

TÍTULO DE LA INVENCION

COAGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE GLUCAGÓN Y DE GLP-1

REFERENCIA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5

REFERENCIA AL LISTADO DE SECUENCIAS PRESENTADO ELECTRÓNICAMENTE

El listado de secuencias de la presente solicitud se presenta electrónicamente a través de EFS-Web como un listado de secuencias con formato ASCII con el nombre de archivo “23848_US_PSP-2_SEQLIST_13AUG2015.txt”, fecha de creación de 13 de agosto de 2015, y un tamaño de 13,5 Kb. Este listado de secuencias presentado a través de EFS-Web es parte de la memoria descriptiva y se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

(1) Campo de la invención

15

La presente invención se refiere a análogos peptídicos de glucagón, que se han modificado para que sean resistentes a la escisión e inactivación por dipeptidilpeptidasa IV (DPP-IV) y para incrementar la semivida *in vivo* del análogo peptídico mientras que permite que el análogo peptídico tenga una actividad agonista relativamente equilibrada en el receptor del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) y en el receptor de glucagón (GCG), y al uso de dichos coagonistas de receptor de GLP-1/receptor de GCG para el tratamiento de trastornos metabólicos tales como diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) y obesidad.

20

(2) Descripción de la técnica relacionada

25

El preproglucagón es un polipéptido precursor de 158 aminoácidos que se procesa en diferentes tejidos para formar varios péptidos derivados de proglucagón diferentes, incluyendo glucagón, péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), péptido similar al glucagón 2 (GLP-2) y oxintomodulina (OXM), que están implicados en una amplia variedad de funciones fisiológicas, incluyendo homeostasis de la glucosa, secreción de insulina, vaciado gástrico y crecimiento intestinal, así como la regulación de la ingesta de alimento. El glucagón es un péptido de 29 aminoácidos que se corresponde con los aminoácidos de 33 a 61 del

30

preproglucagón, mientras que el GLP-1 se produce como un péptido de 37 aminoácidos que se corresponde con los aminoácidos de 72 a 108 del preproglucagón. La amida de GLP-1 (7-36) o el ácido de GLP-1 (7-37) son formas biológicamente potentes de GLP-1, que demuestran una actividad esencialmente equivalente en el receptor de GLP-1.

5 Durante la hipoglucemia, cuando la glucemia desciende por debajo de lo normal, el glucagón transmite señales al hígado para que degrade glucógeno y libere glucosa, lo que provoca que la glucemia se eleve hacia una concentración normal. La hipoglucemia es un efecto secundario común del tratamiento con insulina en pacientes con hiperglucemia (concentraciones elevadas de glucosa en sangre) debido a la diabetes. Por tanto, el papel más reconocido del glucagón en la regulación de la glucosa es el de contrarrestar la acción de la insulina y mantener la glucemia.

El GLP-1 tiene actividades biológicas diferentes en comparación con el glucagón. Sus acciones incluyen la estimulación de la síntesis y secreción de insulina, la inhibición de la secreción de glucagón y la inhibición de la ingesta de alimento. Se ha demostrado que el GLP-1 reduce la hiperglucemia en diabéticos. La exendina-4, un péptido del veneno de lagarto que comparte una identidad aminoacídica de aproximadamente un 50 % con el GLP-1, activa el receptor de GLP-1 y asimismo se ha demostrado que reduce la hiperglucemia en diabéticos.

También existen pruebas de que el GLP-1 y la exendina-4 pueden reducir la ingesta de alimento y promover la pérdida de peso, un efecto que sería beneficioso no sólo para los diabéticos sino también para pacientes que padecen obesidad. Los pacientes con obesidad tienen un mayor riesgo de diabetes, hipertensión, hiperlipidemia, cardiovascularopatía y enfermedades musculoesqueléticas.

El glucagón es una hormona peptídica relacionada estructuralmente con el GLP-1 que es muy reconocido por su aguda capacidad para incrementar la glucemia a través de la estimulación de la glucogenolisis y gluconeogénesis (Jiang & Zhang, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 284: E671–E678 (2003)). De menor estimación son los efectos crónicos de la farmacología del glucagón caracterizados por incrementos en termogénesis, saciedad, lipólisis, oxidación de ácidos grasos y cetogénesis (Habegger *et al.*, *Nat. Rev. Endocrinol.* 6: 689–697 (2010)). Se informó por primera vez hace décadas de que la administración repetida de glucagón proporcionaba mejoras en el metabolismo de roedores, acompañado de menor peso corporal (Salter, *Am. J. Clin. Nutr.* 8: 535–539 (1960)). No obstante, el riesgo inherente de hiperglucemia,

en especial en estados resistentes a la insulina tales como T2DM, ha complicado la aplicación de estas observaciones al estudio en humanos.

La hormona oxintomodulina (OXM, glucagón-37) es un producto postraducciona del procesamiento de preproglucagón en el intestino y sistema nervioso central (SNC) y se secreta de células L en el intestino en respuesta a la ingestión de alimento. Descubierta en 1983, la OXM se ha implicado en la regulación de la ingesta de alimento y en el gasto calórico (Jarrouse *et al.*, Endocrinol. 115: 102-105 (1984); Schjoldager *et al.*, Eur. J. Clin. Invest., 18: 499-503 (1988)). La administración central o periférica de la OXM en ratas provoca una disminución en la ingesta de alimento a corto plazo con efectos mínimos en el vaciado gástrico (Dakin *et al.* Endocrinology, 142: 4244-4250 (2001), Dakin *et al.* Endocrinology, 145: 2687-2695 (2004)). La administración intracerebroventricular repetida de OXM en ratas da como resultado una elevación en las temperaturas de núcleo y una reducción en la ganancia de peso en comparación con los animales del grupo de ingesta similar (*pair-feed*), lo que sugiere efectos sobre tanto la ingesta calórica como el gasto calórico (Dakin *et al.* Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., 283: E1173-E1177 (2002)).

En estudios relacionados, la administración periférica de OXM inhibió de forma dependiente de la dosis la ingesta de alimento tanto inducida por ayuno como en la fase de oscuridad, pero a diferencia del GLP-1, no tuvo ningún efecto en el vaciado gástrico. La OXM también redujo las concentraciones de grelina en ayunas e incrementó la inmunorreactividad de c-fos, en el núcleo arqueado (ARC). La administración ip repetida cada siete días de OXM provocó una reducción en la tasa de ganancia de peso corporal y la adiposidad en ratas (Véase Dakin *et al.* Endocrinology, 145: 2687-2695 (2004)).

Los estudios de la acción de OXM en ratones han demostrado que, aunque la OXM puede activar ambos receptores de glucagón (GCG) y de GLP-1, las acciones anorexígenas de OXM sólo requieren el receptor de GLP-1, ya que la OXM icv inhibe la ingesta de alimento en ratones inactivados para el receptor de glucagón. Sin embargo, los efectos anorexígenos de OXM están ausentes completamente en ratones inactivados para el receptor de GLP-1. Además, la exendina-4, pero no la OXM, regula el gasto calórico en ratones. Por tanto, parece que la OXM es un agonista débil en el receptor de GLP-1, cuando se usa en concentraciones farmacológicas (Véase Baggio *et al.*, Gastroenterol. 127: 546-58 (2004)). También se descubrió que la OXM mejora la tolerancia alterada a la glucosa en ratones

alimentados con una dieta de alto contenido en grasas (Dakin *et al.*, Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 294: E142-E147 (2008)) e incrementa la frecuencia cardiaca intrínseca en ratones independiente del receptor de GLP-1 (Sowden *et al.*, Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 292: R962-R970 (2007)). También se ha demostrado que la OXM afecta

- 5 diferencialmente al reclutamiento de la beta-arrestina por el receptor de GLP-1 y a la señalización a través de G-alfa (Jorgensen *et al.*, J. Pharma. Exp. Therapeut. 322: 148-154 (2007)) y afecta diferencialmente a la activación neuronal hipotalámica después de inyección por vía periférica de OXM (Choudhri *et al.*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 350: 298-306 (2006)).
- 10 En seres humanos, una única infusión intravenosa de 90 minutos de OXM en sujetos sanos con peso normal redujo los índices de hambre y la ingesta de alimento en una comida de bufé aproximadamente en un 19 %. La ingesta calórica de doce horas acumulada se redujo aproximadamente en un 11 % sin ningún informe de náuseas o cambios en el sabor agradable del alimento (Cohen *et al.*, J. Clin. Endocrinol. Metab., 88: 4696-4701 (2003);
- 15 Lykkegaard *et al.*, ADA Scientific Sessions, Abstract #1506-P (2003)). Más recientemente, inyecciones preprandiales de OXM durante un periodo de cuatro semanas en voluntarios sanos obesos (IMC de aproximadamente 33) dieron lugar a una reducción significativa en la ingesta calórica el primer día de tratamiento (aproximadamente un 25 %) que se mantuvo durante el transcurso del estudio (reducción de un 35 % después de cuatro semanas) (Wynne *et al.*,
- 20 Diabetes 54: 2390-2395 (2005)). Se observó una pérdida de peso consistente al final del estudio en los sujetos tratados (1,9 %, corregido con placebo). Las concentraciones plasmáticas de OXM fueron similares a las observadas en el estudio de infusión (concentración máxima de aproximadamente 950 pM). La ausencia de cualquier taquifilaxia y una baja incidencia de náuseas leves y transitorias (aproximadamente un 3 %) a pesar las dosis relativamente altas
- 25 necesarias por la mala estabilidad *in vivo* de la OXM ($t_{1/2}$ en plasma < 12 minutos) hace de esta hormona una de las pocas dianas para la obesidad tanto con validación humana como con un perfil de tolerabilidad atractivo.

- La OXM tiene una semivida muy corta y se inactiva rápidamente por la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) de la superficie celular (Zhu *et al.*, J. Biol. Chem. 278: 22418-22423
- 30 (2002)). Sin embargo, los inhibidores de la DPP-IV son neutrales respecto al peso en la clínica, lo que sugiere que se requieren concentraciones suprafisiológicas de OXM (900-1000 pM) para

lograr una pérdida de peso en seres humanos. Los análogos peptídicos de OXM para inducir una pérdida de peso en seres humanos han sido el objeto de las solicitudes internacionales publicadas n.º WO03/022304, WO2004/062685, WO2006/134340 y WO2010/096052.

Recientemente, dos publicaciones independientes y simultáneas informaron de que el uso de coagonistas de receptor de GLP-1/receptor de GCG relativamente equilibrados es de eficacia y seguridad potenciadas en relación con agonistas de GLP1R puros en el tratamiento de la obesidad en roedores, con una mejora simultánea en el control glucémico (Day *et al.*, Nat. Chem. Biol. 5: 749–757 (2009); Pocai *et al.*, Diabetes 58: 2258–2266 (2009)). De importancia relacionada es el trabajo con oxintomodulina (OXM), un precursor endógeno de glucagón, que se secreta posprandialmente por células L del yeyuno-íleon junto con GLP-1 (Holst, Regul. Pept. 93: 45–51 (2000); Drucker, Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab. 1: 22-31 (2005)).

Se han divulgado análogos peptídicos de glucagón y derivados modificados para tener varios grados de actividad en el receptor de GLP-1 y receptor de GCG en las solicitudes internacionales publicadas n.º WO2008/1010017, WO2009/155258, WO2011/075393, WO2012/177444 y WO2012/177443. En los mismos se informó de que algunos de los análogos peptídicos de glucagón divulgados tienen actividad tanto en el receptor de GLP-1 como en receptor de GCG; sin embargo, sigue existiendo la necesidad de obtener péptidos coagonistas que tengan una actividad o potencia relativamente equilibrada en el receptor de GLP-1 y receptor de GCG.

BREVE SUMARIO DE LA INVENCION

La invención proporciona péptidos que son agonistas del receptor de glucagón (GCG) y del receptor del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) y tienen una actividad o potencia relativamente equilibrada en ambos receptores. Normalmente, el glucagón natural tiene aproximadamente un 1 % de la actividad de GLP-1 natural en el receptor de GLP-1. Sin embargo, los péptidos coagonistas de receptor de GCG/receptor de GLP-1 de la invención tienen una actividad o potencia relativamente equilibrada en el receptor de GCG y receptor de GLP-1. En aspectos particulares, los péptidos coagonistas de receptor de GCG/receptor de GLP-1 tienen una CE₅₀ de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 1,04 nM en el receptor de GCG y una CE₅₀ de aproximadamente 0,03 a aproximadamente 1,3 nM en el receptor de GLP-1. En

aspectos particulares, los péptidos coagonistas de receptor de GCG/receptor de GLP-1 tienen una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0±0,12. Los péptidos en el presente documento son útiles para el tratamiento de trastornos metabólicos, tales como pero sin limitarse a, diabetes (por ejemplo, diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2 o diabetes gestacional), hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) y/u obesidad.

En un modo de realización general, los péptidos coagonistas de receptor de GCG/receptor de GLP-1 de la presente invención comprenden la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural (SEQ ID NO:1), pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina, L-alanina, ácido α -aminoisobutírico (Aib) o ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E) o (ii) para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y puede incluir hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en los que los péptidos coagonistas de receptor de GCG/receptor de GLP-1 tienen una actividad relativamente equilibrada en el receptor de GCG y receptor de GLP-1, y, opcionalmente, un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En modos de realización particulares, la presente invención proporciona un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos

HX₂QGTX₆TSDX₁₀SX₁₂YLX₁₅X₁₆RX₁₈AQDFVQWLX₂₇DT (SEQ ID NO:20)

En la que X₂ es D-serina, L-alanina, ácido α -aminoisobutírico (Aib) o ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico; X₆ es L-fenilalanina, para-fluoro fenilalanina o treo- β -fenilserina; X₁₀ es L-lisina o para-aminometilfenilalanina; X₁₂ es L-lisina o L-leucina; X₁₅ es ácido L-glutámico

o L-leucina; X₁₆ es L-alanina, Aib, ácido L-glutámico o L-valina; X₁₈ es L-alanina o L-arginina; X₂₇ es L-leucina, metionina-sulfona o L-norleucina; el aminoácido en la posición 10 está conjugado con un grupo palmitoilo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γE) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γEγE); y, el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En modos de realización particulares, el péptido tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19.

En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0±0,12.

En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de 0,88, 0,89, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93, 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99, 1,00, 1,01, 1,02, 1,03, 1,04, 1,05, 1,06, 1,07, 1,08, 1,09 o 1,10.

La presente invención proporciona además una composición que comprende un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos

HX₂QGTX₆TSDX₁₀SX₁₂YLX₁₅X₁₆RX₁₈AQDFVQWLX₂₇DT (SEQ ID NO:20)

En la que X₂ es D-serina, L-alanina, ácido α-aminoisobutírico (Aib) o ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico; X₆ es L-fenilalanina, para-fluorofenilalanina o treo-β-fenilserina; X₁₀ es L-lisina o para-aminometilfenilalanina; X₁₂ es L-lisina o L-leucina; X₁₅ es ácido L-glutámico o L-leucina; X₁₆ es L-alanina, Aib, ácido L-glutámico o L-valina; X₁₈ es L-alanina o L-arginina; X₂₇ es L-leucina, metionina-sulfona o L-norleucina; el aminoácido en la posición 10

está conjugado con un grupo palmitoilo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; y, un vehículo farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En modos de realización particulares, el péptido tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19.

En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12.

En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de 0,88, 0,89, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93, 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99, 1,00, 1,01, 1,02, 1,03, 1,04, 1,05, 1,06, 1,07, 1,08, 1,09 o 1,10.

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos

HX₂QGTX₆TSDX₁₀SX₁₂YLX₁₅X₁₆RX₁₈AQDFVQWLX₂₇DT (SEQ ID NO:20)

En la que X₂ es D-serina, L-alanina, ácido α -aminoisobutírico (Aib) o ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico; X₆ es L-fenilalanina, para-fluorofenilalanina o treo- β -fenilserina; X₁₀ es L-lisina o para-aminometilfenilalanina; X₁₂ es L-lisina o L-leucina; X₁₅ es ácido L-glutámico o L-leucina; X₁₆ es L-alanina, Aib, ácido L-glutámico o L-valina; X₁₈ es L-alanina o L-arginina; X₂₇ es L-leucina, metionina-sulfona o L-norleucina; el aminoácido en la posición 10 está conjugado con un grupo palmitoilo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo

carboxi C-terminal del péptido; y, un vehículo farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En modos de realización particulares, el péptido tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19.

5 En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de
10 aproximadamente 1,0±0,12.

En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de 0,88, 0,89, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93, 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99, 1,00, 1,01, 1,02, 1,03, 1,04, 1,05, 1,06, 1,07, 1,08, 1,09 o 1,10.

15 La presente invención proporciona además un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO:1 pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γE) o bien un espaciador de dipéptido
20 de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γEγE) o (ii), para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γE) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γEγE); y hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en el que el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón
25 con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0±0,12, y en la que el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; con la condición de que
30 el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En aspectos particulares, la serina en la posición 16 se reemplaza por D-alanina o L-alanina, la arginina en la posición 18 se reemplaza por L-alanina, la metionina en la posición 27 se reemplaza por L-leucina, la asparagina en la posición 29 se reemplaza por L-leucina, o combinaciones de las mismas.

5 En aspectos particulares, la serina en la posición 16 se reemplaza por D-alanina o L-alanina, la arginina en la posición 18 se reemplaza por L-alanina, la metionina en la posición 27 se reemplaza por L-leucina, y la asparagina en la posición 29 se reemplaza por L-leucina.

La presente invención proporciona además una composición que comprende (i) un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural como se muestra en la SEQ ID NO:1 pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoilo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E) o (ii), para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoilo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en la que el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12, y en la que el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido, y (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

25 En aspectos particulares, la serina en la posición 16 se reemplaza por L-alanina, la arginina en la posición 18 se reemplaza por L-alanina, la metionina en la posición 27 se reemplaza por L-leucina, la asparagina en la posición 28 se reemplaza por ácido L-aspartico, o combinaciones de las mismas.

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende (i) un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural como se muestra en la SEQ ID NO:1 pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por

una D-serina; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E) o (ii), para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en la que el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12, y en la que el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido, y (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En aspectos particulares, la serina en la posición 16 se reemplaza por L-alanina, la arginina en la posición 18 se reemplaza por L-alanina, la metionina en la posición 27 se reemplaza por L-leucina, la asparagina en la posición 28 se reemplaza por ácido L-aspartico, o combinaciones de las mismas.

La presente invención proporciona además un procedimiento para tratar en un paciente la metabolopatía que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz del péptido de uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente para tratar la metabolopatía en el paciente.

La presente invención proporciona además un procedimiento para tratar en un paciente la metabolopatía que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de la composición de las composiciones mencionadas anteriormente para tratar la metabolopatía en el paciente.

En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad.

En aspectos particulares, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

En aspectos particulares, el paciente tiene más de una metabolopatía, por ejemplo, diabetes y NASH, NAFLD u obesidad; obesidad y NASH o NAFLD; diabetes, NASH y obesidad; diabetes, NAFLD y obesidad; o diabetes y obesidad.

5 La presente invención proporciona además el uso de uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la metabolopatía.

La presente invención proporciona además el uso de una cualquiera de las composiciones mencionadas anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la metabolopatía.

10 En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad.

En aspectos particulares, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

15 En aspectos particulares, el medicamento es para el tratamiento de más de una metabolopatía, por ejemplo, diabetes y NASH, NAFLD u obesidad; obesidad y NASH o NAFLD; diabetes, NASH y obesidad; diabetes, NAFLD y obesidad; o diabetes y obesidad.

En aspectos particulares de los compuestos divulgados en el presente documento, el grupo protector C-terminal puede ser una amida o éster. Por ejemplo, el ácido carboxílico del aminoácido C terminal se reemplaza por un grupo de carga neutra, tal como una amida o éster.

20 Se proporciona además un procedimiento para tratar una metabolopatía en un paciente o individuo que comprende: administrar al paciente o individuo una cantidad eficaz de una cualquiera de las composiciones mencionadas anteriormente que comprenden un péptido coagonista y administrar al paciente o individuo una cantidad eficaz de una composición que comprende una insulina o análogo de insulina para tratar la metabolopatía en el paciente o
25 individuo.

En aspectos particulares, la composición que comprende el péptido coagonista se administra en un momento anterior al momento en que se administra la composición que comprende la insulina o análogo de insulina. En otro aspecto, la composición que comprende la insulina o análogo de insulina se administra en un momento anterior al momento en que se
30 administra la composición que comprende el péptido coagonista. Aún en otro aspecto, la

composición que comprende el péptido coagonista se administra en el mismo momento en que se administra la composición que comprende el insulina o análogo de insulina.

En aspectos particulares, el análogo de la insulina es insulina detemir, insulina glargina, insulina levemir, insulina glulisina o insulina lispro.

5 En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad.

En aspectos particulares, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

10 En aspectos particulares, el paciente tiene más de una metabolopatía, por ejemplo, diabetes y NASH, NAFLD u obesidad; obesidad y NASH o NAFLD; diabetes, NASH y obesidad; diabetes, NAFLD y obesidad; o diabetes y obesidad.

La presente invención proporciona además una composición que comprende uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente; una insulina o análogo de insulina; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 La presente invención proporciona además el uso de una composición que comprende uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente; una insulina o análogo de insulina; y un vehículo farmacéuticamente aceptable para el tratamiento de una metabolopatía.

20 En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad. En otros aspectos, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

La presente invención proporciona además el uso de una composición que comprende uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente; una insulina o análogo de insulina; y un vehículo farmacéuticamente aceptable para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una metabolopatía.

25 En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad. En otros aspectos, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

30 En otro modo de realización, los péptidos coagonistas de receptor de GCG/receptor de GLP-1 de la presente invención consisten en la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural (SEQ ID NO:1), pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina, L-alanina, ácido α -aminoisobutírico (Aib) o ácido 1-amino-

ciclobutanocarboxílico; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E) o (ii) para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y puede incluir hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en los que los péptidos coagonistas de receptor de GCG/receptor de GLP-1 tienen una actividad relativamente equilibrada en el receptor de GCG y receptor de GLP-1, y, opcionalmente, un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En modos de realización particulares, la presente invención proporciona un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos

HX₂QGTX₆TSDX₁₀SX₁₂YLX₁₅X₁₆RX₁₈AQDFVQWLX₂₇DT (SEQ ID NO:20)

En la que X₂ es D-serina, L-alanina, ácido α -aminoisobutírico (Aib) o ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico; X₆ es L-fenilalanina, para-fluoro fenilalanina o treo- β -fenilserina; X₁₀ es L-lisina o para-aminometilfenilalanina; X₁₂ es L-lisina o L-leucina; X₁₅ es ácido L-glutámico o L-leucina; X₁₆ es L-alanina, Aib, ácido L-glutámico o L-valina; X₁₈ es L-alanina o L-arginina; X₂₇ es L-leucina, metionina-sulfona o L-norleucina; el aminoácido en la posición 10 está conjugado con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y, el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En modos de realización particulares, el péptido tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19.

En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente

1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente $1,0 \pm 0,12$.

En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE_{50} en el receptor de glucagón con respecto a la CE_{50} en el receptor de GLP-1 de 0,88, 0,89, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93, 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99, 1,00, 1,01, 1,02, 1,03, 1,04, 1,05, 1,06, 1,07, 1,08, 1,09 o 1,10.

La presente invención proporciona además una composición que consiste en un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos

HX₂QGTX₆TSDX₁₀SX₁₂YLY₁₅X₁₆RX₁₈AQDFVQWLX₂₇DT (SEQ ID NO:20)

En la que X₂ es D-serina, L-alanina, ácido α -aminoisobutírico (Aib) o ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico; X₆ es L-fenilalanina, para-fluorofenilalanina o treo- β -fenilserina; X₁₀ es L-lisina o para-aminometilfenilalanina; X₁₂ es L-lisina o L-leucina; X₁₅ es ácido L-glutámico o L-leucina; X₁₆ es L-alanina, Aib, ácido L-glutámico o L-valina; X₁₈ es L-alanina o L-arginina; X₂₇ es L-leucina, metionina-sulfona o L-norleucina; el aminoácido en la posición 10 está conjugado con un grupo palmitoilo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; y, un vehículo farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En modos de realización particulares, el péptido tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19.

En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE_{50} en el receptor de glucagón con respecto a la CE_{50} en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente $1,0 \pm 0,12$.

En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de 0,88, 0,89, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93, 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99, 1,00, 1,01, 1,02, 1,03, 1,04, 1,05, 1,06, 1,07, 1,08, 1,09 o 1,10.

- 5 La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que consiste en un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos

HX₂QGTX₆TSDX₁₀SX₁₂YLX₁₅X₁₆RX₁₈AQDFVQWLX₂₇DT (SEQ ID NO:20)

- 10 En la que X₂ es D-serina, L-alanina, ácido α -aminoisobutírico (Aib) o ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico; X₆ es L-fenilalanina, para-fluorofenilalanina o treo- β -fenilserina; X₁₀ es L-lisina o para-aminometilfenilalanina; X₁₂ es L-lisina o L-leucina; X₁₅ es ácido L-glutámico o L-leucina; X₁₆ es L-alanina, Aib, ácido L-glutámico o L-valina; X₁₈ es L-alanina o L-arginina; X₂₇ es L-leucina, metionina-sulfona o L-norleucina; el aminoácido en la posición 10
15 está conjugado con un grupo palmitoilo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; y, un vehículo farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

- 20 En modos de realización particulares, el péptido tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19.

- En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente
25 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12.

En modos de realización particulares, el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón

con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de 0,88, 0,89, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93, 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99, 1,00, 1,01, 1,02, 1,03, 1,04, 1,05, 1,06, 1,07, 1,08, 1,09 o 1,10.

La presente invención proporciona además un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO:1 pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E) o (ii), para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en el que el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12, y en la que el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En aspectos particulares, la serina en la posición 16 se reemplaza por D-alanina o L-alanina, la arginina en la posición 18 se reemplaza por L-alanina, la metionina en la posición 27 se reemplaza por L-leucina, la asparagina en la posición 29 se reemplaza por L-leucina, o combinaciones de las mismas.

En aspectos particulares, la serina en la posición 16 se reemplaza por D-alanina o L-alanina, la arginina en la posición 18 se reemplaza por L-alanina, la metionina en la posición 27 se reemplaza por L-leucina, y la asparagina en la posición 29 se reemplaza por L-leucina.

La presente invención proporciona además una composición que consiste en (i) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural como se muestra en la SEQ ID NO:1 pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido

de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico ($\gamma E\gamma E$) o (ii), para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γE) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico ($\gamma E\gamma E$); y hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en la que el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE_{50} en el receptor de glucagón con respecto a la CE_{50} en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente $1,0 \pm 0,12$, y en la que el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido, y (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En aspectos particulares, la serina en la posición 16 se reemplaza por L-alanina, la arginina en la posición 18 se reemplaza por L-alanina, la metionina en la posición 27 se reemplaza por L-leucina, la asparagina en la posición 28 se reemplaza por ácido L-aspartico, o combinaciones de las mismas.

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que consiste en (i) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural como se muestra en la SEQ ID NO:1 pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γE) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico ($\gamma E\gamma E$) o (ii), para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γE) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico ($\gamma E\gamma E$); y hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en la que el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE_{50} en el receptor de glucagón con respecto a la CE_{50} en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente $1,0 \pm 0,12$, y en la que el péptido incluye opcionalmente un grupo

protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido, y (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

5 En aspectos particulares, la serina en la posición 16 se reemplaza por L-alanina, la arginina en la posición 18 se reemplaza por L-alanina, la metionina en la posición 27 se reemplaza por L-leucina, la asparagina en la posición 28 se reemplaza por ácido L-aspártico, o combinaciones de las mismas.

10 La presente invención proporciona además un procedimiento para tratar en un paciente la metabolopatía de obesidad que consiste en administrar al paciente una cantidad eficaz del péptido de uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente para tratar la metabolopatía en el paciente.

15 La presente invención proporciona además un procedimiento para tratar en un paciente la metabolopatía de obesidad que consiste en administrar al paciente una cantidad eficaz de la composición de las composiciones mencionadas anteriormente para tratar la metabolopatía en el paciente.

En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad.

En aspectos particulares, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

20 En aspectos particulares, el paciente tiene más de una metabolopatía, por ejemplo, diabetes y NASH, NAFLD u obesidad; obesidad y NASH o NAFLD; diabetes, NASH y obesidad; diabetes, NAFLD y obesidad; o diabetes y obesidad.

25 La presente invención proporciona además el uso de uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la metabolopatía de obesidad.

La presente invención proporciona además el uso de una cualquiera de las composiciones mencionadas anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la metabolopatía de obesidad.

30 En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad.

En aspectos particulares, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

En aspectos particulares, el medicamento es para el tratamiento de más de una metabolopatía, por ejemplo, diabetes y NASH, NAFLD u obesidad; obesidad y NASH o
5 NAFLD; diabetes, NASH y obesidad; diabetes, NAFLD y obesidad; o diabetes y obesidad.

En aspectos particulares de los compuestos divulgados en el presente documento, el grupo protector C-terminal puede ser una amida o éster. Por ejemplo, el ácido carboxílico del aminoácido C terminal se reemplaza por un grupo de carga neutra, tal como una amida o éster.

Se proporciona además un procedimiento para tratar una metabolopatía en un
10 paciente o individuo que consiste en: administrar al paciente o individuo una cantidad eficaz de una cualquiera de las composiciones mencionadas anteriormente que consiste en un péptido coagonista y administrar al paciente o individuo una cantidad eficaz de una composición que consiste en una insulina o análogo de insulina para tratar la metabolopatía en el paciente o individuo.

En aspectos particulares, la composición que consiste en el péptido coagonista se
15 administra en un momento anterior al momento en que se administra la composición que consiste en la insulina o análogo de insulina. En otro aspecto, la composición que consiste en la insulina o análogo de insulina se administra en un momento anterior al momento en que se administra la composición que consiste en el péptido coagonista. Aún en otro aspecto, la composición que
20 consiste en el péptido coagonista se administra en el mismo momento en que se administra la composición que consiste en la insulina o análogo de insulina.

En aspectos particulares, el análogo de la insulina es insulina detemir, insulina glargina, insulina levemir, insulina glulisina o insulina lispro.

En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no
25 alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad.

En aspectos particulares, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

En aspectos particulares, el paciente tiene más de una metabolopatía, por ejemplo, diabetes y NASH, NAFLD u obesidad; obesidad y NASH o NAFLD; diabetes, NASH y
30 obesidad; diabetes, NAFLD y obesidad; o diabetes y obesidad.

La presente invención proporciona además una composición que consiste en uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente; una insulina o análogo de insulina; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 La presente invención proporciona además el uso de una composición que consiste en uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente; una insulina o análogo de insulina; y un vehículo farmacéuticamente aceptable para el tratamiento de una metabolopatía.

En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad. En otros aspectos, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

10 La presente invención proporciona además el uso de una composición que consiste en uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente; una insulina o análogo de insulina; y un vehículo farmacéuticamente aceptable para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una metabolopatía.

15 En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad. En otros aspectos, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

Definiciones

20 El término "aproximadamente" como se usa en el presente documento quiere decir mayor o menor que el valor o intervalo de valores establecido en un 10 por ciento, pero no se pretende que designe cualquier valor o intervalo de valores sólo a esta definición más amplia. Cada valor o intervalo de valores precedido por el término "aproximadamente" también se pretende que englobe el modo de realización del valor o intervalo de valores absoluto establecido.

25 El término "individuo" quiere decir que incluye seres humanos y animal de compañía o domésticos tales como perros, gatos, caballos, y similares. Por lo tanto, las composiciones que comprenden un compuesto o uno o más péptidos coagonistas como se divulga en el presente documento también son útiles para tratar o evitar la obesidad y trastornos relacionados con la obesidad en gatos y perros. Como tal, el término "mamífero" incluye seres
30 humanos y animales de compañía tales como gatos y perros.

Como se usa en el presente documento, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier vehículo adecuado para administrar a un individuo, por ejemplo, cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándar, incluyendo pero sin limitarse a una solución de solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones tales como una emulsión de aceite/agua o de agua/aceite, y varios tipos de agentes humectantes. El término también engloba cualquiera de los agentes aprobados por una agencia reguladora de la Administración federal de los EE. UU. o enumerados en la Farmacopea de los Estados Unidos para su uso en animales, incluyendo seres humanos. En general, "vehículo farmacéuticamente aceptable" quiere decir un material no tóxico que no interfiere con la eficacia de la actividad biológica del/de los ingrediente(s) activo(s), aprobado por una agencia reguladora de la Administración federal o del Estado o enumerado en la Farmacopea de los EE. UU. u otra farmacopea reconocida de forma general para su uso en animales y, más en particular, en seres humanos. El término "vehículo" se refiere a un diluyente, coadyuvante, excipiente sólido o líquido con el que se administra el fármaco terapéutico e incluye, pero no se limita a líquidos estériles tales como agua y aceites. Las características del vehículo dependen de la vía de administración.

Como se usa en el presente documento, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales de los compuestos que mantienen la actividad biológica del compuesto original, y que no son biológicamente o de otro modo indeseables. Muchos de los compuestos divulgados en el presente documento pueden formar sales de ácido y/o base, en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similar a estos. Se pueden preparar sales de adición de base farmacéuticamente aceptables a partir de bases inorgánicas y orgánicas. Las sales derivadas de bases inorgánicas, incluyen sólo a modo de ejemplo, sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, pero no se limitan a, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias.

Se pueden preparar sales farmacéuticamente aceptables a partir de ácidos o bases no tóxicos farmacéuticamente aceptables incluyendo bases inorgánicas u orgánicas y ácidos inorgánicos u orgánicos. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen sales de aluminio, de amonio, de calcio, de cobre, férricas, ferrosas, de litio, de magnesio, mangánicas, manganosas, de potasio, de sodio, de cinc y similares. Son particularmente preferentes las sales de amonio, calcio, magnesio, potasio y sodio. Las sales derivadas de bases no tóxicas orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias,

aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina,

5 hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares. El término "sal farmacéuticamente aceptable" incluye además todas las sales aceptables tales como acetato, lactobionato, bencenosulfonato, laurato, benzoato, malato, bicarbonato, maleato, bisulfato, mandelato, bitartrato, mesilato, borato, metilbromuro, bromuro,

10 metilnitrato, calcioedetato, metilsulfato, camsilato, mucato, carbonato, napsilato, cloruro, nitrato, clavulanato, N-metilglucamina, citrato, sal de amonio, diclorhidrato, oleato, edetato, oxalato, edisilato, pamoato (embonato), estolato, palmitato, esitalo, pantotenato, fumarato, fosfato/difosfato, gluceptato, poligalacturonato, gluconato, salicilato, glutamato, estearato, glicolilarsanilato, sulfato, hexilresorcinato, subacetato, hidrabamina, succinato, bromhidrato,

15 tanato, clorhidrato, tartrato, hidroxinaftoato, teoclato, yoduro, tosilato, isotionato, trietiyoduro, lactato, panoato, valerato, y similares que se pueden usar como forma de dosificación para modificar las características de solubilidad o hidrólisis o se pueden usar en formulaciones de profármaco o liberación sostenida. Se entenderá que, como se usa en el presente documento, las referencias a los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento se pretende que

20 incluyan también modos de realización que comprenden un péptido o péptidos coagonistas y una o más de las sales farmacéuticamente aceptables.

Como se usa en el presente documento, el término "tratar" incluye la profilaxis del trastorno o afección específica, o el alivio de los síntomas asociados con un trastorno o afección específica y/o evitar o eliminar dichos síntomas. Por ejemplo, como se usa en el presente

25 documento, el término "tratar la diabetes" se referirá en general a alterar las glucemias en dirección a concentraciones normales y puede incluir incrementar o disminuir las glucemias dependiendo de una situación dada.

Como se usa en el presente documento, una cantidad "eficaz" o una "cantidad terapéuticamente eficaz" quiere decir la cantidad total de cada componente activo de la

30 composición farmacéutica o un procedimiento que sea suficiente para mostrar un beneficio significativo en el paciente, es decir, tratamiento, curación, prevención o mejora de la afección

médica pertinente, o un incremento en la tasa de tratamiento, curación, prevención o mejora de dichas condiciones. Se refiere a la cantidad de un péptido o péptidos coagonistas que no es tóxica pero es suficiente para proporcionar el efecto deseado. Por ejemplo, un efecto deseado sería la prevención o el tratamiento de la hiperglucemia, por ejemplo, medida por un cambio en la glucemia más próximo a lo normal, o el tratamiento de obesidad induciendo una pérdida de peso y/o evitando la ganancia de peso, por ejemplo, medida por la reducción en el peso corporal, o evitando o reduciendo un incremento en el peso corporal, o normalizando la distribución de la grasa corporal. La cantidad que sea "eficaz" variará de un sujeto a otro, dependiendo de la edad y estado general del individuo, modo de administración, y similares. Por tanto, no siempre es posible especificar una "cantidad eficaz" exacta. Sin embargo, una "cantidad eficaz" apropiada en cualquier individuo se puede determinar por un experto en la técnica usando experimentación habitual. Cuando se aplica a un ingrediente activo individual, administrado solo, el término se refiere a ese ingrediente solo. Cuando se aplica a una combinación, el término se refiere a cantidades combinadas de los ingredientes activos que dan como resultado el efecto terapéutico, tanto si se administran en combinación, en serie o simultáneamente.

El término, "parenteral" quiere decir no a través del tubo digestivo pero por alguna otra vía, por ejemplo, subcutánea, intramuscular, intrarraquídea o intravenosa.

Como se usa en el presente documento, el término "péptido" engloba una cadena de 3 o más aminoácidos y típicamente menos de 100 aminoácidos, en la que los aminoácidos son aminoácidos naturales o codificados o no naturales o no codificados. Aminoácidos no naturales se refieren a aminoácidos que no se producen de forma natural *in vivo* pero que, no obstante, se pueden incorporar en las estructuras peptídicas descritas en el presente documento. "No codificado" como se usa en el presente documento se refiere a un aminoácido que no es un isómero L de cualquiera de los siguientes 20 aminoácidos: Ala, Cys, Asp, Glu, Phe, Gly, His, He, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr. "Codificado" como se usa en el presente documento se refiere a un aminoácido que es un isómero L de cualquiera de los siguientes 20 aminoácidos: Ala, Cys, Asp, Glu, Phe, Gly, His, He, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, Tyr. En algunos modos de realización, los péptidos y péptidos de variantes descritos en el presente documento son aproximadamente de la misma longitud que SEQ ID NO: 1 (que es de 29 aminoácidos de longitud), por ejemplo 25-35 aminoácidos de

longitud. Las longitudes ejemplares incluyen 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 aminoácidos de longitud.

5 Típicamente, los polipéptidos y proteínas tienen una longitud polimérica que es mayor que la de los "péptidos".

De forma similar, una referencia en el presente documento a la "posición 28" querría decir la posición 29 correspondiente para un análogo de glucagón en la que se ha añadido un aminoácido antes del extremo N-terminal de SEQ ID NO: 1. Como se usa en el presente documento, una "modificación de aminoácido" se refiere a (i) una sustitución o reemplazo de un aminoácido de SEQ ID NO: 1 por un aminoácido diferente (aminoácido natural o codificado o no
10 o codificado o no natural), (ii) una adición de un aminoácido (aminoácido natural o codificado o no codificado o no natural), de SEQ ID NO: 1 o (iii) una delección de uno o más aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

"Modificación" de aminoácido se refiere a una inserción, delección o sustitución de un aminoácido con otro. En algunos modos de realización, la sustitución o reemplazo de aminoácidos es una sustitución de aminoácidos conservadora, por ejemplo, una sustitución conservadora del aminoácido en una o más de las posiciones 2, 5, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 24, 27, 28 o 29. Como se usa en el presente documento, el término "sustitución de aminoácidos conservadora" es el reemplazo de un aminoácido por otro aminoácido que tiene
20 propiedades similares, por ejemplo, tamaño, carga, hidrofobicidad, hidrofiliidad y/o aromaticidad, e incluye los intercambios dentro de uno de los siguientes cinco grupos:

I. Residuos pequeños alifáticos, no polares o ligeramente polares:

Ala, Ser, Thr, Pro, Gly;

II. Residuos polares, con carga negativa y sus amidas y ésteres:

25 Asp, Asn, Glu, Gln, ácido cisteico y ácido homocisteico;

III. Residuos polares, con carga positiva:

His, Arg, Lys; Ornitina (Orn)

IV. Residuos grandes, alifáticos, no polares:

Met, Leu, Ile, Val, Cys, Norleucina (Nle), homocisteína

30 V. Residuos grandes, aromáticos:

Phe, Tyr, Trp, acetilfenilalanina

En algunos modos de realización, la sustitución de aminoácidos no es una sustitución de aminoácidos conservadora, por ejemplo, es una sustitución de aminoácidos no conservadora.

Como se usa en el presente documento, el término "aminoácido cargado" o "residuo cargado" se refiere a un aminoácido que comprende una cadena lateral que tiene carga negativa (es decir, desprotonada) o carga positiva (es decir, protonada) en solución acuosa a pH fisiológico. Por ejemplo, los aminoácidos de carga negativa incluyen ácido aspártico, ácido glutámico, ácido cisteico, ácido homocisteico y ácido homoglutámico, mientras que los aminoácidos de carga positiva incluyen arginina, lisina e histidina. Los aminoácidos cargados incluyen los aminoácidos cargados entre los 20 aminoácidos codificados, así como aminoácidos atípicos o no naturales o no codificados.

Como se usa en el presente documento, el término "aminoácido ácido" se refiere a un aminoácido que comprende un segundo resto ácido (distinto del ácido carboxílico del aminoácido), incluyendo, por ejemplo, un grupo de ácido carboxílico o ácido sulfónico.

Como se usa en el presente documento, el término "aminoácido acilado" se refiere a un aminoácido que comprende un grupo acilo que es no natural para un aminoácido natural, independientemente del medio por el que se produce (por ejemplo, acilación antes de la incorporación del aminoácido en un péptido, o acilación después de la incorporación en un péptido).

Como se usa en el presente documento, el término "aminoácido alquilado" se refiere a un aminoácido que comprende un grupo alquilo que es no natural para un aminoácido natural, independientemente del medio por el que se produce. En consecuencia, los aminoácidos acilados y los aminoácidos alquilados de la presente divulgación son aminoácidos no codificados.

Como se usa en el presente documento, el término "selectividad" de una molécula para un primer receptor con relación a un segundo receptor se refiere a la siguiente proporción: la CE_{50} de la molécula en el segundo receptor dividida entre la CE_{50} de la molécula en el primer receptor. Por ejemplo, una molécula que tiene una CE_{50} de 1 nM en un primer receptor y una CE_{50} de 100 nM en un segundo receptor tiene una selectividad de 100 veces para el primer receptor con relación al segundo receptor.

Como se usa en el presente documento, el término "glucagón natural" se refiere a un péptido que consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 1 y el término "GLP-1 natural" es un término genérico que designa la amida de GLP- 1(7-36), el ácido de GLP-1 (7-37) o una mezcla de los dos compuestos.

5 Como se usa en el presente documento, "potencia de glucagón" o "potencia en comparación con el glucagón natural" de una molécula se refiere a la proporción inversa de la CE₅₀ de la molécula en el receptor de glucagón dividida entre la CE₅₀ de glucagón natural en el receptor de glucagón.

10 Como se usa en el presente documento, "potencia de GLP-1" o "potencia en comparación con GLP-1 natural" de una molécula se refiere a la proporción inversa de la CE₅₀ de la molécula en el receptor de GLP-1 dividida entre la CE₅₀ de GLP-1 natural en el receptor de GLP-1.

15 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La **figura 1** representa un gráfico del cambio de peso acumulado (gramos) de ratones con obesidad inducida por dieta (DIO) tratados con una control de vehículo o una dosis diaria de un péptido de SEQ ID NO: 6 a 11, como se detalla en el ejemplo 18.

20 La **figura 2** representa un gráfico del cambio de peso corporal acumulado (%) con relación a un grupo de control tratado con vehículo de ratones DIO tratados con una dosis diaria de un péptido de SEQ ID NO: 6 a 11, como se detalla en el ejemplo 19.

25 La **figura 3** representa un gráfico del cambio acumulado en la ingesta de alimento (expresado como un cambio en porcentaje de la ingesta de alimento relativo al día 0) de ratones DIO tratados con un control de vehículo o con una dosis de un péptido de SEQ ID NO: 6 a 11, como se detalla en el ejemplo 20.

La **figura 4** representa un gráfico de la glucosa basal (mg/dl) de ratones DIO tratados con un control de vehículo o con una dosis de un péptido de SEQ ID NO: 6 a 11, como se detalla en el ejemplo 21.

30 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Las presentes divulgaciones proporcionan péptidos y péptidos de variantes que presentan actividad tanto en el receptor de GLP-1 (GLP-1) como en el receptor de glucagón (GCG). A este respecto, las presentes divulgaciones proporcionan péptidos coagonistas de receptor de GLP-1/receptor de GCG. En modos de realización ejemplares, los péptidos y

5 péptidos de variantes divulgados aquí presentan una actividad o potencia relativamente equilibrada en el receptor de GCG y los receptores de GLP-1, en comparación con el glucagón humano natural (SEQ ID NO: 1).

En modos de realización ejemplares, los péptidos y péptidos de variantes descritos en el presente documento presentan otras mejoras en propiedades relativas al glucagón natural o

10 GLP-1 natural, tales como mayor estabilidad, mayor solubilidad, una semivida prolongada en circulación, un comienzo retardado de la acción, una duración prolongada de la acción, un máximo amortiguado (por ejemplo, disminución relativa de la concentración plasmática máxima media), y una mejora en la resistencia frente a proteasas, tales como DPP-IV.

También se contemplan conjugados, proteínas de fusión y multímeros de

15 cualquiera de las secuencias peptídicas divulgadas en el presente documento.

El glucagón es una hormona peptídica relacionada estructuralmente con el GLP-1 que es muy reconocido por su aguda capacidad para incrementar la glucemia a través de la estimulación de la glucogenolisis y gluconeogénesis. Aunque se informó por primera vez hace 60 años de que la administración de glucagón proporciona mejoras en el metabolismo de los

20 roedores, incluyendo una disminución de peso corporal (Salter, *Am. J. Clin. Nutr.* 8: 535–539 (1960)), estos resultados no se han traducido en el uso de glucagón en tratamientos para un tratamiento de obesidad en seres humanos, en particular debido al riesgo inherente de hiperglucemia, en especial en pacientes con diabetes de tipo 2 resistente a la insulina.

El uso de coagonistas de receptor de GCG/receptor de GLP-1 equilibrados que es

25 de eficacia y seguridad potenciadas en relación con agonistas del receptor de GLP-1 puros en el tratamiento de la obesidad en roedores, con una mejora simultánea en el control glucémico (Day *et al.*, *Nat. Chem. Biol.* 5: 749–757 (2009); Pocai *et al.*, *Diabetes* 58: 2258–2266 (2009)). La oxintomodulina (OXM) es un precursor endógeno para glucagón, que se secreta posprandialmente por células L del yeyuno-íleon junto con GLP-1 y se ha demostrado que es un

30 coagonista equilibrado en el receptor de GLP-1 y receptor de glucagón aunque de potencia relativamente baja (Holst, *Regul. Pept.* 93: 45–51 (2000); Drucker, J. *Nat. Clin. Pract.*

Endocrinol. Metab. 1: 22–31 (2005); Baldissera *et al.*, Regul. Pept. 21: 151–166 (1988); Gros *et al.*, Endocrinol. 133: 631–638 (1993); Pocai *et al.*, *op. cit.*). Un estudio clínico de 4 semanas en sujetos obesos demostró que la administración subcutánea repetida de OXM se toleró bien y provocó una pérdida de peso significativa, con una reducción concomitante en la ingesta de alimento (Wynne *et al.*, Diabetes 54: 2390–2395 (2005)).

Aunque Day *et al.*, Peptide Sci. 98: 443–450 (2012) informaron de la importancia del equilibrio del receptor de GLP-1 en la prevención de la hiperglucemia mediada por el receptor de GCG en ratones obesos usando una familia de péptidos coagonistas que varían en la potencia de receptor murino para las dos receptores, no divulgan péptidos coagonistas que tengan la potencia o actividad equilibrada de los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento.

Por el contrario, los péptidos coagonistas de receptor de GCG/receptor de GLP-1 de la invención tienen una actividad o potencia relativamente equilibrada en el receptor de GCG y receptor de GLP-1. La presente invención proporciona péptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO:1 pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E) o (ii), para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en el que el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12, y en la que el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21. En aspectos particulares, los péptidos tienen una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de 0,88,

0,89, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93, 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99, 1,00, 1,01, 1,02, 1,03, 1,04, 1,05, 1,06, 1,07, 1,08, 1,09 o 1,10.

La presente invención proporciona además péptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos

5

HX₂QGTX₆TSDX₁₀SX₁₂YLX₁₅X₁₆RX₁₈AQDFVQWLX₂₇DT (SEQ ID NO:20)

En la que X₂ es D-serina, L-alanina, ácido α -aminoisobutírico (Aib) o ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico; X₆ es L-fenilalanina, para-fluorofenilalanina o treo- β -fenilserina;

10 X₁₀ es L-lisina o para-aminometilfenilalanina; X₁₂ es L-lisina o L-leucina;

X₁₅ es ácido L-glutámico o L-leucina; X₁₆ es L-alanina, Aib, ácido L-glutámico o L-valina;

X₁₈ es L-alanina o L-arginina; X₂₇ es L-leucina, metionina-sulfona o L-norleucina; el

aminoácido en la posición 10 está conjugado con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido

15 gamma-glutámico (γ E γ E); y, el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; con la condición de que los

péptidos no incluyen un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21. Los

péptidos son coagonistas del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tienen una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1

20 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a

aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente

0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12. Los péptidos son coagonistas del

receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tienen una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de 0,88, 0,89, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93,

25 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99, 1,00, 1,01, 1,02, 1,03, 1,04, 1,05, 1,06, 1,07, 1,08, 1,09 o 1,10.

La presente invención proporciona además péptidos que comprenden o que consisten en la secuencia de aminoácidos

HX₂QGTX₆TSDX₁₀SX₁₂YLX₁₅X₁₆RX₁₈AQDFVQWLX₂₇DT (SEQ ID NO:20)

30

En la que X₂ es D-serina, L-alanina, ácido α -aminoisobutírico (Aib) o ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico; X₆ es L-fenilalanina, para-fluorofenilalanina o treo- β -fenilserina; X₁₀ es L-lisina o para-aminometilfenilalanina; X₁₂ es L-lisina o L-leucina;

X₁₅ es ácido L-glutámico o L-leucina; X₁₆ es L-alanina, Aib, ácido L-glutámico o L-valina;

- 5 X₁₈ es L-alanina o L-arginina; X₂₇ es L-leucina, metionina-sulfona o L-norleucina; el aminoácido en la posición 10 está conjugado con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y, el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; con la condición de que los
- 10 péptidos no incluyen un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21. Los péptidos son coagonistas del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tienen una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente
- 15 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12. Los péptidos son coagonistas del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tienen una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de 0,88, 0,89, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93, 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99, 1,00, 1,01, 1,02, 1,03, 1,04, 1,05, 1,06, 1,07, 1,08, 1,09 o 1,10.

Los ejemplos de péptidos de la presente invención se muestran en la tabla 1.

20

Tabla 1	
SEQ ID NO:	Péptido
6	HsQGTFTSDK(γ EC ₁₆)SKYLDARAAQDFVQWLLDT-NH ₂
7	HsQGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDVRRRAQDFVQWLLDT-NH ₂
8	HsQGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDVRAAQDFVQWLLDT-NH ₂
9	HUVGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDURAAQDFVQWL λ DT-NH ₂
10	HsQGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDARAAQDFVQWLLDT-NH ₂
12	AcHAQGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDERRAAQDFVQWLLDT-NH ₂

13	HsQGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLEARAAQDFVQWLLDT-NH ₂
14	HsQGT pFFT SDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDERAAQDFVQWLLDT-NH ₂
15	HsQGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDERAAQDFVQWL 2 DT-NH ₂
16	HsQGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SLYLDERAAQDFVQWLLDT-NH ₂
17	HsQGTFTSD pAF (γ E γ EC ₁₆)SKYLDARAAQDFVQWLLDT-NH ₂
18	H ‡ QGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDERAAQDFVQWLLDT-NH ₂
19	HsQGT tBP SDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDERAAQDFVQWLLDT-NH ₂
s = D-serina; U = ácido α -aminoisobutírico (Aib); λ = norleucina (Nle); pA =para-aminometilfenilalanina; 2 = metionina-sulfona; ‡ = ácido 1-amino-1-ciclobutano-carboxílico; tBP = treo- β -fenilserina; Ac = acetilo; pFF = p-fluorofenilalanina	

Como se muestra en los ejemplos, los péptidos coagonistas de receptor de GCG/receptor de GLP-1 de la presente invención tienen una CE₅₀ de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 1,04 nM en el receptor de GCG y una CE₅₀ de aproximadamente 0,03 a aproximadamente 1,3 nM en el receptor de GLP-1. En aspectos particulares, los péptidos coagonistas de receptor de GCG/receptor de GLP-1 tienen una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12. Por tanto, la presente invención proporciona péptidos con potencias o actividades agonistas equilibradas relativas frente al receptor de GLP-1 y receptor de GCG y que presentan el perfil terapéutico óptimo para la pérdida de peso mientras que mitigan el riesgo hiperglucémico asociado a la activación del receptor de GCG.

La presente invención proporciona composiciones que comprenden o que consisten en uno o más péptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO:1 pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-

- glutámico (γ E γ E) o (ii), para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en el que el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12, y en la que el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido, y un vehículo farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21. En aspectos particulares, los péptidos tienen una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de 0,88, 0,89, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93, 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99, 1,00, 1,01, 1,02, 1,03, 1,04, 1,05, 1,06, 1,07, 1,08, 1,09 o 1,10.
- La presente invención proporciona además péptidos que comprenden o que consisten en la secuencia de aminoácidos

HX₂QGTX₆TSDX₁₀SX₁₂YLX₁₅X₁₆RX₁₈AQDFVQWLX₂₇DT (SEQ ID NO:20)

- En la que X₂ es D-serina, L-alanina, ácido α -aminoisobutírico (Aib) o ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico; X₆ es L-fenilalanina, para-fluorofenilalanina o treo- β -fenilserina; X₁₀ es L-lisina o para-aminometilfenilalanina; X₁₂ es L-lisina o L-leucina; X₁₅ es ácido L-glutámico o L-leucina; X₁₆ es L-alanina, Aib, ácido L-glutámico o L-valina; X₁₈ es L-alanina o L-arginina; X₂₇ es L-leucina, metionina-sulfona o L-norleucina; el aminoácido en la posición 10 está conjugado con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y, el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; con la condición de que los péptidos no incluyen un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los péptidos son coagonistas del receptor de glucagón y

del receptor de GLP-1 y tienen una proporción de CE_{50} en el receptor de glucagón con respecto a la CE_{50} en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente $1,0 \pm 0,12$. Los péptidos son coagonistas del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tienen una proporción de CE_{50} en el receptor de glucagón con respecto a la CE_{50} en el receptor de GLP-1 de 0,88, 0,89, 0,90, 0,91, 0,92, 0,93, 0,94, 0,95, 0,96, 0,97, 0,98, 0,99, 1,00, 1,01, 1,02, 1,03, 1,04, 1,05, 1,06, 1,07, 1,08, 1,09 o 1,10.

La presente invención proporciona además un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO:1 pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γE) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico ($\gamma E\gamma E$) o (ii), para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γE) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico ($\gamma E\gamma E$); y hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en el que el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE_{50} en el receptor de glucagón con respecto a la CE_{50} en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente $1,0 \pm 0,12$, y en la que el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En aspectos particulares, la serina en la posición 16 se reemplaza por D-alanina o L-alanina, la arginina en la posición 18 se reemplaza por L-alanina, la metionina en la posición 27 se reemplaza por L-leucina, la asparagina en la posición 29 se reemplaza por L-leucina, o combinaciones de las mismas.

En aspectos particulares, la serina en la posición 16 se reemplaza por D-alanina o L-alanina, la arginina en la posición 18 se reemplaza por L-alanina, la metionina en la posición 27 se reemplaza por L-leucina, y la asparagina en la posición 29 se reemplaza por L-leucina.

La presente invención proporciona además una composición que comprende (i) un péptido que tiene o que consiste en la secuencia de aminoácidos del glucagón humano natural como se muestra en la SEQ ID NO:1 pero en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina; la tirosina en la posición 10 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E) o (ii), para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y hasta seis sustituciones de aminoácidos adicionales; en la que el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12, y en la que el péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo carboxi C-terminal del péptido, y (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

La presente invención también incluye composiciones que comprenden o que consisten en uno o más de los péptidos mostrados en la tabla 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 Composiciones farmacéuticas

También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento para el tratamiento de un trastorno metabólico en un individuo. Dichos trastornos incluyen, pero no se limitan a, obesidad, síndrome metabólico o síndrome del cromosoma X, diabetes de tipo II, complicaciones de la diabetes tales como retinopatía,

hipertensión, dislipidemias, cardiovasculopatía, cálculos biliares, artrosis y determinadas formas de cánceres. Los trastornos relacionados con la obesidad en el presente documento están asociados a, provocados por, o resultan de, una obesidad.

La “obesidad” es una afección en la que existe un exceso de grasa corporal. La definición operativa de obesidad se basa en el índice de masa corporal (IMC), calculado como el peso corporal por altura en metros cuadrados (kg/m^2). La “obesidad” se refiere a una afección en la que un sujeto por lo demás sano tiene un índice de masa corporal (IMC) mayor que o igual a 30 kg/m^2 , o una afección en la que un sujeto con al menos una comorbilidad tiene un IMC mayor que o igual a 27 kg/m^2 . Un “sujeto obeso” es un sujeto por lo demás sano con un índice de masa corporal (IMC) mayor que o igual a 30 kg/m^2 o un sujeto con al menos una comorbilidad con un IMC mayor que o igual a 27 kg/m^2 . Un “sujeto con riesgo de obesidad” es un sujeto por lo demás sano con un IMC de 25 kg/m^2 a menos de 30 kg/m^2 o un sujeto con al menos una comorbilidad con un IMC de 25 kg/m^2 a menos de 27 kg/m^2 .

En asiáticos, el incremento en los riesgos asociados a la obesidad se produce a un índice de masa corporal (IMC) menor. En países asiáticos, incluyendo Japón, “obesidad” se refiere a una afección en la que un sujeto con al menos una comorbilidad inducida por obesidad o relacionada con la obesidad que requiere una reducción en el peso o que se podría mejorar por una reducción en el peso, tiene un IMC mayor que o igual a 25 kg/m^2 . En países asiáticos, incluyendo Japón, un “sujeto obeso” se refiere a un sujeto con al menos una comorbilidad inducida por obesidad o relacionada con la obesidad que requiere una reducción en el peso o que se podría mejorar por una reducción en el peso, con un IMC mayor que o igual a 25 kg/m^2 . En países asiáticos, un “sujeto con riesgo de obesidad” es un sujeto con un IMC mayor que 23 kg/m^2 a menor que 25 kg/m^2 .

Como se usa en el presente documento, el término “obesidad” se pretende que englobe todas las anteriores definiciones de obesidad.

Las comorbilidades inducidas por obesidad o relacionadas con la obesidad incluyen, pero no se limitan a, diabetes, diabetes mellitus no insulino dependiente o de tipo 2, tolerancia alterada a la glucosa, glucosa alterada en ayunas, síndrome de resistencia a la insulina, dislipidemia, hipertensión, hiperuricacidemia, gota, arteriopatía coronaria, infarto de miocardio, angina de pecho, síndrome de apnea del sueño, síndrome de Pickwick, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), hesteatosis hepática; infarto

cerebral, trombosis cerebral, accidente isquémico transitorio, trastornos ortopédicos, artritis deformante (*arthritis deformans*), lumbodinia, emenopatía (*emmeniopathy*) y esterilidad. En particular, las comorbilidades incluyen: hipertensión, hiperlipidemia, dislipidemia, tolerancia alterada a la glucosa, cardiopatía, apnea del sueño, diabetes mellitus, y otras afecciones relacionadas con la obesidad.

“Tratamiento” (de obesidad y trastornos relacionados con la obesidad) se refiere a la administración de los compuestos de la presente invención para reducir o mantener el peso corporal de un sujeto obeso. Un resultado del tratamiento puede ser reducir el peso corporal de un sujeto obeso con relación al peso corporal del sujeto inmediatamente antes de la administración de los compuestos de la presente invención. Otro resultado del tratamiento puede ser evitar la recuperación de peso corporal del peso corporal perdido previamente como resultado de dieta, ejercicio o farmacoterapia. Otro resultado del tratamiento puede ser disminuir la aparición de y/o la gravedad de las enfermedades relacionadas con la obesidad. El tratamiento puede dar como resultado de forma adecuada una reducción en la ingesta de alimento o de calorías por el sujeto, incluyendo una reducción en la ingesta de alimento total, o una reducción de la ingesta de componentes específicos de la dieta tales como carbohidratos o grasas; y/o la inhibición de la absorción de nutrientes; y/o la inhibición de la reducción del índice metabólico; y la reducción de peso en pacientes que lo necesitan. El tratamiento también puede dar como resultado una alteración del índice metabólico, tal como un incremento en el índice metabólico, en lugar de o además de una inhibición de la reducción del índice metabólico; y/o la minimización de la resistencia metabólica que normalmente resulta de la pérdida de peso.

“Prevención” (de obesidad y trastornos relacionados con la obesidad) se refiere a la administración de los compuestos de la presente invención para reducir o mantener el peso corporal de un sujeto con riesgo de obesidad. Un resultado de la prevención puede ser reducir el peso corporal de un sujeto con riesgo de obesidad con relación al peso corporal del sujeto inmediatamente antes de la administración de los compuestos de la presente invención. Otro resultado de la prevención puede ser evitar la recuperación de peso corporal del peso corporal perdido previamente como resultado de dieta, ejercicio o farmacoterapia. Otro resultado de la prevención puede ser evitar que se produzca la obesidad si se administra el tratamiento antes de la aparición de la obesidad en un sujeto con riesgo de obesidad. Otro resultado de la prevención puede ser disminuir la aparición y/o gravedad de trastornos relacionados con la obesidad si se

administra el tratamiento antes de la aparición de la obesidad en un sujeto con riesgo de obesidad. Además, si se comienza el tratamiento en sujetos ya obesos, dicho tratamiento puede evitar la aparición, progresión o gravedad de trastornos relacionados con la obesidad, tales como, pero sin limitarse a, arterioesclerosis, diabetes de tipo II, síndrome del ovario poliquístico, cardiovasculopatías, artrosis, trastornos dermatológicos, hipertensión, resistencia a la insulina, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y colelitiasis.

Los trastornos relacionados con la obesidad en el presente documento están asociados a, provocados por, o resultan de, una obesidad. Los ejemplos de trastornos relacionados con la obesidad incluyen comer en exceso y bulimia, hipertensión, diabetes, concentraciones plasmáticas de insulina elevadas y resistencia a la insulina, dislipidemias, hiperlipidemia, cáncer de endometrio, de mama, de próstata y de colon, artrosis, apnea del sueño obstructiva, colelitiasis, cálculos biliares, cardiopatía, ritmo cardíaco anormal y arritmias, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, cardiopatía coronaria, muerte súbita, apoplejía, síndrome del ovario poliquístico, craneofaringioma, el síndrome de Prader-Willi, síndrome de Fröhlich, sujetos con insuficiencia de GH, talla baja de variante normal, síndrome de Turner, y otras afecciones patológicas que muestran una reducción en la actividad metabólica o una disminución en el gasto calórico en reposo como un porcentaje de la masa sin grasa total, por ejemplo, niños con leucemia linfoblástica aguda. Otros ejemplos de trastornos relacionados con la obesidad son síndrome metabólico, también conocido como síndrome del cromosoma X, síndrome de resistencia a la insulina, disfunción sexual y reproductora, tal como esterilidad, hipogonadismo en machos e hirsutismo en hembras, trastornos de motilidad gastrointestinal, tales como reflujo gastroesofágico relacionado con la obesidad, trastornos respiratorios, tales como síndrome de hipoventilación por obesidad (síndrome de Pickwick), trastornos cardiovasculares, inflamación, tal como inflamación sistémica de la vasculatura, arterioesclerosis, hipercolesterolemia, hiperuricemia, lumbalgia, colecistopatía, gota y cáncer de riñón. Los compuestos de la presente invención también son útiles para reducir el riesgo de resultados secundarios de la obesidad, tal como reducir el riesgo de hipertrofia ventricular izquierda.

El término "diabetes," tal como se usa en el presente documento, incluye tanto la diabetes mellitus insulino dependiente (DMDI, también conocida como diabetes de tipo I) como la diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNDI, también conocida como diabetes de tipo

II). La diabetes de tipo I, o diabetes insulínica, es el resultado de una deficiencia absoluta de insulina, la hormona que regula la utilización de la glucosa. La diabetes de tipo II, o diabetes independiente de insulina (es decir, diabetes mellitus no dependiente de insulina), a menudo se produce en presencia de concentraciones de insulina normales, o incluso elevadas, y parece que es el resultado de la incapacidad de tejidos para responder apropiadamente a la insulina. La mayoría de los diabéticos de tipo II también son obesos. Los compuestos de la presente invención son útiles para tratar ambas diabetes de tipo I y de tipo II. Los compuestos son especialmente eficaces para tratar la diabetes de tipo II. Los compuestos de la presente invención también son útiles para tratar y/o evitar la diabetes mellitus gestacional.

La patente de los EE. UU. N.º 6,852,690, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad, divulga procedimientos para potenciar el metabolismo de nutrientes, que comprende administrar a un paciente no diabético una formulación que comprende una cantidad nutritivamente eficaz de uno o más nutrientes o cualquier combinación de los mismos y uno o más péptidos insulínotropos. Los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento son insulínotropos y se pueden administrar a pacientes con un metabolismo de glucosa alterado tal como con resistencia a la insulina pero no con diabetes sintomática, así como a pacientes que por cualquier motivo reciben nutrición a través del tubo digestivo. Dichos pacientes incluyen pacientes de cirugía, pacientes comatosos, pacientes en choque, pacientes con enfermedad gastrointestinal, pacientes con enfermedad hormonal digestiva, y similares. En particular, los pacientes obesos, pacientes ateroscleróticos, pacientes con vasculopatías, pacientes con diabetes gestacional, pacientes con hepatopatías tales como cirrosis hepática, pacientes con acromegalia, pacientes con exceso glucocorticoide tales como con tratamiento con cortisol o enfermedad de Cushing, pacientes con hormonas contrarreguladoras activadas tal como se podría producir después de un traumatismo, accidentes y cirugía, y similares, pacientes con hipertrigliceridemia y pacientes con pancreatitis crónica se pueden alimentar de forma fácil y adecuada de acuerdo con la invención sin someter al paciente a hipo o hiperglucemia. En particular, la administración a dicho paciente tiene como objetivo proporcionar un tratamiento para suministrar lo más rápido posible los requisitos nutricionales y calóricos al paciente mientras que se mantiene su glucosa en plasma por debajo del denominado valor umbral renal de aproximadamente 160 a 180 miligramos por decilitro de glucosa en la sangre. Aunque los pacientes normales que no tienen concentraciones de glucosa justo por

debajo del valor umbral renal también se pueden tratar de acuerdo con la invención como se describe anteriormente, los pacientes con una alteración en el metabolismo de la glucosa tales como pacientes hiperglucémicos con una concentración plasmática de glucosa que está justo por encima del valor umbral renal también encuentran adecuado el tratamiento para su afección. En particular, dichos pacientes que tienen un grado de hiperglucemia por debajo del valor umbral renal a intervalos intermitentes pueden recibir un tratamiento de combinación de nutrientes más péptidos insulínotropicos de acuerdo con cualquiera de los siguientes regímenes. Los pacientes normales que no padecen dicha hiperglucemia también se pueden tratar usando los análogos peptídicos divulgados en el presente documento.

Los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento se pueden usar en una composición farmacéutica cuando se combinan con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Dicha composición también pueden estar compuesta de (además de los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento y un vehículo) diluyentes, cargas, sales, tampones, estabilizantes, solubilizantes y otros materiales bien conocidos en la técnica. Las composiciones que comprenden los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento se pueden administrar, si se desea, en forma de sales siempre que las sales sean farmacéuticamente aceptables. Las sales se pueden preparar usando procedimientos estándar conocidos por los expertos en la técnica de la química orgánica sintética. Los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento pueden estar en multímeros (por ejemplo, heterodímeros u homodímeros) o complejos consigo mismos o con otros péptidos. Como resultado, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender uno o más péptidos coagonistas divulgados en el presente documento en dicha forma multimérica o complejada.

La composición farmacológica puede comprender uno o más péptidos coagonistas divulgados en el presente documento; uno o más péptidos coagonistas divulgados en el presente documento y uno o más de otros agentes para tratar un trastorno metabólico; o la composición farmacológica que comprende el uno o más péptidos coagonistas divulgados en el presente documento se puede usar simultáneamente con una composición farmacológica que comprende un agente para tratar un trastorno metabólico. Dichos trastornos incluyen, pero no se limitan a,

obesidad, síndrome metabólico o síndrome del cromosoma X, diabetes de tipo II, complicaciones de la diabetes, hipertensión, dislipidemias, cardiovascular, cálculos biliares, artrosis y determinadas formas de cánceres.

5 Cuando la composición farmacológica comprende otro agente para tratar un trastorno metabólico o el tratamiento incluye una segunda composición farmacológica que comprende un agente para tratar un trastorno metabólico, el agente incluye, pero no se limita a, antagonistas del receptor canabinoide (CB1), agonistas del receptor del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), antagonistas del receptor de glucagón, inhibidores de lipasa, leptina, tetrahidrolipstatina, 2-4-dinitrofenol, acarbosa, sibutramina, fentamina, bloqueantes de la
10 absorción de grasa, simvastatina, mevastatina, ezetimiba, atorvastatina, sitagliptina, vildagliptina y metformina, orlistat, Qnexa, topiramato, naltrexona, bupropión, fentermina, losartán, losartán con hidroclorotiazida, y similares.

Los ejemplos de otros ingredientes activos que se pueden administrar por separado o en la misma composición farmacéutica en combinación con un péptido coagonista
15 como se describe en el presente documento incluyen, pero no se limitan a:

- (1) otros inhibidores de dipeptidilpeptidasa-IV (DPP-4) (por ejemplo, sitagliptina, alogliptina, linagliptina, vildagliptina, saxagliptina y omarigliptina);
- (2) sensibilizantes de insulina, incluyendo (i) agonistas de PPAR γ , tales como las glitazonas (por ejemplo, pioglitazona, AMG 131, MBX2044, mitoglitazona, lobeglitazona, IDR-
20 105, rosiglitazona y balaglitazona), y otros ligandos de PPAR, incluyendo (1) agonistas duales de PPAR α/γ (por ejemplo, ZYH2, ZYH1, GFT505, chiglitazar, muraglitazar, aleglitazar, sodelglitazar y naveglitazar); (2) agonistas de PPAR α tales como derivados de ácido fenofibrato (por ejemplo, gemfibrozilo, clofibrato, ciprofibrato, fenofibrato, bezafibrato), (3) moduladores de PPAR γ selectivos (SPPAR γ M), (por ejemplo, tales como los divulgados en los documentos WO
25 02/060388, WO 02/08188, WO 2004/019869, WO 2004/020409, WO 2004/020408 y el documento WO 2004/066963); y (4) agonistas parciales de PPAR γ ; (ii) biguanidas, tales como la metformina y sus sales farmacéuticamente aceptables, en particular, clorhidrato de metformina, y formulaciones de liberación prolongada de la misma, tales como Glumetza™, Fortamet™ y GlucophageXR™; y (iii) inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B) (por ejemplo,
30 ISIS-113715 y TTP814);

- (3) insulina o análogos de insulina (por ejemplo, insulina detemir, insulina glulisina, insulina degludec, insulina glargina, insulina lispro y formulaciones inhalables de cada una);
- 5 (4) leptina y derivados y agonistas de leptina;
- (5) amilina y análogos de amilina (por ejemplo, pramlintida);
- (6) sulfonilurea y secretagogos de insulina distintos de sulfonilurea (por ejemplo, tolbutamida, gliburida, glipizida, glimepirida, mitiglinida, meglitinidas, nateglinida y repaglinida);
- 10 (7) inhibidores de α -glucosidasa (por ejemplo, acarbosa, voglibosa y miglitol);
- (8) antagonistas del receptor de glucagón (por ejemplo, tales como los divulgados en los documentos WO 98/04528, WO 99/01423, WO 00/39088 y WO 00/69810);
- (9) miméticos de incretinas, tales como GLP-1, análogos, derivados y miméticos de GLP-1; y agonistas del receptor de GLP-1 (por ejemplo, dulaglutida, semaglutida, albiglutida, exenatida, liraglutida, lixisenatida, taspoglutida, CJC-1131 y BIM-51077, incluyendo
- 15 formulaciones intranasal, transdérmica y de una vez por semana de los mismos);
- (10) agentes de disminución de colesterol de las LDL tales como (i) inhibidores de HMG-CoA reductasa (por ejemplo, simvastatina, lovastatina, pravastatina, crivastatina, fluvastatina, atorvastatina, pitavastatina y rosuvastatina), (ii) agentes secuestrantes de ácido biliar (por ejemplo, colestilán, colestimida, clorhidrato de colesevalam, colestipol, colestiramina y
- 20 derivados de dialquilaminoalquilo de un dextrano reticulado), (iii) inhibidores de la absorción de colesterol, (por ejemplo, ezetimiba), y (iv) inhibidores de la acil-CoA:colesterol aciltransferasa, (por ejemplo, avasimiba);
- (11) fármacos elevadores de las HDL, (por ejemplo, agonistas del receptor de niacina y ácido nicotínico, y versiones de liberación prolongada de los mismos; MK-524A, que
- 25 es una combinación de liberación prolongada de niacina y el antagonista de DP-1 MK-524);
- (12) compuestos antiobesidad;
- (13) agentes destinados para su uso en afecciones inflamatorias, tales como aspirina, fármacos antiinflamatorios no esteroideos o AINE, glucocorticoides e inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 o COX-2;
- 30 (14) agentes antihipertensores, tales como inhibidores de la ECA (por ejemplo, lisinopril, enalapril, ramipril, captopril, quinapril y tandolapril), bloqueantes de receptores de la

A-II (por ejemplo, losartán, candesartán, irbesartán, olmesartán medoxomilo, valsartán, telmisartán y eprosartán), inhibidores de renina (por ejemplo, alisquireno), beta-bloqueantes y bloqueantes de canales de calcio;

(15) activadores de glucocinasa (GKA) (por ejemplo, AZD6370);

5 (16) inhibidores de la 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 1, (por ejemplo, tales como los divulgados en las patentes de los EE. UU. N.º 6,730,690 y LY-2523199);

(17) inhibidores de CETP (por ejemplo, anacetrapib y torcetrapib);

(18) inhibidores de la fructosa 1,6-bisfosfatasa, (por ejemplo, tales como los divulgados en las patentes de los EE. UU. N.º 6,054,587; 6,110,903; 6,284,748; 6,399,782; y
10 6,489,476);

(19) inhibidores de la acetil CoA carboxilasa-1 o 2 (ACC1 o ACC2);

(20) activadores de la proteína cinasa activada por AMP (AMPK);

(21) otros agonistas de los receptores acoplados a la proteína G: (i) GPR-109, (ii) GPR-119 (por ejemplo, MBX2982 y PSN821) y (iii) GPR-40 (por ejemplo, TAK875, 1-óxido de
15 5-[4-[[[(1R)-4-[6-(3-hidroxi-3-metilbutoxi)-2-metilpiridin-3-il]-2,3-dihidro-1H-inden-1-il]oxi]fenil]isotiazol-3-ol, 5-(4-((3-(2,6-dimetil-4-(3-(metilsulfonil)propoxi)fenil)fenil)metoxi)fenil)iso, 1-óxido de 5-(4-((3-(2-metil-6-(3-hidroxi)propoxi)piridin-3-il)-2-metilfenil)metoxi)fenil]isotiazol-3-ol y 1-óxido de 5-[4-[[3-[4-(3-aminopropoxi)-2,6-dimetilfenil]fenil]metoxi]fenil]isotiazol-3-ol);

20 (22) antagonistas de SSTR3 (por ejemplo, tales como los divulgados en el documento WO 2009/001836);

(23) agonistas del receptor de la neuromedina U (por ejemplo, tales como los divulgados en los documentos WO 2009/042053, incluyendo, pero sin limitarse a, neuromedina S (NMS));

25 (24) inhibidores de SCD;

(25) antagonistas de GPR-105 (por ejemplo, tales como los divulgados en el documento WO 2009/000087);

(26) inhibidores de SGLT (por ejemplo, ASP1941, SGLT-3, empagliflozina, dapagliflozina, canagliflozina, BI-10773, PF-04971729, remogloflozina, TS-071, tofogliflozina,
30 ipragliflozina y LX-4211);

(27) inhibidores de acil-coenzima A:diacilglicerol aciltransferasa 1 y 2 (DGAT-1 y DGAT-2);

(28) inhibidores de ácido graso sintasa;

(29) inhibidores de acil-coenzima A:monoacilglicerol aciltransferasa 1 y 2 (MGAT-1 y MGAT-2);

(30) agonistas del receptor de TGR5 (también conocido como GPBAR1, BG37, GPCR19, GPR131 y M-BAR);

(31) inhibidores de transportadores de ácido biliar en el íleon;

(32) PACAP, miméticos de PACAP y agonistas del receptor 3 de PACAP;

(33) agonistas de PPAR;

(34), inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B);

(35) anticuerpos contra IL-1b, (por ejemplo, XOMA052 y canakinumab); y

(36) mesilato de bromocriptina y formulaciones de liberación rápida del mismo.

De particular interés son clorhidrato de metformina, pioglitazona, rosiglitazona, simvastatina, atorvastatina o una sulfonilurea.

Los compuestos antiobesidad que se pueden combinar con compuestos como se divulga en el presente documento incluyen topiramato; zonisamida; naltrexona; fentermina; bupropión; la combinación de bupropión y naltrexona; la combinación de bupropión y zonisamida; la combinación de topiramato y fentermina; fenfluramina; dexfenfluramina; sibutramina; inhibidores de lipasa, tales como orlistat y cetilistat; agonistas de receptores de melanocortina, en particular, agonistas del receptor de melanocortina-4; agonistas de CCK-1; antagonistas del receptor de la hormona concentradora de melanina (MCH); antagonistas del neuropéptido Y1 o Y5 (tales como MK-0557); agonistas inversos y antagonistas del receptor de CB1 (tales como rimonabant y taranabant); agonistas del receptor adrenérgico β_3 ; antagonistas de grelina; agonistas del receptor de bombesina (tales como agonistas del receptor de bombesina subtipo-3); y agonistas de 5-hidroxitriptamina-2c (5-HT2c), tales como lorcaserina. Para una revisión de compuestos antiobesidad que se pueden combinar con los compuestos de la presente invención, véase Chaki *et al.*, “Recent advances in feeding suppressing agents: potential therapeutic strategy for the treatment of obesity,” *Expert Opin. Ther. Patents*, 11: 1677-1692 (2001); Spanswick y Lee, “Emerging antiobesity drugs,” *Expert Opin. Emerging Drugs*, 8: 217-237 (2003); Fernandez-Lopez, *et al.*, “Pharmacological Approaches for the Treatment of

Obesity," *Drugs*, 62: 915-944 (2002); y Gadde, *et al.*, "Combination pharmaceutical therapies for obesity," *Exp. Opin. Pharmacother.*, 10: 921-925 (2009).

En otro aspecto de la invención, se divulga una composición farmacéutica que comprende uno o más de los siguientes agentes:

- 5 (a) un compuesto como se divulga en el presente documento, por ejemplo uno o coagonistas como se divulga en el presente documento en el que cada coagonista puede ser independientemente un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:20 con la condición de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21;
- (b) uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en:
 - 10 (1) otros inhibidores de la dipeptidil peptidasa-IV (DPP-4);
 - (2) sensibilizantes de insulina, incluyendo (i) agonistas de PPAR γ , tales como las glitazonas (por ejemplo AMG 131, MBX2044, mitoglitazona, lobeglitazona, IDR-105, pioglitazona, rosiglitazona y balaglitazona) y otros ligandos de PPAR, incluyendo (1) agonistas duales de PPAR α/γ , tales como ZYH1, YYH2, chiglitazar, GFT505, muraglitazar, aleglitazar,
 - 15 sodelglitazar y naveglitazar, (2) agonistas de PPAR α , tales como derivados de ácido fenofibrico (por ejemplo, gemfibrozilo, clofibrato, ciprofibrato, fenofibrato y bezafibrato), (3) moduladores de PPAR γ selectivos (SPPAR γ M), y (4) agonistas parciales de PPAR γ ; (ii) biguanidas, tales como metformina y sus sales farmacéuticamente aceptables, en particular, clorhidrato de metformina, y formulaciones de liberación prolongada de la misma, tales como Glumetza®,
 - 20 Fortamet® y GlucophageXR®; (iii), inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B), tales como ISI-113715, y TTP814;
 - (3) sulfonilurea y secretagogos de insulina distintos de sulfonilurea (por ejemplo, tolbutamida, gliburida, glipizida, glimepirida, mitiglinida y meglitinidas, tal como nateglinida y repaglinida);
 - 25 (4) inhibidores de α -glucosidasa (por ejemplo, acarbosa, voglibosa y miglitol);
 - (5) antagonistas del receptor de glucagón;
 - (6) agentes de disminución de colesterol de las LDL tales como (i) inhibidores de la HMG-CoA reductasa (por ejemplo, lovastatina, simvastatina, pravastatina, cerivastatina, fluvastatina, atorvastatina, pitavastatina, y rosuvastatina), (ii) agentes secuestrantes de ácido biliar (por ejemplo, colestilán, colestiramina, colestimida, clorhidrato de colesevelam,
 - 30

colestipol y derivados de dialquilaminoalquilo de un dextrano reticulado), (iii) inhibidores de la absorción de colesterol, (por ejemplo, ezetimiba), e (iv) inhibidores de la acil-CoA:colesterol aciltransferasa (por ejemplo, avasimiba);

5 (7) fármacos elevadores de las HDL, tales como niacina o una sal de la misma y versiones de liberación prolongada de la misma; MK-524A, que es una combinación de liberación prolongada de niacina y el antagonista de DP-1 MK-524; y agonistas del receptor de ácido nicotínico;

(8) compuestos antiobesidad;

10 (9) agentes destinados para su uso en afecciones inflamatorias, tales como aspirina, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), glucocorticoides e inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2 (COX-2);

(10) agentes antihipertensores, tales como inhibidores de la ECA (por ejemplo, enalapril, lisinopril, ramipril, captopril, quinapril, y tandolapril), bloqueantes de receptores de la A-II (por ejemplo, losartán, candesartán, irbesartán, olmesartán medoxomilo, 15 valsartán, telmisartán y eprosartán), inhibidores de renina (por ejemplo, alisquireno), beta-bloqueantes (por ejemplo, bloqueantes de canales de calcio);

(11) activadores de glucocinasa (GKA) (por ejemplo, AZD6370);

(12) inhibidores de la 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 1 (por ejemplo, tales como los divulgados en las patentes de los EE. UU. N.º 6,730,690; WO 20 03/104207; y WO 04/058741);

(13) inhibidores de la proteína de transferencia del éster colesterílico (CETP), (por ejemplo, torcetrapib y MK-0859);

(14) inhibidores de la fructosa 1,6-bisfosfatasa (por ejemplo, tales como los divulgados en las patentes de los EE. UU. N.º 6,054,587; 6,110,903; 6,284,748; 6,399,782; y 25 6,489,476);

(15) inhibidores de la acetil CoA carboxilasa-1 o 2 (ACC1 o ACC2);

(16) activadores de la proteína cinasa activada por AMP (AMPK);

(17) agonistas de los receptores acoplados a la proteína G: (i) GPR-109, (ii) GPR-119 (por ejemplo, MBX2982 y PSN821) y (iii) GPR-40 (por ejemplo, TAK875, 1- 30 óxido de 5-[4-[[[(1R)-4-[6-(3-hidroxi-3-metilbutoxi)-2-metilpiridin-3-il]-2,3-dihidro-1H-inden-1-il]oxi]fenil]isotiazol-3-ol, 5-(4-((3-(2,6-dimetil-4-(3-

(metilsulfonil)propoxi)fenil)fenil)metoxi)fenil)iso, 1-óxido de 5-(4-((3-(2-metil-6-(3-hidroxi)propoxi)piridin-3-il)-2-metilfenil)metoxi)fenil)isotiazol-3-ol y 1-óxido de 5-[4-[[3-[4-(3-aminopropoxi)-2,6-dimetilfenil]fenil]metoxi]fenil]isotiazol-3-ol);

5 (18) antagonistas de SSTR3 (por ejemplo, tales como los divulgados en el documento WO 2009/011836);

(19) agonistas del receptor de la neuromedina U (por ejemplo, tales como los divulgados en los documentos WO2009/042053, incluyendo, pero sin limitarse a, neuromedina S (NMS));

(20) inhibidores de la esteroil-coenzima A delta-9 desaturasa (SCD);

10 (21) antagonistas de GPR-105 (por ejemplo, tales como los divulgados en el documento WO 2009/000087);

(22) inhibidores de la captación de glucosa, tales como inhibidores del transportador de sodio-glucosa (SGLT) y sus diversas isoformas, tales como SGLT-1; SGLT-2 (por ejemplo, ASP1941, TS071, BI10773, tofogliflozina, LX4211, canagliflozina, dapagliflozina y remogliflozina; y SGLT-3);

15 (23) inhibidores de acil-coenzima A:diacilglicerol aciltransferasa 1 y 2 (DGAT-1 y DGAT-2);

(24) inhibidores de ácido graso sintasa;

20 (25) inhibidores de acil-coenzima A:monoacilglicerol aciltransferasa 1 y 2 (MGAT-1 y MGAT-2);

(26) agonistas del receptor de TGR5 (también conocido como GPBAR1, BG37, GPCR19, GPR131 y M-BAR);

(28) mesilato de bromocriptina y formulaciones de liberación rápida del mismo, y

25 (29) anticuerpos contra IL-1b (por ejemplo, XOMA052 y canakinumab); y

(c) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Cuando un péptido coagonista de la presente invención se usa de forma contemporánea con uno o más de otros fármacos, péptidos o proteínas, se puede proporcionar una composición farmacéutica que contiene dichos otros fármacos, péptidos o proteínas además del péptido coagonista de la presente invención. En consecuencia, las composiciones

farmacéuticas de la presente invención incluyen las que también contienen uno o más de otros ingredientes activos, además de un péptido coagonista de la presente invención.

Los procedimientos de administración de las composiciones farmacéuticas que comprenden el uno o más péptidos coagonistas divulgados en el presente documento a un individuo incluyen, pero no se limitan a, vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. Las composiciones se pueden administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo por infusión o inyección intravenosa rápida, por absorción a través de los revestimientos epitelial o mucocutáneo (por ejemplo, mucosa oral, rectal y mucosa intestinal, y similares), ocular, y similares y se pueden administrar junto con otros agentes biológicamente activos. La administración puede ser sistémica o local. Además, puede ser ventajoso administrar la composición en el sistema nervioso central por cualquier vía adecuada, incluyendo inyección intraventricular e intratecal. Se puede facilitar la inyección intraventricular por un catéter intraventricular unido a un depósito (por ejemplo, un depósito de Ommaya). También se puede emplear la administración pulmonar por el uso de un inhalador o nebulizador, y la formulación con un agente de aerosol. También puede ser deseable administrar el uno o más péptidos coagonistas divulgados en el presente documento por vía local a la zona que necesita tratamiento; esto se puede lograr por, por ejemplo, y no a modo de limitación, infusión intravenosa local durante cirugía, aplicación tópica, por inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio o por medio de un implante.

Son conocidos diversos sistemas de administración y se pueden usar para administrar los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento, incluyendo, pero sin limitarse a, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas; minicélulas; polímeros; cápsulas; comprimidos; y similares. En un modo de realización, los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento se pueden administrar en una vesícula, en particular un liposoma. En un liposoma, los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento se combinan, además de otros vehículos farmacéuticamente aceptables, con agentes anfipáticos tales como lípidos, que existen en forma agregada como micelas, monocapas insolubles, cristales líquidos o capas laminares en solución acuosa. Los lípidos adecuados para formulación liposómica incluyen, sin limitación, monoglicéridos, diglicéridos, sulfátidos, lisolecitina, fosfolípidos, saponina, ácidos biliares y similares. La preparación de dichas formulaciones liposómicas está dentro del nivel de experiencia en la técnica, como se divulga, por ejemplo, en

la patente de los EE. UU. N.º 4,837,028 y la patente de los EE. UU. N.º 4,737,323. Aún en otro modo de realización, los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento se pueden administrar en un sistema de liberación controlada, incluyendo, pero sin limitarse a: un bomba de administración (véase, por ejemplo, Saudek, *et al.*, New Engl. J. Med. 321: 574 (1989)) y un material polimérico semipermeable (véase, por ejemplo, Howard, *et al.*, J. Neurosurg. 71: 105 (1989)). Adicionalmente, el sistema de liberación controlada se puede situar en las proximidades de la diana terapéutica (por ejemplo, el cerebro), lo que requiere, por tanto, sólo una fracción de la dosis sistémica. Véase, por ejemplo, Goodson, en: *Medical Applications of Controlled Release*, 1984. (CRC Press, Boca Raton, Fla.).

La cantidad de las composiciones que comprenden uno o más de los péptidos coagonistas divulgados en el presente documento que será eficaz en el tratamiento de un trastorno o afección particular dependerá de la naturaleza del trastorno o afección, y se puede determinar por técnicas clínicas estándar por expertos promedio en la técnica. Además, se pueden emplear opcionalmente ensayos *in vitro* para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa que se debe emplear en la formulación también dependerá de la vía de administración y la gravedad global de la enfermedad o trastorno, y se debería decidir de acuerdo con el criterio del facultativo y las circunstancias de cada paciente. Finalmente, el médico encargado decidirá la cantidad de la composición con la que tratar a cada paciente individual. Inicialmente, el médico encargado administrará dosis bajas de la composición y observará la respuesta del paciente. Se pueden administrar dosis mayores de la composición hasta que se obtenga el efecto terapéutico óptimo para el paciente, y en ese momento, la dosificación se incrementa adicionalmente. En general, el intervalo de dosis diaria está dentro del intervalo de desde aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal de un mamífero, preferentemente de 0,01 mg a aproximadamente 50 mg por kg, y lo más preferentemente de 0,1 a 10 mg por kg, en dosis individuales o divididas. Por otra parte, puede ser necesario el uso de dosificaciones fuera de estos límites en algunos casos. No obstante, los intervalos de dosificación adecuados para la administración intravenosa de las composiciones que comprenden el uno o más péptidos coagonistas divulgados en el presente documento son, en general, de aproximadamente de 5-500 microgramos (μ g) de compuesto activo por kilogramo (kg) de peso corporal. Los intervalos de dosificación adecuados para administración intranasal son, en general, de aproximadamente 0,01 pg/kg de peso corporal a 1

mg/kg de peso corporal. De Se pueden extrapolar dosis Eficaces a partir de curvas dosis-
 Respuesta Derivadas de Sistemas de prueba *in vitro* o de modelo animal. Los supositorios, en
 general, contienen ingrediente activo en el intervalo de un 0,5 % a un 10 % en peso; las
 formulaciones contienen preferentemente de un 10 % a un 95 % de ingrediente activo.

- 5 Finalmente, el médico encargado decidirá la duración apropiada del tratamiento usando
 composiciones que comprenden el uno o más péptidos coagonistas divulgados en el presente
 documento de la presente invención. La dosificación también variará de acuerdo con la edad,
 peso y respuesta del paciente individual.

- 10 Se proporciona además un envase o kit farmacéutico que comprende uno o más
 recipientes llenos con uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas péptidos
 coagonistas divulgados en el presente documento. Opcionalmente, asociado a dicho(s)
 recipiente(s) puede estar un aviso en la forma prescrita por una agencia gubernamental que
 regule la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos o biológicos, aviso que refleja la
 aprobación por la agencia de la fabricación, uso o venta para su administración a seres humanos.

- 15 Por tanto, la presente invención proporciona además una composición
 farmacéutica que comprende (i) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos del
 glucagón humano natural que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO:1 pero
 en la que la L-serina en la posición 2 se reemplaza por una D-serina; la tirosina en la posición 10
 se reemplaza por (i) L-lisina conjugada con un grupo palmitoílo por un espaciador de ácido
 20 gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido gamma-glutámico-ácido
 gamma-glutámico (γ E γ E) o (ii), para-aminometilfenilalanina conjugada con un grupo palmitoílo
 por un espaciador de ácido gamma-glutámico (γ E) o bien un espaciador de dipéptido de ácido
 gamma-glutámico-ácido gamma-glutámico (γ E γ E); y hasta seis sustituciones de aminoácidos
 adicionales; en la que el péptido es un coagonista del receptor de glucagón y del receptor de
 25 GLP-1 y tiene una proporción de CE₅₀ en el receptor de glucagón con respecto a la CE₅₀ en el
 receptor de GLP-1 de aproximadamente 0,88 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente
 0,90 a aproximadamente 1,25, de aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,10, de
 aproximadamente 0,90 a aproximadamente 1,00, o de aproximadamente 1,0 $\pm$ 0,12, y en la que el
 péptido incluye opcionalmente un grupo protector que, si está presente, está unido al grupo
 30 carboxi C-terminal del péptido, y (ii) un vehículo farmacéuticamente aceptable; con la condición
 de que el péptido no tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21.

En aspectos particulares, la serina en la posición 16 se reemplaza por L-alanina, la arginina en la posición 18 se reemplaza por L-alanina, la metionina en la posición 27 se reemplaza por L-leucina, la asparagina en la posición 28 se reemplaza por ácido L-aspártico, o combinaciones de las mismas.

5 La presente invención proporciona además un procedimiento para tratar en un paciente la metabolopatía de obesidad que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz del péptido de uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente para tratar la metabolopatía en el paciente.

10 La presente invención proporciona además un procedimiento para tratar en un paciente la metabolopatía de obesidad que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de la composición de las composiciones mencionadas anteriormente para tratar la metabolopatía en el paciente.

En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad.

15 En aspectos particulares, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

En aspectos particulares, el paciente tiene más de una metabolopatía, por ejemplo, diabetes y NASH, NAFLD u obesidad; obesidad y NASH o NAFLD; diabetes, NASH y obesidad; diabetes, NAFLD y obesidad; o diabetes y obesidad.

20 La presente invención proporciona además el uso de uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la metabolopatía de obesidad.

25 La presente invención proporciona además el uso de una cualquiera de las composiciones mencionadas anteriormente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la metabolopatía de obesidad.

En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad.

En aspectos particulares, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

En aspectos particulares, el medicamento es para el tratamiento de más de una metabolopatía, por ejemplo, diabetes y NASH, NAFLD u obesidad; obesidad y NASH o NAFLD; diabetes, NASH y obesidad; diabetes, NAFLD y obesidad; o diabetes y obesidad.

5 En aspectos particulares de los compuestos divulgados en el presente documento, el grupo protector C-terminal puede ser una amida o éster. Por ejemplo, el ácido carboxílico del aminoácido C terminal se reemplaza por un grupo de carga neutra, tal como una amida o éster.

Se proporciona además un procedimiento para tratar una metabolopatía en un paciente o individuo que comprende: administrar al paciente o individuo una cantidad eficaz de una cualquiera de las composiciones mencionadas anteriormente que comprenden un péptido coagonista y administrar al paciente o individuo una cantidad eficaz de una composición que
10 comprende una insulina o análogo de insulina para tratar la metabolopatía en el paciente o individuo.

En aspectos particulares, la composición que comprende el péptido coagonista se administra en un momento anterior al momento en que se administra la composición que
15 comprende la insulina o análogo de insulina. En otro aspecto, la composición que comprende la insulina o análogo de insulina se administra en un momento anterior al momento en que se administra la composición que comprende el péptido coagonista. Aún en otro aspecto, la composición que comprende el péptido coagonista se administra en el mismo momento en que se administra la composición que comprende el insulina o análogo de insulina.

20 En aspectos particulares, el análogo de la insulina es insulina detemir, insulina glargina, insulina levemir, insulina glulisina o insulina lispro.

En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad.

25 En aspectos particulares, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

En aspectos particulares, el paciente tiene más de una metabolopatía, por ejemplo, diabetes y NASH, NAFLD u obesidad; obesidad y NASH o NAFLD; diabetes, NASH y obesidad; diabetes, NAFLD y obesidad; o diabetes y obesidad.

30 La presente invención proporciona además una composición que comprende uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente; una insulina o análogo de insulina; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención proporciona además el uso de una composición que comprende uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente; una insulina o análogo de insulina; y un vehículo farmacéuticamente aceptable para el tratamiento de una metabolopatía.

En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no
5 alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad. En otros aspectos, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

La presente invención proporciona además el uso de una composición que comprende uno cualquiera de los péptidos mencionados anteriormente; una insulina o análogo de insulina; y un vehículo farmacéuticamente aceptable para la fabricación de un medicamento para
10 el tratamiento de una metabolopatía.

En aspectos particulares, la metabolopatía es diabetes, hesteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH) u obesidad. En otros aspectos, la diabetes es diabetes de tipo I, diabetes de tipo II o diabetes gestacional.

15 Los siguientes ejemplos están destinados a promover una comprensión adicional de la presente invención.

EJEMPLO 1

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 1: His¹-D-Ser²-Gln-Gly-
20 Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γGlu-C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ala-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp-Phe²²-Val²³-Gln-Trp-Leu-Leu-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:6) fue como sigue.

El péptido se sintetizó sobre una resina de PEG-PS de amida de Rink, Champion (Biosearch Technologies (150 μmol, carga de 0,28 mmol/g) en un aparato de Symphony Protein Technologies Inc.

25 Todos los aminoácidos se disolvieron a una concentración 0,3 M en una solución de HOBt 0,3M (hidroxibenzotriazol) en DMF. Las reacciones de acilación se realizaron durante 1 hora con un exceso de 5 veces de aminoácido activado sobre los grupos amino libres de la resina. Los aminoácidos se activaron con cantidades equimolares de HATU (hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio) y un exceso molar de 2 veces de
30 solución DIEA (diisopropiletilamina) 2 M en NMP.

Se realizaron reacciones de acilación doble de 45 minutos de His¹ a Trp²⁵.

Se purificó el péptido en bruto (130 mg en 3 ml de DMSO) por HPLC de fase inversa usando cartuchos de C-4 Delta-PakTM preparativa Waters (40 x 200 mm, 15 µm, 300Å) y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el siguiente
 5 gradiente de eluyente B: 30 %B a 30 %B durante 5 min, 60 %B a 60 %B sobre 20 min-80 %B, caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm. Rendimiento 21 %, 95 % puro.

El péptido final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con BEH300 C4 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7µm, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolventes y también se caracterizó por espectrometría de
 10 masas con electropulverización en un detector Acquity SQ (PM hallado: 3695,60 Da; PM esperado: 3696,12 Da).

EJEMPLO 2

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 2: His¹-D-Ser²-Gln-Gly-
 15 Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γGlu-C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Val-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp-Phe²²-Val²³-Gln-Trp-Leu-Leu-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:7) fue como sigue.

El péptido se sintetizó como se informó previamente para SEQ ID NO: 6/

Ejemplo 1

Se purificó el péptido en bruto (130 mg en 3 ml de DMSO) por HPLC de fase inversa usando
 20 cartuchos de C-4 Delta-PakTM preparativa Waters (40 x 200 mm, 15 µm, 300Å) y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el siguiente gradiente de eluyente B: 30 %B a 30 %B durante 5 min, 50 %B a 50 %B sobre 20 min-80 %B, caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm. Rendimiento 16%, 95 % puro.

El péptido final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con
 25 BEH300 C4 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7µm, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolventes y también se caracterizó por espectrometría de masas con electropulverización en un detector Acquity SQ (PM hallado: 3723,70 Da; PM esperado: 3724,18 Da).

EJEMPLO 3

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 3: His¹-D-Ser²-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γ Glu- γ Glu- C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Val-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp- Phe²²-Val²³-Gln-Trp-Leu-Leu-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:8) fue como sigue.

5 El péptido se sintetizó como se informó previamente para el péptido coagonista 1. Se purificó el péptido en bruto (130 mg en 3 ml de DMSO) por HPLC de fase inversa usando cartuchos de C-4 Delta-PakTM preparativa Waters (40 x 200 mm, 15 μ m, 300Å) y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el siguiente gradiente de eluyente B: 30 %B a 30 %B durante 5 min, 30 %B a 60 %B sobre 20 min-80 %B, 10 caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm. Rendimiento 20 %, >90 % puro.

El péptido final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con BEH300 C4 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7 μ m, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolventes y el siguiente gradiente: 35 % al 65 %B en 4 min, flujo 0,4 ml/min. El péptido se caracterizó por espectrometría de masas con electropulverización 15 en un detector Acquity SQ (PM hallado: 3852,80 Da; PM esperado: 3853,29 Da).

EJEMPLO 4

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 4: His¹-Aib²-Val-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γ Glu- γ Glu- C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp¹⁵-Aib¹⁶-Arg-Ala-Ala- 20 Gln-Asp- Phe²²-Val²³-Gln-Trp²⁵-Leu-Nle-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:9) fue como sigue.

El péptido se sintetizó por síntesis peptídica en fase sólida estándar (SPPS) usando química de Fmoc/t-Bu. El montaje se realizó en una resina de PEG-PS amida de Rink, Champion (Biosearch Technologies, 0,28 mmol/g) en un sintetizador peptídico Symphony (Protein Technologies).

25 Todos los aminoácidos se disolvieron a una concentración 0,3 M en una solución de HOBt 0,3M (hidroxibenzotriazol) en DMF. Las reacciones de acilación se realizaron durante 45 min con un exceso de 5 veces de aminoácido activado sobre los grupos amino libres de la resina. Los aminoácidos se activaron con cantidades equimolares de HATU (hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio) y un exceso molar de 2 veces de

solución DIEA (diisopropiletilamina) 2 M en NMP. Se realizaron reacciones de acilación doble de His¹ a Trp²⁵. Durante el montaje peptídico en fase sólida, los grupos protectores de cadena lateral fueron: terc-butilo para Asp, γGlu, Ser, Thr y Tyr; tritilo para Gln y His; terc-butoxi-carbonilo para Lys, Trp; y 2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo para Arg. La Lys en la posición 10 se introdujo como Dde-Lys(Fmoc)-OH para llevar a cabo la derivatización de la cadena lateral justo después del montaje de Lys¹⁰ después de la desprotección con Fmoc del grupo ε-amino. La cadena lateral Dde-Lys¹⁰ se derivatizó con el enlazador y ácidos grasos por acoplamiento manual de dos residuos Fmoc-Glu-OtBu y ácido palmítico activado con DIPC y HOAt. El grupo protector Dde se retiró por tratamiento con una solución de hidrazina al 2 % en DMF y se continuó con el montaje de la secuencia para incorporar los residuos 1-9. El péptido-resina seco se trató durante 2 h a temperatura ambiente con TFA al 88 %, fenol al 5 %, triisopropilsilano al 2 % y agua al 5 % para proporcionar la desprotección de los grupos protectores y la escisión de la resina. La solución se filtró para retirar la resina y la solución peptídica en bruto se precipitó en éter metil-terc-butilílico frío (solución peptídica de aproximadamente 4 ml para 50 ml de éter metil-terc-butilílico). El sedimento de péptido se resuspendió/lavó/centrifugó en éter metil-terc-butilílico frío 2 veces. El sedimento de péptido se secó a vacío y después se disolvió en agua/acetonitrilo y después se liofilizó.

Se purificó el péptido en bruto (130 mg en 3 ml de DMSO) por HPLC de fase inversa usando cartuchos de C-4 Delta-PakTM preparativa Waters (40 x 200 mm, 15 μm, 300 Å) y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el siguiente gradiente de eluyente B: 30 %B a 30 %B durante 5 min, 30 %B a 50 %B sobre 20 min-80 %B, caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm. Rendimiento 20 %, >90 % puro.

El péptido final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con BEH300 C4 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7μm, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolventes y el siguiente gradiente: 35 % al 35 % durante 1 min, 35 sobre 65 %B en 4 min, flujo 0,4 ml/min. El péptido se caracterizó por espectrometría de masas con electropulverización en un detector Acquity SQ (PM hallado: 3807,9 Da; PM esperado: 3808,29 Da).

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 5: His¹-D-Ser²-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γ Glu- γ Glu- C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ala-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp- Phe²²-Val²³-Gln-Trp-Leu-Leu-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:10) fue como sigue.

5 El péptido se sintetizó por síntesis peptídica en fase sólida estándar (SPPS) usando química de Fmoc/t-Bu. El montaje se realizó en una resina de PS de amida de Rink (150 μ mol, carga de 0,47 mmol/g) en un sintetizador peptídico APEX 396.

Todos los aminoácidos se disolvieron a una concentración 0,5 M en una solución de HOBt 0,5 M (hidroxibenzotriazol) en DMF. Las reacciones de acilación se realizaron durante 45 min con un exceso de 5 veces de aminoácido activado sobre los grupos amino libres de la resina. Los aminoácidos se activaron con cantidades equimolares de HATU (hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio) y un exceso molar de 2 veces de solución DIEA (diisopropiletilamina) 2 M en NMP.

Se realizaron reacciones de acilación doble en His¹, D-Ser², Phe²², Val²³. Durante el montaje peptídico en fase sólida, los grupos protectores de cadena lateral fueron: terc-butilo para Asp, Ser, D-Ser, Thr y Tyr; tritilo para Gln y His; terc-butoxi-carbonilo para Lys, Trp; y 2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo para Arg. La Lys en la posición 10 se protegió por el grupo protector ortogonal Alloc(aliloxycarbonilo).

El residuo N terminal se aciló como Boc-Su(Trt)-OH. Al final del montaje peptídico en fase sólida, el grupo protector Alloc se retiró de Lys¹⁰ y se realizó la derivatización de la cadena lateral por acoplamiento manual de residuos Fmoc-Glu-OtBu y ácido palmítico activado con DIPC y HOAt. El péptido-resina seco se trató durante 2 h a temperatura ambiente con TFA al 88 %, fenol al 5 %, triisopropilsilano al 2 % y agua al 5 % para proporcionar la desprotección de los grupos protectores y la escisión de la resina. La solución se filtró para retirar la resina y la solución peptídica en bruto se precipitó en éter metil-terc-butílico frío (solución peptídica de aproximadamente 4 ml para 50 ml de éter metil-terc-butílico). El sedimento de péptido se resuspendió/lavó/centrifugó en éter metil-terc-butílico frío 2 veces. El sedimento de péptido se secó a vacío y después se disolvió en agua/acetonitrilo y después se liofilizó.

Se purificó el péptido en bruto (130 mg en 3 ml de DMSO) por HPLC de fase inversa usando cartuchos de C-4 Delta-PakTM preparativa Waters (40 x 200 mm, 15 μ m, 300Å)

y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el siguiente gradiente de eluyente B: 35 %B a 35 %B durante 5 min, 35 %B a 55 %B sobre 20 min-80 %B, caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm. Rendimiento 30%, 95 % puro.

El péptido final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con
 5 BEH300 C4 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7µm, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolventes y por espectrometría de masas con electropulverización en un detector Acquity SQ. (PM hallado: 3824,4 Da; PM esperado: 3825,24 Da).

10 EJEMPLO 6

El péptido coagonista comparador 6: His¹-D-Ser²-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γGlu-γGlu-C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Glu-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp-Phe²²-Val²³-Gln-Trp-Leu-Leu-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:11) tiene la misma secuencia de aminoácidos que
 15 SEQ ID NO:66 en la solicitud publicada de los EE. UU. N.º 20120288511 o SEQ ID NO:19 en la solicitud publicada de los EE. UU. N.º 20140221283 con la excepción de que en SEQ ID NO:66 y SEQ ID NO:19 la Lys¹⁰ está conjugada a γGlu- C₁₆. Las solicitudes publicadas de los EE. UU. N.º 20120288511 y 20140221283 se incorporan en el presente documento en su totalidad y el péptido coagonista 6 se sintetizó esencialmente como se describe en las mismas.

20 EJEMPLO 7

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 7: Ac-His¹-Ala²-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γGlu-γGlu-C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp¹⁵-Glu¹⁶-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp-Phe²²-Val²³-Gln-Trp²⁵-Leu-Leu-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:12) fue como sigue.

El péptido se sintetizó como se informó previamente para el péptido coagonista 1
 25 sobre una resina de PEG-AM de amida de Rink, (Chemimpex, 0,47 mmol/g). El residuo N terminal se aciló con anhídrido acético al final del montaje peptídico en fase sólida.

Se purificó el péptido en bruto (130mg en 3 ml de DMSO) por HPLC de fase inversa usando cartuchos de C-4 Delta-PakTM preparativa Waters (40 x 200 mm, 15 µm, 300Å) y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el

siguiente gradiente de eluyente B: 25 %B a 25 %B durante 5 min, 25 %B a 55 %B sobre 20 min-80 %B, caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm. Rendimiento 27%, >90 % puro.

El péptido final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con BEH300 C4 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7µm, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolventes y el siguiente gradiente: 30% al 30% durante 1 min, 30 sobre 70 %B en 4 min, flujo 0,4 ml/min. El péptido se caracterizó por espectrometría de masas con electropulverización en un detector Acquity SQ (PM hallado: 3909,31 Da; PM esperado: 3907,8 Da).

10

EJEMPLO 8

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 8: His¹-D-Ser²-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γGlu-γGlu-C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Glu¹⁵-Ala¹⁶-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp-Phe²²-Val²³-Gln-Trp²⁵-Leu-Leu-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:13) fue como sigue.

El péptido se sintetizó por síntesis peptídica en fase sólida estándar (SPPS) usando química de Fmoc/t-Bu. El montaje se realizó en una resina de PEG-AM de amida de Rink, (Chemimpex, 0,47 mmol/g) o en una resina de PEG-PS de amida de Rink, Champion (Biosearch Technologies, 0,28 mmol/g) en un sintetizador peptídico Overture. Las acilaciones se realizaron usando HATU/DIPEA como activadores y un tiempo de reacción de 45 minutos. Se realizaron reacciones de acilación doble en toda la secuencia. La Lys en la posición 10 se protegió por el grupo protector ortogonal Alloc(aliloxycarbonilo). El residuo N terminal se protegió como Boc. Al final del montaje peptídico en fase sólida, el grupo protector Alloc se retiró de Lys¹⁰ y se realizó la derivatización de la cadena lateral por acoplamiento manual de residuos Fmoc-Glu-OtBu y ácido palmítico activado con DIPC y HOAt. El péptido-resina seco se trató durante 2 h a temperatura ambiente con TFA al 88 %, fenol al 5 %, triisopropilsilano al 2 % y agua al 5 % para proporcionar la desprotección de los grupos protectores y la escisión de la resina. La solución se filtró para retirar la resina y la solución peptídica en bruto se precipitó en éter metil-terc-butílico frío (solución peptídica de aproximadamente 4 ml para 50 ml de éter metil-terc-butílico). El sedimento de péptido se resuspendió/lavó/centrifugó en éter metil-terc-butílico frío 2 veces. El sedimento de péptido se secó a vacío y después se disolvió en agua/acetonitrilo y después se liofilizó.

Se purificaron los péptidos en bruto (130 mg en 3 ml de DMSO) por HPLC de fase inversa usando cartuchos C-4 Delta-PakTM preparativa Waters (40 x 200 mm, 15 µm, 300Å) y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el siguiente gradiente de eluyente B: 35 %B a 35 %B durante 5 min, 35 %B a 55 %B sobre 20 min-80 %B, caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm, rendimiento 20 %, >90 % puro. El péptido final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con BEH300 C4 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7µm, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolvente. El péptido se caracterizó por espectrometría de masas con electropulverización en un detector Acquity SQ (PM hallado: 3839,10 Da; PM esperado: 3839,26 Da).

EJEMPLO 9

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 9: His¹-D-Ser²-Val-Gly-Thr-pFF⁶-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γGlu-γGlu-C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp¹⁵-Glu¹⁶-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp-Phe²²-Val²³-Gln-Trp²⁵-Leu-Leu-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:14) fue como sigue:

El péptido se sintetizó como se informó previamente para el péptido coagonista 4. Se realizaron reacciones de acilación doble en His¹, D-Ser², Val³, Gly⁴, Thr⁵, Thr⁷, Phe²², Val²³. Se montó Fmoc-p-fluoro-fenilalanina-COOH (Fmoc-pFF-OH) por acoplamiento manual activado con DIPC y HOAt.

Se purificó el péptido en bruto (130 mg en 3 ml de DMSO) por HPLC de fase inversa usando cartuchos C-4 Delta-PakTM preparativa de Waters (40 x 200 mm, 15 µm, 300Å) y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el siguiente gradiente de eluyente B: 30 %B a 30 %B durante 5 min, 30 %B a 50 %B sobre 20 min-80 %B, caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm. El rendimiento fue del 10 %, y la pureza por encima del 90 %. El péptido final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con BEH300 C4 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7µm, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolvente. El péptido se caracterizó por espectrometría de masas con electropulverización en un detector Acquity SQ (PM hallado: 3900,80 Da; PM esperado: 3901,26 Da).

EJEMPLO 10

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 10: His¹-D-Ser²-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γ Glu- γ Glu-C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp¹⁵-Glu¹⁶-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp-Phe²²-Val²³-Gln-Trp²⁵-Leu-Met₂(O)-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:15) fue como sigue.

El péptido se sintetizó como se informó previamente para el péptido coagonista 4. Se realizaron reacciones de acilación doble en His¹, D-Ser², Gln³, Gly⁴, Thr⁵, Phe⁶, Thr⁷, Phe²², Val²³. Se montó Fmoc-metionina-sulfona-COOH por acoplamiento manual activado con DIPC y HOAt. Se purificó el péptido en bruto (130mg en 3 ml de DMSO) por HPLC de fase inversa usando cartuchos de C-4 Delta-PakTM preparativa Waters (40 x 200 mm, 15 μ m, 300Å) y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el siguiente gradiente de eluyente B: 30 %B a 30 %B durante 5 min, 30 %B a 50 %B sobre 20 min-80 %B, caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm. El rendimiento fue el 15 %, y la pureza fue del >90 % puro. El péptido final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con BEH300 C4 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7 μ m, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolvente. El péptido se caracterizó por espectrometría de masas con electropulverización en un detector Acquity SQ (PM hallado: 3932,70 Da; PM esperado: 3933,31 Da).

EJEMPLO 11

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 11: His¹-D-Ser²-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γ Glu- γ Glu-C₁₆)-Ser-Leu-Tyr-Leu-Asp-Glu¹⁶-Arg-Ala¹⁸-Ala-Gln-Asp-Phe²²-Val²³-Gln-Trp²⁵-Leu-Leu-Asp-Thr-NH₂ (SEQ ID NO:16) fue como sigue.

La síntesis comenzó con el montaje de la secuencia de péptido lineal en un soporte sólido, seguido de la ramificación de lisina en la posición 10 con una secuencia de tres residuo de ácido γ glutámico-ácido γ glutámico-ácido palmítico. A continuación, la resina de peptidilo completada se escindió en solución de TFA. Después de la purificación con RP-HPLC, se obtuvieron 15 mg del compuesto del título a partir de 0,15 mmol de resina.

Se usó química de Fmoc/t-Bu en fase sólida estándar en un sintetizador peptídico CEM Liberty (CEM Corp. Matthews, NC). El primer aminoácido treonina se cargó como Fmoc-Thr (tBu) en una resina de poliestireno MBHA (0,21 mmol/g en carga, de Midwest Biotech. IN, lote n.º 16130). Se aplicó un dipéptido pseudoprolina de Fmoc-PheThr (ϕ Me, ϕ Me) en las posiciones 6 y 7. Se protegió la cadena lateral con lisina en la posición 10 con el grupo ivDde [1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohex-1-ilideno)isovalerilo]. Otros grupos protectores de cadena lateral estándar fueron los siguientes: grupo tritilo para glutamina; grupo terc-butoxi-carbonilo para triptófano e histidina; grupo terc-butilo para ácido glutámico, ácido γ -glutámico, ácido aspártico, serina y D-serina, treonina, y tirosina; grupo pbf (2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo para arginina.

La acilación se realizó con 5-6 equivalentes de aminoácidos sobre resina grupos amino libres de la resina. Se aplicó el acoplamiento individual en todas las posiciones, excepto para las posiciones Arg¹⁷, Ala¹⁹ y Thr²⁹, en las que se aplicaron el acoplamiento donde. Los Fmoc-aminoácidos se activaron con una cantidad equimolar de HATU [hexafluorofosfato de 2-(1H-9-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-amino] en presencia de una cantidad 2 equimolar de DIEA (N, N-diisopropiletilamina). La desprotección de Fmoc se llevó a cabo en piperidina al 20 % en DMF. La retirada de ivDde en la lisina 10 se llevó a cabo manualmente en una solución al 5 % de hidrazina en DMF, 2 veces durante 1 minuto cada una. Se acopló manualmente ácido palmítico a la secuencia en presencia de una cantidad 10 equimolar de DIPC (N, N'-diisopropilcarbodiimida) y HOAt (1-hidroxi-7-azabenzotriazol) durante 45 min.

La resina completada se escindió por solución de TFA (TFA al 88 %/ fenol al 5 %/triisopropilsilano al 2 %/agua al 5 %) durante 3 horas. Durante la escisión, se filtró la resina y se repuso la solución de TFA cada hora. Después se combinaron las soluciones de TFA y se condensaron en un evaporador rotatorio. Para precipitar los péptidos, se añadieron 50 ml de éter dietílico helado al TFA residual. El péptido precipitado se sedimentó por centrifugación, y los sedimentos se lavaron a continuación dos veces con éter dietílico helado para retirar los secuestrantes orgánicos. Se secaron los sedimentos finales, se resuspendieron en ácido acético al 30 % en agua y se secó por congelación. El péptido en bruto secado se redisolvió en agua/acetonitrilo. A continuación, el péptido en bruto se secó por congelación por segunda vez para retirar las impurezas atribuidas a la descarboxilación incompleta del residuo de triptófano.

El péptido en bruto se purificó por HPLC de fase inversa usando una columna Phenomenex Júpiter C4 (250 x 21,2 mm, 10 μ , 300A, n.º de catálogo 00G-4168-P0-AX) con un gradiente de agua/acetonitrilo en presencia de ácido trifluoroacético al 0,1 %. El péptido purificado se caracterizó por CLEM. La masa monoisotópica determinada para el péptido purificado fue de 3868,98 Da (la masa predicha de la secuencia es de 3868,3 Da).

La CL-EM se obtuvo en un sistema de UPLC-EM (Waters ACQUITY); Columna: Waters BEH 130 C18 Acquity 1,0x50 mm, 1,7 μ m; gradiente: 10-99 % B gradiente lineal sobre 1,6 min, de nuevo 1 %B en 0,4 min. sistema de tampón A/B (A= TFA al 0,1 % en agua; B= TFA al 0,1 % en acetonitrilo); caudal: 0,3 ml/min; temperatura: 50C; longitud de onda UV: 215 nm; volumen de inyección: 0,5 μ l; barrido de masa: 500-1500 m/z, 0,2 s; voltajes: capilar (Kv)-3,25; con (V)-27; extracto (V)-3; lente RF (V)-0,3; flujo gaseoso (l/h): desolvatación-597; cono-30; temperatura (C): temp. Fuente -100; temp. desolvatación -350.

EJEMPLO 12

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 12: His¹-D-Ser²-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-pAF¹⁰(γ Glu- γ Glu-C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp¹⁵-Ala¹⁶-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp-Phe²²-Val²³-Gln-Trp²⁵-Leu-Leu-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:17), en el que pAF es para-aminometilfenilalanina fue como sigue.

El péptido se sintetizó como se informó previamente para el péptido coagonista 4. Se realizaron reacciones de acilación doble en His¹,D-Ser²,Val³, Gly⁴, Thr⁵, Phe⁶,Thr⁷, Phe²²,Val²³. En la posición 10 el Fmoc-para-aminometilfenilalanina-COOH protegido ortogonalmente con Dde (véase el ejemplo 15) se montó por acoplamiento manual activado con DIPC y HOAt. Al final del montaje, el grupo protector Dde se retiró por tratamiento con una solución de hidrazina al 2 % en DMF y la derivatización de la cadena lateral se llevó a cabo con el enlazador y ácidos grasos por acoplamiento manual de dos residuos Fmoc-Glu-OtBu y ácido palmítico activado con DIPC y HOAt.

Se purificó el péptido en bruto (130mg en 3 ml de DMSO) por HPLC de fase inversa usando cartuchos de C-4 Delta-PakTM preparativa Waters (40 x 200 mm, 15 μ m, 300Å) y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el

siguiente gradiente de eluyente B: 30 %B a 30 %B durante 5 min, 30 %B a 55 %B sobre 20 min-80 %B, caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm. Rendimiento 10%, >90 % puro.

El péptido final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con BEH300 C4 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7µm, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolventes y el siguiente gradiente: 35 sobre 55 % B en 4 min, flujo 0,4 ml/min. El péptido se caracterizó por espectrometría de masas con electropulverización en un detector Acquity SQ (PM hallado: 3873,10 Da; PM esperado: 3873,28 Da).

EJEMPLO 13

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 13: His¹-amino-1ciclobutano²-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γGlu-γGlu-C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp¹⁵-Glu¹⁶-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp-Phe²²-Val²³-Gln-Trp²⁵-Leu-Leu-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:18) fue como sigue.

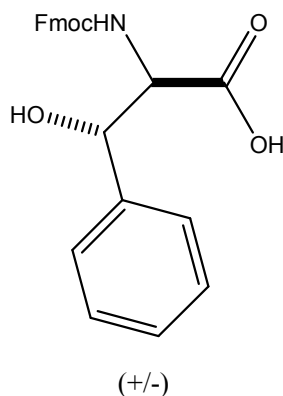
El péptido se sintetizó como se informó previamente para SEQ ID NO:9/ Ejemplo 4. Se realizaron reacciones de acilación doble en His¹, D-Ser², Gln³, Gly⁴, Thr⁵, Phe⁶, Thr⁷, Phe²², Val²³. Se montó el ácido Fmoc-amino-1-ciclobutanocarboxílico por acoplamiento manual activado con DIPC y HOAt.

Se purificó el péptido en bruto (130 mg en 3 ml de DMSO) por HPLC de fase inversa usando cartuchos de C-4 Delta-PakTM preparativa Waters (40 x 200 mm, 15 µm, 300Å) y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el siguiente gradiente de eluyente B: 35 %B a 35 %B durante 5 min, 35 %B a 50 %B sobre 20 min-80 %B, caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm. El péptido final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con BEH300 C4 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7µm, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolventes. El rendimiento fue del 18 %, y la pureza del >90 %. El péptido se caracterizó por espectrometría de masas con electropulverización en un detector de Acquity SQ (PM hallado: 3893,40 Da; PM esperado: 3893,31 Da).

EJEMPLO 14

El procedimiento para la síntesis del péptido coagonista 14: His¹-D-Ser-Gln-Gly-Thr-tβP-Thr-Ser-Asp-Lys¹⁰(γGlu-γGlu-C₁₆)-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp¹⁵-Glu¹⁶-Arg-Ala-Ala-Gln-Asp-Phe²²-Val²³-Gln-Trp²⁵-Leu-Leu-Asp-Thr-CONH₂ (SEQ ID NO:19), en la que tβP= treo-β-fenilserina, fue como sigue.

tβP= treo-β-fenilserina se preparó a partir de la mezcla racémica (2R, 3S) / (2S, 3R)-Fmoc-β-hidroxi-fenilalanina:



5

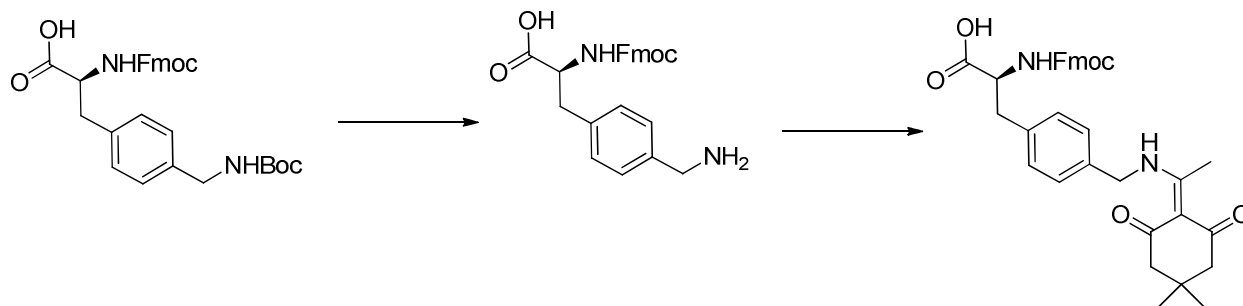
El péptido se sintetizó como se informó previamente para el péptido coagonista 4. Se realizaron reacciones de acilación doble en His¹, D-Ser², Gln³, Gly⁴, Thr⁵, Phe⁶, Thr⁷, Phe²², Val²³. Se montó la tβP por acoplamiento manual activado con DIPC y HOAt.

Se purificó el péptido en bruto (130 mg en 3 ml de DMSO) en el que estaban presentes dos isómeros, debido a la tβP racémica usada en la síntesis, por HPLC de fase inversa usando cartuchos de C-4 Delta-PakTM preparativa Waters (40 x 200 mm, 15 μm, 300Å) y usando como eluyentes (A) TFA al 0,1 % en agua y (B) TFA al 0,1 % en acetonitrilo. Se usó el siguiente gradiente de eluyente B: 35 %B a 35 %B durante 5 min, 35 %B a 45 %B sobre 20 min-80 %B, caudal 80 ml/min, longitud de onda 214 nm. Se separaron los dos isómeros en la serie preparativa con diferentes tiempos de elución. El isómero más hidrófilo que tiene el menor tiempo de retención t_r = 12,45 se identificó con el n.º L-005472682 en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con BEH300 C18 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7μm, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, T al 0,1 % (B) como disolventes y el siguiente gradiente: 20 sobre 60% B en 20 min, flujo 0,4 ml/min. El producto también se caracterizó por espectrometría de masas con electropulverización en un detector Acquity SQ. Rendimiento del 12 %, >90 % puro (PM hallado: 3899,3 Da; PM esperado: 3899,27 Da).

20

EJEMPLO 15

La síntesis de Fmoc-4-(Dde-aminometil)-fenilalanina fue como sigue.



5 Se agitó la Fmoc-4-(Boc-aminometil)-fenilalanina en DCM/TFA 2/1 durante 1 hora. Se retiraron los disolventes a presión reducida y se trató el residuo con éter dietílico para obtener un sólido blanco. Se disolvió el material en bruto obtenido en EtOH (19 mM), se añadieron DIPEA (5 eq.) y dimedona (1,1 eq) a la mezcla de reacción. Después de 3 horas a 60 °C se acidificó la solución con TFA a pH 4. Se retiraron los disolventes a presión reducida y se trató el residuo con AcOEt y se lavó con HCl 1 N. Se lavó la fase orgánica con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. Se retiraron los disolventes a presión reducida y se obtuvo el producto final como un sólido amarillo.

15 El compuesto final se caracterizó en un cromatógrafo Acquity UPLC Waters, con BEH300 C18 Acquity Waters 2,1x100 mm, 1,7 µm, a 45 °C, usando H₂O, TFA al 0,1 % (A) y CH₃CN, TFA al 0,1 % (B) como disolventes y el siguiente gradiente: 10 % al 10 % B en 1 min, B al 10 % sobre 90 % B en 4 min, flujo 0,4 ml/min. El aminoácido protegido se caracterizó por espectrometría de masas con electropulverización en un detector de Acquity SQ (PM hallado: 581,5 Da; PM esperado: 580,67 Da).

20 EJEMPLO 16

El protocolo de cAMP fue como sigue.

Se disolvieron los péptidos en DMSO al 100 % y se diluyó en serie para generar valoraciones de 11 puntos. A continuación se transfirieron las soluciones de péptidos en placas de ensayo de 384 pocillos (150 nl/pocillo). Se suspendieron células congeladas listas para el ensayo que expresan GLP-1R humano o GCGR humano en medios de crecimiento que consisten en medio DMEM/F12 (GIBCO), FBS al 10 % (GIBCO), 1x P/S (GIBCO), 800 µg/ml de

Geneticin (GIBCO) y 300 µg/ml higromicina (Invitrogen). A continuación, se diluyeron las células en un tampón de ensayo que consistía en PBS (GIBCO), BSA al 7,5 % (Perkin Elmer), RO 20-1724 100 µM (Sigma) y suero humano al 20 % (MP Biomedical). A continuación, se añadieron las suspensiones celulares (15 µl) a las placas de ensayo que contenían las soluciones de péptidos (30.000 células/pocillo para GCGR humano; 20.000 células/pocillo para GLP1R). Se incubaron las células durante 1 hora a temperatura ambiente en la oscuridad. Se determinó la producción de cAMP usando kits HitHunter™ cAMPXS (DiscoverX). A continuación, se añadió tampón ED (20 µl) a cada pocillo y se incubaron las placas durante 1 hora a temperatura ambiente en la oscuridad. Posteriormente, se añadió tampón EA (20 µl) a cada pocillo y se incubaron las placas durante 1-18 horas a temperatura ambiente en la oscuridad. Se midió la luminiscencia usando un lector de placas EnVision Multilabel (Perkin Elmer). Se calcularon los valores de CE₅₀ usando el programa informático de analizador de datos ADA. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Tabla 2				
SEQ ID NO:	Péptido	CE ₅₀ GCGR (nM) humano	CE ₅₀ GLPR1 (nM) humano	hGCGR/h GLP1R (hTone)
6	HsQGTFTSDK(γEC ₁₆)SKYLDARAAQDFVQWLLDT-NH ₂	0,042	0,048	0,88
7	HsQGTFTSDK(γEγEC ₁₆)SKYLDVRRRAQDFVQWLLDT-NH ₂	0,041	0,160	0,30
8	HsQGTFTSDK(γEγEC ₁₆)SKYLDVRAAQDFVQWLLDT-NH ₂	0,080	0,130	0,60
9	HUVGTFTSDK(γEγEC ₁₆)SKYLDURAAQDFVQWLλDT-NH ₂	0,890	0,100	8,98
10	HsQGTFTSDK(γEγEC ₁₆)SKYLDARAAQDFVQWLLDT-NH ₂	0,030	0,033	0,90
11	HsQGTFTSDK(γEγEC ₁₆)SKYLDERAAQDFVQWLLDT-NH ₂	0,009	0,007	1,30
12	AcHAQGTFTSDK(γEγEC ₁₆)SKYLDERAAQDFVQWLLDT-NH ₂	0,070	0,070	1,00

13	HsQGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLEARAAQDFVQWLLDT-NH ₂	0,020	0,020	0,90
14	HsQGT pFF TSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDERAAQDFVQWLLDT-NH ₂	0,050	0,060	0,93
15	HsQGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDERAAQDFVQWL 2 DT-NH ₂	0,020	0,020	1,10
16	HsQGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SLYLDERAAQDFVQWLLDT-NH ₂	0,060	0,060	0,91
17	HsQGTFTSD pAF (γ E γ EC ₁₆)SKYLDARAAQDFVQWLLDT-NH ₂	0,050	0,050	0,98
18	H $\ddagger$ QGTFTSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDERAAQDFVQWLLDT-NH ₂	0,060	0,050	1,25
19	HsQGT tβP TSDK(γ E γ EC ₁₆)SKYLDERAAQDFVQWLLDT-NH ₂	1,040	1,020	1,02
s = D-serina; U = ácido α -aminoisobutírico (Aib); λ = norleucina (Nle); pA =para-aminometilfenilalanina; 2 = metionina-sulfona; $\ddagger$ = ácido 1-amino-1-ciclobutano-carboxílico; t β P = treo- β -fenilserina; Ac = acetilo; pFF = p-fluorofenilalanina				

EJEMPLO 17

Durante mucho tiempo se han usado ratones con obesidad inducida por dieta (DIO) como sustitutos de los seres humanos en el estudio de la eficacia de compuestos antiobesidad. Los resultados obtenidos a partir de dichos ratones en el estudio de compuestos para la obesidad son traducibles a los seres humanos (véase, por ejemplo, Nilsson *et al.* Acta Pharmacologia Sinica 33: 173-181 (2012), que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). Por tanto, los ratones con DIO son sustitutos útiles de los seres humanos para las pruebas de la eficacia de los compuestos destinados a tratar la obesidad.

Para los estudios en los ejemplos 18, 19, 20 y 21, los ratones con obesidad inducida por dieta (DIO) (cepa C57Bl6/NTac; 20 semanas con una dieta de alto contenido en grasas, de aproximadamente gag) se dividieron en grupos de ocho ratones por grupo y el promedio inicial de peso corporal, ingesta de alimento y glucosa basal de cada grupo se compararon antes de la administración de péptido. A cada grupo de ratones se les inyectó por vía subcutánea una vez al día con una dosis de péptido coagonista o control de vehículo durante de 7 a 10 días. Los péptidos sometidos a prueba en este estudio fueron los péptidos coagonistas 1, 2,

3, 4, 5 y 6 (SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10 y 11, respectivamente) a las dosis que variaban de 3 nmol/kg a 25 nmol/kg. El peso corporal, ingesta de alimento y glucosa basal se midieron periódicamente durante el tratamiento. Todos los péptidos tienen propiedades farmacocinéticas comparables y unión a proteínas plasmáticas similar.

5

EJEMPLO 18

Los efectos *in vivo* de determinados péptidos de la invención se sometieron a prueba en ratones con obesidad inducida por dieta (DIO) (cepa C57Bl6/NTac) que se mantuvieron con una dieta de alto contenido en grasas durante 20 semanas y que tenían un peso corporal inicial de aproximadamente 47 gramos. A los ratones se les administró un vehículo de control o una dosis de un péptido una vez al día durante nueve días. Los péptidos en este estudio incluyeron los péptidos de SEQ ID NO: 6, 7, 8, 9, 10 y 11 administrados a una dosis de 9 nmol/kg. El péptido de (SEQ ID NO. 9 se administró a dosis de 9 y 25 nmol/kg. Se midió el cambio de peso corporal acumulado (gramos) cada día del estudio excepto el día 3. Los resultados se muestran en la **figura 1** y se expresan como la media $\pm$ EEM. Cada uno de los péptidos sometidos a prueba en este estudio demostró una pérdida de peso significativa ($p < 0,05$ frente a vehículo, ANOVA bidireccional) durante el transcurso del estudio en comparación con los grupos de ratones tratados con vehículo. El día 9 del estudio, los ratones a los que se les administraron 9 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 7 y 9 presentaron una pérdida de peso aproximada de 3 gramos, mientras que una dosis de 25 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 9 dio lugar a una pérdida de peso corporal de 10,5 gramos. Los ratones a los que se les administraron 9 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 8 y 6 presentaron una pérdida de peso de 8 y 10,5 gramos, respectivamente. Los ratones a los que se les administraron 9 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 10 y 11 presentaron aproximadamente 13 gramos de pérdida de peso, respectivamente.

25

EJEMPLO 19

En un segundo estudio en ratones con DIO (cepa C57Bl6/NTac), se variaron las dosis de cada péptido – cada uno de los péptidos de SEQ ID NO: 6 a 11 se administró a una dosis 9 nmol/kg. Además, el péptido de SEQ ID NO: 8 se administró a 15 nmol/kg, mientras que el péptido de SEQ ID NO: 10 y 11 se administró a 3 nmol/kg. El peso corporal se midió una vez

30

al día durante ocho días y el cambio de peso corporal se expresa como un porcentaje relativo al vehículo (**figura 2**). Los ratones a los que se les administró una dosis de 9 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 7 o 9 presentaron aproximadamente una pérdida de peso de un 5 % en comparación con los ratones a los que se les administró una dosis de 9 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 6 o 8, que presentaron una pérdida de peso de aproximadamente un 20 % o un 17 % respectivamente. Los ratones a los que se les administró una dosis de 15 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 8 presentaron una pérdida de peso de aproximadamente un 25 %. Los ratones a los que se les administró una dosis de 3 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 10 presentaron una pérdida de peso de aproximadamente un 17 %, mientras que los ratones a los que se les administró una dosis de 3 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 11, no presentaron ninguna eficacia de pérdida de peso.

EJEMPLO 20

Como se muestra en la **figura 3**, a los ratones con DIO (cepa C57Bl6/NTac) que se les administraron 9 nmol/kg de los péptidos de SEQ ID NO: 6 a 11, con la excepción de los péptidos de SEQ ID NO: 7, presentaron una reducción significativa en la ingesta de alimento acumulada después de 8 días de dosificación (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ frente a vehículo, ANOVA unidireccional, comparaciones múltiples de Dunn). Los ratones a los que se les administraron 3 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 10 presentaron también una supresión significativa de la ingesta de alimento, mientras que los ratones a los que se les administraron 3 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 11 no presentaron ningún cambio en la ingesta de alimento.

EJEMPLO 21

Además del cambio de peso corporal acumulado, las concentraciones de glucosa ambiente de los ratones con DIO (cepa C57Bl6/NTac) se midieron periódicamente a lo largo de todo el estudio. Como se muestra en la **figura 4**, los ratones a los que se les administró el péptido de SEQ ID NO: 9 a una dosis 25 nmol/kg demostraron una disminución significativa en la glucosa ambiente el segundo día de dosificación en comparación con los ratones de control tratados con vehículo (-75 mg/dl, *** $p < 0,001$ frente a vehículo, ANOVA bidireccional, comparaciones múltiples de Dunnett). Los ratones a los que se les administraron 9 nmol/kg de los péptidos de SEQ ID NO: 10 y 11 demostraron una disminución similar en la glucosa

ambiente. Los ratones a los que se les dosificaron 9 nmol/kg del péptido de SEQ ID NO: 6 demostraron una disminución significativa en la glucosa ambiente el día 7 de la dosificación (-60 mg/dl, * $p < 0,05$ frente a vehículo). Los ratones a los que se les dosificaron 9 nmol/kg de los péptidos de SEQ ID NO: 8 demostraron una disminución significativa en la glucosa ambiente el 5 día 9 (-72 mg/dl, ** $p < 0,01$ frente a vehículo, ANOVA bidireccional). Los ratones a los que se les dosificaron 9 nmol/kg de los péptidos de SEQ ID NO: 7 o 9 no presentaron cambios significativos en la glucosa ambiente después de 9 días de dosificación.

Tabla de secuencias		
SEQ ID NO:	Nombre	Secuencia
1	Glucagón (Homo sapiens)	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT
2	GLP-1 (7-36) (Homo sapiens)	HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR
3	Oxintomodulina (Homo sapiens)	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTKRN NNIA
4	Exendina-4 (Heloderma suspectum)	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNNGPSSG APPPS
5	GLP-2 (Homo sapiens)	HADGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD
6	Péptido coagonista 1 X2 – D-Ser K10 – conjugado a γ EC16 C-Ter - amida	HXQGTFTSDKSKYLDARAAQDFVQWLLDT
7	Péptido coagonista 2 X2 – D-Ser K10 – conjugado a γ E γ EC16 C-Ter - amida	HXQGTFTSDKSKYLDVRRRAQDFVQWLLDT
8	Péptido coagonista 3 X2 – D-Ser K10 – conjugado a γ E γ EC16 C-Ter - amida	HXQGTFTSDKSKYLDVRAAQDFVQWLLDT
9	Péptido coagonista 4 X2 – ácido α -aminoisobutírico (Aib) K10 – conjugado a γ E γ EC16 X16 – Aib X27 – L-norleucina (Nle) C-Ter - amida	HXVGTFTSDKSKYLDXRAAQDFVQWLXDT
10	Péptido coagonista 5 X2 – D-Ser K10 – conjugado a γ E γ EC16 C-Ter - amida	HXQGTFTSDKSKYLDARAAQDFVQWLLDT
11	Péptido coagonista 6 X2 – D-Ser K10 – conjugado a γ E γ EC16 C-Ter - amida	HXQGTFTSDKSKYLDERRAAQDFVQWLLDT
12	Péptido coagonista 7 N-Ter – acetilo K10 – conjugado a γ E γ EC16 C-Ter – amida opcional	AcHAQGTFTSDKSKYLDERRAAQDFVQWLLDT

13	Péptido coagonista 8 X2 – D-Ser K10 – conjugado a γ E γ EC16 C-Ter –amida opcional	HXQGTFTSDKSKYLEARAAQDFVQWLLDT
14	Péptido coagonista 9 X2 – D-Ser X6 - p-fluorofenilalanina (pFF) K10 – conjugado a γ E γ EC16 C-Ter – amida opcional	HXQGTXTSDKSKYLDERAAQDFVQWLLDT
15	Péptido coagonista 10 X2 – D-Ser K10 – conjugado a γ E γ EC16 X27 - metionina sulfona C-Ter –amida	HXQGTFTSDKSKYLDERAAQDFVQWLXDT
16	Péptido coagonista 11 X2 – D-Ser K10 – conjugado a γ E γ EC16 C-Ter – amida opcional	HXQGTFTSDKSLYLDERAAQDFVQWLLDT
17	Péptido coagonista 12 X2 – D-Ser X10 – para-aminometilfenilalanina (pAF) conjugada a γ E γ EC16 C-Ter – amida opcional	HXQGTFTSDXSKYLDARAAQDFVQWLLDT
18	Péptido coagonista 13 X2 – ácido 1-amino-1-ciclobutanocarboxílico K10 – conjugado a γ E γ EC16 C-Ter – amida opcional	HXQGTFTSDKSKYLDERAAQDFVQWLLDT
19	Péptido coagonista 14 X2 – D-Ser X6 - treo- β -fenilserina (t β P) K10 – conjugado a γ E γ EC16 C-Ter – amida opcional	HXQGTXTSDKSKYLDERAAQDFVQWLLDT
20	Péptido coagonista 15 X2 – D-Ser, L-Ala, aib o ácido 1-amino-ciclobutanocarboxílico X6 – L-Phe, p-fluorofenilalanina (pFF) o treo- β -fenilserina X10 – K conjugado a γ EC16, K conjugado a γ E γ EC16, o pAF conjugada a γ E γ EC16 X12 – L-Lys o L-Leu	HXQGTXTSDX1SXYLXXRXAQDFVQWLXDT

	X15 – L-Glu o L-Leu o L-Asp X16 – aib, L-Ala, L-Glu o L-Val X18 - L-Ala o L-Arg X27 – L-Leu, metionina sulfona o L-Nle C-Ter – amidaopcional	
21	X es D-Ser K conjugado a γ EC16 o γ E γ EC16 Amidación C-terminal	HXQGTFTSDKSKYLDERRAAQDFVQWLLDT-NH2

Aunque la presente invención se describe en el presente documento con referencia a los modos de realización ilustrados, se debe entender que la invención no está limitada a los mismos. Los expertos en la técnica y que tengan acceso a las enseñanzas en el presente

5 documento reconocerán modificaciones y modos de realización adicionales dentro del alcance de la misma. Por lo tanto, la presente invención está limitada sólo por las reivindicaciones adjuntas en el presente documento.