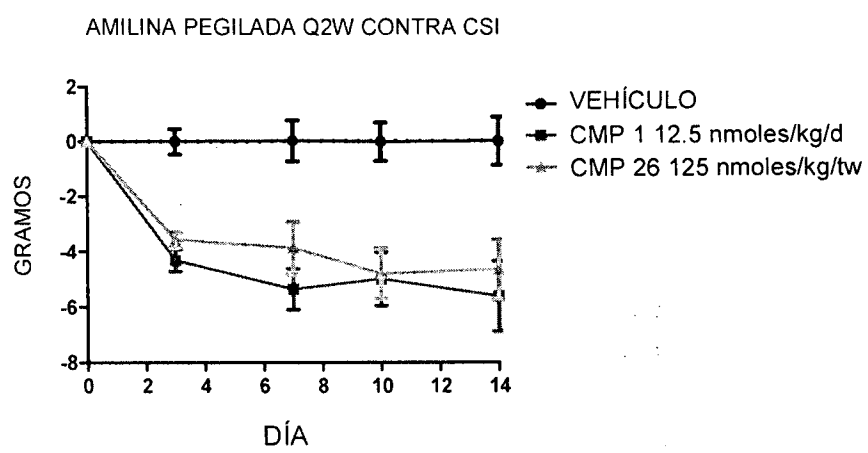


FIG. 2B

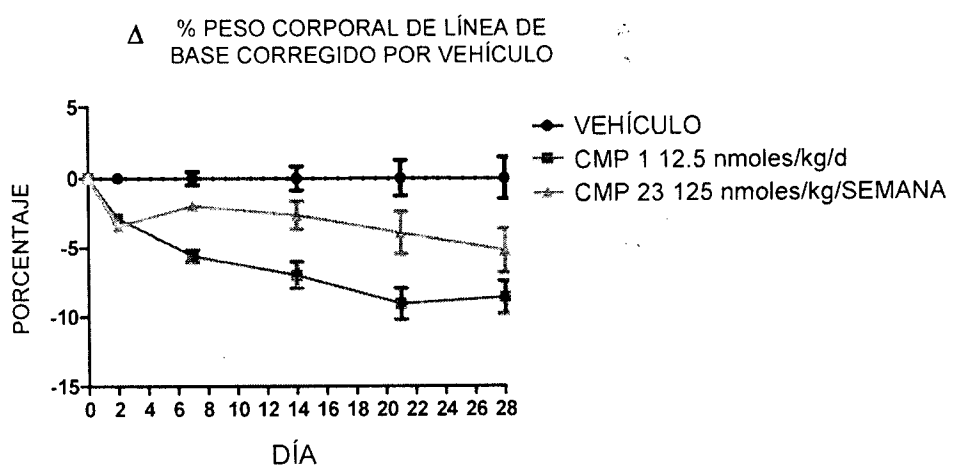


FIG. 3A

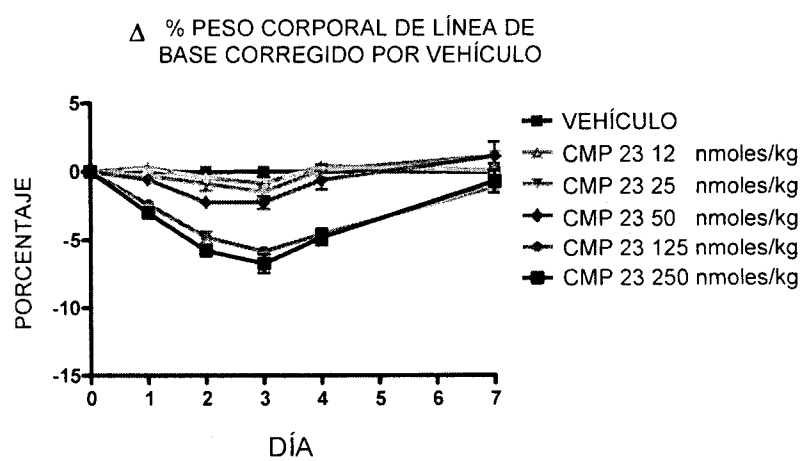


FIG. 3B

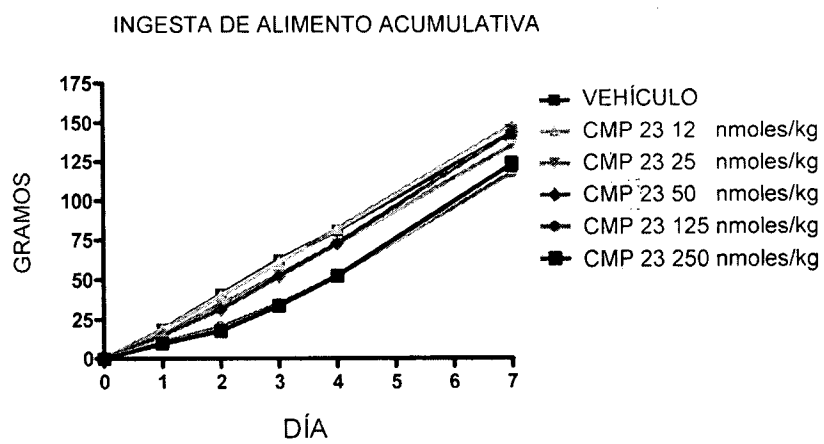


FIG. 4A

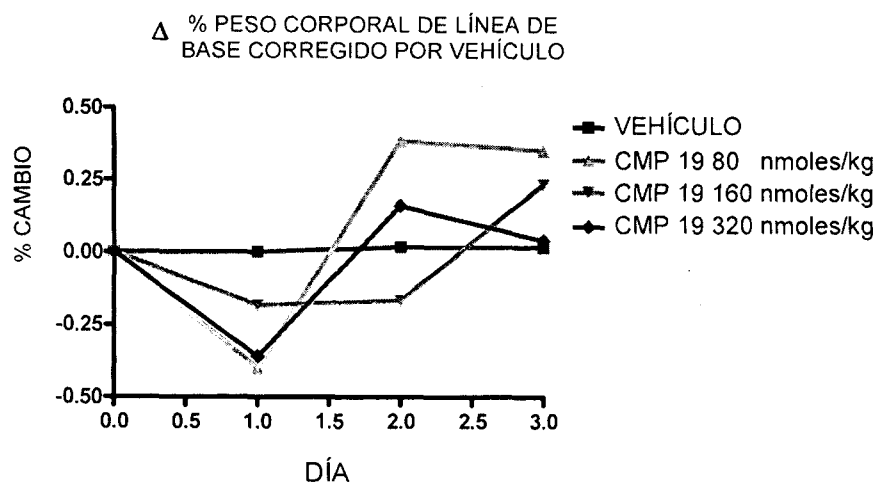


FIG. 4B

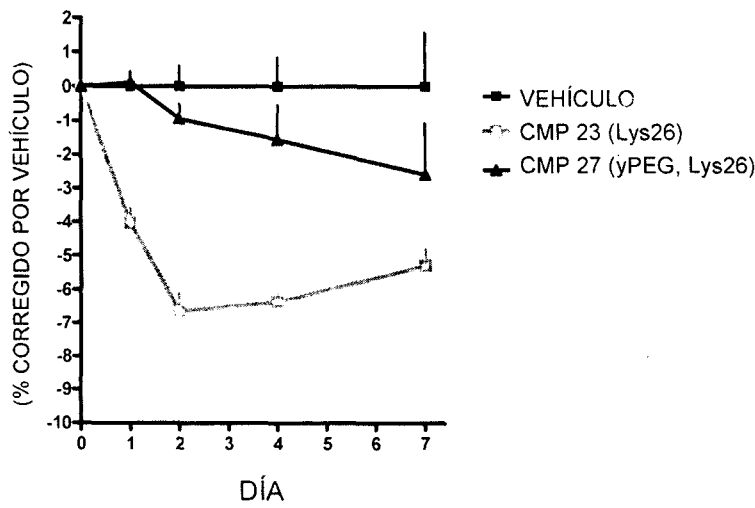


FIG. 5A

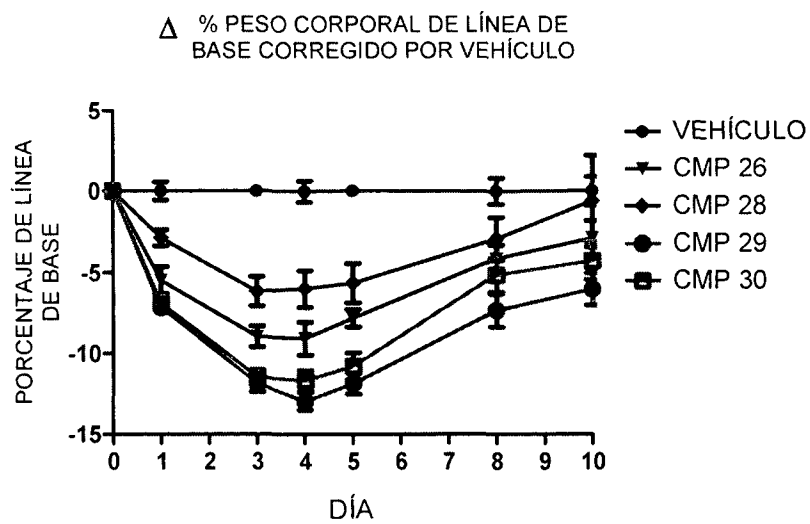


FIG. 5B

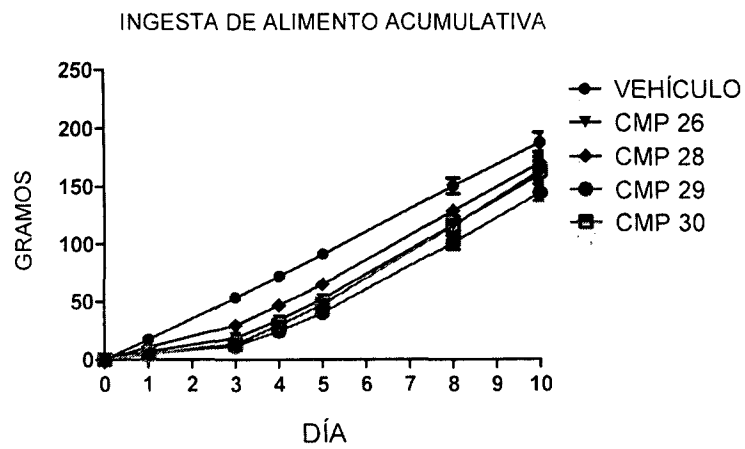


FIG. 6A

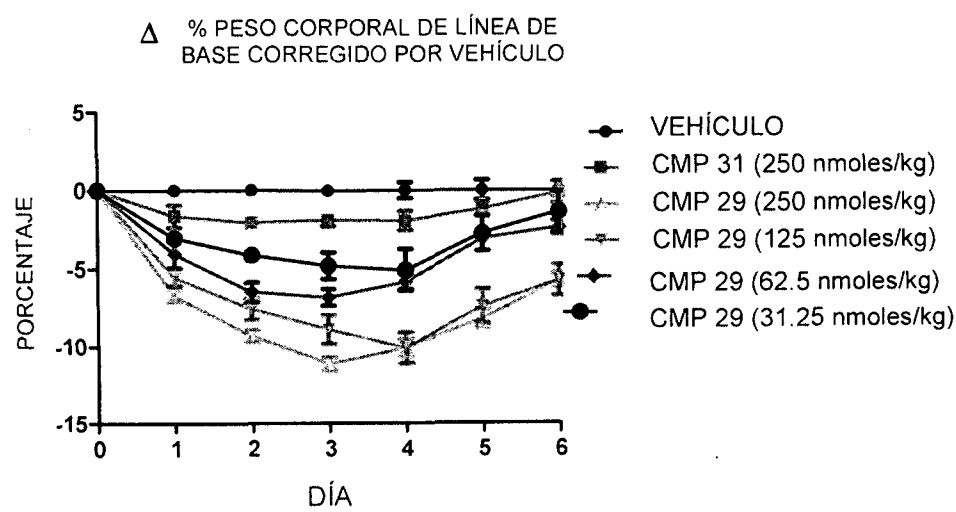


FIG. 6B

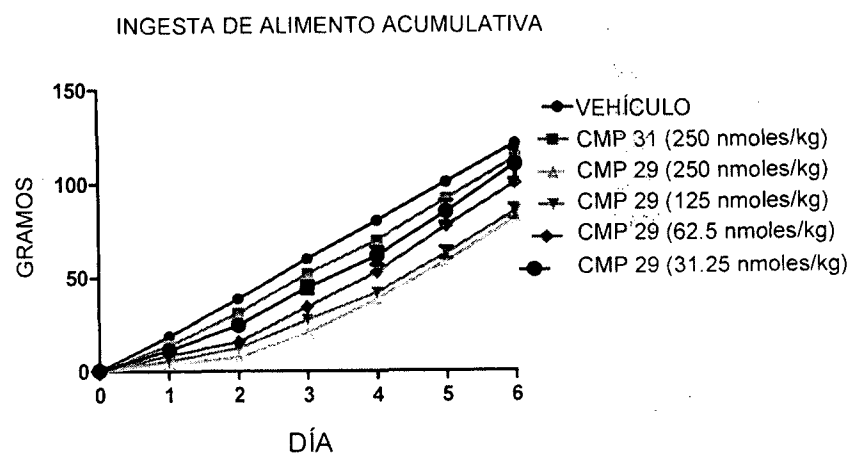


FIG. 7A

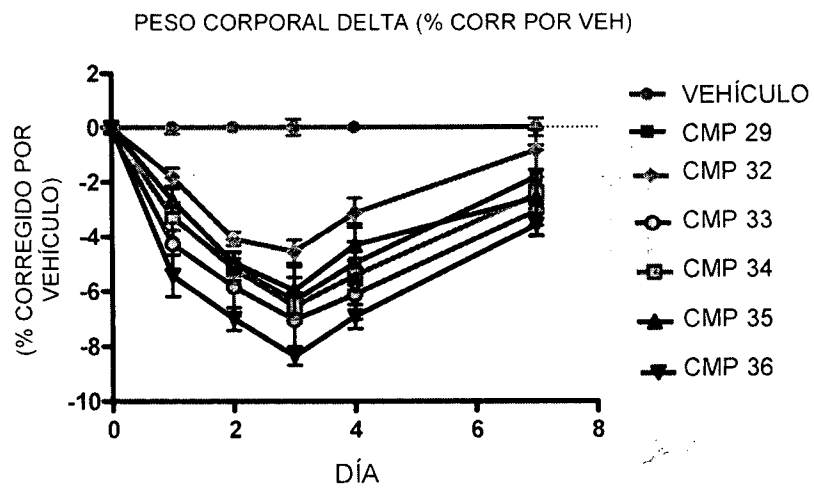


FIG. 7B

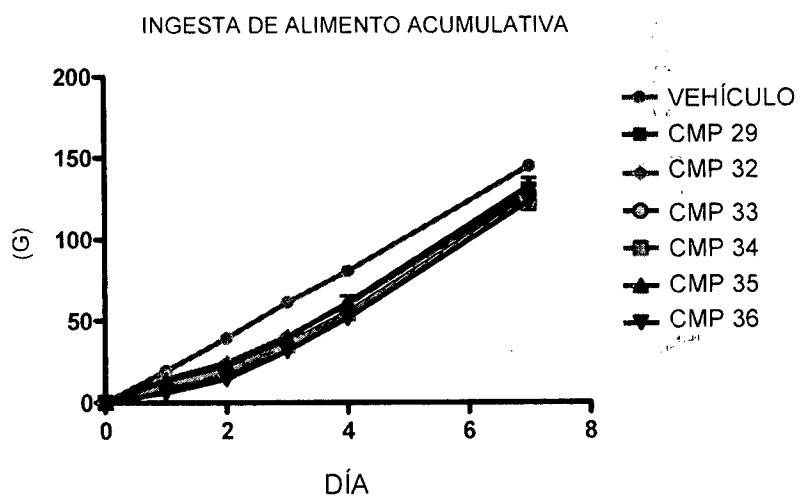


FIG. 8A

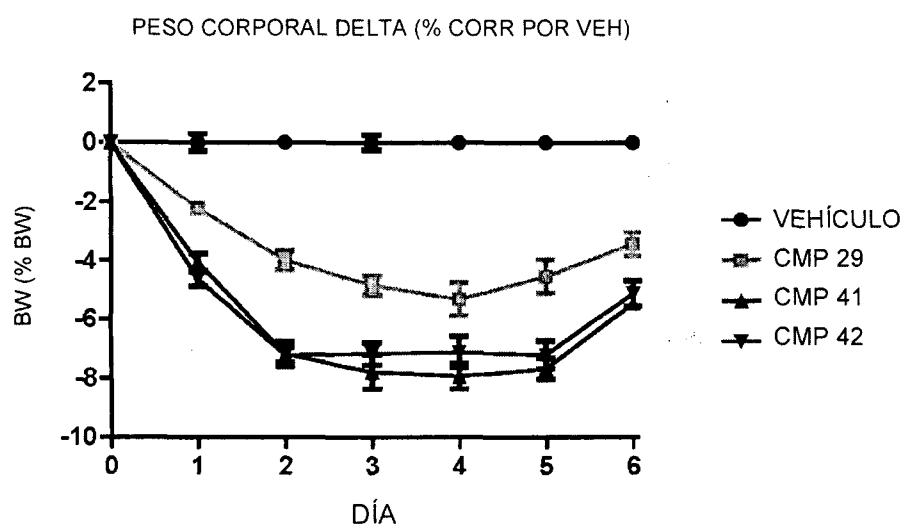
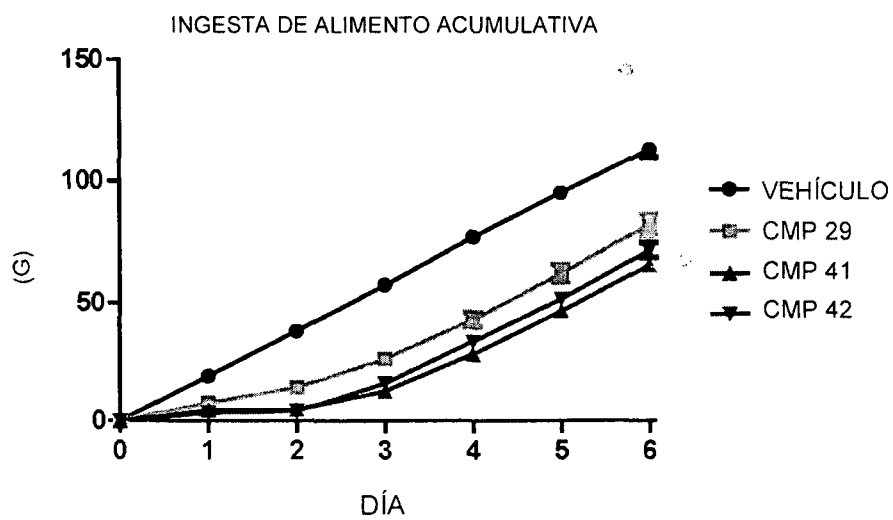


FIG. 8B



(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
29 November 2012 (29.11.2012)

WIPO | PCT

(10) International Publication Number
WO 2012/162542 A1

- (51) International Patent Classification:
A61K 38/17 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/US2012/039431
- (22) International Filing Date:
24 May 2012 (24.05.2012)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
61/489,781 25 May 2011 (25.05.2011) US
- (71) Applicant (*for all designated States except US*): AMYLIN
PHARMACEUTICALS, INC. [US/US]; 9360 Towne
Centre Drive, San Diego, California 92121 (US).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (*for US only*): SUN, Chengzao
[CN/US]; Amylin Pharmaceuticals, Inc., 9360 Towne
Centre Drive, San Diego, California 92121 (US).
SAMANT, Manoj P. [IN/US]; Amylin Pharmaceuticals,
Inc., 9360 Towne Centre Drive, San Diego, California
92121 (US). NERAVETLA, Swetha [IN/US]; Amylin
Pharmaceuticals, LLC, Intellectual Property Group, 9360
Towne Centre Drive, San Diego, California 92121 (US).
- (74) Common Representative: AMYLIN PHARMACEUT-
ICALS, INC.; Intellectual Property Group, 9360 Towne
Centre Drive, San Diego, California 92121 (US).
- (81) Designated States (*unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available*): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) Designated States (*unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available*): ARIPO (BW, GI,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a
patent (Rule 4.17(ii))*
- *as to the applicant's entitlement to claim the priority of the
earlier application (Rule 4.17(iii))*

Published:

- *with international search report (Art. 21(3))*
- *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

WO 2012/162542 A1

(54) Title: AMYLIN PEPTIDES AND DERIVATIVES AND USES THEREOF

(57) Abstract: There are provided polypeptide conjugates having enhanced duration of biological activity, and methods of use there-
of. The polypeptide conjugates include duration enhancing moieties, including water soluble polymers, bound to the polypeptide
components of defined sequence. Methods of use are provided for treatment of metabolic disorders. Methods of use are provided for
treatment of an eating disorder, insulin resistance, obesity, overweight, abnormal postprandial hyperglycemia, Type I diabetes, Type
II diabetes, gestational diabetes, metabolic syndrome, dumping syndrome, hypertension, dyslipidemia, cardiovascular disease, hyper-
lipidemia, sleep apnea, cancer, pulmonary hypertension, cholecystitis, osteoarthritis, or short bowel syndrome.

Clarke, Modet & C^o

COLOMBIA

Carrera 11 N° 86-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 · Fax: (57 1) 6350824 Email: info@clarkemodet.com.co

PODER

POWER OF ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

I (we), the undersigned

A00123-CO-PCT

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de

legal representative(s) of

AMYLIN PHARMACEUTICALS, LLC

AMYLIN PHARMACEUTICALS, LLC

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de

an organization existing under the laws of

Y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en 9360 Towne Centre Drive San Diego, California 92121, Estados Unidos de América

And in present execution of its business activity, domiciled at 9360 Towne Centre Drive San Diego, California 92121, United States of America

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de SILVANA MARIA LÓPEZ DÍAZ, con Cédula de Ciudadanía No. 22.468.787 de Barranquilla, y tp. 147463 y/o CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO, con Cédula de Ciudadanía No. 66.783.790 de Palmira Valle, y tp. 141563 con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos: PCT/US2012/039431

do hereby grant POWER OF ATTORNEY to SILVANA MARIA LÓPEZ DÍAZ, identification card No. 22.468.787 of Barranquilla, and tp. 147463 and/or CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO, identification card No. 66.783.790 of Palmira Valle, and tp. 141563 residing in Bogotá Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following: PCT/US2012/039431

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñanzas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
- 5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
- 6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
- 7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
- 8) Así mismo faculta (facultamos) a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related objet and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.

Dado y firmado en

Granted and signed at

a los días de

on this 21 day of November of 2013


Firma / signature

Barry H. Jacobsen, Assistant General Counsel

PCT/US2012/039431 01.10.2013

Copy for (RO-US) 37
PATENT COOPERATION TREATY

PCT/US2012/039431

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

PINO, Mark J.
Womble Carlyle Sandridge & Rice, LLP
1200 19th Street, NW
Suite 500
Washington, D.C. 20036
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 01 October 2013 (01.10.2013)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference A68761 1590WO	
International application No. PCT/US2012/039431	International filing date (day/month/year) 24 May 2012 (24.05.2012)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative		
Name and Address AMYLIN PHARMACEUTICALS, INC. 9360 Towne Centre Drive San Diego, California 92121 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No. 858-552-2200	
	Facsimile No. 858-552-1936	
	E-mail address patents@amylin.com	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence		
Name and Address AMYLIN PHARMACEUTICALS, LLC 9360 Towne Centre Drive San Diego, California 92121 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No. 858-552-2200	
	Facsimile No. 858-552-1936	
	E-mail address patents@amylin.com ☒ Notifications by e-mail authorized	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office ☒ the International Preliminary Examining Authority ☐ the International Searching Authority ☒ the designated Offices concerned ☐ the Authority(ies) specified for supplementary search ☐ the elected Offices concerned ☐ other:		

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 89 75	Authorized officer Schraner Franziska e-mail pt05.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 05
---	--

153

PATENT COOPERATION TREATY

ADVANCE E-MAIL

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

AMYLIN PHARMACEUTICALS, INC.
Intellectual Property Group
9360 Towne Centre Drive
San Diego, California 92121
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 03 October 2012 (03.10.2012)	
Applicant's or agent's file reference 0123WO1	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/US2012/039431	International filing date (day/month/year) 24 May 2012 (24.05.2012)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address NERAVETLA, Swetha Amylin Pharmaceuticals, LLC Intellectual Property Group 9360 Towne Centre Drive San Diego, California 92121 United States of America	State of Nationality IN	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:

The person identified in Box 2 has been added as applicant for US only and inventor for all designated States.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the International Searching Authority	☐ the designated Offices concerned
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned
	☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 89 75	Authorized officer Gagliardi Ghislaine e-mail pt05.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 05
---	---

PCT/US2012/039431 01.10.2013

Copy for (RO-US) 37
PATENT COOPERATION TREATY

PCT/US2012/039431

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

PINO, Mark J.
Womble Carlyle Sandridge & Rice, LLP
1200 19th Street, NW
Suite 500
Washington, D.C. 20036
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 01 October 2013 (01.10.2013)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference A68761 1590WO	
International application No. PCT/US2012/039431	International filing date (day/month/year) 24 May 2012 (24.05.2012)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address ASTRAZENECA PHARMACEUTICALS LP 1800 Concord Pike Wilmington, Delaware 19850 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:

The person identified in Box 2 has been added to the record as applicant for all designated States except for the United States of America.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office ☐ the International Preliminary Examining Authority
☐ the International Searching Authority ☒ the designated Offices concerned
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search ☐ the elected Offices concerned
☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 89 75	Authorized officer Schranner Franziska e-mail pt05.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 05
---	---

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



RECIBO DE CAJA

No. 13 - 129479

Bogotá D.C., Diciembre 13 de 2013 - 14:44:35

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 83.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
RECIBO DE CA	999999999	129477	13/12/2013		2.215.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00	500.000.00
				\$500.000.00

SON: **QUIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-296527 - 00000-0000

Fecha: 2013-12-19 15:05:59
Tra. 11 PATENTE IYII
Act. 411 PRESENTACIONDep. 2020 DIR. NUEVASOR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 157

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C. - Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Diciembre 13 de 2013 - 14:44:36

56

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 131775

Bogotá D.C., Diciembre 19 de 2013 - 14:59:51

RECIBIDO DE : CLARKE MODET

NI 830.008.643

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	999999999	112309	05/11/2013		103.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
3	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00	90.000.00
				\$90.000.00

SON: **NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-296527- -00000-0000

Fecha: 2013-12-19 15:05:59 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 157

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Diciembre 19 de 2013 - 14:59:52

157

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☐ Indicación que se solicita una PCT
- ☐ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-296527- -00000-0000

Fecha: 2013-12-19 15:05:59 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 157