

ANÁLOGOS DE AMILINA

PRIORIDAD

Esta solicitud invoca prioridad de la Solicitud de Patente Europea N°: 16188024.0, presentada el 9 de septiembre, 2016, cuya divulgación se incorpora por completo a la presente a modo de referencia.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con análogos de amilina que son agonistas del receptor de amilina, y con su uso en medicina para el tratamiento y/o la prevención de varias enfermedades, afecciones o trastornos, que incluyen el tratamiento y/o la prevención de una ingesta excesiva de alimentos, obesidad y un peso corporal excesivo, enfermedades metabólicas y otras afecciones y trastornos que se describirán en la presente. En particular, la presente invención se relaciona con análogos de amilina estables que tienen una larga duración de acción y son muy adecuados para su uso en forma de formulación líquida.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La amilina es un miembro de una familia de hormonas peptídicas que incluyen amilina, calcitonina, péptidos relacionados con el gen de la calcitonina, adrenomedulina e intermedina (la intermedina también es mejor conocida como AFP-6), y se ha relacionado con distintas enfermedades y trastornos metabólicos. La amilina humana se aisló, purificó y caracterizó primero como el componente principal de los depósitos amiloides en los islotes del páncreas de pacientes con diabetes tipo 2.

La amilina humana nativa es un péptido de 37 aminoácidos de la siguiente fórmula

H-KC()NTATC()ATQRLANFLVHSSNNFGAILSSTNVGSNTY-NH₂

en donde el H- por el extremo N-terminal indica un átomo de hidrógeno, que corresponde a la presencia de un grupo amino libre en el residuo de aminoácido N-terminal [es decir, el residuo de lisina (K) en la posición de secuencia número 1 en la secuencia que se mostró recién]; en donde -NH₂ en el extremo C-terminal indica que el grupo carboxilo C-terminal se encuentra en la forma de una amida; y en donde las paréntesis () asociadas con los dos residuos cisteína (C, Cys) en las posiciones de secuencia 2 y 7 indican la presencia de un puente disulfuro intramolecular entre los dos residuos Cys en cuestión.

La amilina puede ser beneficiosa para el tratamiento de trastornos metabólicos, tales como la diabetes y/o la obesidad. Se cree que la amilina regula el vaciado gástrico y que suprime la secreción de glucagón y la ingesta de alimentos, regulando de esa manera el índice de liberación de glucosa hacia la circulación. Parece que la amilina complementa las acciones de la insulina. En comparación con los adultos sanos, los pacientes con diabetes tipo 1 no tienen amilina en la circulación, y los pacientes diabetes tipo 2 tenían concentraciones reducidas de amilina después de la ingesta de alimentos. En ensayos con humanos se demostró que un análogo de amilina conocido como pramlintida, descrito en WO 93/10146 y cuya secuencia es Lys-Cys-Asn-Thr-Ala-Thr-Cys-Ala-Thr-Gln-Arg-Leu-Ala-Asn-Phe-Leu-Val-His-Ser-Ser-Asn-Asn-Phe-Gly-Pro-Ile-Leu-Pro-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Asn-Thr-Tyr, que también tiene un puente disulfuro entre los residuos Cys en las posiciones 2 y 7, reduce el peso corporal o reduce el aumento de peso. Yan et al., (*PNAS*, 103(7), 2046-2051, 2006; *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2013, 52, 10378-10383;

WO2006/042745, describieron un análogo de amilina alternativo que incorpora residuos N-metilados y que presenta una tendencia reducida a la formación de fibrillas, denominado IAPP-GI). Sin embargo, parece que IAPP-GI tiene menor actividad que la amilina nativa.

En WO91/07978 se describen análogos de péptidos hipocalcémicos, inclusive la amilina, en los cuales los puentes disulfuro internos fueron reemplazados por ciclaciones alternativas. No se divulga el efecto de estas estructuras alternativas sobre la actividad de los análogos de amilina. En WO99/34764 se muestran datos que indican que la ^{2,7}ciclo-[2Asp,7Lys]-h-amilina tiene una potencia considerablemente menor que algunos otros análogos de amilina, y la propia amilina humana.

En WO2013/156594, WO2012/168430, WO2012/168431 y WO2012/168432, así como en WO2015/040182, se describen otros análogos de amilina o pramlintida.

Se cree que la obesidad es uno de los factores causales más importantes del desarrollo de diabetes tipo 2, la cual constituye un gran problema de salud cada vez mayor y en todo el mundo. Las enfermedades o los trastornos que se pueden desarrollar como consecuencia de una diabetes no tratada incluyen enfermedad cardiovascular y de las arterias periféricas, complicaciones micro y macrovasculares, accidentes cerebrovasculares y algunas formas de cáncer, en particular los cánceres hematopoyéticos.

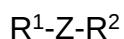
Persiste la necesidad en el arte de análogos de amilina adicionales. Por ejemplo, los análogos de amilina que muestran una tendencia de formación reducida de fibrillas y/o una gran estabilidad química a pH 7 o un valor cercano permitirían contar con una formulación cercana al pH fisiológico. Los análogos

de amilina que tienen una vida media de eliminación del plasma apropiadamente prolongada también pueden permitir intervalos mayores entre dosificaciones que los posibles actualmente (por ejemplo, una vez por semana o con aún menos frecuencia) y por ende mejorar el cumplimiento con el tratamiento por parte del paciente. También sería deseable contar con niveles altos de actividad agonista en el receptor de amilina.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con compuestos que son análogos de la amilina humana.

En un primer aspecto, la invención provee un análogo de amilina que es un compuesto de la siguiente fórmula:



en donde

R^1 es hidrógeno, C_{1-4} acilo, benzoílo o C_{1-4} alquilo, o un resto M para extender la vida media, en donde M está unida opcionalmente a Z por medio de un resto conector L;

R^2 es OH o NHR^3 , en donde R^3 es hidrógeno o C_{1-3} -alquilo; y

Z es una secuencia de aminoácidos de la fórmula I:

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-Ala-Thr-X10-Arg-Leu-Ala-X14-Phe-Leu-X17-Arg-X19-X20-Phe-Gly(Me)-Ala-Ile(Me)-X27-Ser-Ser-Thr-Glu-X32-Gly-Ser-X35-Thr-X37

(I)

en donde

X1 se selecciona del grupo que consiste en Arg, Lys y Glu;

X3 se selecciona del grupo que consiste en Gly, Gln y Pro;

X4 se selecciona del grupo que consiste en Thr y Glu;

X5 se selecciona del grupo que consiste en Ala y Leu;

X6 se selecciona del grupo que consiste en Thr y Ser;

X10 se selecciona del grupo que consiste en Glu y Gln;

X14 se selecciona del grupo que consiste en Aad, His, Asp, Asn y Arg;

X17 se selecciona del grupo que consiste en Gln, His y Thr;

X19-X20 se selecciona entre Ser-Ser, Thr-Thr, Ala-Thr, Ala-Ala, Gly-Thr, Gly-Gly y Ala-Asn o está ausente;

X27 se selecciona del grupo que consiste en Leu y Pro;

X32 se selecciona del grupo que consiste en Val y Thr;

X35 se selecciona del grupo que consiste en Asn y Ser;

X37 se selecciona del grupo que consiste en Hyp y Pro; y

X2 y X7 son residuos de aminoácidos cuyas cadenas laterales forman juntas un puente de lactama;

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas formas de realización, X1 se selecciona entre Arg y Lys.

En algunas formas de realización, X3 es Gly, X4 es Thr, X5 es Ala y/o X6 es Thr, por ejemplo, X3 es Gly, X4 es Thr, X5 es Ala y X6 es Thr.

En algunas formas de realización, X14 se selecciona entre His, Asp y Aad.

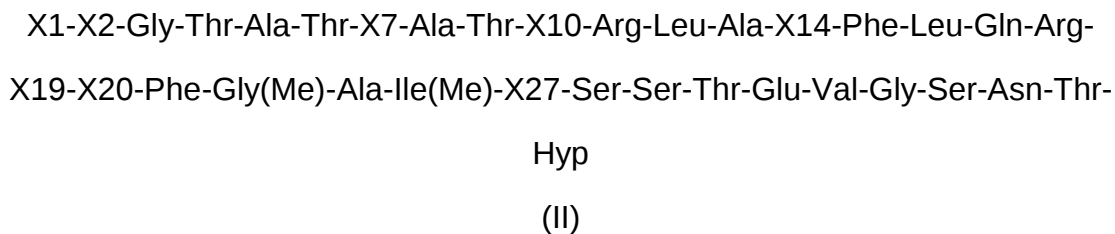
En algunas formas de realización, X17 es Gln.

En algunas formas de realización, X19-X20 se selecciona entre Ser-Ser y Thr-Thr, o está ausente, por ejemplo, Ser-Ser.

En algunas formas de realización, X32 es Val, X35 es Asn y/o X37 es Hyp.

Por consiguiente, Z puede ser una secuencia de aminoácidos de la

fórmula II:



en donde

X1 se selecciona del grupo que consiste en Arg y Lys;

X10 se selecciona del grupo que consiste en Glu y Gln;

X14 se selecciona del grupo que consiste en Aad, Asp y His;

X19-X20 se selecciona entre Ser-Ser y Thr-Thr o está ausente;

X27 se selecciona del grupo que consiste en Leu y Pro; y

X2 y X7 son residuos de aminoácidos cuyas cadenas laterales forman juntas un puente de lactama.

En algunas formas de realización, X14 es Aad, X19-X20 es Ser-Ser y X27 es Leu.

En toda esta descripción, las posiciones de aminoácidos de los análogos de amilina se numeran de acuerdo con la correspondiente posición en la amilina humana nativa cuya secuencia se mostró precedentemente. La secuencia de las Fórmulas I y II (y otras fórmulas de la presente) contiene una supresión de dos aminoácidos que corresponden a los dos residuos Asn21 y Asn22 de la amilina humana. Por lo tanto, para facilitar la comparación con la secuencia de amilina, el residuo Phe inmediatamente C-terminal (corriente abajo) con respecto a la posición X20 se indica como la posición 23, dado que se alinea con la Phe23 de la amilina humana. Entonces, la numeración de cualquier residuo dado en las Fórmulas I y II anteriores, y en otras fórmulas en

otra parte de esta descripción, refleja el correspondiente residuo en la amilina humana cuando se alinea de manera óptima con la misma y no refleja necesariamente su posición lineal en la secuencia particular.

(Será evidente que en cualquiera de las fórmulas relevantes presentadas en esta descripción se podría indicar que incluyen los residuos X21-X22 en las posiciones apropiadas, en donde X21 y X22 están ausentes.)

Se sabe que la amilina nativa forma fibrillas en una solución acuosa de manera casi instantánea. Como consecuencia de ello, se han efectuado muchos intentos por mejorar la estabilidad de los análogos de amilina en formulaciones líquidas. La tendencia a la formación de fibrillas se puede reducir mediante la incorporación de residuos N-metilados (como se mencionó antes) y/o mediante sustitución de algunos aminoácidos en varias posiciones. Sin embargo, a pesar de estas opciones persiste el deseo de optimizar adicionalmente la estabilidad de los análogos de amilina en solución acuosa. Los análogos de amilina con una estabilidad química en solución acuosa mejorada adicional facilitarán el desarrollo de un producto farmacéutico correspondiente, potencialmente aún en la forma de una formulación lista para usar, por ejemplo en o alrededor de un rango de pH neutro (pH 7-7,4).

La amilina nativa, y la gran mayoría de los análogos de amilina (tal como la pramlintida), contienen un puente disulfuro entre los residuos cisteína en las posiciones 2 y 7. La ciclación interna que proporciona este puente parece ser necesaria para una potencia y actividad completas. Aunque los compuestos que contienen un enlace disulfuro interno con frecuencia son menos estables químicamente de lo que sería deseable, y la presencia del enlace puede contribuir a la dimerización y oligomerización, por ejemplo por medio de

reacciones de intercambio de disulfuro, no se ha informado que el enlace disulfuro en la amilina o en los análogos de amilina sea un factor relevante para la baja estabilidad química en las formulaciones acuosas.

Se ha informado de unos pocos intentos por reemplazar el puente disulfuro en la amilina. Como se describió antes, en un intento por mejorar la estabilidad y eficacia *in vivo* mediante una reducción química y proteólisis enzimática, WO91/07978 propone reemplazar los puentes disulfuro internos de los péptidos hipocalcémicos (que incluyen, por ejemplo, calcitonina y amilina) por ciclaciones alternativas. Sin embargo, no se divulga el efecto de estas estructuras alternativas sobre la actividad de los análogos de amilina. En WO99/34764 se describen datos que muestran que el reemplazo del puente disulfuro por un puente de lactama intramolecular en la secuencia de la amilina humana nativa da como resultado un análogo de amilina (^{2,7}ciclo-[2Asp,7Lys]-h-amilina) que tiene una potencia considerablemente más baja que el tipo salvaje y muchos otros análogos de amilina, lo cual también podría explicar por qué no se han considerado otras opciones de ciclación alternativas.

Sin embargo, ahora se ha encontrado que las ciclaciones basadas en lactama son muy compatibles con los análogos de amilina que tienen supresiones en las posiciones 21 y 22, ya que el reemplazo del puente disulfuro por un puente de lactama conduce a un aumento sustancial de la estabilidad en solución acuosa (véase la tabla 2), al mismo tiempo que se retienen las demás propiedades beneficiosas de estos análogos de amilina, tal como una menor tendencia a la formación de fibrillas, una gran actividad y una buena solubilidad. Si bien se sabe que dichos puentes de lactama reducen dramáticamente la actividad de los péptidos (véase WO 91/07978, página 45

líneas 36 a 52; WO 99/34764 página 84, Tabla A), además ahora se ha encontrado que los análogos de amilina de la presente invención pueden retener una gran actividad/no mostrar reducción de la actividad en los receptores hCT-R, hAMYR1, hAMYR2 y/o hAMYR3. Además, o como alternativa, pueden tener una excelente estabilidad química y resistencia a la formación de fibrillas en especial, pero no exclusivamente, en el rango de pH neutro.

Por consiguiente, el análogo de amilina de la invención comprende un puente de lactama formado entre las cadenas laterales de los residuos de las posiciones X2 y X7. Para mayor simplicidad, las posiciones 2 y 7 se describirán como referencia para los residuos presentes nominalmente antes de la formación de lactama.

Uno de los residuos de las posiciones X2 y X7 es un residuo con una cadena lateral que comprende un grupo de ácido carboxílico y el otro es un residuo con una cadena lateral que comprende un grupo amina, en donde se forma una lactama (amida cíclica) entre los grupos de ácido carboxílico y amina. La amina puede ser una amina primaria o secundaria, pero normalmente es una amina primaria. Los aminoácidos adecuados cuyas cadenas laterales pueden participar en un puente de lactama incluyen Asp, Glu y Aad (que tienen cadenas laterales que comprenden grupos de ácido carboxílico) y Dap, Dab, Orn, Lys y hLys (que tienen cadenas laterales que comprenden grupos amina). En principio, cualquiera de los aminoácidos seleccionados entre Asp, Glu y Aad puede formar un puente de lactama con cualquiera de los aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en Dap, Dab, Orn, Lys y hLys.

Por consiguiente, uno de los residuos en la posición X2 y X7 se puede seleccionar entre Asp, Glu y Aad, y el otro se puede seleccionar entre Dap, Dab, Orn, Lys y hLys.

En algunas formas de realización, el componente de ácido carboxílico del puente de lactama deriva del aminoácido de la posición X2, en tanto el componente amina del puente de lactama deriva del aminoácido de la posición X7. Por lo tanto, X2 se puede seleccionar entre Asp, Glu y Aad, y X7 se puede seleccionar entre Dap, Dab, Orn, Lys y hLys.

Puede ser beneficioso que la cadena lateral del residuo de la posición X2 sea de la misma longitud, o más corta, que la cadena lateral del residuo de la posición X7. Dichas combinaciones de residuos pueden proporcionar beneficios que incluyen una mayor potencia en comparación con otras combinaciones.

En este contexto, la longitud de la cadena lateral se cuenta como el número de átomos en una cadena lineal desde el primer átomo de la cadena lateral (que está unido a un átomo del esqueleto peptídico, es decir, al carbono alfa del residuo relevante de la mayoría de los aminoácidos) hasta e incluyendo el átomo que participa en el enlace amida del puente de lactama (es decir, el átomo de carbono del grupo funcional de ácido carboxílico o el átomo de nitrógeno del grupo amina).

Por lo tanto, se considera que las cadenas laterales comunes que contienen ácido y amina tienen las siguientes longitudes de cadenas laterales:

Asp: 2 átomos

Glu: 3 átomos

Aad: 4 átomos

Dap: 2 átomos

Dab: 3 átomos

Orn: 4 átomos

Lys: 5 átomos

hLys: 6 átomos

En algunas formas de realización, la cadena lateral del residuo en la posición X2 es más corta que la cadena lateral del residuo en la posición X7.

Preferiblemente, la longitud del puente de lactama provista por las dos cadenas laterales después de la formación del enlace amida (no incluye ninguno de los átomos en el esqueleto peptídico) es de 4, 5, 6, 7 ú 8 átomos, por ejemplo 5, 6, 7 ú 8 átomos, o 5, 6 ó 7 átomos.

Por consiguiente, los pares de residuos adecuados en las posiciones X2 y X7 en donde la cadena lateral en la posición X2 es más corta que la cadena lateral en la posición X7 incluyen:

X2 es Asp y X7 es Lys

X2 es Asp y X7 es Orn

X2 es Asp y X7 es Dab

X2 es Asp y X7 es hLys

X2 es Dap y X7 es Aad

Los ejemplos de pares adecuados que tienen las mismas longitudes de cadenas laterales incluyen:

X2 es Glu y X7 es Dab

X2 es Dab y X7 es Glu

Otros pares que también se pueden considerar incluyen:

X2 es Asp y X7 es Dap

X2 es Aad y X7 es Dap

X2 es Dap y X7 es Asp

X2 es Dab y X7 es Asp

X2 es Orn y X7 es Asp

Los pares de particular interés comprenden:

X2 es Asp y X7 es Lys

X2 es Asp y X7 es Orn.

En algunas formas de realización de las fórmulas que se describieron precedentemente:

X1 puede ser Arg;

X10 puede ser Glu.

X14 se puede seleccionar entre Asp y Aad.

X19-X20 puede ser Ser-Ser

X27 puede ser Leu

El análogo de amilina puede ser de la fórmula:

$$R^1-Z-R^2$$

en donde

R^1 es hidrógeno, C_{1-4} acilo, benzoílo o C_{1-4} alquilo, o un resto M para extender la vida media, en donde M está unida opcionalmente a Z por medio de un resto conector L;

R^2 es OH o NHR^3 , en donde R^3 es hidrógeno o C_{1-3} -alquilo; y

Z es una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en:

RD()GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGSNT-Hyp

RD()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
PSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLHRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGSTP

RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
PSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLARFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

ED()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-
Hyp

RD()GEATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-
Hyp

RD()GTLTK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-
Hyp

RD()GTASK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-
Hyp

RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-

PSSTEVGST-Hyp

RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp

RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp

RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-hLys()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLTRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRATF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp

RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp

RD()QTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

RD()PTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
PSSTEVGST-Hyp

RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRAAF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRGGF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRANF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
PSSTEVGST-Hyp

RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTETGST-Hyp

ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSFGly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRTTF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-
LSSTEVGST-Hyp

KD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-Alle(Me)-
LSSTEVGSTHyp

RD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-

LSSTEVGSNT-Hyp

RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp

RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGSNT-Hyp

KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp

KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGSNT-Hyp

R-Dap()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp

R-Dab()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp

R-Orn()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp

R-Dap()-GTAT-Aad()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp

R-Dab()-GTATE()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp

R-Aad()-GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp

RE()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

El puente de lactama en las posiciones 2 y 7 está indicado por

paréntesis () a continuación de los residuos en dichas posiciones.

En algunas formas de realización, R^1 es M o M-L- y/o R^2 es NH_2 .

Los compuestos específicos de la invención incluyen:

- | | |
|--|----------------|
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂ | (Compuesto 1) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂ | (Compuesto 2) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂ | (Compuesto 3) |
| [19CD]-isoGlu-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂ | (Compuesto 4) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂ | (Compuesto 5) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂ | (Compuesto 6) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLHRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTP-Hyp-NH ₂ | (Compuesto 7) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂ | (Compuesto 8) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂ | (Compuesto 9) |
| [19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLARFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂ | (Compuesto 10) |
| [19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)- | (Compuesto 11) |

A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GEATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 12)
A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTLTK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 13)
A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTASK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 14)
A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 15)
A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 16)
A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 17)
A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 18)
A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-hLys()-ATERLAHFLQRSSF-	(Compuesto 19)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-	(Compuesto 20)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-	(Compuesto 21)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLTRSSF-	(Compuesto 22)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSSST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-	(Compuesto 23)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 24)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRATF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 25)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRAAF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 26)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 27)
[19CD]-isoGlu-RD()QTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 28)
[19CD]-isoGlu-RD()PTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 29)
[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 30)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRAAF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 31)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQGGF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 32)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRANF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 33)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 34)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 35)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF-	(Compuesto 36)

Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGSNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLA-Aad- FLQRSSFGly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 37)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRTTF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 38)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 39)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLA-Aad-FLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 40)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)- A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 41)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)- A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 42)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)- A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 43)
[19CD]-isoGlu-KD()GTATK()ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)- A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 44)
[19CD]-isoGlu-R-Dap()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 45)
[19CD]-isoGlu-R-Dab()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 46)
[19CD]-isoGlu-R-Orn()-GTATD()ATERLAHFLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 47)
[19CD]-isoGlu-R-Dap()-GTAT-Aad()-ATERLAHFLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSNT-Hyp-NH ₂	(Compuesto 48)

[19CD]-isoGlu-R-Dab()-GTATE()ATERLAHFLQRSSF- (Compuesto 49)

Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-R-Aad()-GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF- (Compuesto 50)

Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-RE()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF- (Compuesto 51)

Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

La invención provee además una composición que comprende un análogo de amilina descrito precedentemente. La composición puede ser una composición farmacéutica, y puede comprender un soporte, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención también provee un método para la síntesis de un análogo de amilina descrito precedentemente. El método puede comprender los pasos de sintetizar el péptido mediante una metodología en fase sólida o en fase líquida, y opcionalmente aislar y/o purificar el producto final. El método puede comprender además el paso de formar un enlace amida entre las cadenas laterales en las posiciones 2 y 7.

La presente invención también provee un análogo de amilina de la invención para usar en un método de tratamiento médico.

Los análogos de amilina son de utilidad, entre otros, para reducir la ingesta de alimentos, promover la pérdida de peso e inhibir o reducir el aumento de peso. Entonces, pueden utilizarse en el tratamiento de varias afecciones, enfermedades o trastornos en un sujeto, que incluyen, pero en un sentido no taxativo, obesidad y varias afecciones, enfermedades o trastornos relacionados con la obesidad, tales como diabetes (por ejemplo, diabetes tipo

2), hipertensión, dislipidemia, apnea del sueño y enfermedad cardiovascular. El sujeto puede estar afectado por obesidad acompañada por al menos una afección comórbida relacionada con el peso, tales como diabetes (por ejemplo, diabetes tipo 2), hipertensión, dislipidemia, apnea del sueño y enfermedad cardiovascular. Se comprenderá que los análogos de amilina se pueden administrar entonces a sujetos afectados por afecciones caracterizadas por un control inadecuado del apetito o de otra manera de una sobrealimentación, tal como el trastorno alimentario compulsivo y el síndrome de Prader-Willi. Quedará claro que los análogos se pueden utilizar en el tratamiento de combinaciones de las afecciones descritas.

Por consiguiente, la invención provee un análogo de amilina de la invención para usar en un método para tratar, inhibir o reducir el aumento de peso, promover la pérdida de peso y/o reducir un peso corporal excesivo. El tratamiento se puede lograr, por ejemplo, mediante el control del apetito, la alimentación, la ingesta de alimentos, la ingesta de calorías y/o el gasto energético.

La invención también provee un análogo de amilina de la invención de utilidad en un método para tratar la obesidad así como las enfermedades, trastornos y afecciones de salud asociados, que incluyen, pero en un sentido no taxativo, obesidad mórbida, obesidad previa a una cirugía, inflamación relacionada con la obesidad, enfermedad de la vesícula biliar relacionada con la obesidad, y apnea del sueño y problemas respiratorios inducidos por la obesidad, degeneración del cartílago, osteoartritis y complicaciones de la salud reproductora de la obesidad o el sobrepeso, tal como la esterilidad. El sujeto puede estar afectado por obesidad acompañada por al menos una afección

comórbida relacionada con el peso, tales como diabetes (por ejemplo, diabetes tipo 2), hipertensión, dislipidemia, apnea del sueño y enfermedad cardiovascular.

La invención también provee un análogo de amilina de la invención para usar en un método de prevención o tratamiento del mal de Alzheimer, diabetes, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, prediabetes, síndrome de resistencia a insulina, deterioro de la tolerancia a glucosa (IGT), estados de enfermedad asociados con niveles elevados de glucosa en sangre, enfermedad metabólica que incluye síndrome metabólico, hiperglucemia, hipertensión, dislipidemia aterogénica, esteatosis hepática ("hígado graso"; que incluye enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD), que a su vez incluye esteatohepatitis no alcohólica (NASH)), insuficiencia renal, arteriosclerosis (por ejemplo, aterosclerosis), enfermedad macrovascular, enfermedad microvascular, enfermedad cardíaca diabética (que incluye la cardiomiopatía diabética e insuficiencia cardíaca como una complicación de la diabetes), enfermedad cardíaca de las arterias coronarias, enfermedad de las arterias periféricas o accidentes cerebrovasculares, y combinaciones de los mismos.

La invención también provee un análogo de amilina de la invención de utilidad en un método para disminuir los niveles de LDL en la circulación y/o para aumentar la relación de HDL/LDL.

Los efectos de los análogos de amilina en estas afecciones pueden estar mediados por completo o en parte por un efecto sobre el peso corporal, o pueden ser independientes del mismo.

La invención también provee el uso de un análogo de amilina de la invención en la elaboración de un medicamento para tratar, inhibir o reducir el

aumento de peso, para promover la pérdida de peso y/o para reducir un peso corporal excesivo.

La invención también provee el uso de un análogo de amilina de la invención en la elaboración de un medicamento para tratar la obesidad así como las enfermedades, trastornos y afecciones de salud asociados, que incluyen, pero en un sentido no taxativo, obesidad mórbida, obesidad previa a una cirugía, inflamación relacionada con la obesidad, enfermedad de la vesícula biliar relacionada con la obesidad, y apnea del sueño y problemas respiratorios inducidos por la obesidad, degeneración del cartílago, osteoartritis y complicaciones de la salud reproductora de la obesidad o el sobrepeso, tal como la esterilidad. El sujeto puede estar afectado por obesidad acompañada por al menos una afección comórbida relacionada con el peso, tales como diabetes (por ejemplo, diabetes tipo 2), hipertensión, dislipidemia, apnea del sueño y enfermedad cardiovascular.

La invención también provee el uso de un análogo de amilina de la invención en la elaboración de un medicamento para la prevención o el tratamiento del mal de Alzheimer, diabetes, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, prediabetes, síndrome de resistencia a insulina, deterioro de la tolerancia a glucosa (IGT), estados de enfermedad asociados con niveles elevados de glucosa en sangre, enfermedad metabólica que incluye síndrome metabólico, hiperglucemia, hipertensión, dislipidemia aterogénica, esteatosis hepática ("hígado graso"; que incluye enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD), que a su vez incluye esteatohepatitis no alcohólica (NASH)), insuficiencia renal, arteriosclerosis (por ejemplo, aterosclerosis), enfermedad macrovascular, enfermedad microvascular, enfermedad cardíaca diabética (que

incluye la cardiomiopatía diabética e insuficiencia cardíaca como una complicación de la diabetes), enfermedad cardíaca de las arterias coronarias, enfermedad de las arterias periféricas o accidentes cerebrovasculares, y combinaciones de los mismos.

La invención también provee el uso de un análogo de amilina de la invención en la elaboración de un medicamento para disminuir los niveles de LDL en la circulación y/o para aumentar la relación de HDL/LDL.

La invención provee además un método para tratar, inhibir o reducir el aumento de peso, promover la pérdida de peso y/o reducir un peso corporal excesivo en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un análogo de amilina de la invención a dicho sujeto.

La invención también provee un método para tratar la obesidad así como las enfermedades, trastornos y afecciones de salud asociados, que incluyen, pero en un sentido no taxativo, obesidad mórbida, obesidad previa a una cirugía, inflamación relacionada con la obesidad, enfermedad de la vesícula biliar relacionada con la obesidad y apnea del sueño y problemas respiratorios inducidos por la obesidad, degeneración del cartílago, osteoartritis y complicaciones de la salud reproductora de la obesidad o el sobrepeso tal como esterilidad en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un análogo de amilina de la invención a dicho sujeto. El sujeto puede estar afectado por obesidad acompañada por al menos una afección comórbida relacionada con el peso, tales como diabetes (por ejemplo, diabetes tipo 2), hipertensión, dislipidemia, apnea del sueño y enfermedad cardiovascular.

La invención también provee un método de prevención o tratamiento del mal de Alzheimer, diabetes, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, prediabetes, síndrome de resistencia a insulina, deterioro de la tolerancia a glucosa (IGT), estados de enfermedad asociados con niveles elevados de glucosa en sangre, enfermedad metabólica que incluye el síndrome metabólico, hiperglucemia, hipertensión, dislipidemia aterogénica, esteatosis hepática ("hígado graso"; que incluye la enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD), que a su vez incluye esteatohepatitis no alcohólica (NASH)), insuficiencia renal, arteriosclerosis (por ejemplo, aterosclerosis), enfermedad macrovascular, enfermedad microvascular, enfermedad cardíaca diabética (que incluye cardiomiopatía diabética e insuficiencia cardíaca como una complicación de la diabetes), enfermedad cardíaca de las arterias coronarias, enfermedad de las arterias periféricas o accidentes cerebrovasculares, y combinaciones de los mismos, en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un análogo de amilina de la invención a dicho sujeto.

La invención provee además un método para disminuir los niveles de LDL en la circulación y/o para aumentar la relación de HDL/LDL en un sujeto, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un análogo de amilina de la invención a dicho sujeto.

La invención también provee el uso de un análogo de amilina descrito precedentemente en un método de pérdida de peso cosmética (es decir, no terapéutica). Se comprenderá que se puede considerar igualmente que las referencias a los usos terapéuticos de los análogos de amilina y a los métodos que comprenden administrar los análogos de amilina abarcan los usos y la

administración de dichas composiciones.

Otros aspectos y formas de realización de la presente invención serán evidentes a partir de la divulgación que se describe a continuación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

A menos que se defina de otra manera en la presente, los términos científicos y técnicos usados en la presente tendrán el significado comprendido comúnmente por los especialistas en el arte. En general, la nomenclatura empleada en la presente con relación a las técnicas de química, biología molecular, biología celular y del cáncer, inmunología, microbiología, farmacología, y química de proteínas y ácidos nucleicos, que se describen en la presente, es bien conocida y de uso común en el arte.

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente publicadas a las cuales se hace referencia en estas solicitudes se incorporan específicamente en la presente a modo de referencia. En caso de conflicto, prevalecerá la presente descripción, inclusive las definiciones específicas.

En toda la memoria descriptiva, el término "que comprende", o variaciones tales como "comprende" o "comprenden", incluye un número entero o componentes, o un grupo de números enteros o componentes establecido, pero no excluye ningún otro número entero o componente o grupo de números enteros o componentes.

Las formas en singular "un/una" y "el/la" abarcan el plural, a menos que del contexto claramente surja lo contrario.

El término "que incluye" significa "que incluye pero en un sentido no taxativo." Los términos "que incluye" y "que incluye pero en un sentido no taxativo" se usan indistintamente.

Los términos “paciente”, “sujeto,” e “individuo” se pueden utilizar indistintamente y pueden hacer referencia ya sea a humanos o a un animal no humano. Los sujetos son normalmente mamíferos, que incluyen humanos, primates no humanos (que incluyen grandes monos, monos del Viejo Mundo y monos del Nuevo Mundo), animales de granja (por ejemplo, bovinos, porcinos), animales de compañía (por ejemplo, caninos, felinos) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas).

Según se usa en la presente, el término “sal farmacéuticamente aceptable” pretende indicar una sal que no es perjudicial para un paciente o sujeto a quien se le administra la sal en cuestión. Preferiblemente, puede ser una sal seleccionada, por ejemplo, en sales de adición ácida y sales básicas. Los ejemplos de sales de adición ácida incluyen sales de cloruro, sales de citrato y sales de acetato. Los ejemplos de sales básicas incluyen sales donde el catión se selecciona entre cationes de metales alcalinos, tales como iones de sodio o potasio, cationes de metales alcalino-térreos, tales como iones de calcio o magnesio, así como iones de amonio sustituidos, tales como iones del tipo $N(R^1)(R^2)(R^3)(R^4)^+$, donde R^1 , R^2 , R^3 y R^4 normalmente designan de manera independiente hidrógeno, C_{1-6} -alquilo opcionalmente sustituido o C_{2-6} -alquenilo opcionalmente sustituido. Los ejemplos de grupos C_{1-6} -alquilo relevantes incluyen grupos metilo, etilo, 1-propilo y 2-propilo. Los ejemplos de grupos C_{2-6} -alquenilo de posible relevancia incluyen etenilo, 1-propenilo y 2-propenilo. Otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se describen en “Remington’s Pharmaceutical Sciences”, 17^a edición, Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, EEUU, 1985 (y las ediciones más recientes de la misma), en la “Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology”,

3ª edición, James Swarbrick (Ed.), *Informa Healthcare USA* (Inc.), NY, EEUU, 2007, y en *J. Pharm. Sci.* 66: 2 (1977).

El término “solvato” en el contexto de la presente invención se refiere a un complejo de la estequiometría definida formada entre un soluto (*in casu*, un péptido o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención) y un solvente. En este caso el solvente puede ser, por ejemplo, agua, etanol u otra especie orgánica farmacéuticamente aceptable - normalmente de molécula pequeña - tal como, pero en un sentido no taxativo, ácido acético o ácido láctico. Cuando el solvente en cuestión es agua, dicho solvato normalmente se conoce como un hidrato.

El término “agonista” según se emplea en el contexto de la invención se refiere a una sustancia que activa al tipo de receptor en cuestión, normalmente mediante unión al mismo (es decir, como un ligando).

Cada forma de realización de la invención que se describe en la presente se puede considerar sola o en combinación con una o más formas de realización adicionales de la invención.

En toda la presente descripción, a menos que los aminoácidos naturales se indiquen por su nombre completo (por ejemplo, alanina, arginina, etc.), se denominarán por sus abreviaturas convencionales de tres letras o de una sola letra (por ejemplo, Ala o A para alanina, Arg o R para arginina, etc.). En el caso de algunos aminoácidos menos comunes o no naturales (es decir, aminoácidos distintos de los 20 codificados por el código genético estándar de mamífero), a menos que se indiquen por su nombre completo (por ejemplo, sarcosina, ornitina, etc.), con frecuencia se emplean códigos de tres o cuatro caracteres para los residuos de los mismos, que incluyen Orn (ornitina, es decir, ácido 2,5-

diaminopentanoico), Aib (ácido α -aminoisobutírico), Dab (ácido 2,4-diaminobutanoico), Dap (ácido 2,3-diaminopropanoico), Har (homoarginina) γ -Glu (ácido γ -glutámico), Gaba (ácido γ -aminobutanoico), β -Ala (es decir, ácido 3-aminopropanoico), 8Ado (ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico).

A menos que se indique de otra manera, se hace referencia a las formas L-isoméricas de los aminoácidos en cuestión.

Las abreviaturas adicionales incluyen las que se indican a continuación:

- Gly(Me): N-metilglicina [también conocida como sarcosina (Sar)]
- Ile(Me): N-metilisoleucina
- Aad: ácido 2-aminoadípico, por ejemplo, ácido (2S)-2-aminoadípico [también ácido (2S)-2-aminohexandioico], también conocido como ácido homoglutámico
- Hyp: 4-hidroxiprolina, por ejemplo, (2S,4R)-4-hidroxiprolina [también denominada (4R)-4-hidroxi-L-prolina]
- Dap: ácido 2,3-diaminopropanoico, por ejemplo, ácido (2S)-2,3-diaminopropanoico
- Dab: ácido 2,4-diaminobutanoico, por ejemplo, ácido (2S)-2,4-diaminobutanoico
- hLys: ácido 2-amino-7-amino-heptanoico, también conocido como homolisina, por ejemplo, ácido (2S)-2-amino-7-aminoheptanoico

El término “cantidad terapéuticamente eficaz”, según se usa en la presente en el contexto de los métodos de tratamiento que se describieron precedentemente u otras intervenciones terapéuticas de acuerdo con la invención, se refiere a una cantidad que es suficiente para curar, mejorar, aliviar o detener parcialmente las manifestaciones clínicas de la enfermedad,

trastorno o afección particular que es objeto de dicho tratamiento u otra intervención terapéutica en cuestión, medida, por ejemplo, mediante puntos de valoración clínica establecidos u otros biomarcadores (establecidos o experimentales). Un especialista en el arte puede determinar empíricamente una cantidad terapéuticamente relevante basado en la indicación bajo tratamiento o prevención y el sujeto a quien se le está administrando la cantidad terapéuticamente relevante. Por ejemplo, el especialista puede medir uno o más de los indicadores clínicamente relevantes de bioactividad que se describen en la presente, por ejemplo, niveles de lípidos en plasma, niveles de glucosa en sangre o liberación de insulina. El especialista puede determinar una cantidad clínicamente relevante por medio de mediciones *in vitro* o *in vivo*. Otros ejemplos de mediciones incluyen el aumento de peso, la pérdida de peso y un cambio en la presión sanguínea.

Una cantidad adecuada para lograr cualquiera o todos estos efectos se define como una cantidad terapéuticamente eficaz. La cantidad administrada y el método de administración se pueden adaptar para lograr una eficacia óptima. Una cantidad efectiva para un propósito dado dependerá, entre otros, de la severidad de la enfermedad, el trastorno o la afección que es objeto del tratamiento particular u otra intervención terapéutica, del peso corporal y estado general del sujeto en cuestión, de la dieta, de la posible medicación concurrente y de otros factores que son bien conocidos por los especialistas en el arte de la medicina. La determinación de un tamaño de dosificación apropiado y del régimen de dosificación más apropiado para la administración de un péptido, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención a un humano puede estar orientada por los

resultados obtenidos con la presente invención, y se puede confirmar en ensayos clínicos diseñados apropiadamente. La dosificación efectiva y el protocolo de tratamiento se pueden determinar por medios convencionales, comenzando con una dosis baja en animales de laboratorio y luego incrementando la dosificación con monitoreo de los efectos, y asimismo variar sistemáticamente el régimen de dosificación. El médico clínico puede considerar numerosos factores a fin de determinar la dosificación óptima para un sujeto dado. Tales consideraciones son bien conocidas por el especialista.

Los términos "tratamiento" y variantes gramaticales del mismo (por ejemplo, "tratado", "tratando", "tratar") empleados en el presente contexto se refieren a un abordaje para obtener los resultados clínicos beneficiosos o deseados. A los efectos de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero en un sentido no taxativo, alivio de los síntomas, disminución del grado de enfermedad, estabilización del estado de la enfermedad (es decir, no hay empeoramiento), demora o disminución del avance de la enfermedad, alivio o mitigación del estado de enfermedad y remisión (ya sea parcial o total), ya sean detectables o no detectables. Un "tratamiento" también puede significar la prolongación de la sobrevida con relación al tiempo de supervivencia esperado si no recibiera tratamiento. Un sujeto (por ejemplo, un ser humano) que necesita de tratamiento puede entonces ser un sujeto que ya padece la enfermedad o el trastorno en cuestión. El término "tratamiento" incluye la inhibición o reducción de un aumento de la severidad de un estado patológico o de los síntomas (por ejemplo, aumento de peso o hiperglucemia) con relación a la ausencia de tratamiento, y no necesariamente implicarán una terminación completa de la enfermedad, el

trastorno o la afección relevante.

Los términos "prevención" y variantes gramaticales del mismo (por ejemplo, "prevenido", "que previene", "prevenir") empleados en el presente contexto se refieren a un abordaje para impedir o prevenir el desarrollo, o para alterar la patología, de una afección, enfermedad o trastorno. Por lo tanto, la "prevención" se puede referir a medidas profilácticas o preventivas. A los efectos de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero en un sentido no taxativo, la prevención o el retardo de los síntomas, el progreso o el desarrollo de una enfermedad, ya sean detectables o no. Un sujeto (por ejemplo, un ser humano) que necesita de "prevención" puede ser entonces un sujeto que aún no padece la enfermedad o el trastorno en cuestión. Entonces, el término "prevención" incluye inhibir o retardar el inicio de una enfermedad con relación a la ausencia de tratamiento, y no necesariamente implica una prevención permanente de la enfermedad, trastorno o afección relevante.

Síntesis de análogos de amilina

La invención también provee un método de síntesis de un análogo de amilina de la invención. Los análogos de amilina (que también se pueden denominar compuestos o péptidos) se pueden elaborar convenientemente mediante métodos de síntesis estándar. Por consiguiente, los péptidos se pueden sintetizar, por ejemplo, mediante métodos que comprenden sintetizar el péptido utilizando una metodología estándar en fase sólida o en fase líquida, ya sea por pasos o por ensamblaje de fragmentos, y opcionalmente aislar y purificar el producto peptídico final. En este contexto, se hace referencia a WO 98/11125 o, entre otros, Fields, G.B. et al., "Principles and Practice of Solid-

Phase Peptide Synthesis"; en: *Synthetic Peptides*, Gregory A. Grant (ed.), Oxford University Press (2ª edición, 2002) y los ejemplos de síntesis en la presente. Además, el método comprende normalmente el paso de formar un enlace amida entre las cadenas laterales en las posiciones 2 y 7, por ejemplo, como se describirá más adelante. En el caso de una síntesis en fase sólida, la ciclación se puede realizar *in situ* sobre la fase sólida (por ejemplo, una resina), es decir, antes de separar el péptido de la fase sólida.

Grupos C₁₋₄ acilo

Los grupos C₁₋₄ acilo que pueden estar presentes como un grupo R¹ en el contexto de los compuestos de la presente invención incluyen grupos formilo (es decir, metanoílo), acetilo (es decir, etanoílo), propanoílo, 1-butanoílo y 2-metilpropanoílo.

Grupos C₁₋₄ alquilo

Los grupos C₁₋₄ alquilo que pueden estar presentes como un grupo R¹ en el contexto de los compuestos de la presente invención incluyen, pero en un sentido no taxativo, grupos C₁₋₃ alquilo, tales como metilo, etilo, 1-propilo o 2-propilo.

Grupos C₁₋₃ alquilo

Los grupos C₁₋₃ alquilo que pueden estar presentes como un grupo R³ en el contexto de los compuestos de la presente invención incluyen metilo, etilo, 1-propilo y 2-propilo.

Restos M para extender la vida media

Según se describe en la presente, el resto R¹ N-terminal de un compuesto de la invención puede ser un resto M para extender la vida media (en la literatura a menudo se le dice, entre otros, un resto para aumentar la

duración o un resto de unión a albúmina), opcionalmente unido (unido de manera covalente) al resto Z del péptido por medio de un resto conector L. Entre los restos para extender la vida media adecuadas se encuentran algunos tipos de sustituyentes lipofílicos. Sin considerar ninguna teoría particular, se cree que dichos sustituyentes lipofílicos (y otras clases de restos para extender la vida media) se unen a la albúmina en el torrente sanguíneo, para así proteger al compuesto de la invención contra la filtración renal así como contra la degradación enzimática y de esa manera posiblemente mejorar la vida media del compuesto *in vivo*. El sustituyente lipofílico también puede modular la potencia del compuesto como un agonista del receptor de amilina (calcitonina).

El sustituyente lipofílico se puede unir al residuo de aminoácido N-terminal o al conector L por medio de un éster, un sulfoniléster, un tioéster, una amida, una amina o una sulfonamida. Por lo tanto, se comprenderá que el sustituyente lipofílico preferiblemente incluye un grupo acilo, un grupo sulfonilo, un átomo de N, un átomo de O o un átomo de S que forma parte del éster, del sulfoniléster, del tioéster, de la amida o de la sulfonamida. Preferiblemente, el grupo acilo en el sustituyente lipofílico forma parte de una amida o de un éster con el residuo de aminoácido o con el conector.

El sustituyente lipofílico puede comprender una cadena hidrocarbonada que tiene entre 10 y 24 átomos de C, por ejemplo, entre 14 y 22 átomos de C, por ejemplo, entre 16 y 20 átomos de C. Preferiblemente, tiene por lo menos 14 átomos de C y preferiblemente tiene 20 átomos de C o menos. Por ejemplo, la cadena hidrocarbonada puede contener 14, 15, 16, 17, 18, 19 ó 20 átomos de carbono. La cadena hidrocarbonada puede ser lineal o ramificada y puede estar saturada o insaturada. Aún más, puede incluir un grupo funcional por el

extreme de la cadena hidrocarbonada, por ejemplo, un grupo de un ácido carboxílico que se puede proteger, o no, durante la síntesis. A partir de la descripción anterior, también se comprenderá que la cadena hidrocarbonada preferiblemente está sustituida con un resto que forma parte de la unión al residuo de aminoácido N-terminal del resto Z o al conector L del péptido, por ejemplo, un grupo acilo, un grupo sulfonilo, un átomo de N, un átomo de O o un átomo de S.

Más preferiblemente, la cadena hidrocarbonada está sustituida con un grupo acilo, y por lo tanto la cadena hidrocarbonada puede formar parte de un grupo alcanóilo, por ejemplo, un grupo dodecanoílo, 2-butiloctanoílo, tetradecanoílo, hexadecanoílo, heptadecanoílo, octadecanoílo, nonadecanoílo o eicosanoílo. Los ejemplos de cadenas hidrocarbonadas funcionalizadas son 15-carboxi-pentadecanoílo, 17-carboxi-heptadecanoílo y 19-carboxi-nonadecanoílo.

Según se mencionó previamente, un sustituyente lipofílico M se puede unir al residuo de aminoácido N-terminal de Z por medio de un conector L. En las formas de realización, el propio resto conector L puede comprender uno, dos, tres o más subunidades unidas L^1 , L^2 , L^3 , ..etc. Cuando el conector L solamente comprende un resto tal, está unida al sustituyente lipofílico y al residuo de aminoácido N-terminal de Z. El conector se puede unir luego al sustituyente lipofílico y al residuo de aminoácido N-terminal de Z de manera independiente por medio de un enlace éster, sulfoniléster, tioéster, amida, amina o sulfonamida. Por lo tanto, puede incluir dos grupos seleccionados de manera independiente entre acilo, sulfonilo, un átomo de N, un átomo de O o un átomo de S. El conector puede consistir en una cadena hidrocarbonada de

C₁₋₁₀ lineal o ramificada o más preferiblemente una cadena hidrocarbonada de C₁₋₅ lineal. Además el conector puede estar sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre C₁₋₆ alquilo, amino C₁₋₆ alquilo, hidroxí C₁₋₆ alquilo y carboxi C₁₋₆ alquilo.

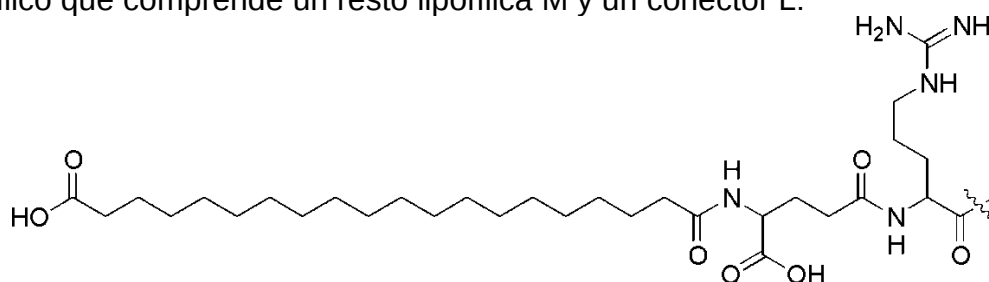
En algunas formas de realización, el conector puede comprender uno o más (por ejemplo, uno, dos o tres) residuos de aminoácidos unidos, cada uno de los cuales puede ser de manera independiente un residuo de cualquier aminoácido natural o no natural. Por ejemplo, el conector puede comprender uno, dos o tres residuos de aminoácidos unidos, cada uno de los cuales puede ser de manera independiente un residuo de Gly, Pro, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Cys, Phe, Tyr, Trp, His, Lys, Arg, Gln, Asn, α -Glu, γ -Glu, ϵ -Lys, Asp, β -Asp, Ser, Thr, Gaba, Aib, β -Ala (es decir, 3-aminopropanoílo), 4-aminobutanoílo, 5-aminopentanoílo, 6-aminohexanoílo, 7-aminoheptanoílo, 8-aminooctanoílo, 9-aminononanoílo, 10-aminodecanoílo o 8Ado (es decir, 8-amino-3,6-dioxaoctanoílo).

Las referencias a γ -Glu, ϵ -Lys y β -Asp indican residuos de aminoácidos que participan en los enlaces a través de sus grupos funcionales carboxilo o amina de las cadenas laterales. Por consiguiente, γ -Glu y β -Asp participan en los enlaces a través de sus grupos alfa amino y carboxilo de la cadena lateral, en tanto ϵ -Lys participa a través de sus grupos carboxilo y amino de la cadena lateral. En el contexto de la presente invención, se utiliza indistintamente γ -Glu e isoGlu.

En determinadas formas de realización, el conector comprende o consiste en uno, dos o tres residuos seleccionados de manera independiente entre Glu, γ -Glu, ϵ -Lys, β -Ala, 4-aminobutanoílo, 8-aminooctanoílo u 8Ado.

Los conectores que consisten en isoGlu e isoGlu-isoGlu serán particularmente preferidos.

En la siguiente fórmula se muestra un ejemplo de un sustituyente lipofílico que comprende un resto lipofílica M y un conector L:

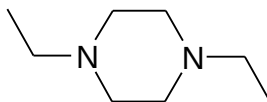


Aquí, el nitrógeno del esqueleto de un residuo Arg (presente en la posición X1 de Z de la secuencia peptídica del análogo de amilina) está unido de manera covalente al grupo carboxilo de la cadena lateral de un resto Glu por medio de un enlace amida. Hay un grupo 19-carboxi-nonadecanoílo unido de manera covalente al grupo alfa amino del conector Glu por medio de un enlace amida. Por consiguiente, el conector Glu está en la configuración iso-Glu (o γ -Glu). Esta combinación de un resto lipofílica y un conector, unidos a un residuo Arg, se puede indicar mediante la notación abreviada [19CD]-isoGlu-R, por ejemplo, cuando se muestra en las Fórmulas de compuestos específicos.

El especialista conoce bien las técnicas adecuadas para preparar los compuestos empleados en el contexto de la invención. Véase, por ejemplo, WO98/08871, WO00/55184, WO00/55119, Madsen et al (*J. Med. Chem.* 2007, 50, 6126-32), y Knudsen et al., 2000 (*J. Med Chem.*, 43, 1664-1669) por ejemplos de la química adecuada.

La cadena hidrocarbonada en un sustituyente lipofílico también puede estar sustituida. Por ejemplo, puede estar sustituida con hasta tres sustituyentes seleccionados entre NH_2 , OH y COOH . Si la cadena

hidrocarbonada también está sustituida, preferiblemente sólo está sustituida con un sustituyente. Como alternativa, o adicionalmente, la cadena hidrocarbonada puede incluir un resto cicloalcano o heterocicloalcano, por ejemplo como se muestra a continuación:

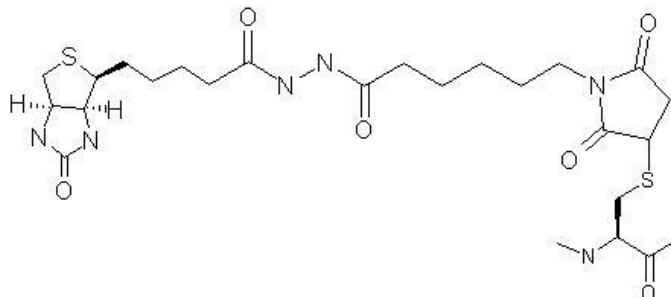


En algunas formas de realización, los restos cicloalcano o heterocicloalcano son un anillo de seis miembros, por ejemplo, un anillo piperidina.

En formas de realización alternativas de la presente invención, el aminoácido N-terminal de Z en un compuesto de la invención se puede unir (unir de manera covalente) a un sustituyente biotinilado, opcionalmente por medio de un resto conector L. Sin considerar ninguna teoría particular, se cree asimismo que dichos sustituyentes biotinilados se unen a la albúmina en el torrente sanguíneo, protegiendo de esa manera al compuesto de la invención contra una degradación enzimática y posiblemente mejorando de esa manera la vida media del compuesto *in vivo*. El conector, cuando está presente, puede proporcionar un espacio entre el resto Z del péptido y el sustituyente biotinilado.

El sustituyente biotinilado se puede unir al residuo de aminoácido N-terminal o al conector por medio de un enlace éster maleimida, un enlace sulfoniléster, un enlace tioéster, un enlace amida, un enlace amina o un enlace sulfonamida. Por lo tanto, se comprenderá que el sustituyente biotinilado preferiblemente comprende un grupo maleimida, un grupo acilo, un grupo sulfonilo, un átomo de N, un átomo de O o un átomo de S que forma parte del enlace éster, sulfoniléster, tioéster, amida, amina o sulfonamida en cuestión.

Los ejemplos de sustituyente biotinilados pueden incluir



La biotina se conoce como Vitamina H o Coenzima R y es una vitamina del complejo B (vitamina B7) soluble en agua. Se ha mostrado que aumenta la captación oral de determinados fármacos.

Eficacia de los compuestos

Los compuestos de la invención son agonistas del receptor de amilina, es decir, se pueden unir a uno o más receptores o complejos de receptores, e inducir la señalización de los mismos, considerados como receptores fisiológicos de la amilina humana. Estos incluyen el receptor de la calcitonina humana, hCT-R, así como complejos que comprenden el receptor de la calcitonina humana hCT-R y por lo menos una entre las proteínas modificadoras de la actividad del receptor humano denominadas hRAMP1, hRAMP2 y hRAMP3. Los complejos entre hCT-R y hRAMP1, entre hRAMP2 y hRAMP3 se denominan hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3 (es decir, los receptores de amilina humana 1, 2 y 3), respectivamente.

Sin considerar la teoría, se puede considerar que un compuesto es un agonista del receptor de amilina si presenta actividad agonista en uno o más entre hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3, por ejemplo, contra hAMYR1 y/o hAMYR3, por ejemplo, en hAMYR3.

Normalmente, un agonista del receptor de amilina también tendrá actividad agonista en hCT-R cuando se expresa en la ausencia de hRAMP1, hRAMP2 y hRAMP3. Normalmente, el agonista tendrá actividad en hCT-R (cuando se expresa en la ausencia de hRAMP1, hRAMP2 y hRAMP3) que es menos de 10 veces más alta que su actividad en cualquiera entre hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3 (es decir, su actividad en todos estos receptores) en un ensayo comparable. La actividad agonista en hCT-R puede ser menos de 5 veces más alta que la actividad agonista en hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3, puede ser sustancialmente igual (por ejemplo, +/- 10 %) a la actividad agonista en hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3, o puede ser menor que la actividad agonista en hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3. En este sentido, puede ser suficiente simplemente comparar la actividad entre hCT-R y hAMYR3.

La capacidad para inducir la formación de AMPc (es decir, para inducir actividad adenilato ciclasa) como resultado de la unión al receptor o complejo de receptores relevante normalmente se considera indicativa de una actividad agonista. También se pueden usar como lecturas de la actividad agonista del receptor de amilina. Pueden incluir liberación de calcio, reclutamiento de β -arrestina, internalización de receptores, activación o inactivación de quinasas, activación de lipasa, liberación de inositol fosfato, liberación de diacilglicerol o translocación del factor de transcripción nuclear.

En un formato de ensayo comparable adecuado se emplearían células que expresan hCT-R y que solamente difieren en su expresión de hRAMP1, 2 y 3. Por ejemplo, se puede manipular una línea celular "básica" que no expresa ninguno entre hCT-R, hRAMP1, hRAMP2 y hRAMP3 para generar células que expresen (i) hCT-R y (ii) uno entre hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3 (es decir,

hCT-R más uno entre hRAMP1, hRAMP2 y hRAMP3), por ejemplo, hAMYR3. Las células básicas normalmente serán células de mamífero y pueden ser células de primates. Pueden ser células de primates no humanos. Preferiblemente, la célula básica no expresa ninguno de CT-R, RAMP1, RAMP2 o RAMP3 (ya sean humanos o nativos de la célula básica si la célula básica no es humana). Las células básicas pueden ser células tipo fibroblastos. Las células básicas tipo fibroblastos no humanas adecuadas incluyen células COS7, de mono verde africano, que no expresan CT-R o RAMP nativos.

La actividad comparativa se puede medir con cualquier medio adecuado, tal como mediante determinación de los valores de EC₅₀ como se describirá más adelante. Será evidente que la misma lectura biológica debe aplicarse a ambos tipos de receptores.

Los compuestos de la presente invención pueden presentar numerosas propiedades ventajosas con relación a la amilina humana y los análogos existentes de la misma, tal como pramlintida, IAPP-GI y los análogos que se describen en WO2012/168430, WO2012/168431 y WO2012/168432. En comparación con la amilina humana o cualquiera de dichos análogos, los compuestos de la invención pueden presentar, por ejemplo, una eficacia mejorada (por ejemplo, en la forma de una actividad o potencia *in vitro* mejorada en uno o más de los receptores hCT-R, hAMYR1, hAMYR2 o hAMYR3. Adicionalmente, o como alternativa, los compuestos de la invención pueden presentar una solubilidad mejorada en medios acuosos, en especial a valores de pH en el rango entre 4 y 7,5, o en un rango de valores de pH en dicho rango. Además, los compuestos de la presente invención pueden

presentar, adicionalmente o como alternativa, una tendencia reducida a la formación de fibrillas en medios acuosos farmacéuticamente relevantes, en especial a valores de pH en el rango entre 4 y 7,5, o en un rango de valores de pH en dicho rango. Además, los compuestos de la presente invención pueden presentar, adicionalmente o como alternativa, una estabilidad química mejorada (es decir, una tendencia reducida a la degradación química) en medios acuosos, en especial a valores de pH en el rango entre 4 y 9, o en un rango de valores de pH en dicho rango.

Entonces, los compuestos de la invención pueden ser adecuados para la formulación en medios ácidos (por ejemplo, a pH 4) y en medios neutros o casi neutros (por ejemplo, pH 7 ó 7,4). A diferencia de la pramlintida, por ejemplo, que en general presenta una estabilidad química pobre y una formación de fibrillas rápida en medios acuosos farmacéuticamente relevantes a pH neutro, los compuestos de la invención pueden ser entonces bien adecuados para su coformulación, por ejemplo, con insulina, varios análogos de insulina y/u otros agentes terapéuticos (por ejemplo, antidiabéticos o antiobesidad) que requieren una formulación a pH neutro o casi neutro.

En general, se prefiere usar un ensayo biológico en el cual se mide la señalización intracelular causada por la unión del compuesto al receptor relevante, como se describió precedentemente. La activación del receptor de calcitonina/amilina por los compuestos de la invención (que se comportan como agonistas del receptor) induce formación de AMPc y activación de otras vías y eventos de señalización intracelulares. Por consiguiente, se puede utilizar la producción de AMPc o de cualquier otro parámetro adecuado en células apropiadas que expresan al receptor para monitorear la actividad agonista para

el receptor.

El especialista conoce bien los formatos de ensayo adecuados, y más adelante se proveen ejemplos de los mismos. Por ejemplo, en los ensayos se puede emplear el receptor de la calcitonina humana (hCT-R, .por ejemplo, la isoforma 2 del hCT-R) o el receptor hAMXR3 (véase los ejemplos más adelante). Cuando se hace referencia a las secuencias de proteínas precursoras, se comprenderá que en los ensayos se puede emplear la proteína madura, in la secuencia señal.

Los valores de EC_{50} se pueden usar como una medición numérica de la potencia agonista en un receptor dado. El valor de la EC_{50} es una medida de la concentración de un compuesto necesaria para lograr la mitad de la actividad máxima de dicho compuesto en un ensayo particular. Así, por ejemplo, se puede considerar que un compuesto que tiene una EC_{50} [hCT-R] menor que la EC_{50} [hCT-R] de la amilina humana nativa, o menor que el valor para la pramlintida, en un ensayo particular tiene una mayor potencia o actividad a nivel del receptor que la amilina humana nativa o mayor que la de la pramlintida, respectivamente.

En algunas formas de realización de los compuestos de la presente invención, la EC_{50} para hCT-R es menor que 1,5 nM (por ejemplo, entre 0,001 y 1,5 nM).

En algunas formas de realización de los compuestos de la presente invención, la EC_{50} para hCT-R es menor que 0,9 nM (por ejemplo, entre 0,001 y 0,9 nM).

En algunas formas de realización de los compuestos de la presente invención, la EC_{50} para hCT-R es menor que 0,5 nM (por ejemplo, entre 0,001 y

0,5 nM).

En algunas formas de realización de los compuestos de la presente invención, la EC_{50} para hCT-R es menor que 0,3 nM (por ejemplo, entre 0,001 y 0,3 nM).

En algunas formas de realización de los compuestos de la presente invención, la EC_{50} para hCT-R es menor que 0,2 nM (por ejemplo, entre 0,001 y 0,2 nM).

La EC_{50} en el hCT-R puede ser indicativa del efecto de un compuesto sobre la ingesta de alimentos, el aumento de peso y/o la pérdida de peso. Los compuestos con valores más bajo de EC_{50} en el hCT-R pueden tener un mayor efecto sobre estos parámetros.

En algunas formas de realización de los compuestos de la presente invención, la EC_{50} para hAMYR3 es menor que 1,0 nM (por ejemplo, entre 0,001 y 1,0 nM).

En algunas formas de realización de los compuestos de la presente invención, la EC_{50} para hAMYR3 es menor que 0,5 nM (por ejemplo, entre 0,001 y 0,5 nM).

En algunas formas de realización de los compuestos de la presente invención, la EC_{50} para hAMYR3 es menor que 0,4 nM (por ejemplo, entre 0,001 y 0,4 nM).

En algunas formas de realización de los compuestos de la presente invención, la EC_{50} para hAMYR3 es menor que 0,3 nM (por ejemplo, entre 0,001 y 0,3 nM).

En algunas formas de realización de los compuestos de la presente invención, la EC_{50} para hAMYR3 es menor que 0,2 nM (por ejemplo, entre

0,001 y 0,2 nM).

La EC_{50} en el hCT-R (cuando se expresa en la ausencia de hRAMP1, hRAMP2 y hRAMP3) puede ser menor que la EC_{50} en cualquiera o todos los hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3, por ejemplo, en hAMYR3.

Por ejemplo, la EC_{50} en el hCT-R (cuando se expresa en la ausencia de hRAMP1, hRAMP2 y hRAMP3) puede ser menor que 10 veces menos la EC_{50} en cualquiera o todos los hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3, por ejemplo, en hAMYR3.

La EC_{50} en el hCT-R (cuando se expresa en la ausencia de hRAMP1, hRAMP2 y hRAMP3) puede ser menor que 5 veces menos la EC_{50} en cualquiera o todos los hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3, por ejemplo, en hAMYR3.

La EC_{50} en el hCT-R (cuando se expresa en la ausencia de hRAMP1, hRAMP2 y hRAMP3) puede ser sustancialmente igual (por ejemplo, +/- 50 %) a la EC_{50} en cualquiera o todos los hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3, por ejemplo, en hAMYR3.

La EC_{50} en el hCT-R (cuando se expresa en la ausencia de hRAMP1, hRAMP2 y hRAMP3) puede ser mayor que la EC_{50} en cualquiera o todos los hAMYR1, hAMYR2 y hAMYR3, por ejemplo, en hAMYR3.

Dichos ensayos se pueden conducir en las afecciones que se describen más adelante en el Ejemplo 2.

Adicionalmente, o como alternativa, los compuestos de la invención pueden mostrar una excelente resistencia a la formación de fibrillas. Por ejemplo, no presentan una formación de fibrillas detectable después de 96 horas a pH 4,0 y/o pH 7,0, por ejemplo, a 40 °C, por ejemplo, en las afecciones

que se describen en el Ejemplo 4.

Adicionalmente, o como alternativa, los compuestos de la invención pueden presentar una excelente estabilidad química, es decir, resistencia a la degradación en solución. Por ejemplo, pueden retener por lo menos un 70 % de pureza, por lo menos 75 % de pureza, por lo menos 80 % de pureza, por lo menos 85 % de pureza, por lo menos 90 % de pureza o por lo menos 95 % de pureza después de una incubación a pH 4, pH 6 y/o pH 7 a 40 °C por 72 horas, o por 14 días, por ejemplo, en las afecciones que se describen en el Ejemplo 5.

Usos terapéuticos

Los compuestos de la invención son de utilidad, entre otros, para reducir la ingesta de alimentos, promover la pérdida de peso e inhibir o reducir el aumento de peso. Por lo tanto, podrían ofrecer una opción de tratamiento atractiva, entre otros, para la obesidad y las enfermedades metabólicas causadas, caracterizadas o asociados con un peso corporal excesivo.

Por ende, los compuestos se pueden usar en un método para tratar, inhibir o reducir el aumento de peso, promover la pérdida de peso, reducir la ingesta de alimentos y/o reducir un peso corporal excesivo. El tratamiento se puede lograr, por ejemplo, mediante el control del apetito, la alimentación, la ingesta de alimentos, la ingesta de calorías y/o el gasto energético.

Los compuestos se pueden usar en un método para tratar la obesidad así como las enfermedades, trastornos y afecciones de salud asociados, que incluyen, pero en un sentido no taxativo, obesidad mórbida, obesidad previa a una cirugía, inflamación relacionada con la obesidad, enfermedad de la vesícula biliar relacionada con la obesidad, y apnea del sueño y problemas respiratorios inducidos por la obesidad, degeneración del cartílago, osteoartritis

y complicaciones de la salud reproductora de la obesidad o el sobrepeso, tal como la esterilidad.

Los compuestos también se pueden usar en un método de prevención o tratamiento del mal de Alzheimer, diabetes, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, prediabetes, síndrome de resistencia a insulina, deterioro de la tolerancia a glucosa (IGT), estados de enfermedad asociados con niveles elevados de glucosa en sangre, enfermedad metabólica que incluye síndrome metabólico, hiperglucemia, hipertensión, dislipidemia aterogénica, esteatosis hepática ("hígado graso"; que incluye enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD), que a su vez incluye esteatohepatitis no alcohólica (NASH)), insuficiencia renal, arteriosclerosis (por ejemplo, aterosclerosis), enfermedad macrovascular, enfermedad microvascular, enfermedad cardíaca diabética (que incluye la cardiomiopatía diabética e insuficiencia cardíaca como una complicación de la diabetes), enfermedad cardíaca de las arterias coronarias, enfermedad de las arterias periféricas o accidentes cerebrovasculares.

Los compuestos también pueden ser de utilidad para disminuir los niveles de LDL en la circulación y/o para aumentar la relación de HDL/LDL.

Los efectos de los compuestos que se describieron precedentemente pueden estar mediados por completo o en parte por un efecto sobre el peso corporal, o pueden ser independientes del mismo.

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

placas sobre las paredes de las arterias), presión sanguínea elevada (hipertensión), resistencia a insulina e intolerancia a glucosa, estado protrombótico (por ejemplo, fibrinógeno o inhibidor del activador de plasminógeno-1 altos en sangre) y estados proinflamatorios (por ejemplo, proteína reactiva C elevada en sangre).

Los individuos con síndrome metabólico tienen un mayor riesgo de enfermedad cardíaca de las arterias coronarias y otras enfermedades relacionadas con otras manifestaciones de arteriosclerosis (por ejemplo, accidentes cerebrovasculares y enfermedad vascular periférica). El factor de riesgo subyacente dominante de este síndrome parece ser la obesidad abdominal.

Composiciones farmacéuticas

La invención también se extiende a composiciones, tales como composiciones farmacéuticas, que comprenden análogos de amilina. Al igual que con todos los aspectos de la invención, se comprenderá que la referencia a un análogo de amilina abarca las referencias a las sales y solvatos farmacéuticamente aceptables.

Los análogos de amilina de la presente invención se pueden formular como composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración con o sin almacenamiento, y que normalmente comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un péptido de la invención, junto con un soporte, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

El término “vehículo farmacéuticamente aceptable” incluye cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándar. Los vehículos farmacéuticamente aceptables para uso terapéutico son bien conocidos en el arte farmacéutico y

se describen, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 17^a edición, Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, EEUU, 1985. Por ejemplo, se puede usar salina estéril y salina amortiguada con fosfato a un valor de pH ligeramente ácido o fisiológico. Los agentes amortiguadores del pH adecuados pueden ser, por ejemplo, fosfato, citrato, acetato, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS), ácido N-tris(hidroximetil)metil-3-aminopropansulfónico (TAPS), bicarbonato de amonio, dietanolamina, histidina, arginina, lisina o acetato (por ejemplo, como el acetato de sodio) o mezclas de los mismos. El término abarca además cualquier agente de vehículo indicado en la Farmacopea de los EEUU para su uso en animales, inclusive seres humanos.

Una composición farmacéutica de la invención puede ser una forma de dosificación unitaria. En dichas formas, la composición se divide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del o de los componentes activos. La forma de dosificación unitaria se puede presentar como una preparación envasada, donde dicho envase contiene cantidades discretas de la preparación, por ejemplo, tabletas, cápsulas y polvos envasados en viales o ampollas. La forma de dosificación unitaria también puede ser, por ejemplo, una cápsula, una oblea o una tableta, o puede comprender cualquier número de estas formas envasadas apropiadas. Una forma de dosificación unitaria también se puede proveer en una forma inyectable de dosis única, por ejemplo, en la forma de un dispositivo de cartucho que contiene una composición en fase líquida (normalmente acuosa). Las composiciones se pueden formular para cualquier vía y forma de administración adecuada. Los vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen los que se utilizan en las

formulaciones adecuadas, por ejemplo, para una administración oral, intravítrea, rectal, vaginal, nasal, tópica, enteral o parenteral (incluyendo subcutánea (sc), intramuscular (im), intravenosa (iv), intradérmica y transdérmica) o para una administración por inhalación. Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en formas de dosificación unitarias y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en el arte de la formulación farmacéutica.

En algunos casos, pueden ser adecuados los modos de administración subcutáneos o transdérmicos para los péptidos de la invención.

Otras formas de realización se relacionan con dispositivos, formas de dosificación y envases usados para administrar las formulaciones farmacéuticas de la presente invención. Así, se puede administrar por lo menos un péptido en una formulación o solución estable o conservada descrita en la presente a un paciente de acuerdo con la presente invención por medio de varios métodos de administración, inclusive mediante inyección sc o im, o mediante una administración transdérmica, pulmonar o transmucosa, o mediante implantes, o con el uso de una bomba osmótica, un cartucho, una microbomba u otro medio reconocido por un especialista en el arte.

Aún otras formas de realización se relacionan con formulaciones orales y la administración por vía oral. Las formulaciones para una administración oral se pueden basar en la coadministración de adyuvantes (por ejemplo, resorcinolos y/o agentes tensioactivos no iónicos, tales como éter de polioxietilen-oleílo y éter de n-hexadecilpolietileno) para incrementar artificialmente la permeabilidad de las paredes intestinales, y/o la coadministración de inhibidores enzimáticos (por ejemplo, inhibidores de

tripsina pancreáticos, diisopropilfluorofosfato (DFF) o trasilol) para inhibir la degradación enzimática. El compuesto constituyente activo de una forma de dosificación tipo sólida para una administración oral se puede mezclar con al menos un aditivo, tal como sacarosa, lactosa, celulosa, manitol, trehalosa, rafinosa, maltitol, dextrano, almidones, agar, alginatos, quitinas, quitosanos, pectinas, goma tragacanto, goma arábica, gelatina, colágeno, caseína, albúmina, polímeros sintéticos o semisintéticos, o glicéridos. Estas formas de dosificación también pueden contener otro(s) tipo(s) de aditivos, por ejemplo, un agente de dilución inactivo, un lubricante (tal como estearato de magnesio), un parabeno, un agente conservante (tal como ácido sórbico, ácido ascórbico o alfa-tocoferol), un antioxidante (tal como cisteína), un desintegrante, aglutinantes, espesantes, un agente amortiguador, un agente para ajustar el pH, agentes endulzantes, agentes saborizantes o agentes perfumantes.

Formas de dosificación

Una dosificación típica de un análogo de amilina empleada en el contexto de la presente invención se puede encontrar en el rango entre aproximadamente 0,0001 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día, tal como entre aproximadamente 0,0005 y aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día, tal como entre aproximadamente 0,001 y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día, por ejemplo, entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal por día, administrada como una o más dosis, tal como entre una y tres dosis. La dosificación exacta empleada dependerá, entre otros, de: la naturaleza y la severidad de la enfermedad o el trastorno a tratar; el sexo, la edad, el peso corporal y la afección general del sujeto a tratar; otra enfermedad o trastorno

concomitante posible que está bajo tratamiento o que estará bajo tratamiento; así como otros factores conocidos por un especialistas en el arte.

Un análogo de amilina de la invención se puede administrar de manera continua (por ejemplo, mediante administración intravenosa u otro método de administración continua de la droga) o se puede administrar a un sujeto a intervalos, normalmente a intervalos de tiempo regulares, dependiendo de la dosificación deseada y la composición farmacéutica seleccionada por el especialista para el sujeto particular. Los intervalos de administración de dosificaciones regulares incluyen, por ejemplo, una vez por día, dos veces por día, una vez cada dos, tres, cuatro, cinco o seis días, una o dos veces por semana, una o dos veces por mes y semejantes. Dichos regímenes de administración regulares de péptidos se pueden interrumpir ventajosamente, bajo determinadas circunstancias tal como, por ejemplo, durante una administración crónica a largo plazo, interrumpir ventajosamente por un período de tiempo de modo que el sujeto medicado reduce el nivel o las interrupciones de ingesta de la medicación, a menudo denominado un “descanso de la droga”. Los descansos de la droga son de utilidad, por ejemplo, para mantener o recobrar la sensibilidad a la droga, en especial durante un tratamiento crónico a largo plazo o para reducir los efectos secundarios indeseados de un tratamiento crónico a largo plazo en el sujeto con la droga. La sincronización del descanso de una droga depende de la sincronización del régimen de dosificación regular y el propósito de dicho descanso de la droga (por ejemplo, para recuperar la sensibilidad a la droga y/o la reducir los efectos secundarios indeseados de una administración continua a largo plazo). En algunas formas de realización, el descanso de la droga puede ser una reducción de la

dosificación del fármaco (por ejemplo, hasta por debajo de la cantidad terapéuticamente eficaz por un intervalo de tiempo determinado). En otras formas de realización, la administración de la droga se detiene por un determinado intervalo de tiempo antes de comenzar nuevamente la administración, usando el mismo régimen de dosificación o a una dosificación diferente (por ejemplo, a una menor o mayor dosis y/o frecuencia de administración). Por consiguiente, el descanso de la droga de la invención se puede seleccionar entre un amplio rango de períodos de tiempo y regímenes de dosificación. Un ejemplo de descanso de la droga es de dos o más días, una o más semanas, o uno o más meses, hasta aproximadamente 24 meses de descanso de la droga. Así, por ejemplo, se puede interrumpir un régimen de dosificación diaria regular con un péptido de la invención, por ejemplo, con un descanso de la droga de una semana o dos semanas o cuatro semanas, después de cuyo transcurso se reanuda el régimen de dosificación regular precedente (por ejemplo, un régimen de dosificación diario o semanal). Se prevé varios otros regímenes de descanso de la droga que puede ser de utilidad para administrar los péptidos de la invención.

Por consiguiente, el péptido se puede administrar por medio de un régimen de administración que comprende dos o más fases de administración separadas por respectivas fases de descanso del fármaco.

Durante cada fase de administración, el péptido se administra al sujeto receptor en una cantidad terapéuticamente eficaz de acuerdo con un patrón de administración predeterminado. El patrón de administración puede comprender la administración continua del fármaco al sujeto receptor por toda la duración de la fase de administración. Como alternativa, el patrón de administración

puede comprender la administración de una pluralidad de dosis del péptido al sujeto receptor, en donde dichas dosis están separadas entre sí por intervalos de dosificación.

Un patrón de dosificación puede comprender por lo menos dos dosis por fase de administración, por lo menos cinco dosis por fase de administración, por lo menos 10 dosis por fase de administración, por lo menos 20 dosis por fase de administración, por lo menos 30 dosis por fase de administración o más.

Dichos intervalos de dosificación pueden ser intervalos de dosificación regulares, que pueden ser como se indicó precedentemente, inclusive una vez por día, dos veces por día, una vez cada dos, tres, cuatro, cinco o seis días, una o dos veces por semana, una o dos veces por mes, o puede ser un intervalo de dosificación regular y aún menos frecuente, dependiendo de la formulación de dosificación particular, la biodisponibilidad y el perfil farmacocinético del péptido.

Una fase de administración puede tener una duración de por lo menos dos días, por lo menos una semana, por lo menos 2 semanas, por lo menos 4 semanas, por lo menos un mes, por lo menos 2 meses, por lo menos 3 meses, por lo menos 6 meses o más.

Cuando un patrón de administración comprende una pluralidad de dosis, la duración de una posible fase de descanso del fármaco subsiguiente es mayor que el intervalo de dosificación usado en dicho patrón de administración. Cuando el intervalo de dosificación es irregular, la duración de la fase de descanso del fármaco puede ser mayor que el intervalo promedio entre dosis durante el transcurso de la fase de administración. Como alternativa, la

duración del descanso del fármaco puede ser mayor que el intervalo mayor entre dosis consecutivas durante la fase de administración.

La duración de una posible fase de descanso del fármaco puede ser por lo menos dos veces la del intervalo de dosificación relevante (o la media del mismos), por lo menos 3 veces, por lo menos 4 veces, por lo menos 5 veces, por lo menos 10 veces o por lo menos 20 veces la duración del intervalo de dosificación relevante o la media del mismo.

Dentro de estos límites, la fase de descanso del fármaco puede tener una duración de por lo menos dos días, por lo menos una semana, por lo menos 2 semanas, por lo menos 4 semanas, por lo menos un mes, por lo menos 2 meses, por lo menos 3 meses, por lo menos 6 meses o más, dependiendo del patrón de administración durante la fase de administración previa.

Un régimen de administración que conlleva el uso de un descanso del fármaco comprende por lo menos 2 fases de administración. Las fases de administración consecutivas están separadas por las respectivas fases de descanso del fármaco. Por lo tanto, el régimen de administración puede comprender por lo menos 3, por lo menos 4, por lo menos 5, por lo menos 10, por lo menos 15, por lo menos 20, por lo menos 25 o por lo menos 30 fases de administración o más, cada una separada por las respectivas fases de descanso del fármaco.

Las fases de administración consecutivas pueden utilizar el mismo patrón de administración, si bien esto no siempre será deseable o necesario. Sin embargo, si se administran otros fármacos o agentes activos en combinación con un péptido de la invención, entonces normalmente se

suministrará la misma combinación de fármacos o agentes activos en fases de administración consecutivas. En determinadas formas de realización, el sujeto receptor es un ser humano.

Terapia combinada

Un análogo de amilina de la invención se puede administrar como parte de una terapia combinada junto con otro agente activo para el tratamiento de la enfermedad o trastorno en cuestión, por ejemplo, un agente antidiabético, un agente antiobesidad, un agente para tratar el síndrome metabólico, un agente antidislipidemia, un agente antihipertensivo, un inhibidor de la bomba de protones o un agente antiinflamatorio. En tales casos, los dos agentes activos se pueden administrar juntos o por separado, por ejemplo, como constituyentes de la misma composición o formulación farmacéutica, o como formulaciones separadas.

Por lo tanto, puede representar algún beneficio para un péptido de la invención si se administra en combinación con un agente antidiabético de un tipo conocido, que incluye, pero en un sentido no taxativo, metformina, una sulfonilurea, una glinida, un inhibidor de DPP-IV, una glitazona, un agonista del receptor de GLP-1 (que incluye GLP-1 o un análogo de GLP-1, una exendina-4 o un análogo de la exendina-4, cualquier otro agonista del receptor de GLP-1 que incluye liraglutida (Saxenda™, Victoza™), Dulaglutida o Albiglutida o un agonista doble de glucagón-GLP-1, por ejemplo, como se describe en WO2008/101017, WO2008/152403, WO2010/070252, WO2010/070253, WO2010/070255, WO2010/070251, WO2011/006497, WO2011/160630, WO2011/160633, WO2013/092703, WO2014/041195, WO2015/055801, WO2015/055802), un inhibidor de SGLT2 (es decir, un inhibidor del transporte

de sodio-glucosa, por ejemplo, una gliflozina tal como empagliflozina, canagliflozina, dapagliflozina o ipragliflozina), un agonista de GPR40 (un agonista de FFAR1/FFA1, por ejemplo, fasiglifam) o una insulina o un análogo de insulina. Los ejemplos de análogos de insulina apropiados incluyen, pero en un sentido no taxativo, Lantus™, Novorapid™, Humalog™, Novomix™, Actraphane™ HM, Levemir™ Degludec™ y Apidra™. Otros agentes antidiabéticos relevantes en este sentido incluyen agonistas del receptor de GLP-1, tal como exenatida (Byetta™ y Bydureon™ exendina-4) y Byetta LAR™, lixisenatida (Lyxumia™) y liraglutida (Victoza™).

Aún más, el péptido de la invención se puede usar en combinación con un agente antiobesidad de tipo conocido, que incluye, pero en un sentido no taxativo, el péptido YY o un análogo del mismo, el neuropéptido Y (NPY) o un análogo del mismo, un antagonista del receptor de canabinoide 1, un inhibidor de lipasa, un péptido de proislotes humanos (HIP), un agonista del receptor de melanocortina 4, un agonista del receptor de GLP-1 (que incluye GLP-1 o un análogo de GLP-1, una exendina-4 o un análogo de exendina-4, cualquier otro agonista del receptor de GLP-1 que incluye liraglutida (Saxenda™, Victoza™), Dulaglutida o Albiglutida o un agonista doble de glucagón-GLP-1, por ejemplo, como se describe en WO2008/101017, WO2008/152403, WO2010/070252, WO2010/070253, WO2010/070255, WO2010/070251, WO2011/006497, WO2011/160630, WO2011/160633, WO2013/092703, WO2014/041195, WO2015/055801, WO2015/055802), Orlistat™, Sibutramina™, fentermina, un antagonista del receptor de la hormona concentradora de melanina 1, CCK, amilina, pramlintida y leptina, así como análogos de los mismos.

Un péptido de la invención se puede usar además en combinación con

un agente antihipertensivo de un tipo conocido, incluyendo, pero en un sentido no taxativo, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, un bloqueante del receptor de angiotensina II, un diurético, a beta-bloqueante o un bloqueante de los canales de calcio.

Un péptido de la invención se puede usar además en combinación con un agente anti-dislipidemia de tipo conocido, incluyendo, pero en un sentido no taxativo, una estatina, un fibrato, una niacina, un inhibidor de PCSK9 (proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9) o un inhibidor de la absorción de colesterol.

Un péptido de la invención también se puede usar en combinación con un inhibidor de la bomba de protones (es decir, un agente farmacéutico que tiene actividad farmacológica como un inhibidor de H⁺/K⁺-ATPasa) de tipo conocido, incluyendo, pero en un sentido no taxativo, un agente de tipo derivado de benzimidazol o de tipo derivado de imidazopiridina, tal como OmeprazoleTM, LansoprazoleTM, DexlansoprazoleTM, EsomeprazoleTM, PantoprazoleTM, RabeprazoleTM, ZolpidemTM, AlpidemTM, SaripidemTM o NecopidemTM.

Además, con respecto al tratamiento antiinflamatorio, un péptido de la invención puede ser beneficioso si se administra en combinación con un agente antiinflamatorio de tipo conocido, que incluye, pero en un sentido no taxativo:

esteroides y corticosteroides, tales como beclometasona, metilprednisolona, betametasona, prednisona, dexametasona e hidrocortisona;

agentes antiinflamatorios no esteroides (NSAID), tales como derivados del ácido propiónico (por ejemplo, alminoprofeno, benoxaprofeno, ácido buclórico, carprofeno, fenbufeno, fenoprofeno, fluprofeno, flurbiprofeno,

ibuprofeno, indoprofeno, ketoprofeno, mioprofeno, naproxeno, oxaprozina, pirprofeno, pranoprofeno, suprofeno, ácido tiaprofénico y tioxaprofeno); derivados del ácido acético (por ejemplo, indometacina, acetmetacina, alclofenac, clidanac, diclofenac, fenclofenac, ácido fenclózico, fentiazac, furofenac, ibufenac, isoxepac, oxpinac, sulindac, tiopinac, tolmetina, zidometacina y zomepirac); derivados del ácido fenámico (por ejemplo, ácido flufenámico, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, ácido niflúmico y ácido tolfenámico); derivados del ácido bifenilcarboxílico (por ejemplo, diflunisal y flufenisal); oxicamas (por ejemplo, isoxicam, piroxicam, sudoxicam y tenoxicam); salicilatos (por ejemplo, ácido acetilsalicílico y sulfasalazina); y pirazolonas (por ejemplo, apazona, bezpiperilona, feprazona, mofebutazona, oxifenbutazona y fenilbutazona); inhibidores de COX II, tal como rofecoxib y celecoxib; preparaciones de interferón beta (por ejemplo, interferón beta-1a o interferón beta-1b); y algunos otros compuestos, tal como ácido 5-aminsalicílico y prodrogas y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

inhibidores de COX II, tales como rofecoxib y celecoxib; preparaciones de interferón beta (por ejemplo, interferón beta-1a o interferón beta-1b);

y algunos otros compuestos, tal como ácido 5-aminosalicílico y profármacos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Se ha demostrado también que la metformina tiene propiedades antiinflamatorias (véase, por ejemplo, Haffner et al., *Diabetes* 54: 1566-1572 (2005)) y como tal también puede ser útil en combinación con los compuestos (péptidos) de la invención.

Dispositivos y kits

En algunas formas de realización, la invención se relaciona con un

dispositivo que comprende un análogo de amilina o una composición farmacéutica de la invención, para suministrar el análogo a un sujeto. Dichos dispositivos permiten administrar análogos de amilina a un paciente por medio de varios métodos de administración, que incluyen: una inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal; administración por vía oral; administración transdérmica; administración pulmonar o transmucosa; administración mediante implantes, bomba osmótica, cartuchos o microbombas; o con otros medios conocidos por un especialista en el arte.

En algunas formas de realización, la invención se relaciona con un kit que comprende un análogo de amilina de la invención o una composición farmacéutica de la invención. En determinadas formas de realización, el kit también comprende un envase y/o instrucciones para su uso.

El dispositivo o kit puede ser de utilidad para una terapia combinada como se describió con anterioridad. Por lo tanto, el dispositivo o kit puede comprender además un agente activo adicional, por ejemplo, un agente antidiabético, un agente antiobesidad, un agente para tratar el síndrome metabólico, un agente antidislipidemia, un agente antihipertensivo, un inhibidor de la bomba de protones o un agente antiinflamatorio como se describió antes, o una composición farmacéutica que comprende dicho agente activo.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos demuestran algunas formas de realización específicas de la presente invención. Los siguientes ejemplos se llevaron a cabo usando técnicas estándar, que son bien conocidas y de rutina para los especialistas en el arte, excepto cuando lo contrario se describe con detalle. Se comprenderá que estos ejemplos solamente se ofrecen a efectos ilustrativos y

pretenden ser completamente definitivos con respecto a las afecciones o el alcance de la invención. Como tales, no deberían considerarse como limitantes del alcance de la presente invención en modo alguno.

Las abreviaturas empleadas en los ejemplos incluyen:

Acm: acetaminometilo

Alloc: aliloxicarbonilo

Boc: ter-butoxicarbonilo

BSA: albúmina de suero bovino

AMPc: adenosina monofosfato cíclico

COMUTM: hexafluorofosfato de (1-ciano-2-etoxi-2-oxoetilidenaminooxi)dimetilamin morfolin carbenio

DCM: diclorometano

DIPEA: diisopropiletilamina

DMEM: medio de Eagle modificado por Dulbecco

DMF: N,N-dimetilformamida

DODT: 3,6-dioxa-1,8-octanditiol

ESI-MS: espectroscopia de masa con ionización por electronebulización

EtOH: etanol

Et₂O: éter dietílico;

FCS: suero fetal bovino

Fmoc: 9-fluorenilmetoxicarbonilo

HATU: hexafluorofosfato de (7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio

HEPES: ácido N-2-hidroxietilpiperazin-N'-2-etansulfónico

HPLC: cromatografía líquida de alta presión

IBMX: 3-isobutil-1-metilxantina

MeCN: acetonitrilo

MS: espectrometría de masa

NEP: N-etilpirrolidona

NMP: N-metilpirrolidona

OAl: aliléster

PBS: solución amortiguadora salina de fosfato

p-ERK: quinasa regulada extracelular fosforilada

RP-HPLC: cromatografía líquida de alta presión de fase reversa

TFA: ácido trifluoroacético

TIS: triisopropilsilano

Trt: tritilo (es decir, trifenilmetilo)

v/v: volumen/volumen

p/v: peso/volumen

Los siguientes ejemplos se proveen para ilustrar algunas formas de realización de la invención, y no pretenden limitar el alcance de la misma.

Medición de los parámetros fisiológicos

A menos que se especifique de otra manera, los niveles de glucosa en sangre completa se determinaron en muestras de sangre de la vena de la cola empleando el método de electrodos basado en enzimas de Biosen (EKF Diagnostic, Alemania). Las muestras de sangre se analizaron por la presencia de hemoglobina glicosilada (HbA1c) usando un analizador Cobas c111 (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania).

Ejemplo 1: Síntesis de compuestos

Se sintetizaron los siguientes compuestos:

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 1)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 2)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 3)
[19CD]-isoGlu-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 4)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 5)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLQRF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 6)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLAHFLHRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSTP-Hyp-NH ₂	(Compuesto 7)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 8)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 9)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLARFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 10)
[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 11)
[19CD]-isoGlu-RD()GEATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 12)

A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTLTK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 13)
A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTASK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 14)
A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 15)
A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATQRLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 16)
A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 17)
A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLAHFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 18)
A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-hLys()-ATERLAHFLQRSSF-	(Compuesto 19)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-	(Compuesto 20)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRSSF-	(Compuesto 21)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLTRSSF-	(Compuesto 22)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGSSST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-	(Compuesto 23)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-	(Compuesto 24)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	

[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRATF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 25)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRAAF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 26)
[19CD]-isoGlu-RD()GTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 27)
[19CD]-isoGlu-RD()QTAT-Orn()-ATERLA-Aad-FLQRGTF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 28)
[19CD]-isoGlu-RD()PTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 29)
[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 30)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRAAF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 31)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRGGF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 32)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRANF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 33)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-PSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 34)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 35)
[19CD]-isoGlu-RD()GTATK()ATERLA-Aad-FLQRSSF- Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTETGST-Hyp-NH ₂	(Compuesto 36)
[19CD]-isoGlu-ED()GTATK()ATERLA-Aad-	(Compuesto 37)

FLQRSSFGly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()-GTATK()-ATERLA-Aad-FLQRTTF-	(Compuesto 38)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-KD()-GTATK()-ATQRLA-Aad-FLQRSSF-	(Compuesto 39)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNTHyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()-GTATK()-ATQRLA-Aad-FLQRSSF-	(Compuesto 40)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()-GTATK()-ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 41)
A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-RD()-GTATK()-ATQRLADFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 42)
A-Ile(Me)-LSSTETGsNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-KD()-GTATK()-ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 43)
A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-KD()-GTATK()-ATQRLANFLQRSSF-Gly(Me)-	(Compuesto 44)
A-Ile(Me)-LSSTETGsNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-R-Dap()-GTATD()-ATERLAHFLQRSSF-	(Compuesto 45)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-R-Dab()-GTATD()-ATERLAHFLQRSSF-	(Compuesto 46)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-R-Orn()-GTATD()-ATERLAHFLQRSSF-	(Compuesto 47)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-R-Dap()-GTAT-Aad()-ATERLAHFLQRSSF-	(Compuesto 48)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	
[19CD]-isoGlu-R-Dab()-GTATE()-ATERLAHFLQRSSF-	(Compuesto 49)
Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH ₂	

[19CD]-isoGlu-R-Aad()-GTAT-Dap()-ATERLAHFLQRSSF- (Compuesto 50)

Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-RE()GTAT-Dab()-ATERLAHFLQRSSF- (Compuesto 51)

Gly(Me)-A-Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂

A efectos comparativos, se sintetizaron tres compuestos que tienen puentes disulfuro (en lugar de puentes de lactama) y dos compuestos no ciclados:

[19CD]-isoGlu-RDGTAT-Orn-ATERLAHFLQRSSF-Sar-A-Ile(Me)- Ref. 1
PSSTEVGsNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-RC()GTATC()ATERLAHFLQRSSF-Sar-A-Ile(Me)- Ref. 2
LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-RDGTAT-Orn-ATERLA-Aad-FLQRSSF-Sar-A- Ref. 3
Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-RC()GTATC()ATERLA-Aad-FLQRSSF-Sar-A- Ref. 4
Ile(Me)-LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂

[19CD]-isoGlu-RC()NTATC()ATQRLADFLQRSSF-Sar-A-Ile(Me)- Ref. 5
LSSTEVGsNT-Hyp-NH₂

Un compuesto de referencia adicional, denominado NN96, es {N- α -[(S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butiril]-[Arg1,Glu14,His17,Pro37]-pramlintida; divulgado como el Ejemplo 96 en WO 2012/168430 A2, y que tiene la siguiente secuencia de aminoácidos RC()NTATC()ATQRLAEFLHHSSNNFGPILPPTNVGSNTP.

Los paréntesis “()” indican los puentes intramoleculares de lactama (o puentes disulfuro, cuando fuera apropiado) formados entre las cadenas laterales de los residuos en las posiciones 2 y 7 de las secuencias de

aminoácidos relevantes.

A menos que se especifique de otra manera, los reactivos y solventes empleados están disponibles comercialmente como reactivos estándar de laboratorio o de grado analítico, y se usaron sin purificación adicional.

Procedimientos generales para la síntesis de péptidos en fase sólida

Se empleó un sintetizador de péptidos CEM Liberty o un sintetizador de péptidos CEM Liberty Blue, con una química Fmoc estándar. La resina TentaGel™ S Ram (1 g; 0,25 mmol/g) se hinchó en DMF (10 ml) antes del uso y se transfirió del tubo al recipiente de reacción usando DCM y DMF. Se usaron pseudoprolinas [es decir, dipéptidos empleados para minimizar la agregación durante la síntesis de péptidos, tales como Fmoc-Phe-Thr(ψ -Me,Me-Pro)-OH y Fmoc-Asp-Ser(ψ -Me,Me-Pro)-OH y Fmoc-Ser-Ser(ψ -Me,Me-Pro)-OH] cuando fuera apropiado, y se emplearon aminoácidos no naturales y otros bloques de construcción adecuados sin efectuar ningún cambio al procedimiento general.

En la síntesis de los compuestos se emplearon los siguientes isómeros ópticos de aminoácidos específicos (inclusive aminoácidos no naturales):

- Hyp: (2S,4R)-4-hidroxiprolina [también denominada (4R)-4-hidroxi-L-prolina].
- Aad: ácido (2S)-2-aminoadípico
- Dab: ácido (2S)-2,4-diaminobutanoico
- Dap: ácido (2S)-2,3-diaminopropanoico
- hLys: ácido (2S)-2-amino-7-aminoheptanoico, también conocido como homolisina
- Gly(Me): N-metilglicina, también conocida como sarcosina
- Ile(Me): N-metilisoleucina

Acoplamiento:

Sintetizador de péptidos CEM Liberty: se agregó un aminoácido-Fmoc en DMF/DCM (2:1; 0,2 M; 5 ml) a la resina en un resto de microondas CEM Discover junto con COMU/DMF (0,5 M; 2 ml) y DIPEA/NMP (2,0 M; 1 ml). La mezcla de acoplamiento se calentó a 75 °C durante 5 min mientras se burbujeaba nitrógeno a través de la mezcla. Luego se lavó la resina con DMF (4 x 10 ml). Como alternativa, el acoplamiento se realizó sin calentamiento y en este caso el tiempo de reacción se extendió a 60 min.

Sintetizador de péptidos CEM Liberty Blue: se agregó un aminoácido-Fmoc en DMF (0,2 M; 5 ml) a la resina en un resto de microondas CEM Discover junto con DIC/DMF (0,5 M; 2 ml) y oxima/DMF (2,0 M; 1 ml). La mezcla de acoplamiento se calentó a 90 °C durante 2 min mientras se burbujeaba nitrógeno a través de la mezcla. Luego se lavó la resina con DMF (4 x 10 ml). Como alternativa, el acoplamiento se realizó sin calentamiento y en este caso el tiempo de reacción se extendió a 60 min.

Independientemente del tipo de sintetizador CEM, en el caso de acoplamientos difíciles (por ejemplo, el acoplamiento de un residuo inmediatamente después un residuo de aminoácido N-metilado u otro residuo de aminoácido con impedimento estérico conocido por un especialista en el arte) el acoplamiento se repitió una o más veces.

Desprotección:

Se agregó piperidina/DMF (1:4, es decir, 1 parte de piperidina a 4 partes de DMF en volumen; 10 ml) a la resina para una desprotección inicial, y la mezcla se calentó en microondas (40 °C; 30 seg). El recipiente de reacción se secó y se agregó una segunda porción de piperidina/DMF (1:4; 10 ml) y

nuevamente se calentó (75 °C; 3 min). Luego se lavó la resina con DMF (6 x 10 ml).

Ciclación oxidativa

La formación del anillo intramolecular (formación del puente disulfuro) entre los residuos Cys en las posiciones 2 y 7 (acopladas inicialmente en la forma de cisteínas protegidas con Acm) se efectuó con el péptido todavía unido a la resina, usando 163 mg de trifluoroacetato de talio(III) [Tl(TFA)₃] en 5 ml de NMP en un paso simultáneo de desprotección de Acm y formación de disulfuro. (Método alternativo: adición de 10 eq de yodo a una solución 50 mM de péptido unido a la resina en ácido acético y agitación durante 18-24 h)

Ciclación de lactama

El siguiente procedimiento para el acoplamiento de Asp y Lys es representativo de todas las formaciones de lactama, donde la cadena lateral del aminoácido que contiene la función carboxilo está protegida con OAll y la cadena lateral del aminoácido que contiene al grupo amino está protegida con Alloc. Después de ensamblar de la secuencia completa del péptido, se desprotegió el Asp(OAll) en la posición 2 y Lys(Alloc) en la posición 7 usando 29 mg de tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) y 125 µl de fenilsilano en 20 ml de DCM. A continuación, se formó el puente de lactama entre el residuo Asp (2) y el residuo Lys (7) usando 414 mg de HCTU y 346 µl de DIPEA en 20 ml de DMF. Ambos pasos se condujeron con el péptido todavía unido a la resina.

Clivaje:

La resina se lavó con EtOH (3 x 10 ml) y Et₂O (3 x 10 ml) y se secó hasta alcanzar peso constante a temperatura ambiente (r.t.). El péptido crudo se clivó de la resina mediante tratamiento con TFA/TIS/H₂O (90:5:5; 40 ml; 2 h;

r.t.) o como alternativa con TFA/DODT (95:5; 40 ml; 2 h; r.t.). La mayor parte del TFA se separó bajo presión reducida, y el péptido crudo se precipitó y lavó tres veces con Et₂O y se secó hasta que alcanzó peso constante a temperatura ambiente.

Purificación y caracterización:

El péptido crudo se purificó mediante HPLC preparativa de fase reversa usando un gradiente del solvente A (0,1 % de TFA acuoso) y el solvente B (0,1 % de TFA, 90 % de MeCN en agua) ya sea en una estación de trabajo PerSeptive Biosystems VISION o en un sistema Gilson (Bombas: “Bomba 305”, “Bomba 331”, “Bomba 332”, “Bomba de jeringa 402”; intercambiador de columna “Valvemate® II”; detector UV “UV/Vis-155”; y el colector de fracciones “GX 281” equipado con una columna adecuada y un colector de fracciones) o un Sistema de HPLC/MS con autopurificación Waters (sistema de bombas 2525, Waters 2996 DAD, un inyector de muestras Waters 2767, cuadrupolo simple MS ZQ. Columnas: XSelect CSH 130 Prep C18 5 mm ODB 30 x 150 mm o Kinetex 5 mm C8 100A 150 x 21,2 mm). Las fracciones se analizaron mediante MS y HPLC analítica, y las fracciones relevantes se agruparon y liofilizaron. El producto final se caracterizó mediante HPLC y MS.

Un especialista en el arte podrá apreciar que se pueden usar métodos de síntesis de péptidos estándar para generar los compuestos de la invención.

Ejemplo 2: Ensayos con hCT-R y hAMYR3

Para la evaluación de la actividad in vitro de los péptidos de prueba, se obtuvieron líneas celulares que expresan al receptor de la calcitonina humana recombinante (hCT-R) o al receptor de amilina humana 3 recombinante (hAMYR3) en el antecedente de la línea celular de astrocitoma humano

1321N1 de DiscoverX Corporation (N° cat. 95-0161C6 y 95-0166C6). El hAMYR3 es un heterooligómero del receptor de calcitonina (Isoforma 2; ID del gen 799) y RAMP3 (ID del gen 10268) que se forma cuando ambos genes se expresan en la misma célula. La línea celular hCT-R solamente expresa al gen del receptor de la calcitonina humana recombinante (Isoforma 2; ID del gen 799). Tras la activación de hCT-R o hAMYR3 por los péptidos de prueba se induce la formación de AMPc y se mide usando el kit del ensayo de AMPc AlphaScreen® de Perkin-Elmer (N° cat. 6760635R).

Brevemente, se sembraron células 1321N1 que expresan hCT-R o hAMYR3 en placas para microtitulación de 384 pocillos (Falcon Optilux White, N° cat. 10448642) a razón de 5.000 células en 50 µl de medio de crecimiento por pocillo (kit para cultivo celular AssayComplete 1321N1, DiscoverX Corp.), y se incubaron durante 24 h a 37 °C, 5 % de CO₂. El día del análisis se retiró el medio de crecimiento y las células se estimularon mediante adición de 10 µl de solución amortiguadora de estimulación (Hepes 10 nM, pH 7,4, NaCl 140 nM, KCl 3,6 nM, NaH₂PO₄ 0,5 nM, MgSO₄ 0,5 nM, CaCl₂ 1,5 nM, NaHCO₃ 5 nM, IBMX 0,5 nM, 0,1 % de BSA) que contiene concentraciones crecientes de los péptidos de prueba y se incubaron durante 45 min a temperatura ambiente. La estimulación se detuvo por adición de 5,6 µl/pocillo de mezcla de detección de esferas donantes (Hepes 5 mM, pH 7,4, TWEEN 20 0,5 %, BSA 0,1 %, 0,05 mg/ml de esferas donantes, AMPc biotinilado 62,5 nM) y 4,5 µl/pocillo de solución de esferas aceptoras (Hepes 5 mM, pH 7,4, TWEEN 20 0,5 %, BSA 0,1 %, 0,05 mg/ml de esferas aceptoras). Después de un mezclado exhaustivo, las placas se incubaron en oscuridad durante 1 h a temperatura ambiente y se estimó el contenido de AMPc de los lisados celulares resultantes de acuerdo

con las instrucciones del proveedor del ensayo de AMPc AlphaScreen®. Los valores de EC50 se estimaron mediante un ajuste de la curva asistida por computadora de los resultados de por lo menos 7 concentraciones diferentes del compuesto.

Los resultados de la actividad *in vitro* (expresados como valores de EC50) se resumen más adelante en la Tabla 1.

Ejemplo 3: Determinación de la solubilidad

El péptido de prueba se pesó y se introdujo en un vial adecuado, y se agregó la respectiva solución amortiguadora (solución amortiguadora de acetato pH 4,0, solución amortiguadora de fosfato pH 6, solución amortiguadora de histidina pH 6 y 7; todas a una concentración de 40 nM) hasta un volumen total de 0,5 ml.

Los viales se agitan a temperatura ambiente durante 2 h y se filtran a través de un filtro de 0,45 µm. Las soluciones resultantes se analizan mediante RP-HPLC en una columna C18 con elución por gradiente usando un sistema eluyente de ácido fórmico/acetonitrilo/agua. El área del pico principal se determina mediante espectroscopía UV a 230 nm en cada punto de tiempo de toma de muestras. La concentración disuelta se calcula utilizando un método externo estándar.

Ejemplo 4: Evaluación de la estabilidad física

La agregación en la forma de formación de fibrillas se detectó usando el colorante Tioflavina T (ThT) específico de amiloides, que se emplea frecuentemente para demostrar la presencia de fibrillas en solución (véase, por ejemplo, Groenning, M., *J. Chem. Biol.*, 3(1) (2010), páginas 1-18; Groenning et al., *J. Struct. Biol.*, 158 (2007) páginas 358-369; y Levine, H., III, *Protein Sci*, 2

(1993), páginas 404-410). Los péptidos de prueba (2 mg/ml) se disolvieron en agua desmineralizada ajustada a pH 2,5 con HCl, a temperatura ambiente (normalmente 25 °C). Las soluciones que contienen (i) 1 mg/ml del péptido de prueba, ThT 40 μ M y solución amortiguadora de fosfato (Ph) 50 mM (pH 7,0), (ii) 1 mg/ml del péptido de prueba, ThT 40 μ M y solución amortiguadora de histidina (His) 50 mM (pH 7,0) y (iii) 1 mg/ml del péptido de prueba, ThT 40 μ M y solución amortiguadora de acetato (Ac) 50 mM (pH 4,0), se cargaron en una placa para fluorescencia negra (fondo transparente) de 96 pocillos por triplicado. Los datos se recolectaron a intervalos fijos de 10 min, cada una precedida by 300 s de automezclado (agitación), sobre un período de 96 horas a 40 °C. La estabilidad física se determina midiendo la intensidad de fluorescencia en el tiempo. Un aumento significativo de la intensidad se califica como la formación de fibrillas detectada (FD). Los datos se resumen más adelante en la Tabla 1.

Ejemplo 5: Evaluación de la estabilidad química

Las muestras de cada péptido de prueba se disolvieron en solución amortiguadora de acetato pH 4 y en solución amortiguadora de fosfato pH 6 y 7 (todas las soluciones amortiguadoras a 40 mM). La concentración final del péptido era de 1 mg/ml. Las muestras se colocaron en viales de vidrio y se incubaron a 40 °C. Las muestras se analizaron mediante RP-HPLC en una columna C8 con elución por gradiente usando un sistema eluyente de ácido trifluoroacético/acetonitrilo/agua. El porcentaje de área (% de área) del pico principal se determinó mediante espectroscopía UV a 220 nm en cada punto de tiempo de toma de muestras.

El % de degradación se calculó por sustracción del porcentaje de área

del pico principal al comienzo ($t = 0$) del porcentaje de área del pico principal en cada punto de tiempo de toma de muestras.

Los resultados de la evaluación de la estabilidad química después de 3 días de tiempo de incubación se resumen como el % de degradación en la Tabla 1 (más adelante).

Los resultados de la evaluación de la estabilidad química después de 14 días de tiempo de incubación se resumen como el % de degradación en la Tabla 2 (más adelante).

En un análisis alternativo, los péptidos se disolvieron en agua MilliQ y el pH se ajustó en 4,0, 7,5 ó 9,0. Las muestras se colocaron en viales de vidrio y se incubaron a 40 °C. Las muestras se analizaron mediante RP-HPLC en una columna C8 con elución por gradiente usando un sistema eluyente de ácido trifluoroacético/acetonitrilo/agua. El porcentaje de área (% de área) del pico principal se determinó mediante espectroscopía UV a 220 nm en cada punto de tiempo de toma de muestras.

El % de degradación se calculó por sustracción del porcentaje de área del pico principal al comienzo ($t = 0$) del porcentaje de área del pico principal en cada punto de tiempo de toma de muestras.

Los resultados de la evaluación de la estabilidad química después de 8 días de tiempo de incubación se resumen como el % de degradación en la Tabla 3 (más adelante).

Tabla 1: Datos de EC₅₀, estabilidad química y formación de fibrillas

N° de compuesto	hCT-R	hAMY R3	Formación de fibrillas* (en solución amortiguadora)			% de degradación después de 72 h a 40 °C		
	EC ₅₀ [nM]	EC ₅₀ [nM]	pH 4 acetato	pH 7 histidina	pH 7 fosfato	pH 4 acetato	pH 6 fosfato	pH 7 fosfato

1	13,6	9,3						
2	0,105	0,032						
3	0,081	0,035	FND	FND	FD	< 1	3,2	1,2
4	0,160	0,092	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
5	0,114	0,032						
6	0,327	0,011						
7	0,289	0,032						
8	0,129	0,059	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
9	0,027	0,013						
10	0,345	0,068	FD	FND	FND	< 1	< 1	< 1
11	0,068	0,024	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
12	0,893	0,999						
13	1,411	0,456						
14	0,386	0,108						
15	0,056	0,017	FND	FD	FD	< 1	< 1	< 1
16	0,043	0,035						
17	0,058	0,025	FND	FND	FND	1,2	< 1	< 1
18	0,085	0,031	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
19	0,028	0,006						
20	0,009	0,003	FD	FND	FND	1,0	1,3	2,0
21	0,037	0,010	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
22	0,474	0,051						
23	1,931	0,706						
24	0,038	0,013						
25	0,844	0,336	FND	FND	FND	-	-	< 1
26	0,769	0,120						
27	0,521	0,325	FND	FND	FND	< 1	< 1	1,7
28	1,229	0,268						
29	1,070	0,312						
30	0,232	0,122	FD	FND	FND			
31	0,227	0,066						
32	0,006	0,005	FD	FND	FND	1,3	<1	2,2
33	0,019	0,009	FND	FND	FND	< 1	1	< 1
34	0,206	0,063	FND	FND	FND	< 1	< 1	2,8
35	0,066	0,028	FND	FND	FND	< 1	< 1	1,4
36	0,026	0,007	FD	FND	FND	2,5	2,1	1,0
37	0,116	0,031	FD	FND	FND	-	< 1	3,0
38	0,114	0,060	FD	FND	FND	< 1	< 1	< 1
39	0,094	0,024	FD	FND	FND	< 1	< 1	< 1
40	0,028	0,008	FD	FND	FND	1,1	< 1	< 1
41	0,095	0,024	FND	FND	FND	< 1	< 1	< 1
42	0,006	0,003						
43	0,021	0,007	FD	FD	FD			

44	0,020	0,009	FD	FND	FND			
45	299	279						
46	7,5	5,5						
47	10,8	7,7						
48	0,107	0,020						
49	1,038	0,442						
50	3,3	1,5						
51	0,861	0,306						
Ref. 1	20,3	17,1						
Ref. 2	0,019	0,003						
Ref. 3	18,2	13,2						
Ref. 4	0,075	0,031	FND	FND	FND			
Ref. 5	0,063	0,028	FD	FND	FND			

*FND = no se detectó formación de fibrillas; FD = se detectó formación de fibrillas

Tabla 2: Estabilidad química

N° de compuesto	% de degradación después de 14 días a 40 °C		
	pH 4 acetato	pH 6 fosfato	pH 7 fosfato
32	<1	<1	<1
41	1,1	<1	<1
10	1,9	1,8	9,1
14	2,2	<1	2,6
18	<1	1,0	1,9
37	ND	<1	<1
36	ND	1,6	<1
4	1,6	<1	6,4
38	ND	ND	<1
20	ND	<1	3,7
16	ND	<1	ND
3	ND	1,0	ND
35	2	<1	<1
Ref. 2	<1	4,6	ND
Ref. 4	3,2	12,6	20,3
Ref. 5	3,0	5,1	12,7
NN96	3,0	10,1	33,2

ND: no determinado

Tabla 3: Estabilidad química

N° de compuesto	% de degradación después de 8 días a 40°C		
	pH 4	pH 7,5	pH 9
51	3,1	4,6	4,6
49	1,7	2,1	3,0
48	1,8	2,3	2,5
19	3,9	6,2	4,2

Ejemplo 6: Determinación del perfil farmacocinético (PK) en ratas

Se administró un solo bolo por vía subcutánea (sc) de cada péptido a evaluar a ratas macho Sprague Dawley, como se especifica a continuación.

Se administraron dosis del compuesto de 30 nmol/kg. Se tomaron muestras de sangre de la vena de la cola antes de la dosificación y a las 24 y 96 horas después de la dosificación. Las ratas fueron sacrificadas inmediatamente después de la última toma de muestra de sangre por concusión y dislocamiento cervical.

El vehículo de dosificación usado para cada péptido de prueba era una solución amortiguadora de histidina que contiene manitol (pH 7,0). Las muestras de plasma se analizaron después de precipitación con etanol mediante cromatografía líquida-espectrometría de masa (LC-MS/MS). Se usaron las concentraciones promedio en plasma para calcular los parámetros farmacocinéticos.

La vida media de eliminación terminal en plasma ($t_{1/2}$) se determinó como el $\ln(2)/\lambda_z$, donde λ_z es la magnitud de la pendiente de la regresión lineal logarítmica del log de la concentración versus el perfil de tiempo durante la fase terminal.

Resultados

Se determinó que los valores de la vida media de eliminación terminal en plasma ($t_{1/2}$) para todos los péptidos evaluados se encontraban en el rango de

entre 21,3 h y 36,1 h.

Tabla 4: Vida media *in vivo*

Nº de compuesto	$t_{1/2}$ [h]
3	21,3
4	31,9
18	30,1
20	31,1
35	36,1
38	31,8

Ejemplo 7: Efecto sobre la ingesta de alimentos aguda y el peso corporal en ratas Sprague Dawley normales

Se obtuvieron ratas Sprague Dawley (SD) de Janvier Labs, Francia. Los animales llegaron por lo menos 14 días antes de comenzar el estudio para permitir su adaptación a las afecciones experimentales. Desde su llegada y durante todo el estudio, las ratas eran albergadas en grupos de 2 a 4 ($n = 2-4$) en un cuarto de luz, temperatura y humedad controladas. Los animales tenían acceso *ad libitum* a alimento (KLIBA 3430, Provimi Kliba AG, Suiza) y agua (agua de red de calidad doméstica) durante todo el estudio. Se incluyeron 6-8 ratas por grupo. Se incluyó un grupo de vehículo y un grupo de control positivo en cada conjunto de pruebas. Las ratas recibieron dosis por vía subcutánea (sc) una vez a la mañana 1 hora antes de apagar la luz, usando una dosis corregida para el peso corporal (30 nmol/kg) de péptido de prueba. El volumen de dosificación era de 2 ml/kg. La ingesta de alimentos se registró en línea usando un sistema de ingesta de alimentos automatizado (HM02, MBRose, Dinamarca) durante 4 días o manualmente a 0 h para la predosis y luego 24, 48, 72 y 96 h después de la dosificación. El peso corporal se midió diariamente.

Los análisis estadísticos se condujeron usando GraphPad™ Prism, versión 7. Los parámetros medidos se compararon usando un ANOVA de dos

vías seguido por pruebas de comparación múltiple de Dunnett. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas para $p < 0,05$.

Resultados

A las 48 h después de la dosificación, cada uno de los compuestos evaluados (excepto por los compuestos 30 y 37) produjeron una inhibición clara, estadísticamente significativa de la ingesta de alimentos (corregida para el vehículo, expresada como un %). Esta reducción de la ingesta de alimentos se reflejaba en una disminución del peso corporal (corregida para el vehículo, expresada como un %). A continuación, se restableció un comportamiento de alimentación normal.

Tabla 5: Efecto sobre la ingesta de alimentos y el peso corporal

Nº de compuesto	Reducción de la ingesta de alimentos en % a las 48 h Dosis: 30 nmol/kg	Reducción del peso corporal en % a las 48 h Dosis: 30 nmol/kg
41	75	11
35	72	12
18	58	10
39	76	9,2
40	83	7,3
37	24	4,3
30	< 20	0
36	44 (a dosis de 10 nmol/kg)	5,2 (a dosis de 10 nmol/kg)
4	34	4,6
38	43	8,2
20	49	7,8
15	71	7,7
16	66	7,4
3	34	5,6

Ejemplo 8: Cambios en la glucosa basal en ratas ZDF diabéticas alimentadas de forma aguda

Se obtuvieron ratas Zucker macho diabéticas gordas (ZDF-Lepr^{fa}/CrI) de Charles River, EEUU. Se dejó que los animales se adaptaran a las afecciones

experimentales por al menos 14 días antes de comenzar el estudio. Desde su llegada y durante todo el estudio, las ratas se albergan en grupos de 2 ($n = 2$) en un cuarto de luz, temperatura y humedad controladas. Los animales tienen acceso *ad libitum* a alimento (KLIBA 2437, Provimi Kliba AG, Suiza) y agua (agua de red de calidad doméstica) durante todo el estudio.

Las ratas se asignaron aleatoriamente en grupos designados de prueba y de vehículo basado en la glucosa en sangre, HbA1c y el peso corporal. La cantidad total de animales por grupo es 10 ($n = 10$). Las ratas reciben dosis por vía subcutánea (sc) una vez por la mañana usando una dosis corregida para el peso corporal (10 nmol/kg) del péptido de prueba. El volumen de dosificación es de 2 ml/kg.

Los niveles de glucosa en sangre en las muestras de sangre de la cola tomados 24, 72, 96 y 168 horas después de la dosificación y los niveles de glucosa en sangre se determinan usando un glucómetro (GlucoSmart Swing™; MSP Bodmann GmbH, Alemania).

Los análisis estadísticos se condujeron usando GraphPad™ Prism, versión 7. Los parámetros medidos se comparan usando un ANOVA de dos vías seguido por pruebas de comparación múltiple Sidak. Las diferencias se consideran estadísticamente significativas para $p < 0,05$.