

DERIVADOS DE GLUCAGÓN CON ESTABILIDAD MEJORADA

[Título de la invención]

[Campo técnico]

5 La presente invención se refiere a nuevos derivados de glucagón que tienen propiedades físicas mejoradas debido al cambio en el punto isoeléctrico (pI), y una composición para la prevención o el tratamiento de la hipoglucemia y la obesidad que lo contiene como un principio activo.

[Antecedentes de la técnica]

10 Los recientes progresos económicos y los cambios en el estilo de vida han ido acompañados de grandes cambios en los hábitos alimenticios. Particularmente, la gente ocupada de hoy en día tiene sobrepeso y obesidad debido a las dietas hipercalóricas y al insuficiente ejercicio. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha informado de que más de mil millones de adultos
15 en todo el mundo tienen sobrepeso, entre ellos, unos tres millones se diagnostican con obesidad importante, y 25.000 personas mueren de enfermedades relacionadas con el sobrepeso o con la obesidad cada año (Organización Mundial de la Salud, Estrategia Global sobre la Dieta, la Actividad Física y la Salud, 2004).

20 El sobrepeso y la obesidad son responsables del aumento en la presión sanguínea y en los niveles de colesterol y provocan o empeoran diversas enfermedades, tales como enfermedades cardíacas, diabetes, artritis, etc. Además, el problema de la obesidad también se está convirtiendo en la causa principal del aumento de la incidencia de aterosclerosis, hipertensión,
25 hiperlipidemia, o cardiopatías en niños o adolescentes, así como en adultos. Sin

embargo, no es fácil tratar la obesidad, debido a que es una enfermedad compleja asociada con los mecanismos de control del apetito y del metabolismo energético. Por consiguiente, el tratamiento de la obesidad requiere no solo los propios esfuerzos del paciente, sino también un procedimiento capaz de tratar
5 mecanismos anómalos asociados con el control del apetito y el metabolismo energético. Por lo tanto, los esfuerzos se han centrado en desarrollar fármacos para el tratamiento de los mecanismos anómalos.

Como resultado de estos esfuerzos, se han desarrollado fármacos tales como Rimonabant (Sanofi-Aventis), Sibutramin (Abbott), Contrave (Takeda) y
10 Orlistat (Roche), pero tienen las desventajas de efectos indeseables serios o efectos antiobesidad muy débiles. Por ejemplo, de acuerdo con los informes, Rimonabant mostró un efecto secundario de trastorno en el sistema nervioso central, Sibutramine y Contrave mostraron efectos secundarios cardiovasculares, y Orlistat mostró solo una pérdida de peso de 4 kg cuando se
15 tomó durante 1 año. Por consiguiente, no ha habido agentes terapéuticos para la obesidad que se puedan recetar con seguridad para los pacientes de obesidad.

Se han realizado muchos estudios exhaustivos para desarrollar nuevos agentes terapéuticos para la obesidad que puedan resolver los problemas de
20 los fármacos antiobesidad convencionales. Recientemente, se le ha prestado mucha atención a los derivados del glucagón. El glucagón se produce por el páncreas cuando los niveles de glucosa en sangre caen como resultado de otras medicaciones o enfermedades, o deficiencias hormonales o enzimáticas. El glucagón estimula la descomposición del glucógeno en el hígado, y facilita la
25 liberación de glucosa para elevar los niveles de glucosa en sangre hasta un

intervalo normal. Además del efecto de aumentar los niveles de glucosa en sangre, el glucagón suprime el apetito y activa la lipasa sensible a hormona de los adipocitos para facilitar la lipólisis, mostrando de este modo un efecto antiobesidad. Sin embargo, el uso de glucagón como un agente terapéutico ha
5 estado limitado debido a su baja solubilidad y su propiedad de precipitar a un pH neutro.

Uno de los derivados del glucagón, el péptido-1 de tipo glucagón (GLP-1), está en desarrollo como un agente terapéutico para el tratamiento de hiperglucemia en pacientes con diabetes. GLP-1 tiene las funciones de
10 estimular la síntesis y secreción de insulina, inhibir la secreción de glucagón, ralentizar el vaciado gástrico, aumentar la utilización de glucosa, e inhibir la ingesta de alimento.

La exendina-4, preparada a partir de veneno de lagarto y teniendo una homología de aminoácidos de aproximadamente el 50 % con GLP-1, también se
15 comunicó que activa el receptor de GLP-1, reduciendo de este modo la hiperglucemia en pacientes con diabetes. Sin embargo, se ha comunicado que los fármacos antiobesidad que contienen GLP-1 presentan efectos secundarios tales como vómitos y náuseas.

Como una alternativa al GLP-1, por tanto, se ha prestado mucha atención
20 a la oxintomodulina, que se puede unir a ambos receptores de los dos péptidos, GLP-1 y glucagón. La oxintomodulina es un péptido preparado a partir de un precursor del glucagón, pre-glucagón, y tiene las funciones del GLP-1 de inhibir la ingesta de alimento y potenciar la saciedad, y tiene actividad lipolítica como el glucagón, aumentando por tanto su potencia en una terapia antiobesidad.

25 Sin embargo, la oxintomodulina o los derivados de la misma tienen un

serio inconveniente en que se debe administrar diariamente una cantidad en exceso del fármaco para el tratamiento de la obesidad debido a que tienen una baja eficacia y una semivida corta *in vivo*.

Además, cuando están presentes ambas actividades de GLP-1 y glucagón en un único péptido, el índice de actividad de los mismos se vuelve fijo, y por tanto es difícil usar un agonista dual con diversos índices. Por consiguiente, una terapia combinada capaz de usar diversos índices de actividad mediante el ajuste de los contenidos de GLP-1 y glucagón puede ser más eficaz.

Sin embargo, para la terapia combinada, se requiere mejorar las características físicas del glucagón, que se agrega a un pH neutro y precipita con el tiempo, mostrando por tanto una mala solubilidad.

En estas circunstancias, los presentes inventores han desarrollado derivados del glucagón con modificaciones parciales de la secuencia de aminoácidos del glucagón para la mejora de los efectos terapéuticos del glucagón en la hiperglucemia y la obesidad mediante la mejora de las propiedades físicas del glucagón, y han descubierto que estos derivados del glucagón tienen una solubilidad mejorada y una mayor estabilidad a pH neutro, completando de este modo la presente invención.

[Divulgación]

20 [Problema técnico]

Un objeto de la presente invención es proporcionar un nuevo derivado de glucagón con propiedades físicas mejoradas.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición para prevenir o tratar la hiperglucemia que contiene el derivado de glucagón como un principio activo.

Un aspecto adicional de la presente invención es proporcionar una composición para prevenir o tratar la obesidad que contiene el derivado de glucagón como un principio activo.

[Solución técnica]

5 Con el fin de lograr los objetos anteriores, en un aspecto, la presente invención proporciona un nuevo derivado de glucagón que incluye la secuencia de aminoácidos de la siguiente Fórmula General 1 y tiene un punto isoeléctrico (pI), que no es el mismo que, es decir, diferente que, el del glucagón natural:

10 X1-X2-QGTF-X7-SDYS-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-X20-X21-F-X23-X24-W-L-X27-X28-T (Fórmula General 1)

en el que, en la Fórmula General 1,

X1 es histidina, desamino-histidina, N-dimetil-histidina, ácido β -hidroxiimidazopropiónico, ácido 4-imidazoacético, ácido β -carboxiimidazopropiónico, triptófano, tirosina, o una eliminación;

15 X2 es ácido α -metil-glutámico, ácido aminoisobutírico (Aib), D-alanina, glicina, Sar(N-metilglicina), serina, o D-serina;

X7 es treonina o valina;

X12 es lisina o cisteína;

X13 es tirosina o cisteína;

20 X14 es leucina o cisteína;

X15 es ácido aspártico, ácido glutámico, o cisteína;

X16 es ácido glutámico, ácido aspártico, serina, ácido α -metil-glutámico, o cisteína;

25 X17 es ácido aspártico, glutamina, ácido glutámico, lisina, arginina, serina, valina, o cisteína;

X18 es ácido aspártico, glutamina, ácido glutámico, arginina, o cisteína;

X19 es alanina o cisteína;

X20 es lisina, ácido glutámico, glutamina, ácido aspártico, lisina, o cisteína;

5 X21 es ácido aspártico, ácido glutámico, valina, o cisteína;

X23 es valina o arginina;

X24 es valina, leucina, glutamina, o arginina;

X27 es isoleucina o metionina; y

X28 es arginina o asparagina

10 (con la condición de que cuando la secuencia de aminoácidos de la Fórmula General 1 es idéntica a la SEQ ID NO: 1, se excluye).

El derivado de glucagón de acuerdo con la presente invención incluye un péptido, un derivado de péptido, o un mimético de péptido, que tiene unas propiedades físicas mejoradas teniendo un diferente pI del glucagón natural
15 mediante la modificación de una parte de los aminoácidos del glucagón natural.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "glucagón natural" se refiere a glucagón humano natural que tiene la secuencia de His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr (SEQ ID NO: 1).

20 En referencia a la secuencia de la Fórmula General 1 de acuerdo con la presente invención, los aminoácidos proceden del extremo N-terminal a la izquierda hacia el extremo C-terminal a la derecha de acuerdo con el procedimiento de descripción convencional. Por consiguiente, cuando se hace referencia a la "posición" de cualquier resto particular en la secuencia de
25 Fórmula General 1, se debería interpretar de la misma manera que cuando se

hace referencia a cualquier posición en el glucagón natural u otras moléculas.

A lo largo de toda la descripción de la presente invención, no solo se usan los códigos convencionales de una letra o de tres letras para los aminoácidos de origen natural, sino también aquellos códigos de tres letras
5 generalmente permitidos para otros aminoácidos, tales como ácido α -aminoisobutírico (Aib), Sar(N-metilglicina), y ácido α -metil-glutámico.

Además, los aminoácidos mencionados en el presente documento se abrevian de acuerdo con las reglas de IUPAC-IUB tal como sigue:

Alanina	A;	Arginina	R;
Asparagina	N;	Ácido aspártico	D;
Cisteína	C;	Ácido glutámico	E;
Glutamina	Q;	Glicina	G;
Histidina	H;	Isoleucina	I;
Leucina	L;	Lisina	K;
Metionina	M;	Fenilalanina	F;
Prolina	P;	Serina	S;
Treonina	T;	Triptófano	W;
Tirosina	Y; y	Valina	V.

Tal como se usa en el presente documento, el término "péptido" se
10 refiere a un compuesto de dos o más aminoácidos naturales y no naturales o derivados de aminoácidos tales como α -aminoácidos enlazados mediante un enlace peptídico. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "derivado del glucagón" se refiere a un péptido que incluye la secuencia de

Fórmula General 1 o un derivado del mismo, un análogo, o un producto modificado del mismo. El péptido de acuerdo con la presente invención incluye peptidomiméticos, que tienen un cambio en el pI en comparación con el del glucagón natural mediante la modificación de una parte de los aminoácidos del glucagón en la forma de una sustitución, etc. En una realización ejemplar de la presente invención, el derivado del glucagón tiene un punto isoelectrico diferente que el del glucagón natural mientras mantiene la actividad de un receptor de glucagón. En una realización ejemplar más específica de la presente invención, el derivado del glucagón se refiere a un péptido con una solubilidad mejorada del glucagón natural a un pH fisiológico mientras mantiene la actividad del receptor de glucagón.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "pI" o "punto isoelectrico" se refiere al valor de pH al que una macromolécula tal como un polipéptido no tiene carga neta (0). En el caso de un polipéptido con diversos grupos funcionales cargados, la carga neta del polipéptido total es "0" a un punto en el que el valor de pH es el mismo al del pI. La carga neta del polipéptido a un pH mayor que el pI será negativa mientras que la carga neta del polipéptido a un pH más bajo que el pI será positiva.

Los valores de pI se pueden medir o estimar mediante un procedimiento convencional usado en la materia. Por ejemplo, los valores de pI se pueden medir en un gel de gradiente de pH inmovilizado que consiste en poliacrilamida, almidón, o agarosa mediante electroforesis isoelectrica, o, por ejemplo, se puede estimar a partir de una secuencia de aminoácidos usando una herramienta pI/PM (http://expasy.org/tools/pi_tool.html; Gasteiger y col., 2003) en un servidor ExPASy.

En una realización específica de la presente invención, el derivado de glucagón que contiene una secuencia de aminoácidos de la Fórmula General 1 abarca cualquier péptido que se prepara mediante la sustitución, adición, delección, o modificación postraducciona (por ejemplo, metilación, acilación, ubiquitinación, o enlace covalente intramolecular) de aminoácido(s) en la secuencia de aminoácidos del glucagón natural representada por la SEQ ID NO: 1, que presenta una solubilidad mejorada de acuerdo con el pH de una solución debido a la diferencia de su pI con respecto al del glucagón natural mientras mantiene las actividades del receptor de glucagón como son, habiendo mejorado de ese modo la estabilidad química *in vivo*.

Durante la sustitución o adición de aminoácidos, no solo se usan los 20 aminoácidos que se encuentran comúnmente en las proteínas humanas, sino también los aminoácidos atípicos y de origen no natural y los derivados de los mismos. Las fuentes comerciales de aminoácidos atípicos pueden incluir Sigma-Aldrich, ChemPep Inc., Genzyme Pharmaceuticals, etc. Los péptidos que incluyen estos aminoácidos y estas secuencias de péptidos atípicas se pueden sintetizar y comprar a proveedores comerciales, por ejemplo, American Peptide Company, Bachem (Estados Unidos), o Anygen (Corea). Los derivados de aminoácidos, por ejemplo, desamino-histidina, ácido β -hidroxiimidazopropiónico, ácido 4-imidazoacético, o ácido β -carboxiimidazopropiónico, se pueden obtener de la misma manera.

Dado que el glucagón tiene un pH de aproximadamente 7, es insoluble en una solución que tiene un pH de 6 a 8 y tiende a precipitar a un pH neutro. En una solución acuosa con un pH de 3 o más bajo, el glucagón se disuelve en la fase inicial pero precipita en una hora formando un gel. Dado que el glucagón

gelificado principalmente consiste en fibrillas en β laminar, la administración del glucagón así precipitado mediante una aguja de inyección o inyección intravenosa bloqueará los vasos sanguíneos, y por tanto no es adecuado para su uso como un agente de inyección. Con el fin de retrasar el proceso de precipitación, las formulaciones ácidas (pH de 2 a 4) se usan frecuentemente, y al hacerlo, el glucagón se puede mantener en un estado relativamente no agregado durante un corto período de tiempo. Sin embargo, el glucagón puede formar fibrillas muy rápidamente a un bajo pH, y por tanto, estas formulaciones ácidas deben inyectarse durante la preparación.

Es ampliamente conocido en la materia que la solubilidad, la actividad, y la estabilidad de una proteína en una solución puede variar de acuerdo con el pI (Shaw, K. L. y col., Protein Science 10, pp 1206-1215, 2001).

Como tal, los presentes inventores han desarrollado derivados de glucagón con una estabilidad y efectos funcionales extendidos mediante la modificación de la secuencia del glucagón natural, alterando de este modo su pI. Los derivados del glucagón de la presente invención, teniendo un pI alterado en comparación con el del glucagón natural, se caracterizan porque tienen una solubilidad y estabilidad mejoradas de acuerdo con el pH de una solución dada, comparado con las del glucagón natural.

En una realización específica de la presente invención, el derivado del glucagón puede ser un péptido en el que, en la secuencia de aminoácidos de la Fórmula General 1,

X1 es histidina o triptófano, tirosina, o una eliminación;

X2 es serina o ácido aminoisobutírico (Aib);

X7 es treonina o valina;

X12 es lisina o cisteína;

X13 es tirosina o cisteína;

X14 es leucina o cisteína;

X15 es ácido aspártico o cisteína;

5 X16 es ácido glutámico, ácido aspártico, serina, o cisteína;

X17 es ácido aspártico, ácido glutámico, lisina, arginina, valina, o cisteína;

X18 es ácido aspártico, ácido glutámico, arginina, o cisteína;

X19 es alanina o cisteína;

10 X20 es lisina, ácido glutámico, glutamina, ácido aspártico, lisina, o cisteína;

X21 es ácido aspártico, ácido glutámico, valina, o cisteína;

X23 es valina o arginina;

X24 es valina, leucina, o glutamina;

15 X27 es isoleucina o metionina; y

X28 es arginina o asparagina

(con la condición de que cuando la secuencia de aminoácidos de la Fórmula General 1 es idéntica a la SEQ ID NO: 1, se excluye).

Más preferentemente, el derivado de glucagón de la presente invención
20 puede ser un péptido que incluye cualquiera de las secuencias de aminoácidos entre las secuencias de aminoácidos representadas por las SEQ ID NOS: 2 a 34.

El péptido que incluye el derivado de glucagón de la presente invención se puede preparar mediante un procedimiento de síntesis convencional, un
25 sistema de expresión recombinante, o cualquier otro procedimiento en la

materia. Por consiguiente, el análogo de glucagón de acuerdo con la presente invención se puede sintetizar mediante muchos procedimientos que incluyen los procedimientos descritos a continuación:

(a) un procedimiento de síntesis de un péptido mediante un
5 procedimiento por etapas en fase sólida o en fase líquida o mediante ensamblaje de fragmentos, seguido por el aislamiento y la purificación del producto peptídico final; o

(b) un procedimiento para expresar una construcción de ácido nucleico que codifica un péptido en una célula hospedadora y la recuperación del
10 producto de expresión a partir del cultivo de la célula hospedadora; o

(c) un procedimiento de realización de una expresión *in vitro*, libre de células, de una construcción de ácido nucleico que codifica un péptido y la recuperación del producto de expresión del mismo; o

(d) un procedimiento de obtención de fragmentos de péptido mediante
15 cualquier combinación de los procedimientos (a), (b), y (c), obteniendo el péptido mediante la unión de los fragmentos de péptido, y recuperando así el péptido.

En un aspecto ejemplar de la presente invención, se confirmó que el derivado de glucagón de la presente invención tiene un pI diferente en
20 comparación con el del glucagón natural (véase la Tabla 1). Como resultado, el derivado de glucagón de la presente invención tiene una solubilidad mejorada y una mayor estabilidad de acuerdo con el pH de una solución dada, comparado con las del glucagón natural. Por consiguiente, el derivado del glucagón de la presente invención puede aumentar la conformidad del paciente cuando se usa
25 como un agente hipoglucémico y también es adecuado para la administración

combinada con otros agentes antiobesidad, y por tanto puede usarse de manera eficaz para la prevención y el tratamiento de hipoglucemia y obesidad.

A este respecto, el derivado del glucagón de la presente invención puede proporcionar una selección terapéutica atractiva con respecto a la hipoglucemia, 5 obesidad, o enfermedades asociadas a las mismas.

Por ejemplo, el derivado de glucagón de la presente invención es una hormona principal que controla la respuesta de insulina, y se puede usar de manera eficaz para el tratamiento de hipoglucemia severa en pacientes diabéticos.

10 Además, el derivado del glucagón de la presente invención se puede usar como un fármaco farmacéutico no solo para la prevención del aumento de peso corporal, el promover la disminución del peso corporal, la reducción del sobrepeso, y obesidades que incluyen la obesidad mórbida (por ejemplo, mediante el control del apetito, la ingestión, la ingesta de alimento, la ingesta de 15 calorías, y/o el consumo energético), sino también para el tratamiento de inflamación relacionada con la obesidad, la colecistopatía relacionada con la obesidad, y la apnea del sueño inducida por la obesidad, pero no se limita a los mismos, y se puede usar para el tratamiento de las enfermedades asociadas o las afecciones en la salud de los mismos. El derivado de glucagón de la 20 presente invención también se puede usar para el tratamiento de las afecciones en la salud que se pueden asociar con la obesidad, tales como síndrome metabólico, hipertensión, dislipidemia inducida por aterosclerosis, arteriosclerosis, cardiopatía coronaria, accidente cerebrovascular, etc. Sin embargo, los efectos del derivado del glucagón de acuerdo con la presente 25 invención se pueden estar mediados por completo o parcialmente mediante los

efectos relacionados con el peso corporal descritos anteriormente o pueden ser independientes de los mismos.

Mientras tanto, para la mejora de los efectos terapéuticos del derivado del glucagón de la presente invención, el derivado del glucagón se puede
5 modificar usando las técnicas típicas en la materia, incluyendo una modificación con polímeros tales como polietilenglicol (PEG) y cadenas de azúcares, o una fusión con albúmina, transferrina, ácidos grasos, e inmunoglobulina, etc. Por ejemplo, al menos una cadena lateral de aminoácidos en los compuestos de la presente invención se puede unir al polímero con el fin de aumentar *in vivo* la
10 solubilidad y/o las semividas, y/o aumentar las biodisponibilidades de los mismos. Se sabe que estas modificaciones reducen la eliminación de las proteínas y péptidos terapéuticos.

Para estos polímeros, son apropiados los polímeros solubles (anfipáticos o hidrofílicos), no tóxicos, y farmacéuticamente inertes, y preferentemente,
15 pueden incluir PEG, homopolímeros o copolímeros de PEG, polímeros sustituidos con monometilo (mPEG), y poliaminoácidos tales como polilisina, ácido poliaspártico, y ácido poliglutámico.

Las variantes de los derivados del glucagón tal como se describen anteriormente también pertenecen al alcance de la presente invención.

20 En un aspecto, la presente invención proporciona polinucleótidos que codifican los derivados del glucagón descritos anteriormente.

El término "homología", tal como se usa en el presente documento para el polinucleótido, indica el grado de similitud con una secuencia de aminoácidos de tipo silvestre y con una secuencia de ácido nucleico de tipo silvestre, e
25 incluye una secuencia de genes que es el 75 % o más, preferentemente el 85 %

o más, más preferentemente el 90 % o más, e incluso más preferentemente el 95 % o más idéntica a la secuencia de polinucleótidos que codifica los derivados del glucagón. La evaluación de homología se puede hacer a simple vista o usando un programa comercialmente disponible. Al usar un programa de ordenador comercialmente disponible, la homología entre dos o más secuencias se puede expresar como un porcentaje (%), y la homología (%) entre secuencias adyacentes se puede evaluar. El polinucleótido que codifica los derivados del glucagón se puede insertar en un vector y se puede expresar para obtener una mayor cantidad de los derivados del glucagón.

10 Para estas expresiones recombinantes, los polinucleótidos de la presente invención se insertan de manera general en vectores apropiados para construir vectores de clonación o vectores recombinantes que contienen estos polinucleótidos, y estos vectores también pertenecen al alcance de la presente invención.

15 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "vector recombinante" se refiere a una construcción de ADN que incluye la secuencia de un polinucleótido que codifica un péptido diana, que se une de manera operativa a una secuencia reguladora apropiada para permitir la expresión del péptido diana, por ejemplo, un derivado del glucagón, en una célula hospedadora. La secuencia reguladora incluye un promotor capaz de iniciar la transcripción, cualquier secuencia operadora para la regulación de la transcripción, una secuencia que codifica un dominio apropiado de unión al ARNm del ribosoma, y una secuencia que regula la terminación de la transcripción y la traducción. El vector recombinante, tras ser transformado en una célula hospedadora adecuada, puede replicarse o funcionar

20

25

independientemente del genoma del hospedador, o se puede integrar en el propio genoma del hospedador.

El vector recombinante usado en la presente invención puede no estar particularmente limitado mientras el vector sea replicable en la célula huésped, y
5 se puede construir usando cualquier vector conocido en la materia. Los ejemplos del vector pueden incluir plásmidos naturales o recombinantes, cósmidos, virus, y bacteriófagos. Por ejemplo, como un vector fago o vector cósmido, pWE15, M13, MBL3, MBL4, IXII, ASHII, APII, t10, t11, Charon4A, Charon21A, etc., se pueden usar; y como un vector plásmido, aquellos en base
10 a pBR, pUC, pBluescriptII, pGEM, pTZ, pCL, pET, etc., se pueden usar. Los vectores que se pueden usar en la presente invención no son particularmente limitantes, sino que se puede usar cualquier vector de expresión conocido.

El vector recombinante se usa para la transformación de una célula hospedadora para la producción de derivados del glucagón de la presente
15 invención. Además, estas células transformadas, como parte de la presente invención, se pueden usar para la amplificación de fragmentos de ácido nucleico y vectores, o pueden ser células cultivadas o líneas celulares usadas en la producción recombinante de derivados del glucagón de la presente invención.

20 Tal como se usa en el presente documento, el término "transformación" se refiere a un procedimiento de introducción de un vector recombinante que incluye un polinucleótido que codifica una proteína diana en una célula hospedadora, permitiendo de este modo la expresión del polinucleótido codificado por la proteína en la célula hospedadora. Para el polinucleótido
25 transformado, no importa si se inserta en el cromosoma de una célula

hospedadora y se localiza en el mismo o se localiza fuera del cromosoma, siempre que se pueda expresar en la célula hospedadora, y ambos casos se incluyen.

Además, el polinucleótido incluye ADN y ARN que codifican la proteína
5 diana. El polinucleótido se puede insertar en cualquier forma en la medida en que se puede introducir en una célula hospedadora y expresar en la misma. Por ejemplo, el polinucleótido se puede introducir en una célula hospedadora en la forma de un casete de expresión. El casete de expresión puede incluir de manera convencional un promotor unido de manera de manera operativa al
10 polinucleótido, una señal de terminación de la transcripción, y dominio de unión al ribosoma, y una señal de terminación de la traducción. El casete de expresión puede estar en la forma de un vector de expresión capaz de autorreplicarse. Además, el polinucleótido se puede introducir en una célula hospedadora tal como está y unirse de manera operativa a una secuencia esencial para su
15 expresión en la célula hospedadora, pero no se limita a ello. Además, tal como se usa en el presente documento, la expresión "enlazado de manera operativa" se refiere a una conexión funcional entre una secuencia promotora, que inicia y media la transcripción del polinucleótido que codifica la proteína diana de la presente invención, y la secuencia de genes anterior.

20 Un hospedador apropiado para su uso en la presente invención puede no ser particularmente limitante siempre que pueda expresar el polinucleótido de la presente invención. Los ejemplos del hospedador apropiado pueden incluir bacterias que pertenecen al género *Escherichia* tal como *E. coli*, bacterias que pertenecen al género *Bacillus* tales como *Bacillus subtilis*, bacterias que
25 pertenecen al género *Pseudomonas* tales como *Pseudomonas putida*,

levaduras tales como *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, y *Schizosaccharomyces pombe*, células de insectos tales como *Spodoptera frugiperda* (Sf9), y células animales tales como CHO, COS, y BSC.

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición
5 farmacéutica para prevenir o tratar la hipoglucemia o la obesidad que contiene los derivados del glucagón.

Tal como se usa en el presente documento, el término "prevención" se refiere a cualquier acción que da como resultado la supresión o el retraso del comienzo de la obesidad mediante la administración de los derivados del glucagón o la composición farmacéutica, y el término "tratamiento" se refiere a
10 cualquier acción que da como resultado una mejora en los síntomas de obesidad o la alteración beneficiosa mediante la administración de los derivados del glucagón o la composición farmacéutica.

Tal como se usa en el presente documento, el término "administración" se refiere a la introducción de material particular en un paciente mediante una
15 manera apropiada, y la composición se puede administrar mediante cualquiera de las vías comunes siempre que la composición puede llegar a un tejido diana. Por ejemplo, la administración se puede realizar por vía intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica, oral, tópica, intranasal,
20 intrapulmonar, intrarrectal, etc.

Tal como se usa en el presente documento, el término "hipoglucemia" se refiere a un síntoma agudo de diabetes, en el que los niveles de glucosa en sangre son más bajos que los normales en las personas, y en general, se refiere al estado cuando los niveles de glucosa en sangre son de 50 mg/dl o menos. La
25 hipoglucemia se da normalmente cuando una persona que toma un agente

hipoglucémico ha comido menos de lo normal o ha realizado más actividades o ejercicio de lo normal. Además, la hipoglucemia se puede dar debido al uso de fármacos que disminuyen el nivel de glucosa, enfermedades físicas severas, deficiencias hormonales tales como en las hormonas adrenocorticales y glucagón, tumor en páncreas productor de insulina, síndrome de hipoglucemia autoinmunitaria, pacientes con gastrectomía, error innato de trastorno de metabolismo de carbohidratos, etc.

Los síntomas de la hipoglucemia incluyen debilidad, temblores, piel pálida, sudores fríos, mareos, nerviosismo, ansiedad, aumento del ritmo cardíaco, estómago vacío, dolor de cabeza, fatiga, etc. En el caso de la hipoglucemia persistente, puede llevar a convulsiones o epilepsias, y puede causar conmociones y, por tanto, desmayos.

Tal como se usa en el presente documento, el término "obesidad" se refiere a una afección médica con exceso de grasa corporal en el cuerpo, y cuando una persona tiene un índice de masa corporal (IMC; masa corporal (kg) dividida entre el cuadrado de la altura corporal (m)) de 25 o más alto se diagnostica que tiene obesidad. La obesidad generalmente se da debido a un desequilibrio energético a largo plazo en el que la ingesta de energía excede el gasto energético. La obesidad es una enfermedad metabólica que afecta a todo el cuerpo, que aumenta el riesgo de diabetes, hiperlipidemia, disfunción sexual, artritis, y enfermedad cardiovascular, y en algunos casos, se asocia con la aparición de cánceres.

La composición farmacéutica de la presente invención puede contener un vehículo farmacéuticamente aceptable, excipiente, o diluyente. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se

refiere a las propiedades de tener una suficiente cantidad como para presentar un efecto terapéutico y no generar efectos adversos, y se puede determinar fácilmente mediante un experto en la materia en base a los factores bien conocidos en el campo médico, tal como el tipo de enfermedad, la edad, el peso corporal, el estado de salud, el sexo, la sensibilidad a fármacos de un paciente, la vía de administración, el procedimiento de administración, la frecuencia de administración, la duración del tratamiento, un fármaco a mezclar o administrar de manera simultánea en combinación, etc.

La composición farmacéutica de la presente invención que contiene el derivado del glucagón de la presente invención puede contener adicionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable. El vehículo farmacéuticamente aceptable puede incluir, para la administración oral, un aglutinante, un fluidificante, un disgregante, un excipiente, un agente solubilizante, un dispersante, un agente estabilizante, un agente de suspensión, un agente colorante, un agente aromatizante, etc.; para las inyecciones, un agente de tamponamiento, un agente conservante, un analgésico, un agente solubilizante, un agente isotónico, un agente estabilizante, etc., que se pueden combinar para su uso; y para las administraciones tópicas, una base, un excipiente, un lubricante, un agente conservante, etc., aunque no se limita a los mismos.

El tipo de formulación de la composición de acuerdo con la presente invención se puede preparar de manera variada mediante la combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como se describe anteriormente. Por ejemplo, para la administración oral, la composición se puede formular en comprimidos, pastillas para chupar, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas, etc. Para las inyecciones, la composición se puede formular en ampollas

de una sola dosis o envases multidosis. La composición también se puede formular en soluciones, suspensiones, comprimidos, cápsulas, y formulaciones de liberación sostenida.

Mientras tanto, los ejemplos de los vehículos adecuados, excipientes, y
5 diluyentes pueden incluir lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, xilitol, eritritol, maltitol, almidón, goma de acacia, alginato, gelatina, fosfato de calcio, silicato de calcio, celulosa, metilcelulosa, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, agua, hidroxibenzoato de metilo, hidroxibenzoato de propilo, talco, estearato de magnesio, aceite mineral, etc. Además, la composición
10 puede contener adicionalmente un relleno, un anticoagulante, un lubricante, un humectante, un agente aromatizante, un conservante, etc.

Además, la composición farmacéutica de la presente invención se puede preparar en cualquier tipo de formulación seleccionada del grupo que consiste en comprimidos, píldoras, polvos, gránulos, cápsulas, suspensiones, medicina
15 líquida para uso interno, emulsiones, jarabes, soluciones de inyección estéril, disolventes no acuosos, formulaciones liofilizadas, y supositorios.

Además, la composición se puede formular en una única forma de dosificación adecuada para el cuerpo del paciente, y preferentemente se formula en una preparación útil para fármacos de péptidos de acuerdo con el
20 procedimiento típico en el campo farmacéutico, de manera que se administre por vía oral o parenteral, tal como a través de la piel, por vía intravenosa, intramuscular, intraarterial, intramedular, intratecal, intraventricular, pulmonar, transdérmica, subcutánea, intraperitoneal, intranasal, intragástrica, tópica, sublingual, vaginal, o rectal, pero no se limita a estas.

25 Además, el derivado del glucagón se puede usar mediante la mezcla con

una variedad de vehículos farmacéuticamente aceptables tales como solución salina fisiológica o disolventes orgánicos. Con el fin de aumentar la estabilidad o la absorción, carbohidratos tales como glucosa, sacarosa, o dextranos, antioxidantes tales como ácido ascórbico o glutatión, agentes quelantes, proteínas de bajo peso molecular, u otros estabilizantes se pueden usar.

La dosis y la frecuencia de administración de la composición farmacéutica de la presente invención se determinan mediante el tipo de principio(s) activo(s), junto con diversos factores, tales como la enfermedad a tratar, la vía de administración, la edad del paciente, el género, y el peso corporal, y la gravedad de la enfermedad.

La dosis efectiva total de la composición de la presente invención se puede administrar a un paciente en una única dosis, o se puede administrar durante un largo período de tiempo en múltiples dosis de acuerdo con un protocolo de tratamiento fraccionado. En la composición farmacéutica de la presente invención, el contenido de principio(s) activo(s) puede variar dependiendo de la gravedad de la enfermedad. Preferentemente, la dosis diaria total del péptido de la presente invención puede ser de aproximadamente 0,0001 µg a 500 mg por 1 kg de peso corporal de un paciente. Sin embargo, la dosis efectiva del derivado del glucagón se determina considerando diversos factores que incluyen la edad del paciente, el peso corporal, las afecciones en la salud, el género, la gravedad de la enfermedad, la dieta, y la tasa de eliminación, además de la vía de administración y la frecuencia del tratamiento de la composición farmacéutica. A este respecto, los expertos en la materia pueden determinar fácilmente la dosis efectiva adecuada para el uso particular de la composición farmacéutica de la presente invención. La composición

farmacéutica de acuerdo con la presente invención no se limita particularmente a la formulación y a la vía y el modo de administración, siempre que presente los efectos de la presente invención.

La composición farmacéutica de la presente invención muestra una
5 excelente duración *in vivo* de la eficacia y título, reduciendo de este modo de manera remarcada el número y la frecuencia de administración de la misma.

En particular, dado que la composición farmacéutica de la presente invención contiene, como un principio activo, un derivado de glucagón que tiene un pl alterado diferente del del glucagón natural, presenta una solubilidad
10 mejorada y una elevada estabilidad de acuerdo con el pH de una solución dada, y por tanto, la composición farmacéutica de la presente invención se puede usar de manera efectiva en la preparación de una formulación de glucagón estable para el tratamiento de la hipoglucemia o la obesidad.

Además, la composición farmacéutica de la presente invención se puede
15 administrar sola o en combinación con otras formulaciones farmacéuticas que presentan efectos profilácticos o terapéuticos en la obesidad. Además, la composición farmacéutica de la presente invención se puede contener adicionalmente una formulación farmacéutica que presentan efectos profilácticos o terapéuticos en la obesidad.

20 Las formulaciones farmacéuticas que presentan efectos profilácticos o terapéuticos en la obesidad no son particularmente limitados, y pueden incluir un agonista del receptor GLP-1, un antagonista del receptor del péptido insulíntrópico que depende de glucosa (GIP), un agonista del receptor de leptina, un inhibidor de DPP-IV, un antagonista del receptor Y5, un antagonista
25 del receptor de hormona concentradora de melanina (MCH), un agonista del

receptor Y2/3/4, un agonista del receptor MC3/4, un inhibidor de lipasa gástrica/pancreática, un agonista de 5HT2c, un agonista del receptor β 3A, un agonista del receptor de amilina, un antagonista del receptor de ghrelina y un antagonista del receptor de ghrelina, FGF1, un agonista del receptor FGF21, un
5 agonista del receptor de colecistoquinina (CCK), un agonista del receptor del polipéptido pancreático (PP), un inhibidor de reabsorción de dopamina, etc.

En otro aspecto más, la presente invención proporciona un procedimiento para la prevención o el tratamiento de hipoglucemia u obesidad, incluyendo la administración del derivado del glucagón o la composición farmacéutica que
10 contiene al mismo a un sujeto.

Tal como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a aquellos de los que se sospecha que tienen hipoglucemia u obesidad, que son mamíferos que incluyen los seres humanos, ratones, o animales de ganado que tienen hipoglucemia u obesidad, o con la posibilidad de tener hipoglucemia u
15 obesidad. Sin embargo, cualquier sujeto a tratar con los derivados del glucagón o la composición farmacéutica de la presente invención se incluye sin limitación. La composición farmacéutica que contiene el derivado de glucagón de la presente invención se puede administrar a un sujeto del que se sospecha que tiene hipoglucemia u obesidad, tratando de este modo al sujeto de manera
20 eficaz. La hipoglucemia y la obesidad son las mismas que se describen anteriormente.

El procedimiento terapéutico de la presente invención puede incluir la administración de la composición farmacéutica que contiene el derivado de glucagón en una cantidad farmacéuticamente eficaz. Preferentemente, la dosis
25 diaria total se debe determinar en base al juicio médico apropiado mediante un

médico y administrándola una vez o varias veces. A la vista de los objetos de la presente invención, la dosis terapéuticamente eficaz específica para cualquier paciente particular puede variar dependiendo de diversos factores, tales como el tipo y el grado de la respuesta que se alcance, las composiciones específicas
5 incluyendo si otro(s) agente(s) se usa(n) con las mismas o no, la edad del paciente, el peso corporal, las afecciones en la salud, el género, y la dieta, el tiempo y la vía de administración, la tasa de eliminación de la composición, la duración de la terapia, otro(s) fármaco(s) usado(s) en combinación o de manera simultánea con las composiciones específicas, y factores similares bien
10 conocidos en la técnica médica.

En otro aspecto más, la presente invención proporciona un uso de los derivados del glucagón en la preparación de fármacos farmacéuticos para la prevención o el tratamiento de la hipoglucemia u obesidad.

[Efectos ventajosos]

15 Los nuevos derivados del glucagón de la presente invención tienen una excelente estabilidad y solubilidad de acuerdo con el pH de una solución dada teniendo un pI diferente del del glucagón natural. Por lo tanto, cuando los nuevos derivados del glucagón de la presente invención se usan como un agente terapéutico para el tratamiento de la hipoglucemia, se puede aumentar
20 la conformidad del paciente. Además, los nuevos derivados del glucagón de la presente invención son adecuados para la administración en combinación con otros agentes antiobesidad, y por tanto, pueden usarse de manera eficaz para la prevención o el tratamiento de hipoglucemia y la obesidad.

[DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION]

25 En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se

describirá con más detalle en referencia a los siguientes Ejemplos. Sin embargo, estos ejemplos son solo con fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

Ejemplo 1: Producción de una línea celular que tiene una respuesta de AMPc al glucagón

Se realizó una PCR usando una región correspondiente con un marco de lectura abierto (ORF, del inglés *open reading frame*) en ADNc (OriGene Technologies, Inc., EE.UU) del gen del receptor de glucagón humano como un molde, y los siguientes cebadores directos e inversos de las SEQ ID NOS: 35 y 36, incluyendo cada uno de los sitios de restricción HindIII y EcoRI.

En particular, La PCR se realizó para un total de 30 ciclos usando las siguientes condiciones: desnaturalización a 95 °C durante 60 segundos, hibridación a 55 °C durante 60 segundos, y extensión a 68 °C durante 30 segundos. El producto de PCR así obtenido se sometió a electroforesis en un gel de agarosa al 1,0 %, y se obtuvo una banda con un tamaño de 450 pb a partir del mismo mediante elución.

Cebador directo: 5'-CAGCGACACCGACCGTCCCCCGTACTTAAGGCC-3' (SEQ ID NO: 35)

Cebador inverso: 5'-CTAACCGACTCTCGGGGAAGACTGAGCTCGCC-3' (SEQ ID NO: 36)

El producto de la PCR se clonó en un vector de expresión de célula animal conocido, x0GC/dhfr, para preparar un vector recombinante x0GC/GCGR. La línea celular CHO DG44 cultivada en medio DMEM/F12 (FBS al 10 %) se transfectó con el vector recombinante x0GC/GCGR usando lipofectamina, y se cultivó de manera selectiva en un medio de selección que

contiene 1 mg/ml de G418 y metotraxato 10 nM. Las líneas celulares monoclonales se seleccionaron a partir de las mismas mediante un procedimiento de dilución límite, y entre ellas, se seleccionó una línea celular que mostró una excelente respuesta de AMPc al glucagón de una manera dependiente de la concentración a partir de las mismas.

Ejemplo 2: Síntesis de derivados del glucagón

Es ampliamente conocido en la materia que la solubilidad, la actividad, y la estabilidad de una proteína en una solución puede variar de acuerdo con el pl (Shaw, K. L. y col., Protein Science 10, pp 1206-1215, 2001). Con el fin de preparar derivados del glucagón con propiedades físicas mejoradas, la secuencia de aminoácidos del glucagón natural representado por la SEQ ID NO: 1 se sustituyó con los restos de aminoácidos que tiene cargas positivas y negativas, y de este modo se sintetizaron los derivados del glucagón tal como se muestran en la Tabla 1 a continuación.

[TABLA 1]

SEQ ID NO	Secuencia de aminoácidos	Formación del anillo
SEQ ID NO: 1	HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT	-
SEQ ID NO: 2	HSQGTFTSDYSKYLDCDRAQDFVQWLMNT	-
SEQ ID NO: 3	HSQGTFTSDYSKYLDCERAQDFVQWLMNT	-
SEQ ID NO: 4	HSQGTFTSDYSKYLDSCDAQDFVQWLMNT	-

SEQ ID NO: 5	HSQGTFTSDYSKYLDSCEAQDFVQWLMNT	-
SEQ ID NO: 6	HSQGTFTSDYSKYLDSCEADDFVQWLMNT	-
SEQ ID NO: 7	YSQGTFTSDYSKYLDSCEADDFVQWLMNT	-
SEQ ID NO: 8	YXQGTFTSDYSKYLDSCDAQDFVQWLINT	-
SEQ ID NO: 9	YXQGTFTSDYSKYLDSCDAQDFVWLINT	-
SEQ ID NO: 10	YXQGTFTSDYSKYLDSCDADDFVWLINT	-
SEQ ID NO: 11	YXQGTFTSDYSKYLDEKCAKEFVQWLMNT	-
SEQ ID NO: 12	YXQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT	-
SEQ ID NO: 13	YXQGTFTSDYSCYLDEKRAKEFVQWLMNT	-
SEQ ID NO: 14	YXQGTFTSDYSKYLDCKRAKEFVQWLMNT	-
SEQ ID NO: 15	YXQGTFTSDYSKYLCCKRAQDFVQWLMNT	-
SEQ ID NO: 16	YXQGTFTSDYSKYLDCRRAQVFVQWLMRT	-
SEQ ID NO:	YXQGTFTSDYSKYLDCVRAQDFVQWLMRT	-

17		
SEQ ID NO: 18	YXQGTFTSDYSKYLDSRRACDFRLWLMNT	-
SEQ ID NO: 19	YXQGTFTSDYSKYLC <u>E</u> KRA <u>K</u> EFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 20	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> CRA <u>K</u> EFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 21	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KCA <u>K</u> EFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 22	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRC <u>K</u> EFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 23	YXQGTFTSDYSKYCD <u>E</u> KRA <u>K</u> EFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 24	YXQGTFTSDYSKCLD <u>E</u> KRA <u>K</u> EFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 25	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> KRA <u>K</u> CFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 26	WXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> CRA <u>K</u> DFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 27	YXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> CRA <u>K</u> DFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 28	WXQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> CRA <u>K</u> DFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 29	YXQGTFTSDYSKCLD <u>E</u> ERRA <u>K</u> DFVQWLMNT	anillo formado

SEQ ID NO: 30	WXQGTFTSDYSKCLD <u>E</u> RR <u>A</u> KDFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 31	YXQGTFTSDYSKYLD <u>C</u> KRA <u>K</u> EFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 32	-SQGTFTSDYSKYLD <u>E</u> CRA <u>K</u> EFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 33	WXQGTFTSDYSKYCD <u>E</u> RR <u>A</u> KEFVQWLMNT	anillo formado
SEQ ID NO: 34	YXQGTFTSDYSKYCD <u>E</u> RR <u>A</u> KEFVQWLMNT	anillo formado

En relación con las SEQ ID NOS: 8 a 31 y 33 a 34 mostradas en la Tabla 1, los aminoácidos representados mediante X representan un aminoácido no natural, ácido aminoisobutírico (Aib); “-” en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32 significa que no hay restos de aminoácidos presentes en la correspondiente posición; y los dos restos de aminoácidos en negrita y subrayados representan la formación de un anillo entre los dos restos de aminoácidos.

Ejemplo 3: Medición del pI de los derivados de glucagón

Para medir las propiedades físicas mejoradas de los derivados de glucagón sintetizados en el Ejemplo 2, se calcularon los valores de pI en base a las secuencias de aminoácidos usando la herramienta pI/PM (http://expasy.org/tools/pi_tool.html; Gasteiger y col., 2003) en el servidor ExPASy.

[TABLA 2]

Derivados del glucagón	pI
SEQ ID NO: 1	6,8
SEQ ID NO: 2	4,56
SEQ ID NO: 3	4,66
SEQ ID NO: 4	4,13
SEQ ID NO: 5	4,22
SEQ ID NO: 6	4,03
SEQ ID NO: 7	3,71
SEQ ID NO: 8	3,77
SEQ ID NO: 9	3,77
SEQ ID NO: 10	3,66
SEQ ID NO: 11	4,78
SEQ ID NO: 12	6,04
SEQ ID NO: 13	4,78
SEQ ID NO: 14	8,12
SEQ ID NO: 15	6,11
SEQ ID NO: 16	9,11
SEQ ID NO: 17	6,03
SEQ ID NO: 18	8,15
SEQ ID NO: 19	8,12
SEQ ID NO: 20	4,78
SEQ ID NO: 21	4,78

SEQ ID NO: 22	6,20
SEQ ID NO: 23	6,20
SEQ ID NO: 24	6,21
SEQ ID NO: 25	8,12
SEQ ID NO: 26	4,68
SEQ ID NO: 27	4,68
SEQ ID NO: 28	4,68
SEQ ID NO: 29	6,15
SEQ ID NO: 30	4,44
SEQ ID NO: 31	8,12
SEQ ID NO: 32	4,78
SEQ ID NO: 33	6,21
SEQ ID NO: 34	6,21

Tal como se muestra en la Tabla 2 anterior, mientras que el glucagón natural de la SEQ ID NO: 1 tenía un pl de 6,8, los derivados de glucagón de acuerdo con la presente invención mostraron valores de pl en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 9, mostrando por tanto propiedades físicas mejoradas. Dado que los derivados del glucagón de acuerdo con la presente invención tienen valores de pl diferentes del del glucagón natural, pueden presentar una solubilidad mejorada y una mayor estabilidad de acuerdo con las condiciones de pH de una solución dada.

Por consiguiente, cuando los derivados del glucagón de acuerdo con la presente invención se usan como un agente terapéutico para el tratamiento de la hipoglucemia, se puede mejorar la conformidad del paciente, y también son adecuados para la administración en combinación con otros agentes

antiobesidad, por ejemplo, un antagonista del receptor de GLP-1, un antagonista del receptor del péptido insulíntrópico que depende de glucosa (GIP), etc., y por tanto, pueden usarse de manera eficaz como un agente terapéutico para el tratamiento de hipoglucemia y obesidad.

- 5 Los expertos en la materia reconocerán que la presente invención se puede incorporar en otras formas específicas sin apartarse de su espíritu o características esenciales. Las realizaciones descritas deben ser consideradas en todos los aspectos solamente como ilustrativas y no restrictivas. El alcance de la presente invención está, por tanto, indicado por las reivindicaciones
- 10 adjuntas más que por la descripción anterior. Todos los cambios que entran dentro del significado y rango de equivalencia de las reivindicaciones deben ser abarcados dentro del alcance de la presente invención.