Industria y Co
SUPERINTEND...
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 16-089238- -00000-0000
Fecha: 2016-04-08 15:53:42 Dep: 2020 DIR NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 88

A-S

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

PCT- FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No. _____

22. TITULO ***ANÁLOGOS DE GLUCAGÓN ACILADOS***

CLASIFICACION INTERNACIONAL

SOLICITANTE ***ZEALAND PHARMA A/S;***
BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH

DOMICILIO ***GLOSTRUP. DINAMARCA;***
INGELHEIM AM RHEIN ALEMANIA

APODERADO ***JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS***

Bogotá, D.C.,

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 16-089238- -00000-0000

Fecha: 2016-04-08 15:53:42 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 88

dhesivo de radicación

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

1	**TIPO DE SOLICITUD**	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capitulo II

2 DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)

Solicitud Internacional No.	**PCT/EP2014/072293**	**Fecha**	**17/10/2014**
Publicación Internacional No.	**WO2015/055801 A1**	**Fecha**	**23/04/2015**

3 TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)

ANÁLOGOS DE GLUCAGÓN ACILADOS

4 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)

5 SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria

APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL	NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
1. **ZEALAND PHARMA A/S**			[1]
2. **BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH**			

6 DATOS DEL SOLICITANTE

DIRECCIÓN	**Smedeland 36 DK-2600; Binger Strasse 173 55216**	No. TELÉFONO	
CIUDAD	**GLOSTRUP; INGELHEIM AM RHEIN**	CORREO ELECTRÓNICO	
DEPARTAMENTO/ESTADO		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN	**DINAMARCA;ALEMANIA**
PAÍS DE RESIDENCIA	**DINAMARCA; ALEMANIA**		

7 INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria

APELLIDOS	NOMBRES	NACIONALIDAD
1. **RIBER,**	**Ditte**	**DK**
2. **TOLBORG,**	**Jakob Lind**	**DK**
3. **HAMPRECHT,**	**Dieter Wolfgang**	**DE**
4. **RIST,**	**Wolfgang**	**DE**

DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO:

8 DATOS INVENTOR (ES)

PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
1. **DINAMARCA**		**GLOSTRUP**	**Zealand Pharma A/S Smedeland 36, DK-2600**
2. **DINAMARCA**		**GLOSTRUP**	**Zealand Pharma A/S Smedeland 36, DK-2600**
3. **ALEMANIA**		**INGELHEIM AM RHEIN**	**Boehringer Ingelheim GmbH Binger Strasse 173 55216**
4. **ALEMANIA**		**INGELHEIM AM RHEIN**	**Boehringer Ingelheim GmbH Binger Strasse 173 55216**

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
DELGADO VILLEGAS	JAIME EDUARDO	C.C . 19.270.955 T.P .43.308 C.S.J.

DIRECCIÓN	Avda. Carrera 24 No. 37 - 31 Of. 202	No. TELÉFONO	2444096
CIUDAD	BOGOTA D.C.,	CORREO ELECTRÓNICO	mde@mde.com
PAÍS	COLOMBIA	No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL	

10 DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO

(33) PAÍS DE ORIGEN	CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
1. **ESTADOS UNIDOS DE AMERICA**	**US**	**61/892,256**	**17/10/2013**

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°	Fecha

16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL *Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)*

JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS
APODERADO

17	ANEXOS

Documentación Técnica
Solicitud Internacional en castellano modificada

1. ☒ Descripción — N° de folios: 79
2. ☒ Reivindicaciones — N° Reivindicaciones: 41
3. ☐ Dibujos y/o figuras — N° folios:
4. ☒ Resumen.
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.
6. ☒ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.
7. ☐ Arte final 12 x 12.
8. ☐ Anexo formato digital.

Documentación Jurídica

9. ☐ Poderes, si fuera el caso.
10. ☐ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.
11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.
12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.
13. **Reducción de tasas**

Micro, pequeñas o medinas empresas

☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.

☐ 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.

DESCRIPCIÓN

ANÁLOGOS DE GLUCAGÓN ACILADOS

CAMPO DE LA INVENCIÓN

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

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Pre-proglucagón es un polipéptido precursor de 158 aminoácidos que se procesa de forma diferencial en los tejidos para formar numerosos péptidos derivados de proglucagón estructuralmente relacionados, que incluyen glucagón (Glu), péptido I tipo glucagón (GLP-1), péptido 2 tipo glucagón (GLP-2) y oxintomodulina (OXM). Estas moléculas están implicadas en una amplia diversidad de funciones fisiológicas, que incluyen homeostasis de la glucosa, secreción de insulina, vaciamiento gástrico y crecimiento intestinal, así como regulación de la ingesta de alimentos.

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

El glucagón ayuda a mantener el nivel de glucosa en la sangre mediante la unión a receptores de glucagón en los hepatocitos, lo que produce que el hígado libere la glucosa -almacenada en forma de glucógeno- a través de la glucogenólisis. A medida que se reducen estos depósitos, el glucagón estimula al hígado para sintetizar glucosa adicional por la gluconeogénesis. Esta glucosa se libera en el torrente sanguíneo, lo que impide el desarrollo de hipoglucemia.

GLP-1 reduce los niveles de glucosa sanguíneos elevados mediante la mejora de la secreción de insulina estimulada por glucosa y promueve la pérdida de peso principalmente a través de la disminución de la ingesta de alimentos.

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

La OXM activa los receptores del glucagón y GLP-1 con una potencia dos veces mayor para el receptor de glucagón sobre el receptor GLP-1, pero es

menos potente que el glucagón natural y GLP-1 sobre sus respectivos receptores. El glucagón humano también es capaz de activar ambos receptores, aunque con una fuerte preferencia por el receptor de glucagón sobre el receptor de GLP-1. GLP-1 por otro lado no es capaz de activar los receptores de glucagón. El mecanismo de acción de oxintomodulina no se entiende bien. En particular, no se sabe si algunos de los efectos extrahepáticos de la hormona están mediados a través de los receptores de GLP-1 y glucagón, o a través de uno o más receptores no identificados.

Otros péptidos han demostrado unirse y activar tanto al glucagón como al receptor de GLP-1 (Hjort et al, Journal of Biological Chemistry, 269, 30121-30124, 1994) y suprimir el aumento de peso corporal y reducir la ingesta de alimentos (véanse, por ejemplo, los documentos WO 2006/134340, WO 2007/100535, WO 2008/10101, WO 2008/152403, WO 2009/155257, WO 2009/155258, WO 2010/070252, WO 2010/070253, WO 2010/070255, WO 2010/070251, WO 2011/006497, WO 2011/160630, WO 2011/160633, WO 2013/092703, WO 2014/041195.

La obesidad es un problema de salud cada vez mayor en todo el mundo asociado con varias enfermedades, particularmente enfermedades cardiovasculares (ECV), diabetes tipo 2, apnea obstructiva del sueño, ciertos tipos de cáncer y osteoartritis. Como resultado, se ha hallado que la obesidad reduce la esperanza de vida. De acuerdo con las proyecciones de 2005 de la Organización Mundial de la Salud hay 400 millones de adultos (edad> 15) clasificados como obesos en todo el mundo. En los EE.UU., se considera que la obesidad es la segunda causa de muerte prevenible después del hábito de fumar.

El aumento de la obesidad impulsa un aumento de la diabetes y aproximadamente el 90 % de las personas con diabetes tipo 2 se puede clasificar como obeso. Hay 246 millones de personas en todo el mundo con diabetes y para el 2025 se estima que 380 millones tendrán diabetes. Muchos tienen factores de riesgo cardiovascular, que incluyen niveles de LDL y triglicéridos altos/aberrantes y HDL bajo.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

En un primer aspecto, la invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula:

R^1-P^1-P^2-R^2

en la que

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

R^2 es OH o NH_2;

P^1 es un péptido que tiene la secuencia:

H-X2-X3-GTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA

en la que:

X2 se selecciona de Aib, Ala, D-Ala, Ser, N-Me-Ser, Ac3c, Ac4c y Ac5c;

X3 se selecciona de Gln e His;

P^2 está ausente o es una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr y Orn;

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables;

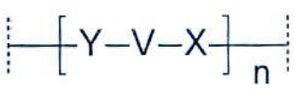
Ψ es un residuo de Lys, Arg, Orn o Cys en el que la cadena lateral está conjugada a un sustituyente que tiene la fórmula $–Z^2$-Z^1;

$–Z^1$ es una cadena grasa que tiene un grupo polar en un extremo de la cadena y una conexión para Z^2, –X– en el extremo de la cadena distal del grupo polar,

en el que el grupo polar comprende un grupo ácido carboxílico o un bioisóstero de ácido carboxílico, un ácido fosfónico, o un ácido sulfónico;

y –X– es un enlace, –CO–, –SO–, o $–SO_2–$;

$–Z^2–$ es un espaciador de fórmula:



en la que:

cada Y es de modo independiente –NH, –NR, –S o –O, donde R es alquilo, un grupo protector o forma una unión con otra parte del espaciador Z^2;

cada X es de modo independiente un enlace, CO–, SO–, o $SO_2–$;

con la condición de que cuando Y es –S, X es un enlace;

cada V es de modo independiente un resto orgánico bivalente que une Y y X;

y n es 1-10;

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.

P^1 puede tener la secuencia:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA

por ejemplo

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K([15-carboxi-pentadecanoil]-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA.

El compuesto de la invención puede ser:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH_2

por ejemplo

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K([15-carboxi-pentadecanoil]-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH_2.

En un segundo aspecto, la invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula:

R^1-P^1-P^2-R^2

en la que

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

R^2 es OH o NH_2;

P^1 es un péptido que tiene la secuencia:

His-X2-X3-GTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-A-X20-DFI-X24-WLE-X28-A

en la que:

X2 se selecciona de Aib, Ac3c, Ac4c y Ac5c;

X3 se selecciona de Gln e His;

X15 se selecciona de Asp y Glu;

X16 se selecciona de Glu y Ψ;

X17 se selecciona de Arg y Ψ;

X18 se selecciona de Ala y Arg;

X20 se selecciona de Lys e His;

X24 se selecciona de Glu y Ψ;

X28 se selecciona de Ser y Ψ;

y P^2 está ausente o es una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos

seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr y Orn;

en el que el compuesto contiene uno y solo un Ψ

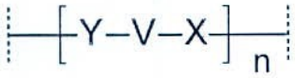
y en el que dicho Ψ es un residuo de Lys, Arg, Orn o Cys en el que la cadena lateral está conjugada a un sustituyente que tiene la fórmula $-Z^2-Z^1$;

$-Z^1$ es una cadena grasa que tiene un grupo polar en un extremo de la cadena y una conexión a Z^2, –X– en el extremo de la cadena distal del grupo polar,

en la que el grupo polar comprende un grupo ácido carboxílico o un bioisóstero de ácido carboxílico, un ácido fosfónico, o un ácido sulfónico;

y –X– es un enlace, –CO–, –SO–, o $-SO_2-$;

$-Z^2-$ es un espaciador de fórmula:



en el que:

cada Y es de modo independiente –NH, –NR, –S o –O, donde R es alquilo, un grupo protector o forma una unión con otra parte del espaciador Z^2;

cada X es de modo independiente un enlace, CO–, SO–, o SO_2-;

con la condición de que cuando Y es –S, X es un enlace;

cada V es de modo independiente un resto orgánico bivalente que une Y y X;

y n es 1-10;

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.

En algunas formas de realización del segundo aspecto:

X2 se selecciona de Aib y Ac4c;

X3 es Gln;

X15 se selecciona de Asp y Glu;

X16 es Ψ;

X17 es Arg;

X18 es Ala;

X20 se selecciona de Lys e His;

X24 es Glu;

X28 es Ser.

Las combinaciones útiles de residuos incluyen los siguientes:

X2 es Ac4c y X20 es Lys;

X2 es Aib y X20 es His.

En forma adicional o alternativa, puede ser conveniente que X2 sea Aib si X15 es E

o que X15 sea D si X2 es Ac4c.

Los sustituyentes Z^2Z^1 particularmente interesantes incluyen [17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3 y [17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG.

P^1 puede tener una secuencia seleccionada de:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA y

H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAHDFIEWLESA

por ejemplo de

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-

Peg3)-RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA y

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAHDFIEWLESA.

El compuesto de la invención se puede seleccionar de:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH_2 y

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAHDFIEWLESA-NH_2

por ejemplo de

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH_2 y

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-

Peg3)-RAAHDFIEWLESA-NH_2.

En formas de realización alternativas del segundo aspecto:

X2 se selecciona de Aib y Ac4c;

X3 se selecciona de Gln e His;

X15 es Asp;

X16 es Glu;

X17 se selecciona de Arg y Ψ;

X18 se selecciona de Ala y Arg;

X20 es Lys;

X24 se selecciona de Glu y Ψ;

X28 se selecciona de Ser y Ψ;

En algunas formas de realización, cuando X28 es Ψ, X2 es Ac4c.

En algunas formas de realización, cuando X3 es His, X2 es Ac4c y X17 es Ψ.

En algunas formas de realización, cuando X17 es Ψ, Z^2Z^1 es [17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3 o [17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu.

En algunas formas de realización, cuando X24 o X28 es Ψ, Z^2Z^1 es [17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG.

P^1 puede tener una secuencia seleccionada de:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA

H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIΨWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLEΨA y

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEΨA

por ejemplo de

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-RAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-A y

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH_2

El compuesto de la invención se puede seleccionar de:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIΨWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLEΨA-NH_2 y

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEΨA-NH_2

por ejemplo de

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-RAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-

isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH_2 y

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH_2.

Para evitar cualquier duda, en todos los aspectos de la invención, estas posiciones no indicadas expresamente para permitir la variabilidad son fijas y por lo tanto solo puede incluir el residuo indicado.

En todos los aspectos, el compuesto de la invención comprende un residuo Ψ, es decir, un residuo seleccionado de Lys, Arg, Orn y Cys en el que la cadena lateral está conjugada a un sustituyente $–Z^2-Z^1-$ como se describe con mayor detalle a continuación.

El sustituyente está conjugado al grupo funcional en el extremo distal de la cadena lateral del carbono alfa. Por consiguiente, la capacidad normal de la cadena lateral de Lys, Arg, Orn o Cys para participar en las interacciones mediadas por este grupo funcional (por ejemplo interacciones intra e intermoleculares) se puede reducir o eliminar completamente por la presencia del sustituyente. Por lo tanto, las propiedades globales del compuesto pueden ser relativamente insensibles a los cambios en el aminoácido real presente como residuo Ψ. En consecuencia, se cree que cualquiera de los residuos de Lys, Arg, Orn y Cys puede estar presente en cualquier posición en la que se permite Ψ. Sin embargo, en ciertas formas de realización, puede ser ventajoso que el componente de aminoácidos de Ψ sea Lys.

En algunas formas de realización, $-Z^1$ es un grupo acilo de fórmula:

A–B–Alq–(CO)–

o un grupo sulfonilo de fórmula:

A–B–Alq–(SO_2)–;

A es –COOH o un bioisóstero de ácido carboxílico;

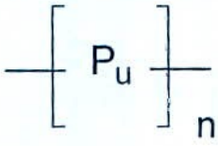
B es un enlace, arileno C_6, o arileno C_6–O–;

Alq es una cadena grasa saturada o insaturada de 6 a 18 átomos de carbono de longitud, opcionalmente sustituida con uno o varios sustituyentes seleccionados de fluoro, alquilo C_{1-4}, trifluorometilo, hidroximetilo, amino, hidroxilo, alcoxi C_{1-4}, oxo y carboxilo;

$-Z^2-$ es $-S_A-$, $-S_A-S_B-$, o $-S_B-S_A-$;

$-S_A-$ es un residuo de aminoácido único seleccionado de γ-Glu, α-Glu, α-Asp, β-Asp, Ala, β-Ala (ácido 3-aminopropanoico) y Gaba (ácido 4-aminobutanoico);

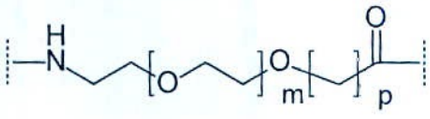
$-S_B-$ es un engarce de fórmula general:



en la que n es 1–10 y cada P_U se selecciona de modo independiente de P_U^i y P_U^{iii};

cada P_U^i es de modo independiente a residuo de aminoácido natural o no natural; y

cada P_U^{iii} es de modo independiente un residuo de fórmula general:



en la que m es 0–5 y p es 1, 3, 4 o 5.

En cualquier aspecto de la invención, R^1 se puede seleccionar de H y alquilo C_{1-4} (por ejemplo, metilo).

Los compuestos de la invención son péptidos análogos del glucagón. En el presente documento las referencias a un péptido análogo del glucagón se deben interpretar como referencias a un compuesto de la invención o a un péptido P^1 o P^1-P^2 de acuerdo con el contexto. Se debe tomar la referencia a un compuesto de la invención para incluir cualquier sal farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, una sal de acetato o cloruro) o solvato de este, a menos que se indique o excluya de otro modo por el contexto.

La invención proporciona una composición que comprende un compuesto de la invención según se define en el presente documento (incluyendo sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, como ya se describió) en combinación con un vehículo. En formas de realización preferidas, la composición es una composición farmacéutica y el vehículo es un vehículo farmacéuticamente aceptable. El péptido análogo del glucagón puede estar en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable del análogo de glucagón.

Los compuestos descritos en el presente documento encuentran uso, *entre otras cosas*, en evitar el aumento de peso o en promover la pérdida de peso. Por "evitar" se entiende inhibir o reducir cuando se compara con la ausencia de tratamiento y no significa necesariamente que implique el cese completo del aumento de peso. Los péptidos pueden causar una disminución en la ingesta de alimentos y/o un gasto energético aumentado, lo que da como resultado el efecto observado en el peso corporal. Independientemente de su

efecto sobre el peso corporal, los compuestos de la invención pueden tener un efecto beneficioso sobre el control de la glucosa y/o en los niveles circulantes de colesterol, son capaces de reducir los niveles circulantes de LDL y aumentar la relación HDL/LDL. Así los compuestos de la invención se pueden usar para la terapia directa o indirecta de cualquier afección causada o caracterizada por el exceso de peso corporal, tal como el tratamiento y/o prevención de obesidad, obesidad mórbida, inflamación ligada a la obesidad, enfermedad de la vesícula biliar ligada a la obesidad, apnea del sueño inducida por la obesidad. También se pueden usar para la prevención de afecciones causadas o caracterizadas por control inadecuado de la de la glucosa o dislipidemia (por ejemplo, niveles elevados de LDL o relación de HDL/LDL reducida), diabetes (especialmente, diabetes Tipo 2), síndrome metabólico, hipertensión, dislipidemia aterogénica, aterosclerosis, arteriosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, enfermedad arterial periférica, accidente cerebrovascular o enfermedad microvascular. Sus efectos en estas afecciones pueden ser como resultado de o estar asociados con su efecto sobre el peso corporal, o pueden ser independientes del mismo.

La invención también proporciona un compuesto de la invención para usar en un procedimiento de tratamiento médico, en particular para usar en un procedimiento de tratamiento de una afección como se describe anteriormente.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de la invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección como se describe anteriormente.

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

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

En consecuencia el compuesto de la invención se puede usar en combinación con un agente antidiabético que incluye pero sin limitación una biguanida (por ejemplo, metformina), una sulfonilurea, una meglitinida o glinida (por ejemplo, nateglinida), un inhibidor de DPP-IV, un inhibidor de SGLT2, una glitazona, una insulina o un análogo de insulina. Los ejemplos de análogos de insulina incluyen pero sin limitación Lantus™, Novorapid™, Humalog™, Novomix™, Actraphane HM™, Levemir™ y Apidra™.

El compuesto también se puede usar en combinación con un agente antiobesidad que incluye pero sin limitación agonista del receptor del péptido 1 tipo glucagón, agonista del receptor de péptido YY o análogo del mismo, antagonista del receptor cannabinoide 1, inhibidor de la lipasa, agonista del receptor de melanocortina 4, antagonista del receptor de la hormona concentradora de melanina 1, fentermina (sola o en combinación con topiramato), una combinación de inhibidor de la recaptación de norepinefrina/dopamina y antagonista del receptor opioide (por ejemplo, una combinación de bupropiona y naltrexona), o un agente serotoninérgico (por ejemplo, lorcaserina).

El compuesto también se puede usar en combinación con un agente antihipertensivo que incluye pero sin limitación un inhibidor de la enzima conversora de angiotensina, bloqueante del receptor de angiotensina II, diuréticos, beta-bloqueante, o bloqueante del canal de calcio.

El compuesto se puede usar en combinación con un agente

antidislipidemia que incluye, pero sin limitación una estatina, un fibrato, una niacina y/o un inhibidor de la absorción del colesterol.

En consecuencia la invención también proporciona una composición o kit terapéutico que comprende un compuesto de la invención y por ejemplo un agente antidiabético, agente antiobesidad, agente antihipertensivo o agente antidislipidemia como se describió anteriormente. También se proporciona una composición o un kit terapéutico tal para usar en un procedimiento de tratamiento médico, especialmente para el tratamiento de una afección descrita anteriormente.

El compuesto de la invención se puede obtener por síntesis química. Por consiguiente la invención proporciona un procedimiento de síntesis de un compuesto de la invención.

La invención también se puede obtener mediante una combinación de procedimientos recombinantes y sintéticos. El procedimiento puede comprender expresar una secuencia peptídica del precursor, opcionalmente purificar el compuesto producido de este modo y añadir o modificar uno o más aminoácidos para producir un compuesto de la invención o un compuesto que comprenda la secuencia de aminoácidos P^1 o P^1-P^2. La etapa de modificación puede comprender la introducción de un residuo de Orn (por ejemplo, por modificación de un residuo del precursor) y/o la introducción de un sustituyente Z2Z1 en el sitio de un residuo Ψ.

El péptido precursor se puede expresar a partir de un ácido nucleico que codifica el péptido precursor en una célula o en un sistema de expresión libre de células que comprende tal ácido nucleico.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

A lo largo de esta memoria descriptiva, se usan los códigos de una letra y de tres letras convencionales para los aminoácidos naturales, así como las abreviaturas generalmente aceptadas para otros aminoácidos, tales como Aib (ácido α-aminoisobutírico), Orn (ornitina), DBU (2, ácido 4-diaminobutírico), Dpr (ácido 2,3-diaminopropanoico), Ac3c (ácido 1-amino-ciclopropanocarboxílico), Ac4c (ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico) y Ac5c (ácido 1-amino-ciclopentanocarboxílico).

Ac3c, Ac4c y Ac5c tienen estructuras similares y son en alguna medida intercambiables, aunque puede ser preferible Ac4c.

El glucagón es un péptido de 29 aminoácidos que corresponde a los aminoácidos 53 al 81 del pre-proglucagón y tiene la secuencia His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr. La oxintomodulina (OXM) es un péptido de 37 aminoácidos que incluye la secuencia completa de 29 aminoácidos de glucagón con una extensión carboxiterminal de octapéptido (aminoácidos 82 a 89 del pre-proglucagón, que tiene la secuencia Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala y denominada "péptido interviniente 1" o IP-1; la secuencia completa de la oxintomodulina humana es por lo tanto His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala). El principal fragmento biológicamente activo de GLP-1 se produce como un péptido de 30 aminoácidos, amidado en C-terminal que corresponde a los aminoácidos 98 a 127 de pre-proglucagón.

El término “glucagón nativo” en consecuencia se refiere al glucagón

humano nativo que tiene la secuencia H-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-OH.

Los aminoácidos dentro de la secuencia P^1 de los compuestos de la invención se pueden considerar para numerarse consecutivamente del 1 al 29 en la dirección N-terminal a C-terminal convencional. La referencia a una "posición" dentro de P^1 se debe interpretar en consecuencia, como si se refiriera a las posiciones dentro de glucagón humano nativo y otras moléculas.

Un compuesto de la invención puede comprender una secuencia del péptido P^2 C-terminal de 1-20 aminoácidos, por ejemplo para estabilizar la conformación y/o la estructura secundaria del péptido análogo del glucagón, y/o para que el péptido análogo del glucagón se vuelva más resistente a la hidrólisis enzimática, por ejemplo como se describe en el documento WO99/46283.

Cuando está presente, P^2 representa una secuencia peptídica de 1-20 residuos de aminoácidos, por ejemplo en el intervalo de 1-15, con más preferencia en el intervalo de 1-10, en particular en el intervalo de 1-7 residuos de aminoácidos, por ejemplo,, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 residuos de aminoácidos, tal como 6 residuos de aminoácidos. Cada uno de los residuos de aminoácidos de la secuencia peptídica P^2 se puede seleccionar de modo independiente de Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu (ácido 2,4-diaminobutírico), Dpr (ácido 2,3-diaminopropanoico) y Orn (ornitina). Con preferencia, los residuos de aminoácidos se seleccionan de Ser, Thr, Tyr, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr y Orn, con más preferencia se seleccionan exclusivamente de Glu, Lys y Cys. Los aminoácidos mencionados anteriormente pueden tener bien configuración D o

bien configuración L, que en ciertas formas de realización, tienen una configuración L. Las secuencias particularmente preferidas P^2 son secuencias de cuatro, cinco, seis o siete residuos de lisina consecutivos (es decir, Lys_3, Lys_4, Lys_5, Lys_6 o Lys_7) y particularmente cinco o seis residuos de lisina consecutivos. Otros ejemplos de secuencias de P^2 se muestran en el documento WO 01/04156. De modo alternativo el residuo C-terminal de la secuencia P^2 puede ser un residuo de Cys. Esto puede ayudar en la modificación (por ejemplo PEGilación, o conjugación a albúmina) del compuesto. En tales formas de realización, la secuencia P^2 puede, por ejemplo, ser solo de un aminoácido de longitud (es decir, P^2 = Cys) o puede ser de dos, tres, cuatro, cinco, seis o incluso más aminoácidos de longitud. Los otros aminoácidos en consecuencia sirven como un espaciador entre el péptido P^1 y el residuo de Cys terminal.

La secuencia peptídica P^2 no tiene más del 25 % de identidad de secuencia con la correspondiente secuencia de la porción IP-1 de la OXM humana (que tiene la secuencia Lys-Arg-Asn-Arg-Asn-Asn-Ile-Ala).

"Porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos" de una secuencia de péptidos o polipéptidos dada con respecto a otra secuencia de polipéptidos (por ejemplo, IP-1) se calcula como el porcentaje de residuos de aminoácidos en la secuencia peptídica dada que son idénticos a los residuos de aminoácidos correspondientemente ubicados en la correspondiente secuencia de otro polipéptido cuando los dos están alineados entre sí, introduciendo brechas para alineamiento óptimo si es necesario. Los valores de % de identidad se pueden determinar usando WU-BLAST-2 (Altschul et al, Methods in Enzymology, 266:. 460-480 (1996)). WU-BLAST-2 usa varios

parámetros de búsqueda, la mayoría de las cuales se establecen en los valores predeterminados. Los parámetros ajustables se establecen con los siguientes valores: extensión de la superposición = 1, fracción de superposición = 0,125, umbral de palabra (T) = 11. Un valor de identidad de secuencia de aminoácidos en % se determina por el número de coincidencia de residuos idénticos determinado por WU-BLAST-2, dividido por el número total de residuos de la secuencia de referencia (ignorándose las brechas introducidas por WU-BLAST-2 en la secuencia de referencia para maximizar la puntuación del alineamiento), multiplicado por 100.

En consecuencia, cuando P^2 está alineado de manera óptima con los 8 aminoácidos de IP-1, no tiene más de dos aminoácidos que sean idénticos a los aminoácidos correspondientes de IP-1.

En ciertas formas de realización, P2 está ausente.

Ψ es un residuo de Lys, Arg, Orn o Cys cuya cadena lateral está conjugada a un sustituyente Z^2-Z^1. Sin desear vincularse a teoría particular alguna, se considera que el sustituyente se une a las proteínas plasmáticas (por ejemplo, albúmina) en el torrente sanguíneo, protegiendo así a los compuestos de la invención de la degradación enzimática y aumentando de este modo la semivida de los compuestos. También puede modular la potencia del compuesto, por ejemplo con respecto al receptor de glucagón y/o al receptor de GLP-1.

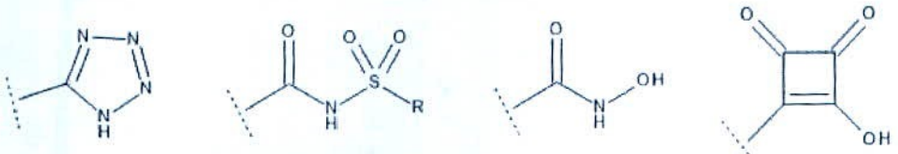
El grupo Z^1

Z^1 es una cadena grasa que tiene una conexión a Z^2, denominada en el presente documento como –X– y en el extremo de la cadena distal de la

conexión a Z^2, un grupo polar. –X– puede ser, por ejemplo, un enlace, acilo (–CO–), sulfinilo (–SO–), o sulfonilo ($–SO_2–$), la conexión se ubica en la posición ω con respecto al grupo polar, es decir, en el extremo de la cadena distal del grupo polar.

Con preferencia, el grupo polar es un grupo ácido o débilmente ácido, por ejemplo un ácido carboxílico o un bioisóstero de ácido carboxílico, un fosfonato, o un sulfonato. El grupo polar puede tener un pK_a de entre –2 y 12 en el agua, con más preferencia entre 1 y 7, con más preferencia entre 3 y 6. Ciertos grupos polares preferidos tienen un pK_a de entre 4 y 5.

El grupo polar con preferencia comprende un ácido carboxílico o bioisóstero de ácido carboxílico. Los bioisósteros del ácido carboxílico se conocen en la técnica. Con preferencia el bioisóstero tiene un protón que tiene un pK_a similar al correspondiente ácido carboxílico. Los ejemplos de bioisósteros adecuados pueden incluir, no a modo de limitación, tetrazol, acilsulfomidas, acilhidroxilamina y derivados de ácido escuárico, como se muestra a continuación (--- indica el punto de unión):



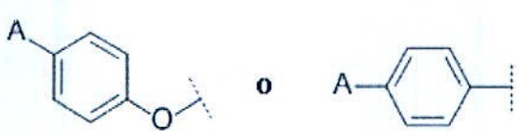
R es por ejemplo, Me, CF_3

El grupo polar puede ser un grupo de fórmula A–B–, en el que A es un ácido carboxílico (–COOH) o un bioisóstero de ácido carboxílico, un ácido fosfónico ($–P(O)(OH)_2$), o un grupo ácido sulfónico ($–SO_2OH$) y B es un enlace o engarce entre A y la cadena grasa. En algunas formas de realización, el grupo polar es –COOH, es decir, A es –COOH y B es un enlace.

Cuando B es un engarce, puede ser un cicloalquileno, heterocicloalquileno, arileno C_6, o heteroarileno C_{5-6}, o arilen C_6–O– o heteroarilen C_{5-6}–O–.

Cuando B es fenileno ello puede, por ejemplo, seleccionarse de 1,2-fenileno, 1,3-fenileno, 1,4-fenileno, con preferencia 1,4-fenileno (de modo que A–B– es un sustituyente de ácido 4-benzoico o bioisóstero de ácido 4-benzoico). Cuando B es fenilen–O–, ello puede, por ejemplo, seleccionarse de 1,2-fenilen–O–, 1,3-fenilen–O–, 1,4-fenilen–O–, con preferencia 1,4-fenilen–O. Cada fenileno de B puede estar opcionalmente sustituido con uno o varios sustituyentes seleccionados de fluoro, metilo, trifluorometilo, amino, hidroxilo y alcoxi C_{1-4}, con preferencia metoxi. Se apreciará que la identidad y posición del sustituyente se puede seleccionar para alterar sutilmente el pK_a del grupo polar. Los grupos aceptores o donantes de electrones en forma inductiva o mesomérica y sus efectos posicionales son conocidos en la técnica. En algunas formas de realización, B puede ser heteroarileno C_{5-6}, por ejemplo, piridinileno o tiofuranileno y puede estar sustituido opcionalmente como se describe.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, A–B– se puede seleccionar de:



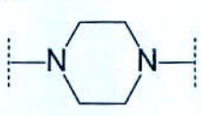
.

Con preferencia, A es –COOH. En algunos grupos polares preferidos, A es un ácido carboxílico y B es arilen C_6–O–.

La cadena grasa tal como se usa en el presente documento se refiere a

un resto que comprende una cadena de átomos de carbono, estando los átomos de carbono sustituidos predominantemente con átomos de hidrógeno o similares a hidrógeno, por ejemplo, una cadena de hidrocarburo. Tales cadenas grasas se denominan a menudo como lipófilas, aunque se apreciará que la sustitución puede alterar las propiedades lipófilas de la molécula total.

La cadena grasa puede por alifática. Puede estar totalmente saturada o puede incluir uno o más enlaces dobles o triples. Cada doble enlace, si está presente, puede estar en la configuración E o Z. La cadena grasa también puede tener uno o más restos cicloalquileno o heterocicloalquileno en su longitud y de forma adicional o alternativa puede tener uno o más restos arileno o heteroarileno en su longitud. Por ejemplo, la cadena grasa puede incorporar un resto fenileno o piperazinileno en su longitud como, por ejemplo, se muestra a continuación (en la que ··· representa los puntos de unión dentro de la cadena).





La cadena grasa puede derivar de un ácido graso, por ejemplo, puede derivar de un ácido graso de cadena media (MCFA) con una cola alifática de 6-12 átomos de carbono, un ácido graso de cadena larga (LCFA) con una cola alifática de 13-21 átomos de carbono, o un ácido graso de cadena muy larga (LCFA) con una cola alifática de 22 átomos de carbono o más. Los ejemplos de ácidos grasos saturados lineales de los que pueden derivarse cadenas grasas adecuadas incluyen ácido tridecílico (tridecanoico), ácido mirístico (tetradecanoico), ácido pentadecílico (pentadecanoico), ácido palmítico (hexadecanoico) y ácido margárico (heptadecanoico). Los ejemplos de ácidos

grasos insaturados lineales a partir de los que pueden derivarse cadenas grasas adecuadas incluyen ácido miristoleico, ácido palmitoleico, ácido sapiénico y ácido oleico.

La cadena grasa se puede conectar a Z^2 por una unión amida, una unión sulfinamida, una unión sulfonamida, o una unión éster, o por una unión éter, tioéter o amina. Por consiguiente, la cadena grasa puede tener en la posición ω, es decir, en la posición distal al grupo polar, un enlace a Z^2 o un grupo acilo (-CO-), sulfinilo (-SO-), o sulfonilo (-SO2-). Con preferencia, la cadena grasa tiene un grupo acilo (-CO-) en la posición distal al grupo polar y está conectada a Z^2 por un enlace amida o éster.

En algunas formas de realización, Z^1 es un grupo de fórmula:

A–B–Alq–X–

donde A–B– es el grupo polar definido anteriormente, X es un enlace, acilo (–CO–), sulfinilo (–SO–), o sulfonilo ($–SO_2–$) y Alq es una cadena grasa que puede estar opcionalmente sustituida con uno o varios sustituyentes. La cadena grasa con preferencia tiene 6 a 18 átomos de carbono de longitud (por ejemplo un alquileno C_{6-18}), con más preferencia, 8 a 18 carbonos de longitud (por ejemplo un alquileno C_{8-18}), con más preferencia, 12 a 16 carbonos de longitud (por ejemplo alquileno C_{12-16}) y puede estar saturada o insaturada. Con preferencia, Alq es saturado, es decir, con preferencia Alq es alquileno.

En algunas formas de realización, Z^1 es un grupo acilo de fórmula:

A–B–Alq–(CO)–

o un grupo sulfonilo de fórmula:

$A–B–Alq–(SO_2)–$.

Los sustituyentes opcionales de la cadena grasa se pueden seleccionar

de modo independiente de fluoro, alquilo C_{1-4}, con preferencia metilo; trifluorometilo, hidroximetilo, amino, hidroxilo, alcoxi C_{1-4}, con preferencia metoxi; oxo y carboxilo y se pueden ubicar de modo independiente en cualquier punto a lo largo de la cadena. En algunas formas de realización, cada sustituyente opcional se selecciona de fluoro, metilo e hidroxilo. Cuando más de un sustituyente está presente, los sustituyentes pueden ser iguales o diferentes. Con preferencia, el número de sustituyentes es 0 a 3; con más preferencia la cadena grasa no está sustituida.

Con preferencia, Z^1 es un grupo acilo de fórmula:

A–B–alquilen–(CO)–

Cuando A y B son según se definieron anteriormente.

En algunas formas de realización, Z^1 es:

4-carboxifenoxinonanoílo HOOC–C_6H_4–O–$(CH_2)_8$–(CO)–.

Ciertos Z^1 preferidos se derivan de ácidos α,ω-dicarboxílicos saturados de cadena larga de fórmula HOOC–$(CH_2)_{12-18}$–COOH, con preferencia, ácidos α,ω-dicarboxílicos saturados de cadena larga que tienen un número par de átomos de carbono en la cadena alifática. Por ejemplo y no a modo de limitación, Z^1 puede ser:

13-carboxitridecanoílo HOOC–$(CH_2)_{12}$–(CO)–

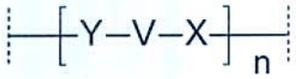
15-carboxpentadecanoílo HOOC–$(CH_2)_{14}$–(CO)–; o

17-carboxiheptadecanoílo HOOC–$(CH_2)_{16}$–(CO)–.

El grupo ácido carboxílico se puede reemplazar con un bioisóstero detallado en el presente documento.

El grupo Z^2

Z^2 es el espaciador que conecta Z^1 a la cadena lateral del componente aminoácido de Ψ. En su forma más general, Z^2 es un espaciador unido a un extremo terminal por Y, que puede ser un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre y en el otro extremo terminal por X, que puede ser un enlace o un acilo (–CO–), sulfinilo (–SO–), o sulfonilo ($–SO_2–$). Por consiguiente, Z^2 puede ser un espaciador de fórmula (··· indica los puntos de unión):



en la que:

Y puede ser –NH, –NR, –S o –O, donde R puede ser alquilo, un grupo protector o puede formar una unión a otra parte del espaciador, con la valencia que queda formando una unión a Z^1;

X puede ser un enlace, CO–, SO–, o $SO_2–$, con la valencia que queda formando una unión a la cadena lateral del componente aminoacídico de Ψ;

V es un resto orgánico bivalente que une Y y X;

y n puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Cuando n es 2 o más, cada Y, V y X es independiente de cada uno de los otros Y, V y X.

Por consiguiente, Z^2 se puede unir a cada lado mediante amida, sulfinamida, sulfonamida, o uniones éster o por uniones amino, éter, o tioéter de acuerdo con la naturaleza de Y y X y los correspondientes grupos de unión en Z^1 y la cadena lateral. Con preferencia, cuando Y es –S, X es un enlace. Cuando n es 2 o mayor, cada V también se puede unir a cada V adyacente mediante las uniones descritas. Con preferencia, las uniones son amidas, ésteres o sulfonamidas, con lo más preferentemente amidas. Por consiguiente, en algunas formas de realización, cada Y es –NH o –NR y cada X es CO– o

SO_2–.

En algunas formas de realización, Z^2 es un espaciador de fórmula –S_A–, –S_B–, –S_A–S_B– o –S_B–S_A–, donde S_A y S_B son según se definen a continuación.

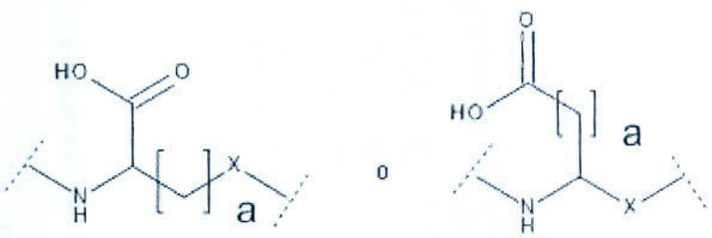
En algunas formas de realización, Z^2 se selecciona de –S_A– o –S_B–S_A–, es decir, [cadena lateral]–Z^2Z^1 es [cadena lateral]–S_A–Z^1 o [cadena lateral]–S_B–S_A–Z^1.

El grupo S_A

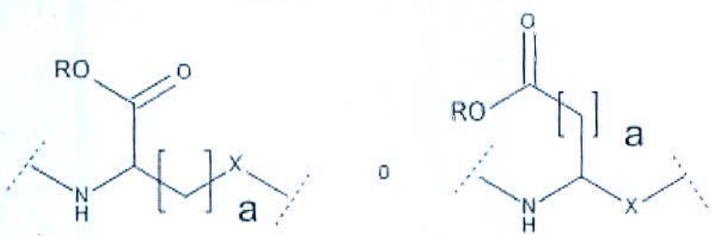
S_A puede ser un residuo de aminoácido único o un residuo de un derivado de aminoácido, en especial un residuo de derivado de aminoácido que tiene un sulfinilo o sulfonilo en lugar del resto carboxi en el extremo C-terminal. En forma adicional o alternativa, el residuo de aminoácido único puede tener un átomo de oxígeno o azufre en lugar del átomo de nitrógeno en el extremo N-terminal. Con preferencia, S_A es un residuo de aminoácido único.

En algunas formas de realización, el aminoácido se puede seleccionar de γ-Glu, α-Glu, α-Asp, β-Asp, Ala, β-Ala (ácido 3-aminopropanoico) y Gaba (ácido 4-aminobutanoico). Se entenderá que los aminoácidos pueden ser D o L, o una mezcla racémica o enantioenriquecida. En algunas formas de realización, el aminoácido es un aminoácido L. En algunas formas de realización, el aminoácido es un aminoácido D.

En algunas formas de realización preferidas, S_A tiene un sustituyente ácido carboxílico, se prefieren γ-Glu, α-Glu, α-Asp y β-Asp y los derivados sulfinilo y sulfonilo de los mismos. Por consiguiente, en algunas formas de realización, el residuo de aminoácido es:



donde –X– es –CO–, –SO–, $–SO_2–$, con preferencia –CO– y a es 1 o 2, con preferencia 2. En algunas formas de realización, el ácido carboxílico es un éster y el residuo de aminoácido es:



donde –X– es –CO–, –SO–, $–SO_2–$, con preferencia –CO– y a es 1 o 2, con preferencia 2 y R es alquilo C_{1-4} o arilo C_6. Con preferencia R es alquilo C_{1-4}, con preferencia metilo o etilo, con más preferencia etilo.

Con preferencia, S_A es γ-Glu.

El grupo S_B

S_B puede ser un engarce de fórmula general:



en la que P_U es una unidad polimérica y n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Un extremo terminal del engarce S_B es un –NH, –NR, –S u –O, en el que R puede ser alquilo, un grupo protector o puede formar una unión a otra parte de

la unidad polimérica; mientras que el otro es un enlace o CO– SO– o SO_2–. Por consiguiente, cada unidad polimérica P_U se puede unir a cada lado por amida, sulfinamida, sulfonamida, o uniones éster o por uniones amino, éter, o tioéter que dependen de la naturaleza de Y y X y los correspondientes grupos de unión en Z^1, S_A y Lys.

En algunas formas de realización, cada P_U puede ser de modo independiente una unidad de fórmula:



en la que:

Y puede ser –NH, –NR, –S u –O, en el que R puede ser alquilo, un grupo protector o puede formar una unión a otra parte del espaciador, con la valencia que queda formando una unión a Z^1;

X puede ser un enlace, CO–, SO–, o SO_2–, con la valencia que queda formando una unión a Lys;

y V es un resto orgánico bivalente que se une a Y y X.

En algunas formas de realización, V es el carbono α de un aminoácido natural o no natural, es decir, V es $–CHR^{AA}–$, en el que R^{AA} es una cadena lateral de un aminoácido; o V es un alquileno C_{1-6} opcionalmente sustituido, o V es una cadena que comprende una o más unidades de etilenglicol en serie, también conocida como cadena de PEG, por ejemplo, $–CH_2CH_2–(OCH_2CH_2)_m–O–(CH_2)_p–$, donde m es 0, 1, 2, 3, 4 o 5 y p es 1, 2, 3, 4 o 5; cuando X es CO–, p es con preferencia 1, 3, 4 o 5. Los sustituyentes alquileno opcionales incluyen fluoro, metilo, hidroxi, hidroximetilo y amino.

Las unidades de P_U preferidas incluyen:

(i). Residuos de aminoácidos únicos: P_U^i ;

(ii). Residuos dipeptídicos: P_U^{ii}; y

(iii). Residuos de ácidos amino-$(PEG)_m$-carboxílicos: P_U^{iii},

y pueden estar presentes en cualquier en combinación u orden. Por ejemplo, S_B puede comprender uno o más de cada uno de P_U^i, P_U^{ii} y P_U^{iii} en cualquier orden o puede comprender solo una o más unidades de P_U^i, P_U^{ii} y P_U^{iii}, o una o más unidades seleccionadas de P_U^i y P_U^{ii}, P_U^i y P_U^{iii}, o P_U^{ii} y P_U^{iii}.

(i). Residuos de aminoácidos únicos P_U^i

Cada P_U^i se puede seleccionar de modo independiente de cualquier residuo de aminoácido natural o no natural y por ejemplo, se puede seleccionar de Gly, Pro, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Cys, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Gln, Asn, α-Glu, γ-Glu, Asp, Ser Thr, Gaba, Aib, β-Ala, 5-aminopentanoílo, 6-aminohexanoílo, 7-aminoheptanoílo, 8-aminooctanoílo, 9-aminononanoílo y 10-aminodecanoílo. Con preferencia, los residuos de aminoácidos P_U^i se seleccionan de Gly, Ser, Ala, Thr y Cys, con más preferencia de Gly y Ser.

En algunas formas de realización, S_B es $-(P_U^i)_n-$, en la que n es 1 a 8, con más preferencia 5 a 7, lo más preferentemente 6. En algunas formas de realización preferidas, S_B es $-(P_U^i)_n-$, n es 6 y cada P_U^i se selecciona de modo independiente de Gly o Ser, una secuencia preferida es -Gly-Ser-Gly-Ser-Gly-Gly-.

(ii). Residuos de dipéptidos P_U^{ii}

Cada P_U^{ii} se puede seleccionar de modo independiente de cualquier residuo de dipéptido que comprende dos residuos de aminoácido naturales o no naturales unidos por una unión amida. Los residuos de dipéptidos P_U^{ii} preferidos incluyen Gly-Gly, Gly-Ser, Ser-Gly, Gly-Ala, Ala-Gly y Ala-Ala, con

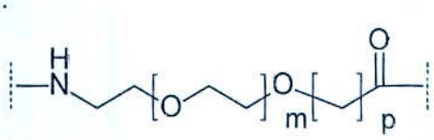
más preferencia Gly-Ser y Gly-Gly.

En algunas formas de realización, S_B es $-(P_U^{ii})_n-$, en el que n es 2 a 4, con más preferencia 3 y cada P_U^{ii} se selecciona de modo independiente de Gly-Ser y Gly-Gly. En algunas formas de realización preferidas S_B es $-(P_U^{ii})_n-$, n es 3 y cada P_U^{ii} se selecciona de modo independiente de Gly-Ser y Gly-Gly, con una secuencia preferida que es -(Gly-Ser)-(Gly-Ser)-(Gly-Gly).

Los aminoácidos que tienen centros estereogénicos dentro de P_U^{i} y Pu^{ii} pueden ser racémicos, enantioenriquecidos, o enantiopuros. En algunas formas de realización, el o cada aminoácido es de modo independiente un aminoácido L. En algunas formas de realización, el o cada aminoácido es de modo independiente un aminoácido D.

(iii). Residuos de ácido amino-$(PEG)_m$-carboxílico

Cada P_U^{iii} puede ser de modo independiente un residuo de la fórmula general:



en la que m es 0, 1, 2, 3, 4 o 5, con preferencia 1 o 2 y p es 1, 3, 4 o 5, con preferencia 1.

En algunas formas de realización, m es 1 y p es 1, es decir, P_U^{iii} es un residuo de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (también conocido como ácido {2-[2-aminoetoxi]etoxi}acético y H_2N-PEG_3-COOH). Este residuo se denomina en el presente documento como $-PEG_3-$.

En algunas formas de realización, m es 2 y p es 1, es decir, P_U^{iii} es un residuo de ácido 11-amino-3,6,9-trioxaundecanoico (también denominado como H_2N-PEG_4-COOH). Este residuo se denomina como $-PEG_4-$

En algunas formas de realización, S_B es $-(P_U^{iii})_n-$, en el que n es 1 a 3, con más preferencia 2.

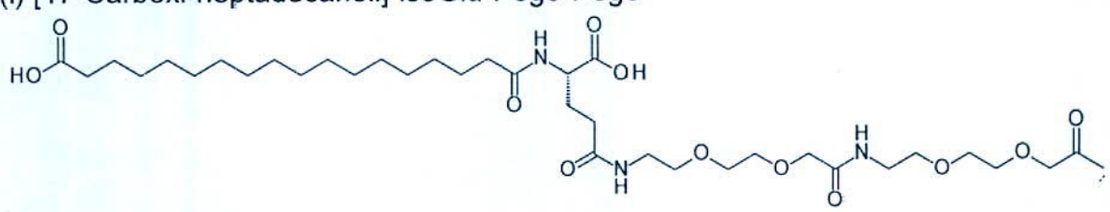
En algunas formas de realización preferidas, S_B se selecciona de $-PEG_3-PEG_3-$ y $-PEG_4-PEG_4-$.

$-Z^2-Z^1$ preferido

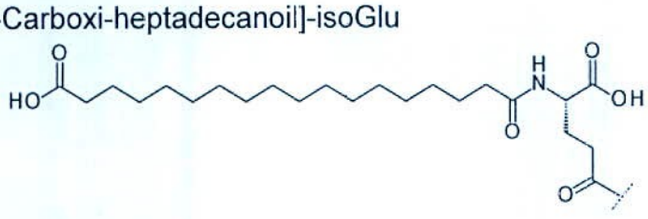
Se entenderá que las preferencias anteriores se pueden combinar de modo independiente para dar combinaciones de $-Z^2-Z^1$ preferidas.

Algunas combinaciones $-Z^2-Z^1$ preferidas se muestran a continuación (en cada caso, --- indica el punto de unión a la cadena lateral del componente aminoácido de Ψ:

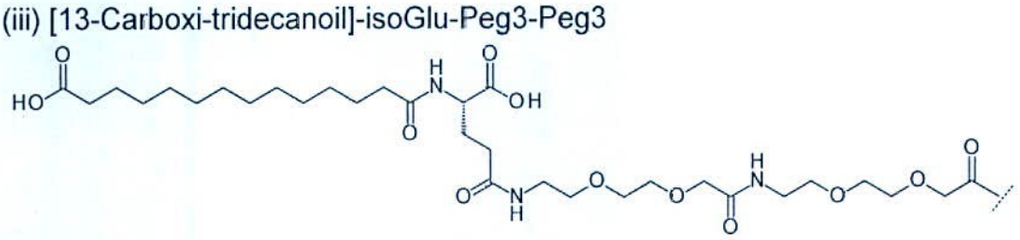
(i) [17-Carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3



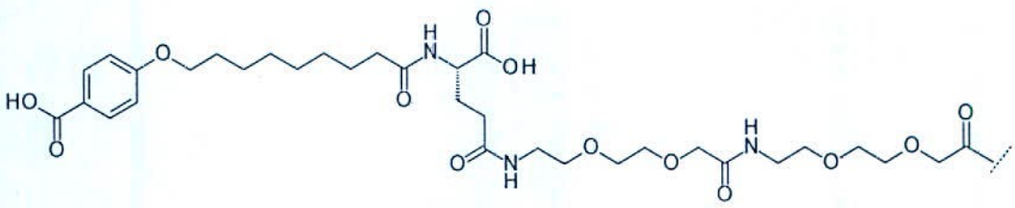
(ii) [17-Carboxi-heptadecanoil]-isoGlu



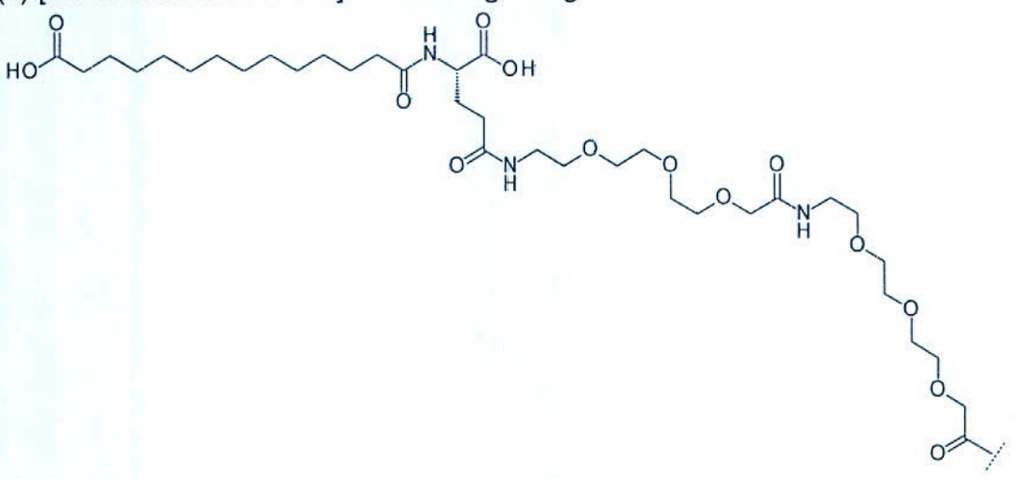
(iii) [13-Carboxi-tridecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3



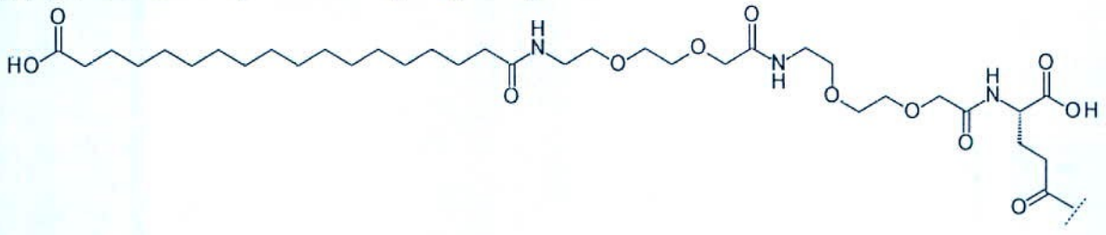
(iv) [Carboxifenoxinonanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3



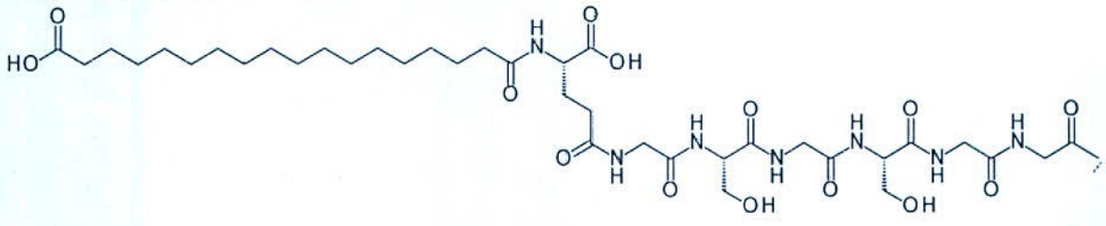
(v) [13-Carboxi-tridecanoil]-isoGlu-Peg4-Peg4



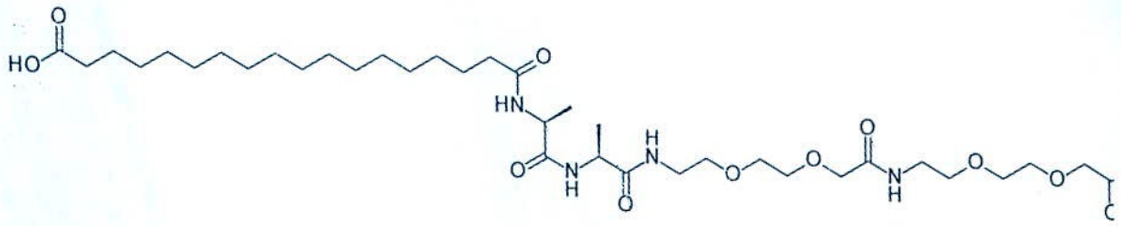
(vi) [17-Carboxi-heptadecanoil]-Peg3-Peg3-isoGlu



(vii) [17-Carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG



(viii) [17-Carboxi-heptadecanoil]-AA-Peg3-Peg3



Se cree que la presencia del grupo polar en el extremo de Z^1 que mejora las propiedades farmacocinéticas del compuesto, por ejemplo, mediante el aumento de la semivida y/o el tiempo de residencia medio y la reducción de la depuración. El engarce también puede contribuir a estas propiedades farmacocinéticas. Los engarces que comprenden más de una unidad de aminoácido (o restos de tamaño similar) pueden mejorar las propiedades farmacocinéticas en comparación con las que consisten en solo una unidad de aminoácido o similares. Estas propiedades pueden permitir administrar el compuesto con menor frecuencia que un compuesto equivalente con el mismo esqueleto del péptido pero ninguna modificación o una modificación diferente (por ejemplo, un sustituyente con una cadena grasa alifática que carece de un grupo polar y/o que tiene un resto de engarce más corto).

Sin desear vincularse a teoría particular alguna, los autores de la invención han encontrado que, especialmente cuando se incluyeron engarces más largos, el grupo polar o cargado en el extremo de Z^1 puede ser capaz de participar en una interacción intramolecular no deseable con el extremo N-terminal libre de la molécula que podría comprometer los efectos beneficiosos del grupo polar en la farmacocinética. Se considera que los esqueletos peptídicos de los compuestos descritos en el presente documento adoptan estructura secundaria helicoidal relativamente bien definida, por lo que la

capacidad del grupo polar para participar en tales interacciones puede depender de su ubicación dentro de la molécula. Cuando se ubica hacia el extremo C-terminal, la interacción con el extremo N-terminal puede ser relativamente poco probable. Sin embargo, los autores de la invención se sorprendieron al encontrar que el sustituyente puede estar situado en los residuos 16 y 17 de la molécula sin comprometer necesariamente los beneficios farmacocinéticos obtenidos.

El término "conjugado" se usa en el presente documento para describir la unión física de un resto químico identificable a otro y la relación estructural entre dichos restos. No se debe considerar que implique algún procedimiento particular de síntesis.

El lector experto será consciente de las técnicas adecuadas que se pueden usar para llevar a cabo las reacciones de acoplamiento usando metodologías de síntesis generales que se enumeran por ejemplo, en "Comprehensive Organic Transformations, A Guide to Functional Group Preparations", 2ª edición, Larock, R. C.; Wiley-VCH: Nueva York, 1999. Tales transformaciones pueden ocurrir en cualquier etapa adecuada durante el proceso de síntesis.

Síntesis de péptidos

Los compuestos de la presente invención se pueden fabricar bien por procedimientos estándares de síntesis, bien por sistemas de expresión recombinantes, o bien por cualquier otro estado del procedimiento de la técnica. En consecuencia los análogos de glucagón se pueden sintetizar de numerosas maneras, incluyendo, por ejemplo, un procedimiento que

comprende:

(a) sintetizar el péptido por medio de la metodología de fase sólida o de fase líquida, bien por etapas o bien por el ensamblaje del fragmento y el aislamiento y la purificación del producto peptídico final; o

(b) expresar una secuencia peptídica del precursor a partir de una construcción de ácido nucleico que codifica el péptido precursor, recuperar el producto de expresión y modificar el péptido precursor para producir un compuesto de la invención.

La expresión se lleva a cabo normalmente a partir de un ácido nucleico que codifica el péptido precursor, lo que se puede realizar en una célula o un sistema de expresión libre de células que comprende un ácido nucleico.

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

Para la expresión recombinante, los fragmentos de ácido nucleico que codifican el péptido precursor normalmente se insertarán en vectores adecuados para formar vectores de clonación o expresión. Los vectores pueden, de acuerdo con el propósito y el tipo de aplicación, estar en la forma de plásmidos, fagos, cósmidos, minicromosomas, o virus, pero también ADN desnudo que solamente se expresa transitoriamente en ciertas células es un vector importante. Los vectores de clonación y expresión preferidos (vectores plasmídicos) son capaces de replicación autónoma, lo de este modo permite obtener altos números de copia para los fines de la expresión de alto nivel o

replicación de alto nivel para la clonación subsiguiente.

En líneas generales, un vector de expresión comprende las siguientes características en la dirección 5'→3' y en unión operativa: un promotor para dirigir la expresión del fragmento de ácido nucleico, opcionalmente una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un péptido líder que permite la secreción (a la fase extracelular o, cuando sea aplicable, en el periplasma), el fragmento de ácido nucleico que codifica el péptido precursor y opcionalmente una secuencia de ácido nucleico que codifica un terminador. Estos pueden comprender características adicionales tales como marcadores seleccionables y orígenes de replicación. Cuando se opera con vectores de expresión en cepas o líneas celulares productoras se puede preferir que el vector sea capaz de integrarse en el genoma de la célula huésped. El experto está muy familiarizado con vectores adecuados y es capaz de diseñar uno de acuerdo a sus requerimientos específicos.

Los vectores de la invención se usan para transformar células huésped para producir el péptido precursor. Tales células transformadas pueden ser células o líneas celulares cultivadas usadas para la propagación de los fragmentos de ácidos nucleicos y vectores, y/o usar para la producción recombinante de los péptidos precursores.

Las células transformadas preferidas son microorganismos tales como bacterias [tales como las especies Escherichia (por ejemplo E. coli), Bacillus (por ejemplo, Bacillus subtilis), Salmonella, o Mycobacterium (con preferencia no patógenos, por ejemplo, BCG M. bovis), levaduras (por ejemplo, Saccharomyces cerevisiae y Pichia pastoris) y protozoos. En forma alternativa, las células transformadas se pueden derivar de un organismo multicelular, es

decir puede ser célula fúngica, una célula de insecto, una célula de alga, una célula vegetal, o una célula animal tal como una célula de mamífero. Para los fines de clonación y/o expresión optimizada se prefiere que la célula transformada sea capaz de replicar el fragmento de ácido nucleico de la invención. Las células que expresan el fragmento nucleico se pueden usar para la preparación en pequeña escala o a gran escala de los péptidos de la invención.

Cuando se produce el péptido precursor por medio de las células transformadas, es conveniente, aunque esté lejos de ser esencial, que el producto de expresión se secrete en el medio de cultivo.

Eficacia

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

El profesional experto será consciente de formatos de ensayo adecuados y los ejemplos se proporcionan a continuación. El receptor GLP-1 y/o el receptor de glucagón pueden tener la secuencia de los receptores que se describen en los ejemplos. Por ejemplo, los ensayos pueden emplear el receptor de glucagón humano (Glucagón-R) que tiene el número de acceso primario GI: 4503947 y/o el receptor del péptido similar al glucagón 1 humano (GLP-1R) que tiene el número de acceso primario GI: 166795283. (ya que cuando se hace referencia a las secuencias de las proteínas precursoras, se debe entender, obviamente, que los ensayos pueden usar la proteína madura, que carece de la secuencia señal).

Los valores de EC_{50} se pueden usar como una medida numérica de la potencia agonista en un receptor dado. Un valor de EC_{50} es una medida de la concentración de un compuesto requerida para lograr la mitad de la máxima actividad de ese compuesto en un ensayo particular. En consecuencia, por ejemplo, un compuesto que tiene EC_{50} [GLP-1] menor que la EC_{50} [GLP-1] de glucagón en un ensayo particular se puede considerar que tiene mayor potencia de agonista del receptor de GLP-1 que el glucagón.

Los compuestos descritos en esta memoria descriptiva son normalmente agonistas duales GluGLP-1, de acuerdo con lo determinado por la observación de que son capaces de estimular la formación de AMPc del receptor de glucagón y el receptor de GLP-1. La estimulación de cada receptor se puede medir en ensayos independientes y después se comparan entre sí.

Al comparar el valor de EC_{50} para el receptor de GLP-1 (EC_{50} [GLP-1-R]) con el valor de EC_{50} para el receptor de glucagón, (EC50 [GlucagónR]) para un compuesto dado. la relativa selectividad GLP-1R se puede calcular de la

siguiente manera:

Selectividad de GLP-1R relativa [compuesto] = (EC_{50} [GLP-1R])/(EC_{50} [Glucagón-R])

El término "EC_{50}" se refiere a la mitad de la concentración efectiva, normalmente a un receptor particular, o en el nivel de un marcador particular de la función del receptor y puede referirse a una actividad inhibidora o antagonista, de acuerdo con el contexto bioquímico específico.

Sin desear vincularse a teoría particular alguna, la selectividad relativa de un compuesto puede permitir comparar directamente su efecto sobre el receptor de GLP-1 o glucagón con su efecto sobre el otro receptor. Por ejemplo, cuanto más alta es la selectividad de GLP-1 relativa de un compuesto, más efectivo puede ser el compuesto sobre el receptor de GLP-1 en comparación con el receptor de glucagón. Normalmente los resultados se comparan para los receptores de glucagón y GLP-1 de la misma especie, por ejemplo, receptores de glucagón y GLP-1 humanos, o receptores de glucagón y GLP-1 murinos.

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

Sin embargo, los compuestos de esta invención pueden tener una EC_{50}

[GLP-1R] menor que la del glucagón humano. Los compuestos pueden tener una EC_{50}[GLP-1-R] menor que el glucagón mientras que se mantiene una EC_{50} [Glucagón-R] que es menor de 10 veces mayor que la del glucagón humano, menor de 5 veces mayor que la del glucagón humano, o menor de 2 veces mayor que la del glucagón humano.

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

La selectividad relativa de GLP-1R de los compuestos puede estar entre 0,05 y 20. Por ejemplo, los compuestos pueden tener una selectividad relativa de 0,05-0,20, 0,1-0,30, 0,2-0.5, 0,3-0,7, o 0,5-1,0; 1,0-2,0, 1,5-3,0, 2,0-4,0 o 2,5-5,0; o 0,05-20, 0,075-15, 0,1-10, 0,15-5, 0,75-2,5 o 0,9-1,1.

En ciertas formas de realización, puede ser conveniente que la EC_{50} de cualquier compuesto dado para Glucagón-R y GLP-1R, por ejemplo para los receptores de glucagón y GLP-1 humanos, deba ser menor de 1 nM.

Usos terapéuticos

Los compuestos de la invención pueden proporcionar un tratamiento atractivo y/u opciones de prevención para, entre otras cosas, obesidad y enfermedades metabólicas que incluyen diabetes, como se discute a continuación.

La diabetes comprende un grupo de enfermedades metabólicas

caracterizadas por hiperglucemia resultante de los defectos en la secreción de insulina, acción de la insulina, o ambos. Los signos agudos de la diabetes incluyen la producción excesiva de orina, sed compensatoria resultante y el aumento de la ingesta de líquidos, visión borrosa, pérdida de peso inexplicable, letargo y los cambios en el metabolismo energético. La hiperglucemia crónica de la diabetes se asocia con daño a largo plazo, disfunción e insuficiencia de varios órganos, especialmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos. La diabetes se clasifica en diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 y diabetes gestacional sobre la base de las características patogénicas.

La diabetes tipo 1 representa el 5-10 % de todos los casos de diabetes y es causada por la destrucción autoinmune de las células pancreáticas β secretoras de insulina.

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

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

La prediabetes incluye tolerancia a la glucosa en ayunas alterada y tolerancia a la glucosa alterada y se refiere a los estados que se producen cuando los niveles de glucosa en sangre están elevados pero por debajo de los niveles establecidos para el diagnóstico clínico de diabetes.

Una gran proporción de las personas con diabetes tipo 2 y prediabetes tienen un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad debido a la alta prevalencia

de factores de riesgo metabólicos adicionales que incluyen obesidad abdominal (tejido graso excesivo alrededor de los órganos internos del abdomen), dislipidemia aterogénica (trastornos de grasa en sangre que incluyen los triglicéridos altos, colesterol HDL bajo y/o colesterol LDL alto, que promueven la acumulación en placas en las paredes arteriales), presión arterial elevada (hipertensión) un estado protrombótico (por ejemplo, fibrinógeno alto o inhibidor del activador del plasminógeno-1 alto en la sangre) y estado proinflamatorio (por ejemplo, proteína C reactiva elevada en sangre).

Por el contrario, la obesidad confiere un mayor riesgo de desarrollar pre-diabetes, diabetes tipo 2, así como por ejemplo, ciertos tipos de cáncer, apnea obstructiva del sueño y enfermedad de la vesícula biliar.

La dislipidemia se asocia con riesgo incrementado de enfermedad cardiovascular. La lipoproteína de alta densidad (HDL) es de importancia clínica, ya que existe una correlación inversa entre las concentraciones de HDL en plasma y el riesgo de la enfermedad aterosclerótica. La mayor parte del colesterol almacenado en las placas ateroscleróticas se origina a partir de LDL y en consecuencia las concentraciones elevadas de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) están estrechamente asociadas con la aterosclerosis. La relación HDL/LDL es un indicador de riesgo clínico para la aterosclerosis clínica y en particular para la aterosclerosis coronaria.

El síndrome metabólico se caracteriza por un grupo de factores de riesgo metabólicos en una persona. Estos incluyen obesidad abdominal (tejido graso excesivo alrededor de los órganos internos del abdomen), dislipidemia aterogénica (trastornos de grasa en la sangre que incluyen niveles altos de triglicéridos, colesterol HDL bajo y/o colesterol LDL alto, que promueven la

acumulación en placas en las paredes arteriales), presión arterial elevada (hipertensión), resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa, estado protrombótico (por ejemplo, fibrinógeno e inhibidor del activador del plasminógeno-1 altos en la sangre) y estado proinflamatorio (por ejemplo, proteína C-reactiva elevada en la sangre).

Los individuos con síndrome metabólico tienen un mayor riesgo de enfermedad coronaria cardíaca y otras enfermedades relacionadas con otras manifestaciones de la arteriosclerosis (por ejemplo, accidente cerebrovascular y enfermedad vascular periférica). Los factores de riesgo subyacentes dominantes de este síndrome parecen ser la obesidad abdominal.

Sin desear vincularse a teoría particular alguna, se considera que los compuestos de la invención actúan como agonistas duales en el receptor de glucagón humano y el receptor de GLP1 humano, abreviados aquí como agonistas GluGLP-1 duales. El agonista dual puede combinar el efecto de glucagón, por ejemplo sobre el metabolismo de las grasas, con el efecto de GLP-1, por ejemplo sobre los niveles de glucosa en sangre y la ingesta de alimentos. Por lo tanto pueden actuar para acelerar la eliminación de tejido adiposo excesivo, inducen la pérdida de peso sostenible y mejoran el control glucémico. Los agonistas de GluGLP-1 duales también pueden actuar para reducir los factores de riesgo cardiovascular, tales como el colesterol alto, el colesterol LDL alto o las relaciones de HDL/LDL bajas.

Por consiguiente los compuestos de la presente invención se pueden usar en un sujeto que lo necesita como agentes farmacéuticos para la prevención del aumento de peso, promoción de la pérdida de peso, reducción del exceso de peso corporal o tratamiento de la obesidad (por ejemplo,

mediante el control del apetito, alimentación, ingesta de alimentos, ingesta de calorías, y/o el gasto de energía), que incluye obesidad mórbida, así como las enfermedades asociadas y las afecciones de salud, que incluyen pero sin limitación, inflamación ligada a la obesidad, enfermedad de la vesícula biliar ligada a la obesidad, apnea del sueño inducida por la obesidad. Los compuestos de la invención también se pueden usar para el tratamiento de afecciones causadas por o asociadas con el control de la glucosa alterado, que incluyen síndrome metabólico, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, prediabetes, aumento de la glucosa en ayunas, diabetes tipo 2, hipertensión, aterosclerosis, arteriosclerosis, enfermedad coronaria cardíaca, enfermedad arterial periférica y accidente cerebrovascular, en un sujeto que lo necesita. Algunas de estas afecciones pueden estar asociadas con la obesidad. Sin embargo, los efectos de los compuestos de la invención en estas afecciones pueden estar mediados en su totalidad o en parte a través de un efecto sobre el peso corporal, o pueden ser independientes de este.

El efecto sinérgico de los agonistas de GluGLP-1 duales también puede producir la reducción de los factores de riesgo cardiovasculares tales como el colesterol y LDL altos, lo que puede ser totalmente independiente de su efecto sobre el peso corporal.

En consecuencia la invención proporciona el uso de un compuesto de la invención en el tratamiento de una afección descrita anteriormente, en un individuo que lo necesita.

La invención también proporciona un compuesto de la invención para usar en un procedimiento de tratamiento médico, en particular para usar en un procedimiento de tratamiento de una afección descrita anteriormente.

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

En una forma de realización específica, la presente invención comprende el uso de un compuesto para tratar la diabetes, esp. diabetes tipo 2 en un individuo que lo necesita.

Es un aspecto no menos preferido, los compuestos preferidos se pueden usar para evitar el aumento del peso o promover la pérdida de peso.

En una forma de realización específica, la presente invención comprende el uso de un compuesto para evitar el aumento del peso o promover la pérdida de peso en un individuo que lo necesita.

En una forma de realización específica, la presente invención comprende el uso de un compuesto en un procedimiento de tratamiento de una afección causada o caracterizada por el exceso de peso corporal, por ejemplo, el tratamiento y/o prevención de la obesidad, obesidad mórbida, obesidad mórbida antes de la cirugía, inflamación ligada a la obesidad, enfermedad de la vesícula biliar ligada a la obesidad, apnea del sueño inducida por la obesidad, prediabetes, diabetes, esp. diabetes tipo 2, hipertensión, dislipidemia aterogénica, aterosclerosis, arteriosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, enfermedad arterial periférica, accidente cerebrovascular o enfermedad microvascular en un individuo que lo necesita.

En otro aspecto, los compuestos preferidos se pueden usar en un procedimiento para reducir los niveles de LDL circulantes, y/o aumentar la relación de HDL/LDL.

En una forma de realización específica, la presente invención comprende el uso de un compuesto en un procedimiento para reducir los

niveles de LDL circulantes, y/o para aumentar la relación de HDL/LDL en un individuo que lo necesita.

En otro aspecto, los compuestos preferidos se pueden usar en un procedimiento para reducir los niveles de triglicéridos circulantes.

Composiciones farmacéuticas

Los compuestos de la presente invención se pueden formular como composiciones farmacéuticas preparadas para el almacenamiento o administración. Una composición tal normalmente comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención, en la forma apropiada, en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la presente invención dependerá de la vía de administración, el tipo de mamífero que se está tratando y las características físicas del mamífero específico en consideración. Estos factores y su relación para determinar esta cantidad se conocen bien por los profesionales expertos en las técnicas médicas. Esta cantidad y el procedimiento de administración pueden adaptarse para conseguir una eficacia óptima y pueden depender de factores tales como peso, dieta, medicación concurrente y otros factores, bien conocidos por los expertos en las técnicas médicas. Los tamaños de la dosis y el régimen de dosificación más apropiados para el uso humano pueden estar guiados por los resultados obtenidos por la presente invención y se pueden confirmar en ensayos clínicos diseñados adecuadamente. Los compuestos de la presente invención pueden ser particularmente útiles para el tratamiento de seres humanos.

Un protocolo de dosificación y tratamiento efectivo se puede determinar

por medios convencionales, a partir de una dosis baja en animales de laboratorio y luego aumentando la dosificación mientras que se controlan los efectos y también se varía sistemáticamente el régimen de dosificaciones. Se pueden tomar en consideración numerosos factores por un trabajador clínico para determinar una dosis óptima para un sujeto dado. Tales consideraciones son conocidas por los expertos.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándares. Los vehículos farmacéuticos estándares para uso terapéutico se conocen bien en la técnica farmacéutica y se describen, por ejemplo, en Pharmaceutical Sciences de Remington, Mack Publishing Co. (AR Gennaro edit. 1985). Por ejemplo, se puede usar solución salina estéril y solución regulada con fosfato a pH ligeramente ácido o fisiológico. Los agentes reguladores del pH pueden ser fosfato, citrato, acetato, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS), ácido N-tris(hidroximetil)metil-3-aminopropansulfónico (TAPS), bicarbonato de amonio, dietanolamina, histidina, que es un tampón preferido, arginina, lisina, o acetato o mezclas de los mismos. El término también abarca cualquier agente listado en la Farmacopea de los EE.UU. para su uso en animales, incluyendo los seres humanos.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal de uno cualquiera de los compuestos de la invención. Las sales incluyen sales farmacéuticamente aceptables tales como sales de adición de ácido y sales básicas. Los ejemplos de sales de adición de ácidos incluyen sales de clorhidrato, sales de citrato y sales de acetato. Los ejemplos de sales básicas incluyen sales donde el catión se selecciona a partir de metales alcalinos, tales como sodio y potasio, metales alcalinotérreos, tales como iones de calcio y

amonio $^{+}N(R^3)_3(R^4)$, donde R^3 y R^4 designan de modo independiente alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido, alquenilo C_{2-6} opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido. Otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se describen en "Remington Pharmaceutical Sciences", 17 ª edición. Ed. Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, EE.UU., 1985 y ediciones más recientes y en la Enciclopaedia of Pharmaceutical Technology.

El "tratamiento" es un enfoque para obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. Para los fines de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero sin limitación, alivio de síntomas, disminución del grado de la enfermedad, estado de enfermedad estabilizado (es decir, no empeoramiento), retraso o lentificación de la progresión de la enfermedad, mejora o paliación del estado de la enfermedad y remisión (ya sea parcial o total), bien detectable o bien indetectable. "Tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. "Tratamiento" es una intervención realizada con la intención de evitar el desarrollo o alterar la patología de un trastorno. Por consiguiente, "tratamiento" se refiere tanto al tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas en ciertas formas de realización. Los que necesitan tratamiento incluyen los que ya padecen el trastorno, así como aquellos en los que se deber evitar el trastorno. Por tratamiento se entiende la inhibición o reducción de un aumento de la patología o los síntomas (por ejemplo, aumento de peso, hiperglucemia) en comparación con la ausencia de tratamiento y no pretende implicar necesariamente el cese completo de la afección relevante.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de dosis unitarias. En tal forma, la composición se divide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosis unitaria puede ser una preparación envasada, el envase contiene cantidades discretas de las preparaciones, por ejemplo, comprimidos, cápsulas y polvos envasados en viales o ampollas. La forma de dosis unitaria puede ser también una cápsula, sello, o comprimido en sí mismo, o puede ser el número apropiado de cualquiera de estas formas envasadas. Se puede proporcionar en forma inyectable de dosis única, por ejemplo en la forma de una pluma. En ciertas formas de realización, las formas envasadas incluyen una etiqueta o prospecto con instrucciones de uso. Las composiciones se pueden formular para cualquier vía adecuada y medios de administración adecuados. Los vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen los usados en formulaciones adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica y transdérmica). Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosis unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de la farmacia.

Los modos subcutáneos o transdérmicos de administración pueden ser particularmente adecuados para los compuestos descritos en el presente documento.

Las composiciones de la invención también pueden estar compuestas en, o estar unidas a, por ejemplo a través de interacciones covalentes, hidrófobas y electrostáticas, un vehículo de fármaco, sistema de administración

de fármacos y sistema de administración de fármacos avanzado con el fin de mejorar aún más la estabilidad del compuesto, aumentar la biodisponibilidad, incrementar la solubilidad, disminuir los efectos adversos, conseguir la cronoterapia bien conocida por los expertos en la técnica y aumentar el cumplimiento del paciente o cualquier combinación de los mismos. Los ejemplos de vehículos, sistemas de administración de fármacos y sistemas de administración de fármacos avanzados incluyen, pero sin limitación, polímeros, por ejemplo celulosa y derivados, polisacáridos, por ejemplo dextrano y derivados, almidón y derivados, poli(alcohol vinílico), polímeros de acrilato y metacrilato, ácido poliláctico y poliglicólico y copolímeros de bloque de los mismos, polietilenglicoles, proteínas vehículo, por ejemplo albúmina, geles, por ejemplo, sistemas termogelificantes, por ejemplo sistemas copoliméricos en bloque bien conocidos por los expertos en la técnica, micelas, liposomas, microesferas, nanopartículas, cristales líquidos y dispersiones de los mismos, fase L2 y dispersiones de la misma, bien conocidos por los expertos en la técnica del comportamiento de fase en sistemas lípido-agua, micelas poliméricas, emulsiones múltiples, auto-emulsionantes, auto-microemulsionantes, ciclodextrinas y derivados de las mismas y dendrímeros.

Terapia de combinación

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

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

formulaciones separadas.

En consecuencia un compuesto o composición de la invención también se puede usar en combinación con un agente antiobesidad, que incluye pero sin limitación agonista del receptor del péptido similar a glucagón 1, péptido YY o análogo del mismo, antagonista del receptor de cannabinoides 1, inhibidor de la lipasa, agonista del receptor de melanocortina 4, antagonista del receptor de la hormona concentradora de melanina 1, fentermina (sola o en combinación con topiramato), una combinación de inhibidor de la recaptación de norepinefrina/dopamina y antagonista del receptor opioide (por ejemplo una combinación de bupropiona y naltrexona), o un agente serotoninérgico (por ejemplo, lorcaserina).

Un compuesto o composición de la invención se puede usar en combinación con un agente antihipertensivo, que incluye pero sin limitación un inhibidor de la enzima conversora de angiotensina, bloqueante del receptor de angiotensina II, diuréticos, beta-bloqueantes, o bloqueante del canal de calcio.

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

Además, un compuesto o composición de la invención se puede usar en combinación con un agente antidiabético, que incluye pero sin limitación una biguanida (por ejemplo, metformina), una sulfonilurea, una meglitinida o glinida (por ejemplo, nateglinida), un inhibidor de DPP-IV, un inhibidor de SGLT2, una glitazona, un agonista de GLP-1 diferente, una insulina o un análogo de insulina. En una forma de realización preferida, el compuesto o sal de este se usa en combinación con insulina o un análogo de insulina, inhibidor de DPP-IV,

sulfonilurea o metformina, en particular sulfonilurea o metformina, para lograr el control glucémico adecuado. Los ejemplos de análogos de insulina incluyen, pero sin limitación Lantus, Novorapid, Humalog, Novomix y Actraphane HM, Levemir y Apidra.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Síntesis general de análogos de glucagón

La síntesis de péptidos en fase sólida (SPPS) se realizó en un sintetizador ayudado por microondas usando la estrategia Fmoc estándar en NMP sobre una resina de poliestireno (TentaGel S RAM). HATU se usó como reactivo de acoplamiento junto con DIPEA como base. Se usó piperidina (20 % en NMP) para la desprotección. Pseudoprolinas: se usaron Fmoc-Phe-Thr (psiMe, Mepro)-OH y Fmoc-Asp-Ser (psiMe, Mepro)-OH (adquirida en NovaBiochem) cuando correspondía.

Las abreviaturas empleadas son las siguientes:

Boc: terc-butiloxicarbonilo

ivDde: 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)3-metil-butilo

Dde: 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)-etilo

DCM: diclorometano

DMF: *N,N*-dimetilformamida

DIPEA: diisopropiletilamina

EDT: 1,2-etanoditiol

EtOH: etanol

Et_2O: éter dietílico

HATU: hexafluorofosfato *N*-óxido de *N*-[(dimetilamino)-1*H*-1,2,3-

triazol[4,5-*b*]piridin-1-ilmetileno]-*N*-metilmetanaminio

MeCN: acetonitrilo

NMP: *N*-metilpirrolidona

TFA: ácido trifluoroacético

TIS: triisopropilsilano

Escisión:

El péptido en bruto se escindió de la resina por tratamiento con 95/2,5/2,5 % (v/v) de TFA/TIS/agua a temperatura ambiente (r.t) durante 2 horas. La mayor parte del TFA se eliminó a presión reducida y el péptido en bruto se precipitó y se lavó con éter dietílico y se dejó secar hasta peso constante a temperatura ambiente.

Se sintetizaron los siguientes compuestos:

1 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K([15-carboxi-pentadecanoil]-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH_2.

2 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA-NH_2

3 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH_2

4 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH_2

5 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH_2

6 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH_2

7 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH_2

8 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAHDFIEWLESA-NH2

9 H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH_2

10 H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH_2
11 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH_2
12 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-RAKDFIEWLESA-NH_2
13 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH_2
14 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH_2
15 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH_2
16 H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH_2

El análogo de GLP-1 acilado semaglutida también se sintetizó y tiene la estructura:

H-H-[2-metilo-Ala]-EGTFTSDVSSILEGQAA-K([17-Carboxi-
5 heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-EFIAWLVRGRG-OH.

Ejemplo 2: Ensayos de eficacia del receptor de glucagón y receptor de GLP-1

El ADNc que codifica bien el receptor de glucagón humano (Glucagón-
10 R) (número de acceso primario P47871) o bien el receptor del péptido 1 similar a glucagón (GLP-1R) (número de acceso primario P43220) se sintetizaron y clonaron en un vector de expresión de mamífero que contiene un marcador de resistencia a zeocina.

Los vectores de expresión de mamíferos que codifican el Glucagón-R o
15 el GLP-1-R se transfectaron en células de ovario de hámster chino (CHO) por el procedimiento de Attractene. Los clones que se expresan de forma estable se obtuvieron por selección de zeocina (250 µg/ml) después de la dilución

limitada de células resistentes a la presión de selección. Los clones celulares que expresan glucagón-R y GLP-1-R se recolectaron, propagaron y analizaron en los ensayos de eficacia de glucagón-R y GLP-1-R como se describe a continuación. Un clon que expresa glucagón-R y un clon que expresa GLP-1-R se eligieron para la caracterización de los compuestos.

Las células CHO que expresan el Glucagón-R humano, o el GLP-1-R humano se sembraron 24 horas antes del ensayo en una proporción de 30000 células por pocillo en placas de microtitulación de 96 pocillos en cultivo en 100 µl de medio de crecimiento. En el día del análisis, se eliminó el medio de cultivo y las células se lavaron una vez con 200 µl de tampón de ensayo (tampón de Krebs-Ringer-KRBH). El tampón se retiró y las células se incubaron durante 15 min a temperatura ambiente en 10 µl de KRBH (KRBH + 10 mM de HEPES, 5 mM de $NaHCO_3$, 0,1 % (V/V) de BSA) con 0,1 mM de IBMX en agua desionizada que contiene concentraciones crecientes de péptidos de ensayo. La reacción se detuvo mediante la adición de tampón de lisis (0,1 % p/v de BSA, 5 mM de HEPES, 0,3 % v/v de Tween-20). Después de la lisis celular durante 10 min a temperatura ambiente, los lisados se transfirieron a placas de 384 pocillos y se añadieron 10 µl de mezcla de perlas aceptoras/dadoras como las contenidas en el kit de ensayo de AMPc funcional AlphaScreen™. Después de una hora de incubación a temperatura ambiente en la oscuridad, el contenido de AMPc se determinó aplicando el kit de ensayo funcional de AMPc AlphaScreen™ de Perkin-Elmer de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La EC_{50} y las eficacias relativas en comparación con los compuestos de referencia (glucagón y GLP-1) se calcularon aplicando el ajuste de la curva asistido por computadora. La relación GLP-1/glucagón se calcula

como se ha definido anteriormente. Véase la Tabla 1.

Compuesto	EC50 hGCGR CHO-K1 [nM]	EC50 hGLP-1R CHO-K1 [nM]	Relación de GLP-1/ Glucagón
1	0,21 nM	0,38 nM	1,81
2	0,13 nM	1,76 nM	13,54
3	1,48 nM	0,70 nM	0,47
4	0,45 nM	0,70 nM	1,56
5	0,18 nM	0,83 nM	4,61
6	0,44 nM	1,43 nM	3,25
7	0,11 nM	0,97 nM	8,82
8	0,31 nM	0,80 nM	2,58
9	0,07 nM	0,97 nM	13,86
10	1,08 nM	0,41 nM	0,38
11	0,28 nM	0,56 nM	2,00
12	0,07 nM	0,48 nM	6,86
13	0,52 nM	0,33 nM	0,63
14	0,18 nM	0,60 nM	3,33
15	0,92 nM	0,61 nM	0,65
16	0,16 nM	0,53 nM	3,31

Tabla 1

Ejemplo 3: Actividad agonista sobre el receptor de GLP-1 endógeno

La actividad agonista de los compuestos de prueba sobre los receptores de GLP-1 endógenos se determinó usando una línea celular de insulinoma murino. Se usó AMPc intracelular un indicador de la activación del receptor.

Las células se cultivaron durante 24 horas a una densidad de 10.000 células/pocillo en una placa de 384 pocillos. Se retiró el medio y 10 µl de tampón KRBH (NaCl 130 mM, KCl 3,6 mM, NaH_2PO4 0,5 mM, $MgSO_4$ 0,5 mM, $CaCl_2$ 1,5 mM) que contiene compuesto de ensayo o GLP-1 (en concentraciones crecientes de 0,1 pM a 100 nM) o control de disolvente (0,1 %

(v/v) de DMSO) se añadieron a los pocillos durante 15 minutos a una temperatura de 26 °C.

El contenido de AMPc celular se mide usando el kit de ensayo funcional AMPc AlphaScreen (Perkin Elmer). La medición se realizó usando el Envision (PerkinElmer) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

Los resultados se convirtieron en concentraciones de AMPc usando una curva estándar de AMPc preparada en tampón KRBH que contiene 0,1 % (v/v) de DMSO. Las curvas de AMPc resultantes se representaron en gráficas como concentraciones absolutas de AMPc (NM) respecto del log (concentración de compuesto de ensayo) y se analizaron mediante el programa de ajuste de la curva XLfit.

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

pCE50 (valor logarítmico negativo de EC50, una concentración que resulta en la mitad de la elevación máxima de los niveles de AMPc, lo que refleja la potencia del compuesto de ensayo);

Porcentaje de control (CTL %) (% de elevación de AMPc para cada concentración de compuesto de ensayo normalizado sobre la base de la respuesta de AMPc máxima inducida por GLP-1 (%CTL 100)). Véase Tabla 2.

Compuesto	**EC50 [nM]**
1	0,60 nM
2	0,69 nM
3	0,15 nM
4	0,40 nM
5	0,65 nM

6	0,54 nM
7	0,47 nM
8	0,36 nM
9	0,84 nM
10	0,60 nM
11	0,72 nM
12	0,81 nM
13	0,37 nM
14	0,38 nM
15	0,25 nM
16	0,34 nM

Tabla 2.

Ejemplo 4: Actividad agonista sobre el receptor de glucagón endógeno

La actividad agonista de los compuestos de ensayo sobre el receptor de glucagón endógeno se determinó midiendo su efecto sobre la tasa de síntesis de glucógeno en los hepatocitos primarios de rata. Después de la activación del receptor de glucagón, se espera una inhibición de la velocidad de síntesis de glucógeno. Se determinó la velocidad de síntesis de glucógeno mediante el recuento de la cantidad de glucosa marcada radiactivamente incorporada en las reservas de glucógeno celulares en un período de tiempo definido.

Los hepatocitos primarios de rata se cultivaron a una densidad de 40.000 células/pocillo en una placa de 24 pocillos durante 24 horas a 37 °C y CO_2 al 5 %.

El medio se desechó y las células se lavaron con PBS. Luego se añadieron 180 µl de tampón basado en KRBH que contiene 0,1 % de BSA y glucosa a una concentración de 22,5 mM a los pocillos, seguido del compuesto de ensayo y 40 µCi/ml de glucosa D-[U14C] (20 µl cada uno). Se continuó la

incubación durante 3 horas.

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

Los lisados celulares se transfirieron a placas de filtro de 96 pocillos y el glucógeno precipitó mediante la incubación de las placas de filtro durante 120 min a 4 ° C seguido por lavado de las placas de filtro 4 veces con etanol enfriado con hielo (70 %). Los precipitados resultantes se filtraron a sequedad y la cantidad de ^{14}C-glucosa incorporada se determinó usando un contador de centelleo Topcount de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

Los pocillos con controles de vehículo (0,1 % (v/v) de DMSO en tampón KRBH) se incluyeron como referencia para la síntesis de glucógeno no inhibido (CTL al 100 %). Los pocillos sin adición de D-[U^{14}C] glucosa se incluyeron como controles para la señal de fondo no específica (se sustraen de todos los valores). Se usó el péptido glucagón endógeno como control positivo.

Todos los tratamientos se realizaron al menos por duplicado.

Los parámetros calculados para describir la potencia, así como la actividad agonista de cada compuesto de prueba en el receptor de glucagón endógeno son pCE50 y % CTL.

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

[CPM/pocillo(basal) - CPM/pocillo(muestra)]* 100/[CPM/pocillo(basal) -

CPM/pocillo(control)]

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

Las curvas de actividad resultantes se representaron en gráficas como recuentos absolutos (unidad: cpm/muestra) respecto del log (concentración del compuesto de ensayo) y se analizaron usando el programa de ajuste de la curva XLfit.

pCE_{50} (valor logarítmico negativo de EC_{50}) refleja la potencia del compuesto de ensayo.

Compuesto	**EC_{50} [nM]**
1	0,85 nM
2	0,11 nM
3	0,94 nM
4	1,79 nM
5	0,21 nM
6	0,80 nM
7	0,34 nM
8	0,29 nM
9	0,11 nM
10	1,53 nM
11	0,95 nM
12	0,45 nM
13	0,43 nM
14	0,19 nM
15	3,63 nM
16	0,19 nM

Tabla 3.

Los términos EC_{50} y pEC_{50} citados en relación con la activación de GLP-

1R se pueden considerar igualmente como IC_{50} y pIC_{50} en relación con la síntesis de glucógeno.

Ejemplo 5: Estimación de los parámetros farmacocinéticos

Los parámetros farmacocinéticos de los compuestos de prueba se determinaron después de la administración intravenosa a ratas Han/Wistar. El análogo GLP-1 acilado semaglutida también fue analizado para fines comparativos.

Las ratas Wistar macho se obtuvieron de Charles River (Alemania) con un peso aproximado de 180 a 210 g en el momento de la llegada a la instalación de ensayo. Las ratas se enjaularon en las jaulas de rata estándares europeas tipo IV con un ciclo de luz de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Durante el estudio, las ratas se alojaron en jaulas de ratas estándares de tipo III. Se administraron la dieta Altromin 1324 (Altromin, Alemania) y agua ad libitum durante todo el período experimental. Los animales se alojaron en la instalación de ensayo durante al menos 4 días a fin de asegurar una adecuada aclimatación.

Los compuestos se disolvieron primero en amoniaco acuoso al 0,1 % a una concentración nominal de 2 mg/ml y a continuación se diluyeron a la concentración de dosis deseada (10 µM) en PBS estéril que contiene 25 mM de tampón fosfato, pH 7,4. Las inyecciones intravenosas correspondientes a 20 nmol/kg se administraron a través de una vena lateral de la cola.

Las muestras de sangre (200 µl) se recolectaron desde el plexo periorbital en puntos temporales 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 32 y 48 h después de la dosificación en tubos de K_3EDTA y se centrifugaron durante 5

minutos a 4 °C en 20 minutos de muestreo. Las muestras de plasma (>100 µl) se transfirieron a placas de 96 pocillos de PCR, se congelaron inmediatamente y se mantuvieron a -20 °C hasta que se analizaron para determinar la concentración de plasma para el compuesto de GLP-1-glucagón respectivo usando CL-EM/EM. Los perfiles de concentración-tiempo en plasma individual se analizaron mediante un enfoque no compartimental usando ToxKin™ versión 3.2 (Unilog Servicios TI) y se determinaron los parámetros farmacocinéticos resultantes. Véase Tabla 4.

Compuesto	Depuración (ml/min/kg)	Semivida terminal (h)	Tiempo de residencia medio (h)
2	0,11	9,1	13,6
3	0,056	23,4	28,7
4	0,11	13,7	17,6
Semaglutida	0,10	9,0	11,4

Tabla 4.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula:

R^1-P^1-P^2-R^2

en el que

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

R^2 es OH o NH_2;

P^1 es un péptido que tiene la secuencia:

H-X2-X3-GTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA

en el que:

X2 se selecciona de Aib, Ala, D-Ala, Ser, N-Me-Ser, Ac3c, Ac4c y Ac5c;

X3 se selecciona de Gln e His;

P^2 está ausente o es una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr y Orn;

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables;

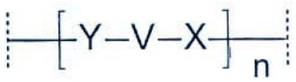
Ψ es un residuo de Lys, Arg, Orn o Cys en el que la cadena lateral está conjugada a un sustituyente que tiene la fórmula $-Z^2$-Z^1;

$-Z^1$ es una cadena grasa que tiene un grupo polar en un extremo de la cadena y una conexión a Z^2, –X– en el extremo de la cadena distal del grupo polar,

en el que el grupo polar comprende un grupo ácido carboxílico o un bioisóstero del ácido carboxílico, un ácido fosfónico o un ácido sulfónico;

y –X– es un enlace, –CO–, –SO–, o $-SO_2-$;

$-Z^2-$ es un espaciador de fórmula:



en el que:

cada Y es de modo independiente –NH, –NR, –S o –O, donde R es alquilo, un grupo protector o forma una unión con otra parte del espaciador Z^2;

cada X es de modo independiente un enlace, CO–, SO–, o SO_2–;

con la condición de que cuando Y es –S, X es un enlace;

cada V es de modo independiente un resto orgánico bivalente que une Y y X;

y n es 1-10;

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 donde P^1 tiene la secuencia:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 que es:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDSΨAAHDFVEWLLSA-NH_2

4. Un compuesto que tiene la fórmula:

R^1-P^1-P^2-R^2

en el que

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

R^2 es OH o NH_2;

P^1 es un péptido que tiene la secuencia:

His-X2-X3-GTFTSDYSKYL-X15-X16-X17-X18-A-X20-DFI-X24-WLE-X28-A

en el que:

X2 se selecciona de Aib, Ac3c, Ac4c y Ac5c;

X3 se selecciona de Gln e His;

X15 se selecciona de Asp y Glu;

X16 se selecciona de Glu y Ψ;

X17 se selecciona de Arg y Ψ;

X18 se selecciona de Ala y Arg;

X20 se selecciona de Lys e His;

X24 se selecciona de Glu y Ψ;

X28 se selecciona de Ser y Ψ;

y P^2 está ausente o es una secuencia de 1-20 unidades de aminoácidos seleccionados de modo independiente del grupo que consiste en Ala, Leu, Ser, Thr, Tyr, Cys, Glu, Lys, Arg, Dbu, Dpr y Orn;

donde el compuesto contiene un y solo un Ψ

y donde dicho Ψ es un residuo de Lys, Arg, Orn o Cys en el que la cadena lateral está conjugada con un sustituyente que tiene la fórmula $-Z^2Z^1$;

$-Z^1$ es una cadena grasa que tiene un grupo polar en un extremo de la cadena y una conexión a Z^2, –X– en el extremo de la cadena distal del grupo polar,

en el que el grupo polar comprende un grupo ácido carboxílico o un bioisóstero de ácido carboxílico, un ácido fosfónico o un ácido sulfónico;

y –X– es un enlace, –CO–, –SO–, o $-SO_2-$;

$-Z^2-$ es un espaciador de fórmula:



en el que:

cada Y es de modo independiente –NH, –NR, –S o –O, donde R es alquilo, un grupo protector o forma una unión con otra parte del espaciador Z^2;

cada X es de modo independiente un enlace, CO–, SO–, o SO_2–;

con la condición de que cuando Y es –S, X es un enlace;

cada V es de modo independiente un resto orgánico bivalente que une Y y X;

y n es 1-10;

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 en el que:

X2 se selecciona de Aib y Ac4c;

X3 es Gln;

X15 se selecciona de Asp y Glu;

X16 es Ψ;

X17 es Arg;

X18 es Ala;

X20 se selecciona de Lys e His;

X24 es Glu;

X28 es Ser.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 o la reivindicación 5 en el que:

X2 es Ac4c y X20 es Lys;

X2 es Aib y X20 es His.

7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6 en el que

X2 es Aib si X15 es E; o

X15 es D si X2 es Ac4c.

8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 7 en el que P^1 tiene una secuencia seleccionada de:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA y

H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAHDFIEWLESA.

9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 8 que se selecciona de:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDΨRAAKDFIEWLESA-NH_2 y

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLEΨRAAHDFIEWLESA-NH_2.

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 en el que:

X2 se selecciona de Aib y Ac4c;

X3 se selecciona de Gln e His;

X15 es Asp;

X16 es Glu;

X17 se selecciona de Arg y Ψ;

X18 se selecciona de Ala y Arg;

X20 es Lys;

X24 se selecciona de Glu y Ψ;

X28 se selecciona de Ser y Ψ.

11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 10 en el que, cuando X28 es Ψ, X2 es Ac4c.

12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 10 en el que, cuando X3 es His, X2 es Ac4c y X17 es Ψ.

13. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 10 en el que P^1 tiene una secuencia seleccionada de:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA

H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIΨWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLEΨA y

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEΨA.

14. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 13 que se selecciona de:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDEΨRAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIΨWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIΨWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLEΨA-NH_2 y

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLEΨA-NH_2.

15. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 en el que $-Z^1$ es un grupo acilo de fórmula:

A–B–Alq–(CO)–

o un grupo sulfonilo de fórmula:

A–B–Alq–(SO_2)–;

A es –COOH o un bioisóstero de ácido carboxílico;

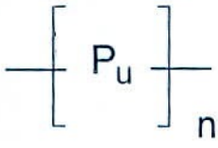
B es un enlace, arileno C_6 o arileno C_6–O–;

Alq es una cadena grasa saturada o insaturada de 6 a 18 átomos de carbono de longitud, opcionalmente sustituida con uno o varios sustituyentes seleccionados de fluoro, alquilo C_{1-4}, trifluorometilo, hidroximetilo, amino, hidroxilo, alcoxi C_{1-4}, oxo y carboxilo;

$-Z^2-$ es $-S_A-$, $-S_A-S_B-$, o $-S_B-S_A-$;

$-S_A-$ es un residuo de aminoácido único seleccionado de γ-Glu, α-Glu, α-Asp, β-Asp, Ala, β-Ala (ácido 3-aminopropanoico) y Gaba (ácido 4-aminobutanoico);

$-S_B-$ es un engarce de fórmula general:

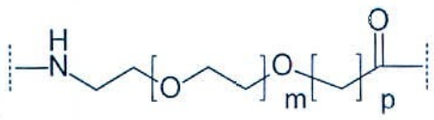


en la que n es 1–10 y cada P_U se selecciona de modo independiente de P_U^i y P_U^{iii};

cada P_U^i es de modo independiente un residuo de aminoácido natural o

no natural; y

cada P_U^{iii} es de modo independiente un residuo de fórmula general:



en la que m es 0–5 y p es 1, 3, 4 o 5.

16. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 en el que Z^1-Z^2 se selecciona de:

(i) [17-Carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3;

(ii) [17-Carboxi-heptadecanoil]-isoGlu

(iii) [13-Carboxi-tridecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3;

(iv) [Carboxifenoxinonanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3;

(v) [13-Carboxi-tridecanoil]-isoGlu-Peg4-Peg4;

(vi) [17-Carboxi-heptadecanoil]-Peg3-Peg3-isoGlu;

(vii) [17-Carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG; y

(viii) [17-Carboxi-heptadecanoil]-AA-Peg3-Peg3.

17. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que P1 tiene la secuencia:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K([15-carboxi-pentadecanoil]-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA.

18. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 17 que es:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDS-K([15-carboxi-pentadecanoil]-isoGlu)-AAHDFVEWLLSA-NH_2.

19. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 7 en el que Z^2-Z^1 es [17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3 o [17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG.

20. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 10 o la reivindicación 12 en el que, cuando X17 es Ψ, Z^2Z^1 es [17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3 o [17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu.

21. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 10 o la reivindicación 11 en el que, cuando X24 o X28 es Ψ, Z^2Z^1 es [17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG.

22. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 8 en el que P^1 tiene una secuencia seleccionada de:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA y

H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAHDFIEWLESA.

23. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 22 que se selecciona de:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-

GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLD-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-RAAKDFIEWLESA-NH_2 y

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAAHDFIEWLESA-NH2.

24. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, en el que P^1 tiene una secuencia seleccionada de:

H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-RAKDFIEWLESA H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA

H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-A y

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE-K([17-carboxi-

heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH_2.

25. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 24 que se selecciona de:

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-HGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-Peg3-Peg3)-RAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-AAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu)-RAKDFIEWLESA-NH_2

H-H-Aib-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFI-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-WLESA-NH_2

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERAAKDFIEWLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH_2 y

H-H-Ac4c-QGTFTSDYSKYLDERRAKDFIEWLE-K([17-carboxi-heptadecanoil]-isoGlu-GSGSGG)-A-NH_2

26. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en combinación con un

vehículo.

27. Una composición de acuerdo con la reivindicación 26 en la que la composición es una composición farmacéutica y el vehículo es un vehículo farmacéuticamente aceptable.

28. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25 para usar en un procedimiento de tratamiento médico.

29. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25 para usar en un procedimiento para impedir el aumento de peso o para promover la pérdida de peso en un individuo que lo necesita.

30. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25 para usar en un procedimiento para reducir los niveles de LDL circulantes y/o para aumentar la relación HDL/LDL en un individuo que lo necesita.

31. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25 para usar en un procedimiento de tratamiento de una afección causada o caracterizada por exceso de peso corporal.

32. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25 para usar en un procedimiento de prevención o tratamiento de obesidad, obesidad mórbida, obesidad mórbida antes de la cirugía, inflamación ligada a la obesidad, enfermedad de la vesícula biliar ligada a la obesidad, apnea del sueño inducida por la obesidad, diabetes, síndrome metabólico, hipertensión, dislipidemia aterogénica, aterosclerosis, arteriosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, enfermedad arterial periférica, accidente cerebrovascular o enfermedad microvascular.

33. Un compuesto para usar de acuerdo con una cualquiera de las

reivindicaciones 29 a 32 en el que el compuesto se administra como parte de una terapia de combinación junto con un agente para el tratamiento de diabetes, obesidad, dislipidemia o hipertensión.

34. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 33 en el que el agente para el tratamiento de diabetes es una biguanida (por ejemplo, metformina), una sulfonilurea, una meglitinida o una glinida (por ejemplo, nateglinida), un inhibidor de DPP-IV, un inhibidor de SGLT2, una glitazona, un agonista de GLP-1 diferente, una insulina o un análogo de insulina.

35. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 33, en el que el agente para el tratamiento de la obesidad es un agonista del receptor del péptido tipo glucagón 1, un agonista del receptor de péptido YY o análogo de este, un antagonista del receptor de cannabinoides 1, un inhibidor de la lipasa, un agonista del receptor de melanocortina 4, un antagonista del receptor de la hormona concentradora de melanina 1, una fentermina, una combinación de inhibidor de la recaptación de norepinefrina/dopamina y un antagonista del receptor de opioides (por ejemplo, una combinación de fentermina y topiramato), una combinación de bupropiona y naltrexona, o un agente serotoninérgico.

36. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 33 en el que el agente para el tratamiento de hipertensión es un inhibidor de la enzima conversora de angiotensina, bloqueante del receptor de angiotensina II, diurético, beta-bloqueante o bloqueante del canal de calcio.

37. Un compuesto para usar de acuerdo con la reivindicación 33 en el que el agente para el tratamiento de dislipidemia es una estatina, un fibrato, una niacina y/o un inhibidor de la absorción del colesterol.

38. Un kit terapéutico que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25 o una composición de acuerdo con las reivindicaciones 26 o 27.

39. Un procedimiento de síntesis de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25.

40. Un procedimiento para producir un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, comprendiendo el procedimiento expresar una secuencia peptídica del precursor de una construcción de ácido nucleico que codifica el péptido precursor, recuperar el producto de expresión y modificar el péptido precursor para producir un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25.

41. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 40 que comprende modificar el péptido precursor para introducir el sustituyente en el residuo Ψ.

RESUMEN

ANÁLOGOS DE GLUCAGÓN ACILADOS

La invención proporciona materiales y procedimientos para el tratamiento de la obesidad y del exceso de peso, diabetes y otros trastornos metabólicos asociados. En particular, la invención proporciona nuevos péptidos análogos de glucagón acilados efectivos en tales procedimientos. Los péptidos pueden mediar su efecto al tener mayor selectividad para el receptor de GLP-1 en comparación con el glucagón humano.

83

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO TEMATICO

PATENTE DE INVENCION __X__ PCT __X__ MODELO DE UTILIDAD ___ DISEÑO INDUSTRIAL ___

(21) N°de solicitud: (22) Fecha de solicitud:
(51) Clasificación Internacional:

(71)Solicitante(s) **ZEALAND PHARMA A/S; BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH**

(72)Inventor(es): **RIBER, Ditte; TOLBORG, Jakob Lind; HAMPRECHT, Dieter Wolfgang; RIST, Wolfgang**

(74) Apoderado: **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

Prioridad	(31) *No. Prioridad*	32) *Fecha*	(33) *País*
	61/892,256	**17/10/2013**	**US**

(85) Fecha límite inicio fase nacional: **17/05/2016**
(86) Datos relativos a la presentación de la solic. PCT
Fecha de presentación de la solicitud: **17/10/2014**
No. de solicitud **PCT/EP2014/072293**

(87) Publicación internacional:
Fecha: **23/04/2015**
No.Publicación: **WO2015/055801 A1**

(54) Titulo: **ANÁLOGOS DE GLUCAGÓN ACILADOS**

(57) Resumen: La invención proporciona materiales y procedimientos para el tratamiento de obesidad y exceso de peso, diabetes y otros trastornos metabólicos asociados. En particular, la invención proporciona péptidos análogos de glucagón novedosos eficaces en dichos procedimientos. Los péptidos pueden mediar su efecto al tener una selectividad aumentada por el receptor de GLP-1 en comparación con el glucagón humano.

CONTINUA AL RESPALDO

34

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION _X_ PCT _X__ MODELO DE UTILIDAD __ DISEÑO INDUSTRIAL __

(21) N° de solicitud: (22) Fecha de solicitud:
(51) Clasificación Internacional :

(71)Solicitante(s) **ZEALAND PHARMA A/S; BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH**

(72) Inventor(es) **RIBER, Ditte; TOLBORG, Jakob Lind; HAMPRECHT, Dieter Wolfgang; RIST, Wolfgang**

(74) Apoderado: **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

(30) Prioridad	(31)	*No. Prioridad*	(32)	*Fecha*	(33)	*País*
		61/892,256		**17/10/2013**		**US**

(85) Fecha inicio fase nacional: **17/05/2016**
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT
Fecha de presentación de la solicitud: **17/10/2014**
No. de solicitud **PCT/EP2014/072293**

Publicación internacional
Fecha: **23/04/2015** Fecha (dd/mm/aa)
N° publicación: **WO2015/055801 A1**

(54) Titulo: **ANÁLOGOS DE GLUCAGÓN ACILADOS**

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION - PCT

(21) N° de solicitud:
22) Fecha de solicitud:

(51) Int Cl:

(71)Solicitante (s): **ZEALAND PHARMA A/S; BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH**

(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)	Fecha	(33) País
		61/892,256		**17/10/2013**	**US**

(72) Inventor(es): **RIBER, Ditte**
TOLBORG, Jakob Lind
HAMPRECHT, Dieter Wolfgang
RIST, Wolfgang

(74) Apoderado: **JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS**

(85) Fecha limite inicio fase nacional: **17/05/2016**

Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT
Fecha de presentación de la solicitud: **17/10/2014**
No. de solicitud: **PCT/EP2014/072293**

(87)Publicación Fecha: **23/04/2015** Internacional Fecha (dd/mm/aa)

N° publicación: **WO2015/055801 A1**

(54) Titulo: **ANÁLOGOS DE GLUCAGÓN ACILADOS**

Resumen

La invención proporciona materiales y procedimientos para el tratamiento de la obesidad y del exceso de peso, diabetes y otros trastornos metabólicos asociados. En particular, la invención proporciona nuevos péptidos análogos de glucagón acilados efectivos en tales procedimientos. Los péptidos pueden mediar su efecto al tener mayor selectividad para el receptor de GLP-1 en comparación con el glucagón humano.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

86

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 16 - 0020600

Bogotá D.C., Marzo 03 de 2016 - 12:52:52

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA NI 800.020.909

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	453666662	03/03/2016	4.550.100.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	80.000.00	80.000.00
				$80.000.00

SON: **OCHENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-********-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 16-089238- -00000-0000
Fecha: 2016-04-08 15:53:42 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 88

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

87

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 16 - 0033313

Bogotá D.C., Abril 08 de 2016 - 10:37:48

RECIBIDO DE : MARIO DELGADO ECHEVERRY E HIJOS LTDA NI 800.020.909 RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
RECIBO DE CA	SIC ** RECIBO **	999999999	5106	21/01/2016	80.000.00
RECIBO DE CA	SIC ** RECIBO **	999999999	9495	03/02/2016	164.000.00
RECIBO DE CA	SIC ** RECIBO **	999999999	9496	03/02/2016	164.000.00
RECIBO DE CA	SIC ** RECIBO **	999999999	9497	03/02/2016	164.000.00
RECIBO DE CA	SIC ** RECIBO **	999999999	9498	03/02/2016	164.000.00
RECIBO DE CA	SIC ** RECIBO **	999999999	9499	03/02/2016	164.000.00
RECIBO DE CA	SIC ** RECIBO **	999999999	25752	15/03/2016	340.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
31	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICIALES	40.000.00	1.240.000.00
				$1.240.000.00

SON: **UN MILLON DOSCIENTOS CUARENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-***-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 16-089238- -00000-0000
Fecha: 2016-04-08 15:53:42 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 88

85
88

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	LISTA DE CHEQUEO ADMISIÓN A TRÁMITE – NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCIÓN ☐ 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 INVENCIÓN 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 ☐