

**NUEVOS ANÁLOGOS DE UROCORTINA-2 MODIFICADOS CON ÁCIDO GRASO
PARA EL TRATAMIENTO DE DIABETES Y ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA**

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a nuevos
compuestos de urocortina-2, composiciones farmacéuticas que
comprenden los compuestos, métodos de uso de los compuestos
para tratar trastornos asociados con el receptor-2 de la
hormona liberadora de corticotropina, e intermediarios y
10 procesos útiles en la síntesis de los compuestos.

La urocortina-2 (UCN2) es un péptido endógeno de
treinta y ocho aminoácidos (SEQ ID NO:15). Es una de tres
urocortinas endógenas conocidas (UCN1 y UCN3) halladas en
mamíferos y es parte de la familia de la hormona liberadora
15 de corticotropina (CRH; también referido como factor
liberador de corticotropina). La familia de CRH exhibe muchas
funciones fisiológicas. Los péptidos de UCN son de acción
corta. Actúan a través de los receptores de CRH (CRHR)
conocidos como CRHR1 y/o CRHR2. Específicamente, la UCN2
20 activa selectivamente el CRHR2 incluyendo las isoformas
conocidas CRHR2-alfa (α) -beta (β) y -gamma (γ). La UCN2
también se ha asociado con una reducción de la presión
arterial. *European Journal of Pharmacology* 469: 111-115
(2003).

25 La diabetes tipo II (T2D) es la forma más común de

la diabetes que representa aproximadamente 90% de todas las diabetes. Más de 300 millones de personas en el mundo están diagnosticadas con T2D. Se caracteriza por altos niveles de glucosa en sangre causados por la resistencia a la insulina.

5 El estándar de cuidado actual para la T2D incluye la dieta y ejercicio como terapia adyuvante fundamental junto con fármacos de disminución de glucosa orales e inyectables disponibles. No obstante, los pacientes con T2D aún siguen inadecuadamente controlados. Se necesita un tratamiento
10 alternativo para la T2D.

La enfermedad renal crónica (CKD) se caracteriza por la pérdida progresiva de la función renal. Los individuos que tienen CKD con el tiempo experimentan un aumento de la albuminuria, proteinuria, creatinina en suero, y lesiones
15 histopatológicas renales. A la larga se desarrolla en la enfermedad renal de etapa terminal (SERD) para muchos pacientes que requieren ya sea diálisis o trasplante de riñón. La CKD puede ser causada por diversas condiciones fundamentales incluyendo la diabetes e hipertensión conocidas
20 como nefropatía diabética y nefropatía hipertensa, respectivamente. La prevalencia de nefropatía diabética representa aproximadamente 50% de las insuficiencias renales en los Estados Unidos. La prevalencia de nefropatía hipertensa representa casi 25% de las insuficiencias renales
25 en los Estados Unidos. El estándar de cuidado actual para las

enfermedades renales incluye inhibidores de la enzima que convierte la angiotensina (ACE) y bloqueadores del receptor de angiotensina II (ARB). Permanece una necesidad de un tratamiento alternativo para la CKD.

5 Chen et al. (*Proceedings of the National Academy of Sciences* (PNAS), 31 de octubre de 2006, vol. 103, NO:44, pp. 16580-16585) es un artículo titulado "Urocortin 2 modulates glucose usation and insulin sensitivity in skeletal muscle". Además, en *Peptides* 27: 1806-1813 (2006), los autores
10 describen agonistas de CRHR2 que incluyen análogos de UCN2 para el tratamiento de trastornos modulados por CRHR2 tal como atrofia muscular. Sin embargo, hay una necesidad adicional de nuevos análogos de UCN2 humanos terapéuticos que son agonistas de CRHR2.

15 La presente invención proporciona nuevos compuestos que son agonistas de CRHR2. La presente invención también proporciona nuevos agonistas de CRHR2 terapéuticos en la forma de análogos de UCN2 humanos los cuales pueden ser adecuados para la administración una vez a la semana u otros
20 tipos de administración tales como bimensual o mensualmente. La presente invención también proporciona un nuevo compuesto que es un agonista de CRHR2 para el uso en terapia, y en particular para el uso para tratar T2D o CKD, o combinaciones de los mismos.

25 Por consiguiente, la presente invención proporciona

compuestos los cuales son moléculas de urocortina que tienen la secuencia de aminoácidos de la Fórmula III:

$X_1IVX_2SLDVPIGLLQILX_3EQEKQEKEKQQATX_7NAX_4ILAX_8V-NH_2$ (Fórmula III),

en donde

5 X_1 indica que el residuo I es no modificado o es modificado en el extremo N-terminal ya sea por acetilación o metilación,

X_2 es L o T,

X_3 es L o I,

10 X_4 es Q, R, o E,

X_7 es T o E,

X_8 es Q, H o R (SEQ ID NO:67), y

La Fórmula III comprende adicionalmente un residuo K modificado ("K*") sustituido en la posición 10 o en
15 cualquier posición entre la posición 14 y la posición 30 inclusive,

K^* es modificado por tener el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K unido a un grupo de la fórmula $-X_5-X_6$, en donde X_5 se selecciona del grupo que consiste de entre uno a
20 cuatro residuos aminoácidos, entre una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetilo, y combinaciones de uno a cuatro residuos aminoácidos y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetilo, y X_6 es un ácido graso de $C_{14}-C_{24}$.

25 La presente invención proporciona composiciones

farmacéuticas que comprenden un compuesto de la Fórmula III con el residuo K modificado, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, sales de trifluoroacetato, sales de acetato, o sales de diclorhidrato). En algunas 5 modalidades, el aminoácido terminal es amidado como una amida primaria C-terminal. En modalidades adicionales, la composición farmacéutica puede incluir uno o más portadores, diluyentes, y excipientes farmacéuticamente aceptables.

Como se indica anteriormente, las moléculas 10 sintéticas de la Fórmula III se construyen de manera que el residuo K modificado es sustituido en la posición 10 o en cualquier posición entre la posición 14 y la posición 30 inclusive. Por ejemplo, si el residuo K modificado es sustituido en la posición 10, entonces el residuo G que 15 normalmente ocupa la posición 10 es remplazado con el residuo K modificado, de manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 , 20 X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 14, entonces el residuo I que normalmente ocupa la posición 14 es remplazado con el residuo K modificado, de 25 manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente

fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 ,
 X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en
 5 la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la
 posición 15, entonces el residuo L que normalmente ocupa la
 posición 15 es remplazado con el residuo K modificado, de
 manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente

10 fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 ,
 X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en
 la presente.

15 Si el residuo K modificado es sustituido en la
 posición 16, entonces el residuo X_3 que normalmente ocupa la
 posición 16 es remplazado con el residuo K modificado, de
 manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente
 fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_4 ,
 X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en la
 presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la
 25 posición 17, entonces the E residue que normalmente ocupa la

posición 17 es remplazado con el residuo K modificado, de manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



5 en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 18, entonces el residuo Q que normalmente ocupa la
10 posición 18 es remplazado con el residuo K modificado, de manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



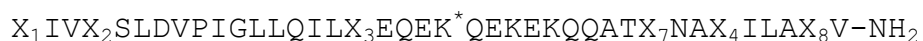
 en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 ,
15 X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 19, entonces el residuo E que normalmente ocupa la
posición 19 es remplazado con el residuo K modificado, de
20 manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



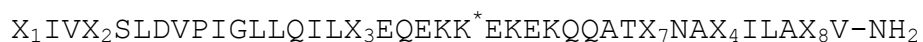
 en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 ,
25 X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 20, entonces el residuo K que normalmente ocupa la posición 20 es remplazado con el residuo K modificado, de manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 21, entonces el residuo Q que normalmente ocupa la posición 21 es remplazado con el residuo K modificado, de manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 22, entonces el residuo E que normalmente ocupa la posición 22 es remplazado con el residuo K modificado, de manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 ,

X₄, X₇ y X₈ tienen los valores y características descritos en la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 23, entonces el residuo K que normalmente ocupa la posición 23 es remplazado con el residuo K modificado, de
5 manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



en donde K^{*} es el residuo K modificado y X₁, X₂, X₃,
10 X₄, X₇ y X₈ tienen los valores y características descritos en la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 24, entonces el residuo E que normalmente ocupa la posición 24 es remplazado con el residuo K modificado, de
15 manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



en donde K^{*} es el residuo K modificado y X₁, X₂, X₃,
X₄, X₇ y X₈ tienen los valores y características descritos en
20 la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 25, entonces el residuo K que normalmente ocupa la posición 25 es remplazado con el residuo K modificado, de
manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente
25 fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en la presente.

5 Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 26, entonces el residuo Q que normalmente ocupa la posición 26 es remplazado con el residuo K modificado, de manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en la presente.

15 Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 27, entonces el residuo Q que normalmente ocupa la posición 27 es remplazado con el residuo K modificado, de manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



20 en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en la presente.

25 Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 28, entonces el residuo A que normalmente ocupa la posición 28 es remplazado con el residuo K modificado, de

manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 ,
 5 X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 29, entonces el residuo T que normalmente ocupa la posición 29 es remplazado con el residuo K modificado, de
 10 manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 ,
 X_4 , X_7 y X_8 tienen los valores y características descritos en
 15 la presente.

Si el residuo K modificado es sustituido en la posición 30, entonces el residuo X_7 que normalmente ocupa la posición 30 es remplazado con el residuo K modificado, de
 manera que estas moléculas sintéticas tendrían la siguiente
 20 fórmula:



en donde K^* es el residuo K modificado y X_1 , X_2 , X_3 ,
 X_4 , y X_8 tienen los valores y características descritos en la presente.

25 Como se indica anteriormente, el X_8 de la Fórmula

III puede ser Q, H, o R. Sin embargo, en algunas de las modalidades actualmente preferidas, el grupo X₈ será ya sea un H o Q. Las modalidades preferidas adicionales pueden tener el X₂ y/o el X₃ de la Fórmula III siendo un residuo L. En 5 modalidades preferidas todavía adicionales, el X₄ de la Fórmula III puede ser un residuo Q y/o el X₇ de la Fórmula III es un residuo T.

En otras modalidades actualmente preferidas, el X₅ de la Fórmula III puede comprender entre 0-2 porciones de 10 ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetilo y, más preferiblemente, 1 o 2 residuos aminoácidos. En otras modalidades actualmente preferidas, el X₅ de la Fórmula III puede comprender dos residuos aminoácidos y dos porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetilo, en donde los dos residuos aminoácidos son 15 residuos ya sea E o γE. En algunas modalidades, X₅ comprende solamente residuos aminoácidos such that there are no porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetilo. En modalidades actualmente preferidas todavía adicionales, el X₁ de la Fórmula III will tienen el residuo I en la posición 1 20 modificada (en el extremo N-terminal) ya sea por acetilación o metilación.

Como se indica anteriormente, la secuencia de aminoácidos de la Fórmula III es modificada de manera que un residuo K modificado es sustituido en la 25 posición 10 o en cualquier posición entre la posición 14 y la

posición 30 inclusive dentro de la secuencia. Algunas de las modalidades muy preferidas de la Fórmula III tienen el residuo K modificado ("K*") sustituido en la posición 29 y tienen X₈ siendo Q y X₇ siendo T. Estas moléculas, las cuales son un subconjunto de la Fórmula III, se representan a continuación como la Fórmula I: X₁ I V X₂ S L D V P I G L L Q I L X₃ E Q E K Q E K E K Q Q A K* T N A X₄ I L A Q V-NH₂ (Fórmula I)

(Al igual que con las modalidades de la Fórmula III, las modalidades de la Fórmula I se diseñan de manera que X₂ puede ser L o T, y X₃ puede ser L o I, X₄ puede ser Q, R, o E (y más preferiblemente Q o E), y X₁ puede significar que el residuo I en la posición 1 es, en su extremo N-terminal, es no modificado o es modificado ya sea por acetilación o metilación) En algunas de las modalidades preferidas de la Fórmula I, el X₁ tendrá el residuo I en la posición 1 modificado en el extremo N-terminal ya sea por acetilación o metilación. En las modalidades de la Fórmula I, el residuo K modificado en la posición 29 es modificado con una cadena lateral de ácido graso que se conjuga al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K, en donde la cadena lateral de ácido graso tiene una fórmula: ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γE)₂-CO-(CH₂)_x-CO₂H donde x es 16 o 18. (Indicado de manera diferente, en algunas de las modalidades actualmente preferidas de la Fórmula I, los grupos X₅ y X₆ de la Fórmula

III tienen la siguiente fórmula: ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-
acetil)₂-(γE)₂-CO-(CH₂)_x-CO₂H donde x es 16 o 18) (SEQ ID
NO:8). Desde luego, como se indica anteriormente, el
compuesto y moléculas de la Fórmula I se pueden hacer en
5 sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

La presente invención también proporciona una
composición farmacéutica que comprende un compuesto de la
Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo
(por ejemplo, sales de trifluoroacetato, sales de acetato, o
10 sales de diclorhidrato). En algunas modalidades, el
aminoácido terminal es amidado como una amida primaria C-
terminal. En modalidades adicionales, la composición
farmacéutica puede incluir uno o más portadores, diluyentes,
y excipientes farmacéuticamente aceptables.

15 En una modalidad, el compuesto o sal
farmacéuticamente aceptable de la Fórmula I se diseña de
manera que X₁ tiene el extremo N-terminal del residuo I
modificado por acetilación; X₂ es L; X₃ es L; X₄ es Q; el K* en
la posición 29 es químicamente modificado a través de la
20 conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con
([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γE)₂-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el
aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-
terminal (SEQ ID NO:1).

En otra modalidad, el compuesto o sal
25 farmacéuticamente aceptable de la Fórmula I se diseña de

manera que X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por acetilación; X_2 es L; X_3 es L; X_4 es Q; el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con
5 ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ E)₂-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H; y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:2).

En otra modalidad, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de la Fórmula I se diseña de
10 manera que X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación; X_2 es L; X_3 es L; X_4 es Q; el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ E)₂-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el
15 aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:3).

En otra modalidad, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de la Fórmula I se diseña de manera que X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo I
20 modificado por metilación; X_2 es L; X_3 es L; X_4 es Q; el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ E)₂-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H; y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-
25 terminal (SEQ ID NO:4).

En otra modalidad, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de la Fórmula I se diseña de manera que X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación; X_2 es T; X_3 es L; X_4 es E; el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) $_2$ -(γ E) $_2$ -CO-(CH $_2$) $_{18}$ -CO $_2$ H; y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:5).

En otra modalidad, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de la Fórmula I se diseña de manera que X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación; X_2 es L; X_3 es L; X_4 es E; el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) $_2$ -(γ E) $_2$ -CO-(CH $_2$) $_{18}$ -CO $_2$ H; y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:6).

En otra modalidad, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de la Fórmula I se diseña de manera que X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación; X_2 es T; X_3 es I; X_4 es E; el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) $_2$ -(γ E) $_2$ -CO-(CH $_2$) $_{18}$ -CO $_2$ H; y el

aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:7).

Se pueden diseñar modalidades preferidas adicionales de la presente invención (las cuales igualmente
 5 caen dentro del alcance de la Fórmula III) en las cuales el residuo K modificado ("K*") es sustituido en la posición 29 y X₈ es Q, X₇ es T. Tales moléculas y compuestos preferidos (los cuales son un subconjunto de la Fórmula III) se pueden representar como la Fórmula II:

10 X₁ I V X₂ S L D V P I G L L Q I L X₃ E Q E K Q E K E
 K Q Q A K* T N A X₄ I L A Q V-NH₂ (Fórmula II)

(Al igual que con las modalidades de la Fórmula III, las modalidades de la Fórmula II se diseñan de manera que X₂ puede ser L o T, y X₃ puede ser L o I, X₄ puede ser Q,
 15 R, o E, y X₁ puede significar que el residuo I en la posición 1 es, en su extremo N-terminal, es no modificado o es modificado ya sea por acetilación o metilación.) Sin embargo, se pueden diseñar modalidades preferidas adicionales de la Fórmula II en las cuales el X₁ es restringido de manera que el
 20 residuo I (en la posición 1) es modificado ya sea por acetilación o metilación en el extremo N-terminal y X₄ es restringido para ser ya sea Q o E.

En las modalidades de la Fórmula II, el residuo K modificado ("K*") en la posición 29 es modificado a través de
 25 la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K

con un grupo de la fórmula $-X_5-X_6$, en donde

X_5 se selecciona del grupo que consiste de:

uno a cuatro aminoácidos;

una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-
etoxi]-acetil); y

combinaciones de uno a cuatro aminoácidos y una
a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-
etoxi]-acetil);

X_6 es un ácido graso de $C_{14}-C_{24}$ (SEQ ID NO:16), o una
sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En las modalidades de la Fórmula 1 descritas en la
presente, el residuo K modificado usado en La Fórmula I tiene
el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K conjugado con
el siguiente grupo: ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) $_2-(\gamma E)_2-$
CO-(CH $_2$) $_x$ -CO $_2$ H donde x es 16 o 18. (Indicado de manera
diferente, en algunas de las modalidades actualmente
preferidas de la Fórmula I, los grupos X_5 y X_6 de la Fórmula
III tienen la siguiente fórmula: ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-
acetil) $_2-(\gamma E)_2$ -CO-(CH $_2$) $_x$ -CO $_2$ H donde x es 16 o 18).

Todavía, como se indica anteriormente, los
compuestos de la Fórmula II y la Fórmula III pueden usar
diferentes grupos para X_5 y X_6 . Por ejemplo, en algunas
modalidades de la Fórmula II y la Fórmula III, X_5 puede ser
uno a cuatro residuos aminoácidos E o γE . Las modalidades
adicionales de la Fórmula II y la Fórmula III pueden tener X_5

siendo dos a cuatro E o γ E. Se construyen modalidades preferidas aún adicionales de la Fórmula II y la Fórmula III en las cuales X_5 comprende dos aminoácidos γ E. En algunas modalidades de la Fórmula II y la Fórmula III, el grupo X_5 puede comprender solamente residuos aminoácidos; sin embargo, en otras modalidades, el grupo X_5 puede comprender uno a cuatro residuos aminoácidos (tales como, por ejemplo aminoácidos E o γ E) usados en combinación con una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil).

10 Específicamente, en otras modalidades, X_5 constituye combinaciones de uno a cuatro aminoácidos E o γ E y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil). Se diseñan modalidades adicionales en las cuales X_5 es combinaciones de dos a cuatro aminoácidos γ E y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) (tal como, por ejemplo dos de las porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)). Otras modalidades tienen X_5 siendo combinaciones de dos aminoácidos γ E y dos porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil).

15

20 En una modalidad preferida de las Fórmulas III y III, el grupo de la fórmula $-X_5-X_6$ es ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ E)₂-CO-(CH₂)_x-CO₂H, donde x es 16 o 18. En otras modalidades de las Fórmulas III y III, el grupo X_5 puede comprender al menos una porción de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil), con o sin algunos residuos aminoácidos. Se

25

construyen modalidades preferidas adicionales de Formulas III y III en las cuales el grupo X_5 comprende una o dos porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetilo. En algunas modalidades el grupo X_6 es una cadena lateral de ácido graso de cadena recta de la Fórmula $CO-(CH_2)_x-CO_2H$, en donde x es 16, 18, o 20. Las modalidades muy preferibles tienen x siendo ya sea 16 o 18.

Como se indica anteriormente, los compuestos (o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos) de las Fórmulas II y III tienen un grupo X_6 que es un ácido graso de C_{14} a C_{24} . Este ácido graso de C_{14} - C_{24} puede ser un monoácido saturado o un diácido saturado. Preferiblemente, el ácido graso es un monoácido saturado o diácido saturado seleccionado del grupo que consiste de ácido mirístico (ácido tetradecanoico) (monoácido de C_{14}), ácido tetradecandioico (diácido de C_{14}), ácido palmítico (ácido hexadecanoico) (monoácido de C_{16}), ácido hexadecandioico (diácido de C_{16}), ácido margárico (ácido heptadecanoico) (monoácido de C_{17}), ácido heptadecandioico (diácido de C_{17}), ácido esteárico (ácido octadecanoico) (monoácido de C_{18}), ácido octadecandioico (diácido de C_{18}), ácido nonadecílico (ácido nonadecanoico) (monoácido de C_{19}), ácido nonadecandioico (diácido de C_{19}), ácido aracadico (ácido eicosanoico) (monoácido de C_{20}), ácido eicosandioico (diácido de C_{20}), ácido

heneicosílico (ácido heneicosanoico) (monoácido de C_{21}), ácido heneicosandioico (diácido de C_{21}), ácido behénico (ácido docosanoico) (monoácido de C_{22}), ácido docosandioico (diácido de C_{22}), ácido lignocérico (ácido tetracosanoico) (monoácido de C_{24}) y ácido tetracosandioico (diácido de C_{24}). Los ácidos muy preferibles son los siguientes: ácido mirístico, ácido tetradecandioico, ácido palmítico, ácido hexadecandioico, ácido esteárico, ácido octadecandioico, ácido nonadecandioico, ácido aracádico, ácido eicosandioico o ácido docosandioico.

La presente invención de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, sales de trifluoroacetato, sales de acetato, o sales de diclorhidrato entre otros). En otras modalidades, cualquier sal o base libre adecuada para uso en humanos se puede producir usando los compuestos de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III. En algunas modalidades preferidas, se usa una sal de acetato de péptido de los compuestos de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III. En algunas modalidades, el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal. En modalidades adicionales, la composición farmacéutica puede incluir uno o más portadores, diluyentes, y excipientes farmacéuticamente

aceptables.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente
5 aceptable del mismo, y uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del
10 mismo, en combinación con un ingrediente activo adicional.

La presente invención proporciona un método de tratamiento de diabetes tipo II en un paciente que comprende administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula I o la
15 Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La presente invención también proporciona un método de tratamiento de diabetes tipo II en un paciente que comprende administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un
20 compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde la administración es subcutánea. La presente invención también proporciona un método de tratamiento de diabetes tipo II en un paciente que comprende administrar a un paciente en
25 necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un

compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y simultánea o secuencialmente una cantidad efectiva de uno o más otros ingredientes activos. En una modalidad, el otro ingrediente
5 activo es un fármaco de disminución de glucosa oral actualmente disponible seleccionado de una clase de fármacos que se considera antes de la administración del estándar de cuidado como se determina por las directrices de la industria tal como la Asociación Americana de la Diabetes. Los ejemplos
10 de estándar de cuidado actuales incluyen metformina, tiazolidindionas (TZD), sulfonilureas (SU), inhibidores de dipeptidil peptidasa-4 (DPP-IV), y co-transportadores de glucosa sódica (SGLT). En una modalidad adicional de la presente invención, un método de tratamiento de diabetes tipo
15 II en un paciente como se define anteriormente se combina con dieta y ejercicio.

Además, la presente invención proporciona un método de tratamiento de enfermedad renal crónica en un paciente que comprende administrar a un paciente en necesidad de tal
20 tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La presente invención también proporciona un método de tratamiento de enfermedad renal crónica en un paciente que comprende administrar a un
25 paciente en necesidad de tal tratamiento una cantidad

efectiva de un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la
Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en donde la enfermedad renal crónica es causada por
nefropatía diabética. La presente invención también
5 proporciona un método de tratamiento de enfermedad renal
crónica en un paciente que comprende administrar a un
paciente en necesidad de tal tratamiento una cantidad
efectiva de un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la
Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
10 en donde la enfermedad renal crónica es causada por
nefropatía hipertensa. La presente invención también
proporciona un método de tratamiento de enfermedad renal
crónica en un paciente que comprende administrar a un
paciente en necesidad de tal tratamiento una cantidad
15 efectiva de un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la
Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en donde la administración es subcutánea. La presente
invención también proporciona un método de tratamiento de
enfermedad renal crónica en un paciente que comprende
20 administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una
cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula I, o una sal
farmacéuticamente aceptable del mismo, y simultánea o
secuencialmente una cantidad efectiva de uno o más otros
ingredientes activos. En una modalidad, el otro ingrediente
25 activo se selecciona de ARB o inhibidores de ACE orales

actualmente disponibles que se consideran antes de la administración del estándar de cuidado como se determina por las directrices de la industria. Los ejemplos de estándares de cuidado actuales son los inhibidores de ACE lisinopril y captopril y ARB losartán y irbesartán.

Además, la presente invención proporciona un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en terapia. La presente invención también proporciona un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de diabetes tipo II. Además, la presente invención proporciona un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de enfermedad renal crónica. La presente invención proporciona un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de enfermedad renal crónica causada por nefropatía diabética o nefropatía hipertensa. La presente invención proporciona el uso de un compuesto de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de diabetes tipo II y/o enfermedad renal crónica.

La presente invención también abarca nuevos intermediarios y procesos para la síntesis de los compuestos de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III.

Los compuestos de la Fórmula I o la Fórmula II o la
5 Fórmula III o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos son particularmente útiles en los métodos de tratamiento de la invención.

La cadena peptídica de los compuestos de la presente invención se puede sintetizar usando procedimientos
10 de síntesis de fase sólida manuales o automatizados estándares. Los sintetizadores de péptidos automatizados están comercialmente disponibles de, por ejemplo, Applied Biosystems (Foster City, CA) y Protein Technologies Inc. (Tucson, AZ). Los reactivos para la síntesis de fase sólida
15 están fácilmente disponibles de fuentes comerciales. Los sintetizadores de fase sólida se pueden usar de acuerdo con las instrucciones del fabricante para bloquear grupos interferentes, proteger a los aminoácidos durante la reacción, acoplar, desproteger y tapar de aminoácidos sin
20 reaccionar.

Típicamente, un aminoácido protegido con N- α -carbamoilo por el aminoácido N-terminal en la cadena peptídica creciente unida a una resina se acopla a temperatura ambiente en un solvente inerte tal como
25 dimetilformamida, N-metilpirrolidona o cloruro de metileno en

la presencia de agentes de acoplamiento tales como diisopropil-carbodiimida y 1-hidroxibenzotriazol. El grupo protector N α -carbamoilo se remueve de la resina de péptido resultante usando un reactivo tal como ácido trifluoroacético (TFA) o piperidina, y la reacción de acoplamiento se repite con el siguiente aminoácido protegido con N α deseado que se añade a la cadena peptídica. Los grupos protectores amina adecuados son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Green y Wuts, "Protecting Groups in Organic Synthesis," John Wiley and Sons, 1991. Los ejemplos muy comúnmente usados incluyen tBoc y fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc). Después de la terminación de la síntesis, los péptidos se escinden del soporte de fase sólida con desprotección de cadena lateral simultánea usando métodos de tratamiento estándar bajo condiciones ácidas.

El artesano experto apreciará que la cadena peptídica de los compuestos de la invención se sintetizan con una carboxamida C-terminal. Para la síntesis de péptido de amida C-terminales, las resinas que incorporan amida Rink MBHA o enlazantes de amida Rink AM típicamente se usaron como síntesis de Fmoc, mientras que la resina MBHA generalmente se usa como síntesis de tBoc.

Los péptidos crudos típicamente se purifican usando RP-HPLC en columnas C8 o C18 que usan gradientes de agua-acetonitrilo en 0.05 a 0.1% de TFA. La pureza se puede

verificar por RP-HPLC analítica. La identidad de los péptidos se puede verificar por espectrometría de masas. Los péptidos se pueden solubilizar en amortiguadores acuoso sobre un amplio rango de pH.

5 Como se usa en la presente, el término "AUC" significa área bajo la curva.

 Como se usa en la presente, el término "peso molecular promedio" indica el promedio del peso molecular de los diferentes componentes de tamaño de oligómero con una
10 distribución muy estrecha y se determina por técnicas de espectrometría de masas.

 Como se usa en la presente, el término "EC50" se refiere a la concentración del compuesto que resulta en 50% de activación del criterio de valoración del ensayo, *por*
15 *ejemplo*, cAMP.

 Como se usa en la presente, el término "ED50" se refiere a la concentración del compuesto que resulta en una respuesta de 50% en el criterio de valoración del ensayo *in vivo*, *por ejemplo*, glucosa en plasma o sangre.

20 Como se usa en la presente, el término "cantidad efectiva" se refiere a la cantidad o dosis del compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo la cual, tras la administración de dosis única o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente bajo
25 diagnóstico o tratamiento para una administración diaria. Una

cantidad efectiva puede ser fácilmente determinada por el médico que atiende, como un experto en la técnica, por el uso de técnicas conocidas y observando los resultados obtenidos bajo circunstancias análogas. En la determinación de la

5 cantidad efectiva de un paciente, un número de factores se consideran por el médico que atiende, incluyendo, pero no limitado a: la especie de mamífero; su tamaño, edad, y salud general; la enfermedad o trastorno específico implicado; el grado de implicación o la gravedad de la enfermedad o

10 trastorno; la respuesta del paciente individual; el compuesto particular administrado; el modo de administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; el régimen de dosis seleccionado; el uso de medicamento concomitante; y otras circunstancias relevantes,

15 Como se usa en la presente, el término "paciente" se refiere a un mamífero, tal como un ratón, cobayo, rata, perro, gato, o humano. Se entiende que el paciente preferido es un humano.

 Como se usa en la presente, el término

20 "tratamiento" o "tratar" incluye prohibir, restringir, ralentizar, detener, o invertir la progresión o gravedad de un síntoma o trastorno existente.

 Cuando se usa en la presente, el término "en combinación con" significa la administración de la molécula

25 sintética de la presente invención ya sea simultánea,

secuencialmente o en una formulación combinada única con uno o más agentes terapéuticos adicionales.

Ciertas abreviaturas se definen como sigue: "ACR" se refiere a relación de albúmina en orina/creatinina en orina; "amu" se refiere a unidad de masa atómica; "Boc" se refiere a terc-butoxicarbonilo; "cAMP" se refiere a monofosfato de adenosina cíclico; "DMSO" se refiere a dimetil sulfóxido; "EIA/RIA" se refiere a inmunoensayo/radioinmunoensayo de enzima; "hr" se refiere a hora; "HTRF" se refiere a fluorescente homogéneo resuelto en el tiempo; "i.v." se refiere a intravenoso; "kDa" se refiere a kilodaltons; "LC-MS" se refiere a cromatografía líquida-espectrometría de masas; "MS" se refiere a espectrometría de masas; "OtBu" se refiere a O-terc-butilo; "Pbf" se refiere a N^G-2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo; "RP-HPLC" se refiere a cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa; "s.c." se refiere a subcutáneo; "SEM" se refiere a error estándar de la media; "TFA" se refiere a ácido trifluoroacético", y "Trt" se refiere a Tritilo. Los códigos estándar de una letra se usaron para representar el aminoácido en los compuestos de la Fórmula I. Todos los aminoácidos usados en la Fórmula I son L-aminoácidos. Los códigos estándar de tres letras también se pueden usar para representar aminoácidos.

Los compuestos de la presente invención usan un

ácido graso de C_{14} - C_{24} químicamente conjugado al grupo epsilon-amino de una cadena lateral de lisina ya sea por un enlace directo o por un enlazante. El término "ácido graso de C_{14} - C_{24} " como se usa en la presente significa un ácido carboxílico con
5 entre 14 y 24 átomos de carbono. El ácido graso de C_{14} - C_{24} adecuado para uso en la presente puede ser un monoácido saturado o un diácido saturado. Por "saturado" se entiende que el ácido graso no contiene enlaces dobles o triples carbono-carbono.

10 Los ejemplos de ácidos grasos de C_{14} - C_{24} saturados específicos que son adecuados para los compuestos y usos de los mismos descritos en la presente incluyen, pero no se limitan a, ácido mirístico (ácido tetradecanoico) (monoácido de C_{14}), ácido tetradecandioico (diácido de C_{14}), ácido
15 palmítico (ácido hexadecanoico) (monoácido de C_{16}), ácido hexadecandioico (diácido de C_{16}), ácido margárico (ácido heptadecanoico) (monoácido de C_{17}), ácido heptadecandioico (diácido de C_{17}), ácido esteárico (ácido octadecanoico) (monoácido de C_{18}), ácido octadecandioico
20 (diácido de C_{18}), ácido nonadecílico (ácido nonadecanoico) (monoácido C_{19}), ácido nonadecandioico (diácido C_{19}), ácido aracadico (ácido eicosanoico) (monoácido C_{20}), ácido eicosandioico (diácido C_{20}), ácido heneicosílico (ácido heneicosanoico) (monoácido de C_{21}), ácido heneicosandioico
25 (diácido de C_{21}), ácido behénico (ácido docosanoico) (monoácido

de C₂₂), ácido docosandioico (diácido de C₂₂), ácido lignocérico (ácido tetracosanoico) (monoácido de C₂₄), ácido tetracosandioico (diácido de C₂₄), incluyendo derivados ramificados y sustituidos de los mismos.

5 En aspectos preferidos de los compuestos de la presente invención, el ácido graso de C₁₄-C₂₄ se selecciona del grupo que consiste de un monoácido de C₁₄ saturado, un diácido de C₁₄ saturado, un monoácido de C₁₆ saturado, un diácido de C₁₆ saturado, monoácido de C₁₈ saturado, un diácido de C₁₈ saturado, un diácido de C₁₉ saturado, un monoácido de C₂₀ saturado, un diácido de C₂₀ saturado, un diácido de C₂₂ saturado, y derivados ramificados y sustituidos de los mismos. En aspectos más preferidos de los compuestos de la presente invención, el ácido graso de C₁₄-C₂₄ se selecciona del grupo que consiste de ácido mirístico, ácido tetradecandioico, ácido palmítico, ácido hexadecandioico, ácido esteárico, ácido octadecandioico, ácido nonadecandioico, ácido aracádico, ácido eicosandioico y ácido docosandioico. Preferiblemente, el ácido graso de C₁₄-C₂₄ es
10
15
20 ácido octadecandioico o ácido eicosandioico.

La longitud y composición del ácido graso afecta la vida en anaquel del compuesto, la potencia del compuesto en modelos animales *in vivo* y también afecta la solubilidad, y estabilidad del compuesto. La conjugación del péptido
25 definido en la presente a un monoácido o diácido graso

saturado de C₁₄-C₂₄ resulta en compuestos que exhiben vida en anaquel deseable, potencia deseable en modelos animales *in vivo* y también poseen características de solubilidad y estabilidad deseadas.

5 Los compuestos de la invención preferiblemente se formulan como composiciones farmacéuticas administradas por rutas parenterales (*por ejemplo*, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, o transdérmica). Tales composiciones farmacéuticas y procesos para preparar las
10 mismas son bien conocidos en la técnica. (*Ver, por ejemplo*, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, L.V. Allen, Editor, 22nd Edition, Pharmaceutical Press, 2012). La ruta de administración preferida es subcutánea.

 Los compuestos de la presente invención pueden
15 reaccionar con cualquiera de un número de ácidos inorgánicos y orgánicos para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables y la metodología común para prepararlas son bien conocidas en la técnica. *Ver, por ejemplo*, P. Stahl, et al.
20 Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, 2nd Revised Edition (Wiley-VCH, 2011); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 66, NO:1, January 1977. La sal farmacéuticamente aceptable preferida de la presente
25 invención son sales de trifluoroacetato, sales de acetato y

sales de diclorhidrato entre otras.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar por un médico o auto-administrar usando una inyección. Se entiende que el tamaño del calibre y cantidad
5 de volumen de inyección se determina por el practicante experto. En una modalidad, la cantidad de volumen de inyección es ≤ 2 ml, preferiblemente ≤ 1 ml. También una modalidad adicional es el uso un calibre de aguja ≥ 27 , preferiblemente ≥ 29 .

10 Los compuestos de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III generalmente son efectivos sobre un amplio rango de dosificación. Por ejemplo, las dosificación por día normalmente caen dentro del rango de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal. En algunos casos,
15 los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del rango antedicho pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos dosis aún mayores se pueden emplear con efectos secundarios aceptables, y por lo tanto el rango de dosificación anterior no se pretende que limite el alcance de
20 la invención en alguna manera.

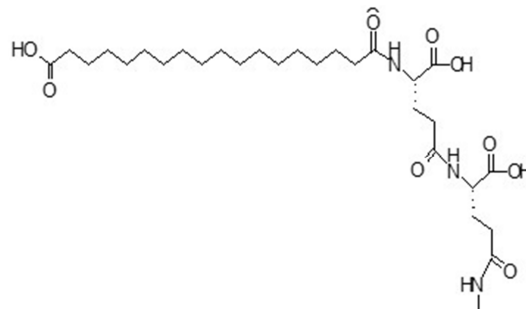
La presente invención también abarca nuevos intermediarios y procesos útiles para la síntesis de compuestos de la Fórmula I o la Fórmula II o la Fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Los
25 intermedarios y compuestos de la presente invención se pueden

preparar por una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, incluyendo a través tanto de síntesis química como tecnología recombinante. En particular, el proceso que usa síntesis química se ilustra en la(s) Preparación(es) y Ejemplo(s) a continuación. Las etapas de síntesis específicas para cada una de las rutas descritas se pueden combinar en diferentes maneras para preparar los compuestos de la Fórmula I, o sales de los mismos. Los reactivos y materiales de partida son fácilmente obtenibles para uno de experiencia ordinaria en la técnica. Se entiende que esta(s) Preparación(es) y Ejemplo(s) no se pretende que sean limitantes del alcance de la invención en alguna manera.

EJEMPLO 1

X₁IVX₂SLDVPIGLLQILX₃EQEKQEKEKQQAK*TNAX₄ILAQV-NH₂

en donde el X₁ en la posición 1 es I que es modificado, en el extremo N-terminal, por acetilación; X₂ es L; X₃ es L; X₄ es Q; y el K* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γE)₂-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO: 1). La estructura de esta secuencia se muestra a continuación.



5

10 La estructura de esta secuencia contiene el código de aminoácidos de letra única estándar con excepción de los residuos I en la posición 1, y K en la posición 29 donde las estructuras de estos residuos aminoácidos se han expandido.

 El péptido de acuerdo con la SEQ ID NO: 1 de la
15 presente invención se genera por síntesis de péptido de fase sólida usando una estrategia de Fmoc/t-Bu realizada en un sintetizador de péptido automatizado Symphony (PTI Protein Technologies Inc.) iniciando de la resina de Amida RAPP-AM-Rink (H40023 Poliestireno AM RAM, Rapp polymere GmbH) y con
20 acoplamientos usando 6 equivalentes de aminoácido activado con diisopropilcarbodiimida (DIC) y Oxima pura (relación molar de 1:1:1) en dimetilformamida (DMF) durante 3h a 25°C.

 El acoplamiento extendido para Thr30 (10h) es necesario para mejorar la calidad de péptido crudo. Un bloque
25 de construcción de Fmoc-Lys(Alloc)-OH se usa para K en el

acoplamiento de la posición 29 (grupo protector ortogonal) para permitir la unión específica del sitio de la porción de ácido graso más tarde en el proceso sintético. El residuo N-terminal (I en la posición 1) es acetilado usando 10 equivalentes de ácido acético con diisopropilcarbodiimida (DIC) y Oxima pura (relación molar de 1:1:1) en dimetilformamida (DMF) durante 1h a 25°C.

Después de terminar la elongación de la resina de péptido descrita anteriormente, el grupo protector Alloc presente en el K en la posición 29 se remueve usando cantidades catalíticas de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ en la presencia de PhSiH_3 como un depurador. Los sitios de acoplamiento/desprotección adicionales que usan una estrategia de Fmoc/t-Bu para extender el K en la posición 29 de la cadena lateral implican Fmoc-NH-PEG₂-CH₂COOH (ChemPep Catálogo #280102), Fmoc-Glu(OH)-OtBu (ChemPep Catálogo #100703) y HOOC-(CH₂)₁₆-COOtBu. En todos los acoplamientos, 3 equivalentes del bloque de construcción se usaron con PyBOP (3 equiv) y DIEA (6 equiv) en DMF durante 4h a 25°C.

La escisión concomitante de la resina y remoción del grupo protector de cadena lateral se realizan en una solución que contiene ácido trifluoroacético (TFA): triisopropilsilano : 1,2-etanoditiol: metanol : tioanisol 80:5:5:5 (v/v) durante 2 h a 25°C seguido por precipitación con éter frío. El péptido crudo se purificó a > 99% de pureza

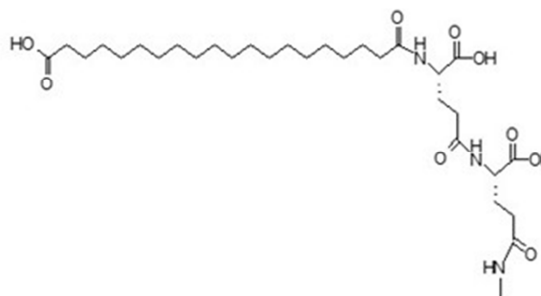
(15-20% de rendimiento purificado) por cromatografía HPLC de fase inversa con gradiente de agua/acetonitrilo (que contiene 0.1% v/v de TFA) en una columna de Fenil hexilo (phenomenex, 5 micras, 100A), donde las fracciones adecuadas se agruparon y liofilizaron.

En una síntesis realizada esencialmente como se describe anteriormente, la pureza del Ejemplo 1 se examinó por HPLC analítica de fase inversa, y la identidad se confirmó usando LC/MS (observado: $M+3H^+/3 = 1718.8$; Calculado $M+3H^+/3 = 1720.0$; observado: $M+4H^+/4 = 1289.2$; Calculado $M+4H^+/4 = 1290.3$; observado: $M+5H^+/5 = 1031.5$; Calculado $M+5H^+/5 = 1032.4$).

EJEMPLO 2

15 $X_1IVX_2SLDVPIGLLQILX_3EQEKQEKEKQQAK^*TNAX_4ILAQV-NH_2$

en donde el X_1 es I en el cual el extremo N-terminal es modificado a través de acetilación; X_2 es L; X_3 es L; X_4 es Q; y el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con $([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_2-(\gamma E)_2-CO-(CH_2)_{18}-CO_2H$; y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO: 2). La estructura de esta secuencia se muestra a continuación.



5

10 La estructura de esta secuencia contiene el código de aminoácidos de letra única estándar con excepción de los residuos I en la posición 1 y K en la posición 29 donde las estructuras de estos residuos aminoácidos se han expandido.

15 El péptido de acuerdo con la SEQ ID NO: 2 de la presente invención se sintetizó de manera similar como se describe anteriormente en el Ejemplo 1. $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{COOtBu}$ se incorporó usando 3 equivalentes del bloque de construcción con PyBOP (3 equiv) y DIEA (6 equiv) en DMF durante 4h a 25°C.

20 En una síntesis realizada esencialmente como se describe anteriormente, la pureza del Ejemplo 2 se examinó por HPLC analítica de fase inversa, y la identidad se confirmó usando LC/MS (observado: $\text{M}+3\text{H}^+/3 = 1728.2$; Calculado $\text{M}+3\text{H}^+/3 = 1729.4$; observado: $\text{M}+4\text{H}^+/4 = 1296.3$; Calculado $\text{M}+4\text{H}^+/4 = 1297.3$; observado: $\text{M}+5\text{H}^+/5 = 1037.4$; Calculado $\text{M}+5\text{H}^+/5$

25

=1038.0).

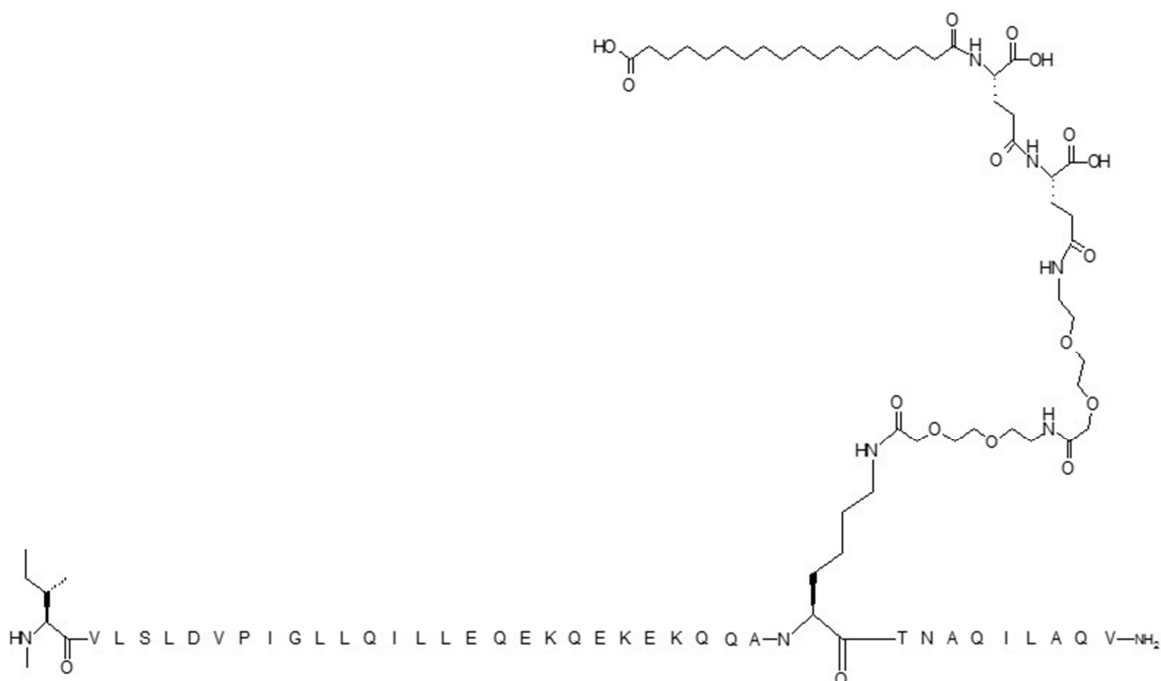
EJEMPLO 3

$X_1IVX_2SLDVPIGLLQILX_3EQEKQEKEKQQA^*TNAX_4ILAQV-NH_2$

5 en donde el X_1 es I en el cual el extremo N-terminal se modificó a través de metilación; X_2 es L; X_3 es L; X_4 es Q; y el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) $_2$ -(γE) $_2$ -CO-(CH $_2$) $_{16}$ -
10 CO $_2H$; y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO: 3). La estructura de esta secuencia se muestra a continuación.

15

20



La estructura de esta secuencia contiene el código de aminoácidos de letra única estándar con excepción de los
25 residuos N-metil isoleucina en la posición 1 y K en la

posición 29, donde las estructuras de estos residuos aminoácidos se han expandido.

El compuesto de acuerdo con la SEQ ID NO: 3 de la presente invención se sintetizó de manera similar como se describe anteriormente por ejemplo 1. El residuo N-terminal (N-metil isoleucina en la posición 1) se incorporó como Boc-NMeIle-OH usando 6 equivalentes del bloque de construcción con PyBOP (6 equiv) y DIEA (12 equiv) en DMF-DCM (1:1, v/v) durante 15h a 25°C.

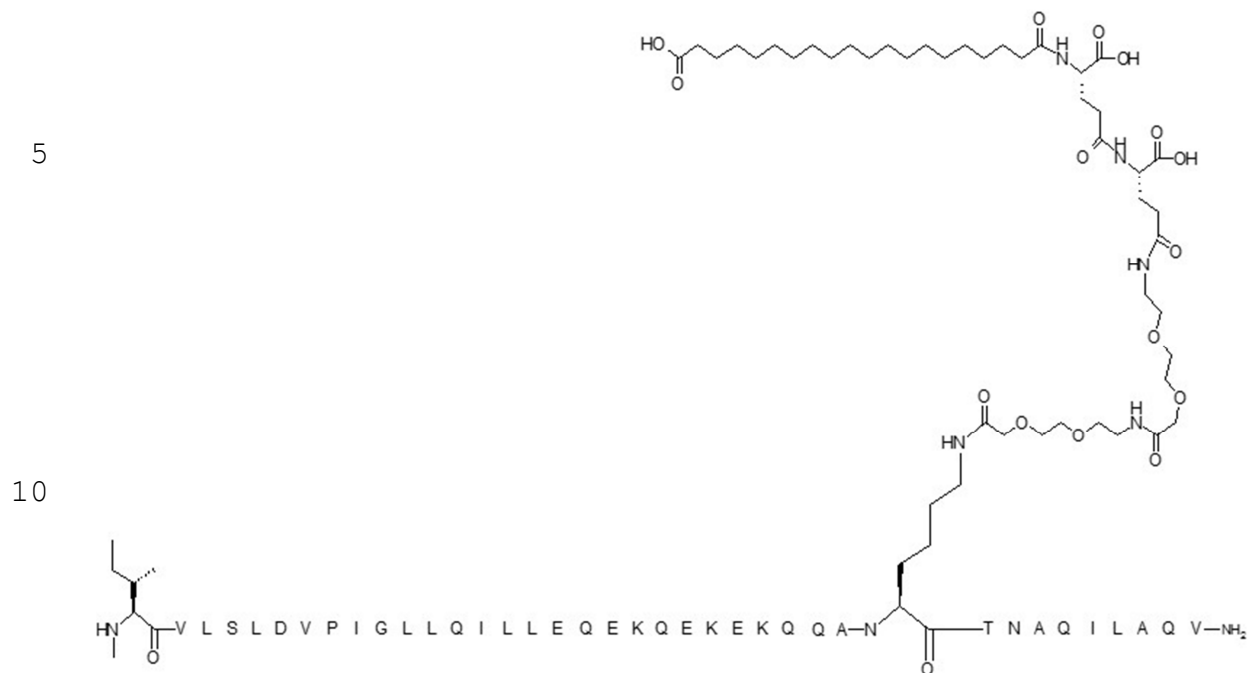
En una síntesis realizada esencialmente como se describe anteriormente, la pureza del Ejemplo 3 se examinó por HPLC analítica de fase inversa, y la identidad se confirmó usando LC/MS (observado: $M+3H^+/3 = 1709.6$; Calculado $M+3H^+/3 = 1710.7$; observado: $M+4H^+/4 = 1282.2$; Calculado $M+4H^+/4 = 1283.3$; observado: $M+5H^+/5 = 1025.8$; Calculado $M+5H^+/5 = 1026.8$).

EJEMPLO 4

$X_1IVX_2SLDVPIGLLQILX_3EQEKQEKEKQQAK^*TNAX_4ILAQV-NH_2$

en donde X_1 es I en el cual el extremo N-terminal se modificó a través de metilación; X_2 es L; X_3 es L; X_4 es Q; y el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con $([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_2-(\gamma E)_2-CO-(CH_2)_{18}-CO_2H$; y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria

C-terminal (SEQ ID NO: 4). La estructura de esta secuencia se muestra a continuación.



La estructura de esta secuencia contiene el código de aminoácidos de letra única estándar con excepción de los residuos N-metil isoleucina en la posición 1 y K en la posición 29, donde las estructuras de estos residuos aminoácidos se han expandido.

El compuesto de acuerdo con la SEQ ID NO: 4 de la presente invención se sintetizó de manera similar como se describe anteriormente por ejemplo 1. El residuo N-terminal (N-metil isoleucina en la posición 1) se incorporó como Boc-NMeIle-OH usando 6 equivalentes del bloque de construcción con PyBOP (6 equiv) y DIEA (12 equiv) en DMF-DCM (1:1, v/v) durante 15h a 25°C. HOOC-(CH₂)₁₈-COOtBu se incorporó usando 3

equivalentes del bloque de construcción con PyBOP (3 equiv) y DIEA (6 equiv) en DMF durante 4h a 25°C.

En una síntesis realizada esencialmente como se describe anteriormente, la pureza del Ejemplo 4 se examinó por HPLC analítica de fase inversa, y la identidad se confirmó usando LC/MS (observado: $M+3H^+/3 = 1719.4$; Calculado $M+3H^+/3 = 1720.1$; observado: $M+4H^+/4 = 1289.8$; Calculado $M+4H^+/4 = 1290.3$; observado: $M+5H^+/5 = 1031.8$; Calculado $M+5H^+/5 = 1032.4$).

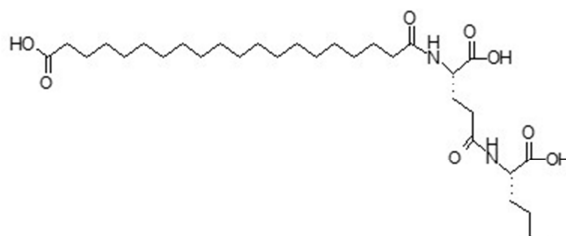
10

EJEMPLO 5

$X_1IVX_2SLDVPIGLLQILX_3EQEKQEKEKQQAK^*TNAX_4ILAQV-NH_2$

en donde X_1 es I en el cual el extremo N-terminal se modificó a través de metilación; X_2 es T; X_3 es L; X_4 es E; y el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con $([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_2-(\gamma E)_2-CO-(CH_2)_{18}-CO_2H$; y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO: 5). La estructura de esta secuencia se muestra a continuación.

25



5

10

La estructura de esta secuencia contiene el código de aminoácidos de letra única estándar con excepción de los residuos N-metil isoleucina en la posición 1, y K en la posición 29 donde las estructuras de estos residuos aminoácidos se han expandido.

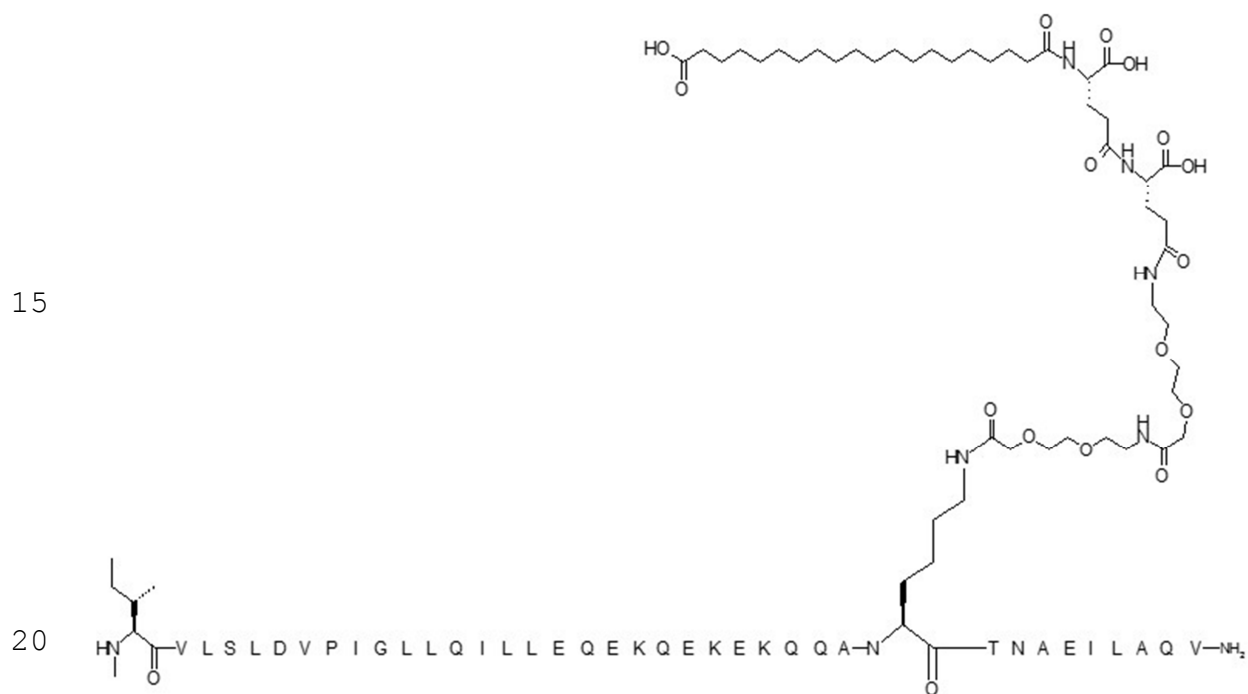
El compuesto de acuerdo con la SEQ ID NO: 5 de la presente invención se sintetizó de manera similar como se describe anteriormente por ejemplo 4.

En una síntesis realizada esencialmente como se describe anteriormente, la pureza del Ejemplo 5 se examinó por HPLC analítica de fase inversa, y la identidad se confirmó usando LC/MS (observado: $M+3H^+/3 = 1715.7$; Calculado $M+3H^+/3 = 1716.4$; observado: $M+4H^+/4 = 1287.0$; Calculado $M+4H^+/4 = 1287.5$; observado: $M+5H^+/5 = 1029.7$; Calculado $M+5H^+/5 = 1030.2$).

EJEMPLO 6

$X_1IVX_2SLDVPIGLLQILX_3EQEKQEKEKQQAK^*TNAX_4ILAQV-NH_2$

en donde X_1 es I en el cual el extremo N-terminal se modificó a través de metilación; X_2 es L; X_3 es L; X_4 es E; y
 5 el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con $([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_2-(\gamma E)_2-CO-(CH_2)_{18}-CO_2H$; y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO: 6). La estructura de esta secuencia se
 10 muestra a continuación.



La estructura de esta secuencia 6 contiene el código de aminoácidos de letra única estándar con excepción de los residuos N-Metil isoleucina en la posición 1 y K en la
 25 posición 29 donde las estructuras de estos residuos

aminoácidos se han expandido.

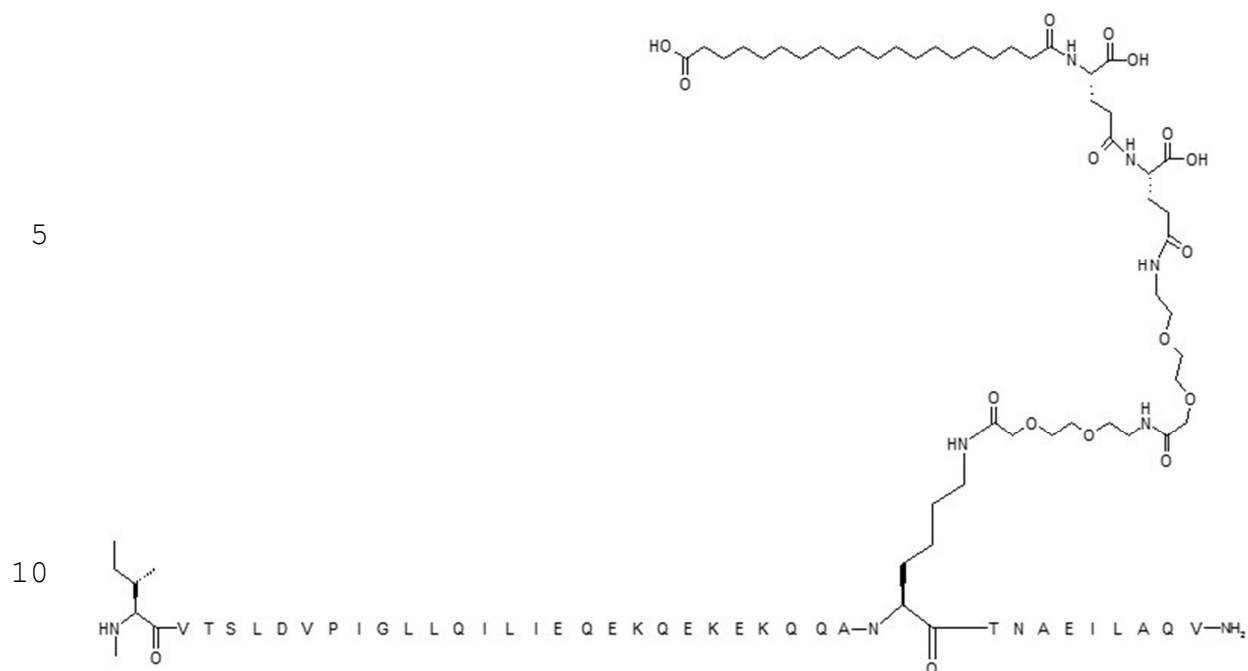
El compuesto de acuerdo con la SEQ ID NO: 6 de la presente invención se sintetizó de manera similar como se describe anteriormente por ejemplo 4.

5 En una síntesis realizada esencialmente como se describe anteriormente, la pureza del Ejemplo 6 se examinó por HPLC analítica de fase inversa, y la identidad se confirmó usando LC/MS (observado: $M+3H^+/3 = 1719.7$; Calculado $M+3H^+/3 = 1720.4$; observado: $M+4H^+/4 = 1289.8$; Calculado $M+4H^+/4 = 1290.5$; observado: $M+5H^+/5 = 1032.2$; Calculado $M+5H^+/5 = 1032.6$).

EJEMPLO 7

$X_1IVX_2SLDVPIGLLQILX_3EQEKQEKEKQQA K^*TNAX_4ILA QV-NH_2$

15 en donde X_1 es I en el cual el extremo N-terminal se modificó a través de metilación ; X_2 es T; X_3 es I; X_4 es E; y el K^* en la posición 29 es químicamente modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con $([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_2-(\gamma E)_2-CO-(CH_2)_{18}-CO_2H$;
20 y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO: 7). La estructura de esta secuencia se muestra a continuación.



La estructura de esta secuencia contiene el código de aminoácidos de letra única estándar con excepción de los
 15 residuos N-metil isoleucina en la posición 1 y K en la posición 29, donde las estructuras de estos residuos aminoácidos se han expandido.

El compuesto de acuerdo con la SEQ ID NO: 7 de la presente invención se sintetizó de manera similar como se
 20 describe anteriormente por ejemplo 4.

En una síntesis realizada esencialmente como se describe anteriormente, la pureza del Ejemplo 7 se examinó por HPLC analítica de fase inversa, y la identidad se confirmó usando LC/MS (observado: $M+3H^+/3 = 1715.6$; Calculado $M+3H^+/3 = 1716.4$; observado: $M+4H^+/4 = 1286.8$; Calculado $M+4H^+/4$
 25 $M+3H^+/3 = 1716.4$; observado: $M+4H^+/4 = 1286.8$; Calculado $M+4H^+/4$

=1287.5; observado: $M+5H^+/5$ =1029.8; Calculado $M+5H^+/5$ =1030.2).

EJEMPLO 8

Los siguientes compuestos de la presente invención
 5 se sintetizaron de manera similar como se describe
 anteriormente por ejemplo 4. Las estructuras mostradas a
 continuación contienen el código de aminoácidos de letra
 única estándar con excepción de los residuos N-metilados I en
 la posición 1 y K en la posición 29 donde las estructuras de
 10 estos residuos aminoácidos se han expandido.

X_1 IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQAK* TNAQILAQV-NH₂

en donde X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo
 I modificado por metilación;

en donde el K* en la posición 29 se ha modificado
 15 químicamente con la siguiente cadena lateral de ácido graso:

$-\gamma E-([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-(\gamma E)_2\text{-CO-}$
 $(CH_2)_{18}\text{-COOH}$; y el aminoácido C-terminal es amidado como una
 amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:9).

X_1 IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQAK* TNAQILAQV-NH₂

20 en donde X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo
 I modificado por metilación;

en donde el K* en la posición 29 se ha modificado
 químicamente con la siguiente cadena lateral de ácido graso:

$-\gamma E-([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-(\gamma E)_2\text{-CO-}(CH_2)_{16}\text{-COOH}$;

25 y el aminoácido C-terminal es amidado como una

amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:10).

X₁IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQAK* TNAQILAQV-NH₂

en donde X₁ tiene el extremo N-terminal del residuo
I modificado por metilación;

5 en donde el K* en la posición 29 se ha modificado
químicamente con la siguiente cadena lateral de ácido graso:

-γE-γE-γE-γE-CO-(CH₂)₁₈-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una
amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:11).

10 X₁IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQAK* TNAQILAQV-NH₂

en donde X₁ tiene el extremo N-terminal del residuo
I modificado por metilación;

en donde el K* en la posición 29 se ha modificado
químicamente con la siguiente cadena lateral de ácido graso:

15 -γE-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-γE-γE-CO-(CH₂)₁₈-
COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una
amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:12).

X₁IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQAK* TNAQILAQV-NH₂

20 en donde X₁ tiene el extremo N-terminal del residuo
I modificado por metilación;

en donde el K* en la posición 29 se ha modificado
químicamente con la siguiente cadena lateral de ácido graso:

25 -γE-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-γE-γE-CO-(CH₂)₁₈-
COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:13).

X₁IVLSLDVPIGLLQILLEQEKEKEKQQA^{*}K*^{*}TNAQILAQV-NH₂

en donde X₁ tiene el extremo N-terminal del residuo
5 I modificado por metilación;

en donde el K^{*} en la posición 29 se ha modificado químicamente con la siguiente cadena lateral de ácido graso:

-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-γE-γE-CO-(CH₂)₁₈-COOH;

10 y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:14).

EJEMPLO 9

Los siguientes compuestos de la presente invención
15 se sintetizaron de manera similar como se describe anteriormente por ejemplo 4. Las estructuras mostradas a continuación contienen los códigos de aminoácidos de letra única estándares. Todos los siguientes compuestos o moléculas sintéticas caen dentro del alcance de la Fórmula III. La
20 pureza de estos compuestos se analizó por HPLC analítica de fase inversa, y la identidad se confirmó usando LC/MS, de la manera resumida en la presente.

IVLSLDVPIGLLQK^{*}LLEQEKEKEKQQA^{*}TTNARILARV-NH₂

en donde el K^{*} en la posición 14 se ha modificado
25 químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la

cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma\text{E}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:21).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula
 5 III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es un residuo γE y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 14).

10 IVLSLDVPIGLLQIK*LEQEKQEKEKQQATTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 15 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma\text{E}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una
 15 amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:22).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula
 III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es un residuo γE y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el
 20 residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 15).

IVLSLDVPIGLLQILLK*QEKQEKEKQQATTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 17 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la
 25 cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma\text{E}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:23).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 17).

IVLSLDVPIGLLQILLEQK^{*}KQEKEKQQATTNARILARV-NH₂

10 en donde el K^* en la posición 19 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma$ E-CO-(CH₂)₁₄-CH₃;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:24).

15 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la
20 posición 19).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEK^{*}QEKEKQQATTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 20 se ha remplazado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma$ E-CO-(CH₂)₁₄-CH₃;

25 y el aminoácido C-terminal es amidado como una

amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:25).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 20).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKK^{*}EKEKQQATTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 21 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma\text{E-CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:26).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 21).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQK^{*}KEKQQATTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 22 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma\text{E-CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:27).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el
 5 residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 22).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEK * EKQQATTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 23 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la
 10 cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma\text{E}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:28).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5
 15 es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 23).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEK * KQQATTNARILARV-NH₂

20 en donde el K^* en la posición 24 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma\text{E}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:29).

25 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula

III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la
5 posición 24).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEK*QQATTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 25 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma$ E-CO-(CH₂)₁₄-CH₃;

10 y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:30).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5
15 es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 25).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEK*QQATTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 25 se ha modificado
20 químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma$ E- γ E-CO-(CH₂)₁₄-CH₃;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:31).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula
25 III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I

no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 25).

5 IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEK*QQATTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 25 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo -([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)- γ E-CO-(CH₂)₁₄-CH₃;

10 y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:32).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es una combinación de un residuo γ E y un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 25).

15 IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKK*QATTNARILARV-NH₂

20 en donde el K^* en la posición 26 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo - γ E-CO-(CH₂)₁₄-CH₃;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:33).

25 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula

III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la
5 posición 26).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKK*QATTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 26 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma$ E- γ E- CO-(CH₂)₁₄-CH₃;

10 y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:34).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5
15 es dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 26).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQK*ATTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 27 se ha modificado
20 químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma$ E-CO-(CH₂)₁₄-CH₃;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:35).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula
25 III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I

no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 27).

5 IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQK^{*}TTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 28 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma\text{E}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una
10 amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:36).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el
15 residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 28).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQAK^{*}TTNARILARV-NH₂

en donde el K^* en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la
20 cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma\text{E}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:37).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5
25

es un residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 29).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQAK*TNARILARV-NH₂

5 en donde el K^* en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma E-\gamma E-CO-(CH_2)_{14}-CH_3$;

 y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:38).

10 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_7 es T, X_8 es R, X_5 es dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la
15 posición 29).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQATK*NARILARV-NH₂

 en donde el K^* en la posición 30 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $-\gamma E-CO-(CH_2)_{14}-CH_3$;

20 y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:39).

 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es R, X_8 es R, X_5 es un
25 residuo γ E y X_6 es un ácido graso monoácido de C_{16} y el

residuo K* ha remplazado el aminoácido original (por ejemplo, X₇) en la posición 30).

IVLSLDVPIGLLQK* LLEQEKQEKEKQQATTNAQILAHV-NH₂

5 en donde el K* en la posición 14 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-γE-γE-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:40).

10 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X₁ es un residuo I no modificado, X₂ es L, X₃ es L, X₄ es Q, X₇ es T, X₈ es H, X₅ es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γE y X₆ es un ácido graso diácido de 15 C₁₈ y el residuo K* ha remplazado el aminoácido original en la posición 14).

IVLSLDVPIGLLQIK* LEQEKQEKEKQQATTNAQILAHV-NH₂

20 en donde el K* en la posición 15 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-γE-γE-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:41).

25 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X₁ es un residuo I

no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, X_7 es T, X_8 es H, X_5 es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{18} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la
 5 posición 15).

IVLSLDVPIGLLQILK*EQEKQEKEKQQATTNAQILAHV-NH₂

en donde el K^* en la posición 16 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-
 10 etoxi]-acetil)₂- γ E- γ E-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:42).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I
 15 no modificado, X_2 es L, X_4 es Q, X_7 es T, X_8 es H, X_5 es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{18} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original (por ejemplo, X_3) en la posición 16).

20 IVLSLDVPIGLLQILLK*QEKQEKEKQQATTNAQILAHV-NH₂

en donde el K^* en la posición 17 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-
 etoxi]-acetil)₂- γ E- γ E-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

25 y el aminoácido C-terminal es amidado como una

amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:43).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, X_7 es T, X_8 es H, X_5 es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{18} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 17).

IVLSLDVPIGLLQILLEK^{*}EKQEKEKQQATTNAQILAHV-NH₂

10 en donde el K^* en la posición 18 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂- γ E- γ E-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una
15 amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:44).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, X_7 es T, X_8 es H, X_5 es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{18} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 18).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKK^{*}EKEKQQATTNAQILAHV-NH₂

25 en donde el K^* en la posición 21 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la

cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-γE-γE-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:45).

5 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X₁ es un residuo I no modificado, X₂ es L, X₃ es L, X₄ es Q, X₇ es T, X₈ es H, X₅ es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γE y X₆ es un ácido graso diácido de 10 C₁₈ y el residuo K* ha remplazado el aminoácido original en la posición 21).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEK*QQATTNAQILAHV-NH₂

en donde el K* en la posición 25 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la 15 cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-γE-γE-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:46).

20 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X₁ es un residuo I no modificado, X₂ es L, X₃ es L, X₄ es Q, X₇ es T, X₈ es H, X₅ es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γE y X₆ es un ácido graso diácido de C₁₈ y el residuo K* ha remplazado el aminoácido original en la 25 posición 25).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKK*QATTNAQILAHV-NH₂

en donde el K* en la posición 26 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-
5 etoxi]-acetil)₂-γE-γE-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:47).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X₁ es un residuo I
10 no modificado, X₂ es L, X₃ es L, X₄ es Q, X₇ es T, X₈ es H, X₅ es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γE y X₆ es un ácido graso diácido de C₁₈ y el residuo K* ha remplazado el aminoácido original en la posición 26).

15 IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQAQK*TNAQILAHV-NH₂

en donde el K* en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-
etoxi]-acetil)₂-γE-γE-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

20 y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:48).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X₁ es un residuo I
no modificado, X₂ es L, X₃ es L, X₄ es Q, X₇ es T, X₈ es H, X₅
25 es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-

acetil) y dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{18} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 29).

IVLSLDVPIK*LLQILLEQEKEKEKQQATTNAQILAQV-amida

5 en donde el K^* en la posición 10 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂- γ E- γ E-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

 y el aminoácido C-terminal es amidado como una
10 amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:49).

 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, X_7 es T, X_8 es Q, X_5 es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-
15 etoxi]-acetil) y dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{18} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 10).

IVLSLDVPIGLLQILLK*QEKEKEKEKQQATTNAQILAQV-NH₂

 en donde el K^* en la posición 17 se ha modificado
20 químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂- γ E- γ E-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

 y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:50).

25 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula

III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, X_7 es T, X_8 es Q, X_5 es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{18} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 17).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKK*QATTNAQILAQV-NH₂

en donde el K^* en la posición 26 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂- γ E- γ E-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:51).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, X_7 es T, X_8 es Q, X_5 es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{18} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 26).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQA*K*TTNAQILAQV-NH₂

en donde el K^* en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂- γ E- γ E-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:52).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, X_7 es T, X_8 es Q, X_5 es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{18} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 29).

10 IVLSLDVPIGLLQILLK*QEKQEKEKQQATENAQILAQV-NH2

en donde el K^* en la posición 17 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂- γ E- γ E-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

15 y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:53).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 es un residuo I no modificado, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, X_7 es E, X_8 es Q, X_5 es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{18} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 17).

20 IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKK*QATENAQILAQV-NH2

25 en donde el K^* en la posición 26 se ha modificado

químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-γE-γE-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:54).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X₁ es un residuo I no modificado, X₂ es L, X₃ es L, X₄ es Q, X₇ es E, X₈ es Q, X₅ es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γE y X₆ es un ácido graso diácido de C₁₈ y el residuo K* ha remplazado el aminoácido original en la posición 26).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQA^{*}K*ENAIILAQV-NH₂

en donde el K* en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-γE-γE-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:55).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X₁ es un residuo I no modificado, X₂ es L, X₃ es L, X₄ es Q, X₇ es E, X₈ es Q, X₅ es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y dos residuos γE y X₆ es un ácido graso diácido de C₁₈ y el residuo K* ha remplazado el aminoácido original en la

posición 29).

IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQA^{*}K*ENAIQILAQV-NH₂

en donde el K^{*} en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la
5 cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-γE-CO-(CH₂)₁₆-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:56).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula
10 III (porque, en esta modalidad particular, X₁ es un residuo I no modificado, X₂ es L, X₃ es L, X₄ es Q, X₇ es E, X₈ es Q, X₅ es una combinación de dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y un residuo γE único y X₆ es un ácido graso diácido de C₁₈ y el residuo K^{*} ha remplazado el aminoácido original en
15 la posición 29).

X₁IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQA^{*}K*ENAEILAQV-NH₂

en donde X₁ tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación;

en donde el K^{*} en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la
20 cadena lateral K se une con un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-γE-γE-CO-(CH₂)₁₈-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:57).

25 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula

III (porque, en esta modalidad particular, X_1 representa que el residuo I se ha metilado en el extremo N-terminal, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es E, X_7 es E, X_8 es Q, X_5 es una combinación de un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) único y dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{20} y el residuo K^* ha
 5 remplazado el aminoácido original en la posición 29).

X_1 IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQA K^* ENAEILAQV-NH₂

en donde X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación;

10 en donde el K^* en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo γ E $-\gamma$ E-CO-(CH₂)₁₈-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:58).

15 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 representa que el residuo I se ha metilado en el extremo N-terminal, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es E, X_7 es E, X_8 es Q, X_5 es dos residuos γ E y X_6 es un ácido graso diácido de C_{20} y el residuo K^* ha remplazado
 20 el aminoácido original en la posición 29).

X_1 IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQA K^* ENAEILAQV-NH₂

en donde X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación;

25 en donde el K^* en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la

cadena lateral K se une con un grupo $\gamma\text{E}-([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})-\gamma\text{E}-\gamma\text{E}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{COOH}$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:59).

5 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 representa que el residuo I se ha metilado en el extremo N-terminal, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es E, X_7 es E, X_8 es Q, X_5 es una combinación de un residuo γE , un grupo $([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})$ y
10 luego dos residuos γE más γE y X_6 es un ácido graso diácido de C_{20} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 29).

$X_1\text{IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQAK}^*\text{TNAQILAQV-NH}_2$

 en donde X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo
15 I modificado por metilación;

 en donde el K^* en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $\gamma\text{E}-([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-\gamma\text{E}-\gamma\text{E}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{COOH}$;

20 y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:60).

 Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 representa que el residuo I se ha metilado en el extremo N-terminal, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, X_7 es T, X_8 es Q, X_5 es una combinación de un
25

residuo γE , dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y luego dos residuos γE más γE y X_6 es un ácido graso diácido de C_{20} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 29).

5 $X_1IVLSLDVPIGLLQILLEQEKEKEKQQA K^*TNAQILAQV-NH_2$

en donde X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación;

en donde el K^* en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la
10 cadena lateral K se une con un grupo $\gamma E-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-\gamma E-\gamma E-CO-(CH_2)_{18}-COOH$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:61).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula
15 III (porque, en esta modalidad particular, X_1 representa que el residuo I se ha metilado en el extremo N-terminal, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, X_7 es T, X_8 es Q, X_5 es una combinación de un residuo γE , un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y luego dos residuos γE más γE y X_6 es un ácido graso diácido de
20 C_{20} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 29).

$X_1IVLSLDVPIGLLQILLEQEKEKEKQQA K^*TNAQILAQV-NH_2$

en donde X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación;

25 en donde el K^* en la posición 29 se ha modificado

químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $\gamma\text{E}-\gamma\text{E}-([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-\gamma\text{E}-\gamma\text{E}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{COOH}$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:62).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 representa que el residuo I se ha metilado en el extremo N-terminal, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, X_7 es T, X_8 es Q, X_5 es una combinación de dos residuos γE , dos grupos $([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})$ y luego dos residuos γE más γE y X_6 es un ácido graso diácido de C_{20} y el residuo K^* ha remplazado el aminoácido original en la posición 29).

$\text{X}_1\text{IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQA}\text{K}^*\text{TNAQILAQV-NH}_2$

en donde X_1 tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación;

en donde el K^* en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo $\gamma\text{E}-\gamma\text{E}-([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})-\gamma\text{E}-\gamma\text{E}-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{18}-\text{COOH}$;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:63).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X_1 representa que el residuo I se ha metilado en el extremo N-terminal, X_2 es L,

X₃ es L, X₄ es Q, X₇ es T, X₈ es Q, X₅ es una combinación de dos residuos γE, un grupo ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) único y luego dos residuos γE más γE y X₆ es un ácido graso diácido de C₂₀ y el residuo K* ha remplazado el aminoácido original en la posición 29).

X₁IVLSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQA K* TNAQILAQV-NH₂

en donde X₁ tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación;

en donde el K* en la posición 29 se ha modificado químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo γE-γE-γE-γE-CO-(CH₂)₁₈-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:64).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X₁ representa que el residuo I se ha metilado en el extremo N-terminal, X₂ es L, X₃ es L, X₄ es Q, X₇ es T, X₈ es Q, X₅ es una combinación de cuatro residuos γE y X₆ es un ácido graso diácido de C₂₀ y el residuo K* ha remplazado el aminoácido original en la posición 29).

X₁IVTSLDVPIGLLQILLEQEKQEKEKQQA K* TNAEILAQV-NH₂

en donde X₁ tiene el extremo N-terminal del residuo I modificado por metilación;

en donde el K* en la posición 29 se ha modificado

químicamente de manera que el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K se une con un grupo γ E-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂- γ E- γ E-CO-(CH₂)₁₈-COOH;

y el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:66).

Esta secuencia cae dentro del alcance de la Fórmula III (porque, en esta modalidad particular, X₁ representa que el residuo I se ha metilado en el extremo N-terminal, X₂ es T, X₃ es L, X₄ es E, X₇ es T, X₈ es Q, X₅ es una combinación de un residuo γ E, dos grupos ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) y luego dos residuos γ E más γ E y X₆ es un ácido graso diácido de C₂₀ y el residuo K* ha remplazado el aminoácido original en la posición 29).

Se debe señalar que, además de los métodos para preparar los compuestos descritos anteriormente, también se puede usar una síntesis convergente. Por ejemplo, en esta síntesis convergente, se construye y/u obtiene una cadena lateral de lisina acilada. Este fragmento de cadena lateral de lisina acilada puede tener los fragmentos ácidos ortogonalmente protegidos como ésteres de t-butilo u otros grupos protectores comúnmente conocidos en la síntesis de péptidos. Se cree que tal método de síntesis puede producir la cadena lateral acilada con alta pureza, $\geq$ 98% que puede reducir los requerimientos de cromatografía corriente abajo, potencialmente conduciendo a una pureza mejorada y eficiencia

de proceso aumentada. Por ejemplo, en una construcción toda lineal, el componente de lisina acilada (es decir, la cadena lateral de ácido graso que tiene las porciones amino-etoxi, etc.) típicamente se instala en el extremo de la síntesis, y esto puede crear altos niveles de impurezas de proceso tales como, pero no limitado a impurezas que tienen mayor o menor número de porciones de amino-etoxi que pueden ser problemáticas de remover. El uso de la estrategia convergente (resumida en la presente) puede desarriesgar una estrategia de construcción sintética toda lineal, en donde un error único puede resultar en una pérdida total. Además, el uso de un procedimiento de síntesis convergente puede mejorar la flexibilidad de cadena de suministro con requerimientos de recursos comparables a una construcción toda lineal estándar. Adicionalmente una estrategia de síntesis convergente también puede ser un medio para disminuir COPS (costo de producto vendido) y mejorar adicionalmente la robustez. Otro beneficio puede ser que el residuo N-metil isoleucina de extremo N-terminal es frecuentemente un acoplamiento difícil para un péptido grande. La incorporación de N-metil isoleucina en un fragmento menor puede ser potencialmente un buen medio de des-arriesgar este problema de acoplamiento.

Usando el compuesto del Ejemplo 4 como un ejemplo, la cadena lateral de lisina acilada está cercana al extremo C-terminal, una ruptura retrosintética estratégica para un

proceso de síntesis convergente puede ser entre la alanina (A) en la posición 28 y la lisina (K) en la posición 29. Por lo tanto, este "fragmento" incluirá la lisina en la posición 29 (y su cadena lateral acompañante) junto con los 9 residuos
5 finales (conduciendo hasta el extremo C-terminal). En algunas modalidades, este "fragmento" puede ser el fragmento de origen primario producido en la resina de amida Rink o amida Sieber. Otra desconexión retrosintética puede ser entre la Glicina (G) en la posición 10 y la Leucina (L) en la posición
10 11. Producir un fragmento de estas secuencias puede asegurar que tal secuencia no tiene (o una menor) propensión para racemización. El tercer fragmento de 18 aminoácidos (por ejemplo, desde el residuo en la posición 11 a la Alanina en la posición 28 también se podría producir. Este fragmento de
15 18 residuos, junto con el fragmento de 10 aminoácidos inicial (por ejemplo, el extremo N-terminal a la G en la posición 10) se podrían producir, por ejemplo, por una resina 2-CTC. La resina 2-CTC a menudo se puede referir para la síntesis de la mayoría de fragmentos ya que la resina se puede escindir
20 ortogonalmente mientras deja intactos los grupos protectores de péptido salientes.

Por lo tanto, en resumen, el siguiente método de síntesis para el compuesto del Ejemplo 4 se proporciona a continuación:

25 1) Construir la cadena lateral de ácido graso que se

conecta a una lisina (por ejemplo, el K que finalmente será K en la posición 29);

- 2) Construir un fragmento de 10 aminoácidos comenzando con la lisina con la cadena lateral de ácido graso (por ejemplo, el K que finalmente será K en la posición 29) y añadir los otros aminoácidos hasta terminar en el extremo C-terminal después del residuo V final;
- 3) Construir el fragmento de 18 residuos aminoácidos, comenzando con el L en la posición 11 y terminando con el A en la posición 28;
- 4) Construir el fragmento de 10 aminoácidos comenzando con el I modificado en la posición 1 y terminando con el G en la posición 10;
- 5) El fragmento de 18 residuos de la etapa 3 se podría acoplar al fragmento de 10 residuos de la etapa 4, y luego este constructo de 28 residuos se podría acoplar al fragmento de la etapa 2 (que tiene la cadena lateral); alternativamente el fragmento de 18 residuos de la etapa 3 se podría acoplar al fragmento de 10 aminoácidos añadido de la etapa 2 y, luego este constructor de residuos se podría acoplar al fragmento de la etapa 4.

Una vez más, uno de los beneficios de usar esta técnica de construcción basada en "fragmentos" es que cada

fragmento se podría producir secuencial o simultáneamente. Además, los fragmentos más pequeños de los péptidos pueden ser más fáciles de purificar y, a veces, pueden aislarse en forma cristalina lo que confiere una alta pureza. Del mismo modo, si se produce un error en uno de los fragmentos, sólo ese fragmento tiene que ser desechado y recreado (en lugar de tener que volver a crear el compuesto completo). Otras rupturas estratégicas de fragmentos son posibles para mejorar adicionalmente la pureza y eficiencia tales como, pero no limitadas a, condensación de fragmentos para producir el residuo de 18 aminoácidos.

En algunas modalidades, la liofilización se puede incorporar como la estrategia como un medio de des-arriesgar los problemas potenciales de propiedad física del compuesto. Específicamente, el compuesto se puede construir, el cual se purifica por cromatografía. Una vez purificada, la solución se puede concentrar y luego aislar como un sólido (por ejemplo, polvo seco) mediante liofilización. En modalidades alternativas, se puede obtener un sólido y aislarlo usando un procedimiento de precipitación/filtración/secado/humidificación.

La liofilización es el medio industrial más comúnmente practicado ($\geq 80\%$) para la producción de productos farmacéuticos de péptido sólidos para el almacenamiento o reconstitución. En algunas modalidades, el principal

inconveniente de la precipitación es el extenso material y el desarrollo del espacio de diseño necesarios para asegurar un proceso robusto. Los compuestos precipitados también pueden contener partículas de alta densidad que tienden a aglomerarse y con frecuencia estos productos precipitados pueden disolverse lentamente con ensayos de disolución estándar y/o formulaciones de producto farmacéutico. Por otra parte, el producto de alta área de superficie producido por liofilización puede asegurar velocidades de disolución maximizadas en ensayos de disolución y/o formulaciones de productos farmacéuticos. Sin embargo, también se pueden usar productos de precipitación, ya que este método tiende a ser menos costoso para productos de alto volumen.

En otra modalidad, la presente invención también se dirige a un compuesto que comprende la siguiente secuencia de aminoácidos:

X_1 I V X_2 S L D V P I G L L Q I L X_3 E Q E K Q E K E K Q Q A K
T N A X_4 I L A Q V-NH₂

en donde X_1 indica que el residuo I se modifica ya sea por acetilación o metilación en el extremo N-terminal;

en donde X_2 es L o T;

en donde X_3 es L o I;

en donde X_4 es Q o E (SEQ ID NO: 18).

Esta secuencia tiene uso como intermedio. Específicamente, esta secuencia se puede usar como un

intermedio para construir los compuestos descritos en la presente. En este método particular, la síntesis en este intermedio comenzaría en una fase sólida (de la manera descrita anteriormente) partiendo del V en la posición 38 y
5 terminando en el I (ya sea con el grupo acilo o N-metilo en el extremo N-terminal). Una vez construida esta secuencia, el K en la posición 29 sería desprotegido de manera que se remueve el grupo protector ortogonal. Luego, el grupo particular de la fórmula $-X_5-X_6$ se podría añadir al grupo
10 epsilon-amino de la cadena lateral K en la posición 29. Cualquiera de las cadenas laterales particulares del grupo de la fórmula $-X_5-X_6$ resumida en la presente se puede usar. Tal adición del grupo de la fórmula $-X_5-X_6$ se puede añadir mientras el péptido está todavía unido a la fase sólida.
15 Después de añadir el grupo de la fórmula $-X_5-X_6$, el péptido se puede liberar de la resina y purificar.

ENSAYOS

A continuación se proporcionan las condiciones y
20 los datos para algunos de los ejemplos citados anteriormente en varios ensayos: la función y selectividad *in vitro*, farmacocinética, diabetes tipo II, atrofia muscular, enfermedad renal crónica (nefropatía diabética, nefropatía hipertensa), y presión arterial.

Función y selectividad *in vitro*

La actividad agonística de CRHR se midió en un ensayo de cAMP basado en células. Las diluciones en serie de los péptidos de prueba se prepararon en amortiguador de ensayo que contiene solución salina balanceada de Hank (HBSS, sin rojo de fenol) suplementada con HEPES 20 mM e hidrolizado enzimático de lactalbúmina al 0.05% (LAH) ("amortiguador de ensayo"). La concentración más alta que se utilizó comienza desde 1 μ M en el CRHR2b humano, mientras que la concentración inicial de 100 μ M se utilizó en el ensayo de CRHR1 humano. Una dilución uno a tres de péptidos de prueba se utilizó en ambos ensayos.

Se utilizó la línea celular de ovarios de hámster chino (CHO) que sobreexpresa el receptor para el ensayo de CRHR2b humano. Las células CHO se cultivaron en DMEM suplementado con suero bovino fetal al 10% a 37°C bajo condiciones de suspensión y se transfectaron temporalmente con constructos de ADNc de CRHR2b humano (número de acceso de Genbank: AF011406.1). Cuarenta y ocho horas después de la transfección, las células se centrifugaron para remover los medios de cultivo y se resuspendieron en suero bovino fetal que contiene DMSO al 5%. Se congelaron criogénicamente y se almacenaron en viales en nitrógeno líquido (20 x 10⁶ células/ml/vial). El día del ensayo, las células se descongelaron y se resuspendieron en 30 ml de medio de

cultivo frío suplementado con HEPES 20 mM. Las células luego se centrifugaron para remover el medio y se lavaron una vez con HBSS suplementado con HEPES 20 mM. Finalmente, después de la última centrifugación, las células se resuspendieron en amortiguador de ensayo. Treinta mil células se usaron en el ensayo de CRHR2b humano para cada tratamiento.

La línea celular de retinoblastoma humano Y79 (ATCC # HTB-18), que expresa CRHR1 humano endógeno, se utilizó en el ensayo de CRHR1 humano. Las células se cultivaron en RPMI 1640 (Hyclone, # SH30255) que contiene suero bovino fetal al 20% y HEPES 10 mM, en cultivo de suspensión. Las células se centrifugaron para remover el medio de cultivo y se lavaron una vez en HBSS suplementado con HEPES 20 mM. Las células se resuspendieron en el amortiguador de ensayo y se usaron 20,000 células por tratamiento en el ensayo de CRHR1 humano.

Las células se dispensaron en placas de EIA/RIA de de área media de poliestireno, negras de 96 cavidades Costar (Corning Incorporated, Corning, NY) seguido por la adición de los péptidos diluidos, cada uno a un volumen de 20 µl. Los niveles de cAMP inducidos por agonistas se detectaron usando un kit HTRF cAMP Dynamic 2 (CisBio, Bedford, MA). Después de la incubación a 37°C durante 30 min, el ensayo se detuvo por lisis celular mediante la adición de 20 µl de cAMP marcado con d2 y seguido de 20 µl de anticuerpo anti-cAMP marcado con criptato, como se describe por el fabricante. El cAMP celular

(como resultado de la estimulación agonista) compite con el cAMP marcado con d2 por la unión al anticuerpo. La detección de HTRF se realizó en un lector de placas Envision (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences, Waltham, MA) midiendo la
 5 emisión radiométrica a 620 y 665 nm después de la excitación a 320 nm.

Los datos se convirtieron a picomoles de cAMP usando una curva estándar obtenida del mismo ensayo realizado con concentraciones variables de cAMP no marcado. El
 10 porcentaje de la activación máxima de las células se calculó usando datos de picomol de cAMP convertidos en comparación con la cantidad de cAMP producido por UCN2 humana 1 μ M para CRHR2b humano o UCN1 humana 1 μ M para el ensayo de CRHR1 humano. Los datos se analizaron usando una herramienta de
 15 ajuste de curvas para calcular la ED50. Los valores numéricos mostrados a continuación en la Tabla 1 representan la media de múltiples corridas (número de corridas mostradas entre paréntesis) siguiendo el valor medio $\pm$ SEM.

20 **Tabla 1. Actividad *in vitro* para hCRHR2b y hCRHR1.**

Ejemplo	hCRHR2b	hCRHR1
	EC50 promedio (nM)	EC50 promedio (nM)
hUCN1	0.81 $\pm$ 0.96 (n=14)	7.30 $\pm$ 3.65 (n=23)
hUCN2	0.19 $\pm$ 0.12 (n=32)	>100000 (n=6)
25 Ejemplo 1	2.44 $\pm$ 1.36 (n=3)	~10000 (n=5)

Ejemplo 2	1.20 ± 0.52 (n=4)	>10000 (n=4)
Ejemplo 3	2.00 ± 1.11 (n=5)	>100000 (n=4)
Ejemplo 4	1.85 ± 0.51 (n=8)	>100000 (n=4)
Ejemplo 5	1.01 ± 0.23 (n=8)	33891 ± 16067 (n=4)
Ejemplo 6	2.50 ± 1.06 (n=8)	>100000 (n=4)
Ejemplo 7	0.94 ± 0.05 (n=4)	~100000 (n=4)

Estos datos demuestran que los compuestos de los Ejemplos 1 a 7 tienen actividad agonista de CRHR2 en un ensayo de cAMP. Estos datos demuestran además que los compuestos de los Ejemplos 1 a 7 son selectivos para CRHR2, sobre CRHR1.

Farmacocinética

Las concentraciones en plasma de los compuestos se determinaron por métodos de LC/MS. Cada método midió el compuesto intacto; péptido más extensión de tiempo enlazada. Para cada ensayo, el compuesto y un análogo, usado como un estándar interno (IS), se extrajeron de 100% de plasma de ratón, rata o mono (25 µl) usando acetonitrilo. Dos capas distintas se formaron tras la centrifugación con el compuesto y el IS situado en la capa sobrenadante. Se transfirió una alícuota del sobrenadante (80 µl) a una Placa de Precipitación de Proteína Termoeléctrica con agua (150 µl) y ácido fórmico (25 µl) seguido de mezclado. Se cargó un acetonitrilo al 31% final en una muestra de ácido fórmico al 10% (10 µl) en una columna Supelco Analytical Discovery BIO

Wide Pore C5-3 (5 cm X 1 mm, 3 μ m). El efluente de la columna se dirigió a un espectrómetro de masas Thermo Q-Exactive para detección y cuantificación.

A los monos Cynomolgus macho se les administró una
5 dosis subcutánea o dosis intravenosa única (96.4 nmol/kg) de un compuesto descrito en la presente en amortiguador Tris-HCl 20 mM (pH 7) a un volumen de 1 ml/kg. Se recolectó sangre de cada animal a las 2, 6, 24, 48, 72, 96, 168, 240, 336, 408 y 504 horas después de la dosis para caracterización
10 farmacocinética.

A los monos Cynomolgus macho se les administró también una dosis subcutánea única (50 nmol/kg) de un compuesto descrito en la presente en amortiguador Tris-HCl 20 mM (pH 8) a un volumen de 0.26 ml/kg. Se recolectó sangre de
15 cada animal a las 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 192, 240, 336, 408, y 504 horas después de la dosis para la caracterización farmacocinética.

A las ratas macho Sprague Dawley se les administró una dosis subcutánea única (50 o 150 nmol/kg) de un compuesto
20 descrito en la presente en amortiguador Tris Tris-HCl 20 mM (pH 8) a un volumen de 0.26 o 0.77 ml/kg. Se recolectó sangre de cada animal a las 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 240, 288 y 336 horas después de la dosificación para caracterización farmacocinética.

25 A los ratones macho CD-1 se les administró una

dosis subcutánea única (350, 386 o 388 nmol/kg) de un compuesto descrito en la presente en amortiguador Tris Tris-HCl 20 mM (pH 7 u 8) a un volumen de 0.05 o 0.06 ml/animal. Se recolectó sangre a las 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 y 168 horas después de la dosis para caracterización farmacocinética (101).

Tabla 2: Parámetros Farmacocinéticos Individuales y Medios Después de una Dosis Subcutánea Única de 50 O 96.4 nmol/kg a Monos Cynomolgus Macho

Compuesto (dosis)		T _{1/2} (hr)	T _{máx} (hr)	C _{máx} (nmol/L)	AUC _{0-inf} (hr*nmol/L)	CL/F (mL/hr/kg)
Ejemplo 2 (96.4 nmol/kg)		97	24	1238	237954	0.41
		84	48	1699	245711	0.39
	Media	91	36	1469	241833	0.40
Ejemplo 3 (50 nmol/kg)		101	48	441	69880	0.72
		70	24	432	58414	0.86
	Media	85	36	437	64147	0.79
Ejemplo 4 (50 nmol/kg)		79	48	333	51829	0.97
		106	24	291	46654	1.07
	Media	93	36	312	49241	1.02

Abreviaturas para esta tabla: AUC_{0-inf} = área bajo la curva desde el tiempo 0 horas hasta infinito, CL/F = depuración/biodisponibilidad, T_{máx} = tiempo hasta la máxima concentración, C_{máx} = máxima concentración en plasma

observada, $T_{1/2}$ = vida media.

**Tabla 3: Parámetros Farmacocinéticos Individuales y Medios
Después de una Dosis Intravenosa Única de 96.4
nmol/kg a Monos Cynomolgus Macho**

Compuesto (dosis)		$T_{1/2}$	C_0	AUC_{0-inf}	CL
		(hr)	(nmol/L)	(hr*nmol/L)	(mL/hr/kg)
Ejemplo 2 (96.4 nmol/kg)		124	3267		0.28
		98	3059		0.36
	Media	111	3163	305766	0.32

Abreviaturas para esta tabla: AUC_{0-inf} = área bajo la curva desde el tiempo 0 horas hasta infinito, CL = depuración, C_0 = concentración en plasma estimada en el tiempo cero, $T_{1/2}$ = vida media.

**Tabla 4: Parámetros Farmacocinéticos Individuales y Medios
Después de una Dosis Subcutánea Única de 50 o 150
nmol/kg a Ratas Sprague Dawley Macho**

Compuesto (dosis)		$T_{1/2}$	$T_{máx}$	$C_{máx}$	AUC_{0-inf}	CL/F
		(hr)	(hr)	(nmol/L)	(hr*nmol/L)	(mL/hr/kg)
Ejemplo 2 (150 nmol/kg)		37	24			4.1
		32	24			4.9
		34	24			5.0
	Media	34	24	429	32268	4.7
	SD	3	0	53	3532	0.5
Ejemplo 3 (50)		16	12	188		6.2
		14	24	160		7.5

	nmol/kg)		17	24	141		7.3
		Media	16	20	163	7175	7.0
		SD	1	7	24	784	1.0
5	Ejemplo 3 (150 nmol/kg)		16	24	531		6.0
			16	24	496		6.2
			16	24	470		6.4
		Media	16	24	499	24363	6.0
		SD	0	0	31	801	0.0
10	Ejemplo 4 (50 nmol/kg)		19	24	126		6.4
			21	24	150		6.6
			20	24	127		7.0
		Media	20	24	134	7513	7.0
		SD	1	0	14	326	0.0
	Ejemplo 4 (150 nmol/kg)		21	24	356		6.8
			20	24	527		5.3
			21	24	482		6.0
		Media	21	24	455	25057	6.0
		SD	0	0	89	3136	1.0

Abreviaturas para esta tabla: AUC_{0-inf} = área bajo la curva desde el tiempo 0 horas hasta infinito, CL/F = depuración/biodisponibilidad, $T_{máx}$ = tiempo hasta la máxima concentración, $C_{máx}$ = máxima concentración en plasma observada, $T_{1/2}$ = vida media.

Tabla 5: Parámetros Farmacocinéticos Medios Después de una Dosis Subcutánea Única a Ratones CD-1 Macho

Compuesto (dosis)	Estudio	$T_{1/2}$	$T_{máx}$	$C_{máx}$	AUC_{0-inf}	CL/F
		(hr)	(hr)	(nmol/L)	(hr*nmol/L)	(mL/hr/kg)
Ejemplo 1 (388 nmol/kg)	8296049	16	12	1149	32209	12.1

5

Ejemplo 2 (386 nmol/kg)	8296049	20	12	1152	46488	8.3
Ejemplo 3 (350 nmol/kg)	8323964	14	12	1338	35527	9.9
Ejemplo 4 (350 nmol/kg)	8315101	18	24	1164	51552	6.8

10

Abreviaturas para esta tabla: AUC_{0-inf} = área bajo la curva desde el tiempo 0 horas hasta infinito, CL/F = depuración/biodisponibilidad, T_{máx} = tiempo hasta la máxima concentración, C_{máx} = máxima concentración observada, T_{1/2} = vida media.

15

Estos datos demuestran que los compuestos anteriores tienen un perfil farmacocinético adecuado para una administración semanal u otros tipos de administración tales como bimensual o mensual.

Diabetes Tipo II

20

Modelo de Obesidad Inducida por la Dieta in vivo (DIO) - administración de dosis crónica

25

El modelo de DIO representa un estado pre-diabético que es sensible a la insulina. Estos animales, aunque no diabéticos, exhiben resistencia a la insulina, dislipidemia, y esteatosis hepática, todas las características del síndrome

metabólico, después de ser colocados en una dieta de alto contenido de grasa (60% de Kcal de la grasa) durante 12 semanas (Surwit RS et al., Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes* 37(9): 1163-7 (1988)). El propósito
5 de este estudio es evaluar los efectos de las moléculas de los Ejemplos 4, 5, 6 y 7 en la glucosa en ayuno, insulina en ayuno, pérdida de peso y composición corporal.

Ratones C57BL6 macho de 22 semanas de edad (en dieta con alto contenido de grasa desde las 6 semanas de
10 edad, Jackson Laboratories 3800050, Bar Harbor, ME) se alojaron 1 por jaula y se mantuvieron con chow D12492 (dieta con alto contenido de grasa de 60% de manteca de cerdo: Research diets New Brunswick NJ) durante 2 semanas en el vivero y en un ciclo de luz normal antes del inicio del
15 experimento. Los animales se aleatorizaron por peso corporal a los grupos de tratamiento usando aleatorización en bloques. El día 1 del experimento los animales y los alimentos se pesaron y se registraron. Los animales se separaron en dos grupos iguales y se iniciaron en días separados (datos
20 combinados) para simplificar la logística del estudio. A los animales se les administró una inyección subcutánea única (sc) del tratamiento indicado en citrato 20 mM pH 7 en los días 1 (inicio), 4, 7, 10 y 13 del experimento a un volumen de 10 ml/kg. A los animales de control de vehículo se les
25 inyectó un volumen similar de esta solución. Las soluciones

se conservaron en viales estériles tapados almacenados a 4°C durante la duración del estudio. Cada grupo de tratamiento tiene un n de 5 ratones por grupo.

Desde el día 1 de estudio hasta el día 15 del estudio, los animales y sus alimentos se pesaron diariamente antes de la administración de la dosis. Estos datos se usaron para calcular la ganancia de peso corporal y el consumo de alimentos. Los animales o la rejilla de alambre que contiene los alimentos se colocaron en una bandeja de pesaje y se dejó que el equilibrio se estabilizará. El peso se registró.

En el día 15 del estudio, los animales se mantuvieron en ayuno durante la noche (aproximadamente 16-18 horas) colocándolos en una jaula limpia con una rejilla de alambre limpia sin comida pero permitiendo el acceso al agua y en el día 16 se sometieron a una prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (ipGTT). Esto se realizó como sigue; la cola del animal se reseco y se recolectaron muestras de sangre y suero basales (Tiempo 0) y los animales se inyectaron intraperitonealmente (ip) con un bolo de 2 g/kg de glucosa en solución salina estéril a un volumen de 5 ml/kg. Posteriormente, las muestras de glucosa en sangre y suero para insulina se recolectaron a los 20, 60 y 120 minutos después de la inyección. La glucosa en sangre se midió usando un medidor de glucosa Accu-Chek Aviva (Roche, Indianapolis, IN). Las muestras de suero se centrifugaron en una micro-

centrífuga de hematocritos a 9000 de fuerza centrífuga relativa (rcf) durante 5 minutos. El suero se recolectó y se analizó para insulina usando un kit de insulina de rata/ratón (Mesoescala Discovery). La significancia estadística (* = $p > 0.05$ vs. 0 dosis; post hoc de Dunnett de ANOVA de una vía) se calculó usando el software GraphPad Prism (La Jolla, CA). El AUC de glucosa e insulina se calculó usando el software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA). El área se calculó entre 0 y la curva, comenzando desde el primer valor X en el conjunto de datos y terminando en el valor X más grande (desde 0, regla Trapezoidal).

En el día 1 del estudio y el día 15 de estudio (antes del ayuno para la medición de IPGTT), la composición corporal se analizó usando un analizador de Resonancia Magnética Nuclear Cuantitativa EchoMRI (EMR-166-s, EchoMRI, Houston Tx). Después de calibrar el analizador con una cantidad conocida de aceite de canola, los animales se colocaron en el analizador que mide la masa grasa y no grasa (magra) en gramos. El cambio de la masa se calculó restando el valor del día 15 del valor del día 1.

Las Tablas 6, 7, 8 y 9 a continuación muestran los datos correspondientes para cada una de las mediciones anteriores. Los datos se representan como la media aritmética con SEM.

Los datos en las Tablas 6 a 9 demuestran que la

administración subcutánea de los Ejemplos 4-7 una vez cada tres días durante 15 días consecutivos resulta en las siguientes diferencias significativas: (1) disminuciones de: peso corporal total y composición corporal mejorada
5 (representada como una disminución de masa de grasa sin cambios significativos en la masa magra) en comparación con los ratones de DIO de vehículo. Además, los ejemplos 4-7 cuando se inyectaron cada tercer día s.c. durante 15 días consecutivos mostraron las siguientes diferencias
10 significativas: (1) reducción de la glucosa sérica en ayuno e insulina sérica y (2) mejoras de: tolerancia a la glucosa (representada por las reducciones de AUC de glucosa e insulina durante IPGTT). Cuando se calculó una ED_{50} para la disminución de insulina sérica en ayuno, el Ejemplo 4, 5, y 6
15 produjeron ED_{50} de 6.47, 6.23 y 16.97 nmol/kg, respectivamente.

20

25

Tabla 6. Administración de dosis crónica *in vivo* en ratones de DIO macho.

Ejemplo 4

Dosis	0 nmol/kg (n=5)	2.4 nmol/kg (n=5)	7.2 nmol/kg (n=5)	24 nmol/kg (n=5)	72 nmol/kg (n=5)	144 nmol/kg (n=5)	ED50 (nmol/kg)
Cambio de peso corporal (% de cambio $\pm$ SEM)	3.7 $\pm$ 0.66	2.3 $\pm$ 1.6	-0.52 $\pm$ 1.2	-4.1 $\pm$ 1.6*	-15 $\pm$ 1.2*	-15 $\pm$ 0.98*	29.03
Glucosa en sangre en ayuno (mg/dL $\pm$ SEM)	119 $\pm$ 5.6	93 $\pm$ 6.4*	80 $\pm$ 3.8*	86 $\pm$ 4.6*	80 $\pm$ 3.8*	78 $\pm$ 3.2*	Ambigua
Insulina sérica en ayuno (ng/mL $\pm$ SEM)	1.4 $\pm$ 0.24	1.3 $\pm$ 0.08	0.56 $\pm$ 0.21	0.52 $\pm$ 0.14	0.25 $\pm$ 0.15*	0.6 $\pm$ 0.4	4.30
AUC de glucosa en sangre durante ipGTT (mg/dL $\times$ min ⁻¹)	46831 $\pm$ 2531	32016 $\pm$ 3812*	31918 $\pm$ 2396*	31649 $\pm$ 2174*	29750 $\pm$ 3055*	27984 $\pm$ 1481*	Ambigua
AUC de insulina sérica durante ipGTT (ng/mL $\times$ min ⁻¹)	285 $\pm$ 39	313 $\pm$ 22	218 $\pm$ 42	205 $\pm$ 31	132 $\pm$ 14*	118 $\pm$ 7.4*	21.13
Cambio de masa de grasa (g $\pm$ SEM)	1.3 $\pm$ 0.22	0 $\pm$ 0.7	-1 $\pm$ 0.45	-2.7 $\pm$ 0.63*	-7.8 $\pm$ 0.56*	-7.1 $\pm$ 0.54*	27.19
Cambio de masa magra (g $\pm$ SEM)	0.3 $\pm$ 0.32	1.2 $\pm$ 0.21	0.52 $\pm$ 0.16	0.84 $\pm$ 0.33	0.14 $\pm$ 0.19	0.02 $\pm$ 0.36	Ambigua

*-representa significancia ($p < 0.05$) en comparación con DIO de Vehículo y se calculó por ANOVA de Una Vía con una Comparación de Dunnett usando Software GraphPad Prizm (La Jolla, Ca)

Tabla 7. Administración de dosis crónica *in vivo* en ratones de DIO macho.

Ejemplo 5

Dosis	0 nmol/kg (n=5)	2.4 nmol/kg (n=5)	7.2 nmol/kg (n=5)	24 nmol/kg (n=5)	72 nmol/kg (n=5)	144 nmol/kg (n=5)	ED50 (nmol/kg)
Cambio de peso corporal (% de cambio $\pm$ SEM)	3.7 $\pm$ 0.66	0.88 $\pm$ 2.4	-2.1 $\pm$ 0.62	-11 $\pm$ 1.4*	-13 $\pm$ 1.7*	-13 $\pm$ 1.5*	10.22
Glucosa en sangre en ayuno (mg/dL $\pm$ SEM)	119 $\pm$ 5.6	86 $\pm$ 3.5*	83 $\pm$ 2.5*	80 $\pm$ 3.9*	80 $\pm$ 3.5*	77 $\pm$ 3.7*	Ambigua
Insulina sérica en ayuno (ng/mL $\pm$ SEM)	1.4 $\pm$ 0.24	1.1 $\pm$ 0.2	0.65 $\pm$ 0.1*	0.52 $\pm$ 0.21*	0.25 $\pm$ 0.09*	0.41 $\pm$ 0.12*	6.23
AUC de glucosa en sangre durante ipGTT (mg/dL $\times$ min ⁻¹)	46831 $\pm$ 2531	34313 $\pm$ 1608*	30089 $\pm$ 2822*	32291 $\pm$ 2283*	32768 $\pm$ 4860*	26859 $\pm$ 1697*	Ambigua
AUC de insulina sérica durante ipGTT (ng/mL $\times$ min ⁻¹)	285 $\pm$ 39	240 $\pm$ 26	167 $\pm$ 24	108 $\pm$ 21	163 $\pm$ 26*	285 $\pm$ 39	9.70
Cambio de masa de grasa (g $\pm$ SEM)	1.3 $\pm$ 0.22	-0.78 $\pm$ 0.87	-2.6 $\pm$ 0.33*	-5.8 $\pm$ 0.48*	-6.6 $\pm$ 0.74*	-6.1 $\pm$ 0.89*	6.60
Cambio de masa magra (g $\pm$ SEM)	0.3 $\pm$ 0.32	1.3 $\pm$ 0.42	1.3 $\pm$ 0.48	-0.04 $\pm$ 0.29	0.16 $\pm$ 0.17	0.49 $\pm$ 1.1	Ambigua

*-representa significancia (p<0.05) en comparación con DIO de Vehículo y se calculó por ANOVA de Una Vía con una Comparación de Dunnett usando Software GraphPad Prizm (La Jolla, Ca)

Tabla 8. Administración de dosis crónica *in vivo* en ratones de DIO macho.

Ejemplo 6

Dosis	0 nmol/kg (n=5)	2.4 nmol/kg (n=5)	7.2 nmol/kg (n=5)	24 nmol/kg (n=5)	72 nmol/kg (n=5)	144 nmol/kg (n=5)	ED50 (nmol/kg)
Cambio de peso corporal (% de cambio ±SEM)	5.3± 1.1	2.3 ± 1.4	1 ± 1.9	-3.5 ± 0.77*	-9.9 ± 2.3*	-16 ± 0.88*	33.56#
Glucosa en sangre en ayuno (mg/dL ±SEM)	127 ± 4.5	99 ± 3.1*	91 ± 4.3*	95 ± 2.9*	86 ± 4.2*	86 ± 4.5*	No convergida
Insulina sérica en ayuno (ng/mL ±SEM)	1.4 ± 0.29	1.1 ± 0.22	1.1 ± 0.34	0.6± 0.14	0.53 ± 0.21	0.34 ± 0.16	16.97
AUC de glucosa en sangre durante ipGTT (mg/dL x min ⁻¹)	42526 ± 2213	32775 ± 2674	24439 ± 2165*	29473 ± 3180*	29719 ± 3115*	24650 ±1532*	Ambigua
AUC de insulina sérica durante ipGTT (ng/mL x min ⁻¹)	315 ± 39	306 ± 44	230 ± 28	173 ± 22*	115 ± 11*	89 ± 17*	15.49
Cambio de masa de grasa (g ±SEM)	1.8 ± 0.43	0.34 ± 0.48	-0.79± 0.4.9	-2.8 ± 0.62*	-5.6 ± 0.96*	-8 ± 0.43*	22.33
Cambio de masa magra (g ±SEM)	0.16 ± 0.2	0.75 ± 0.25	1.1 ± 0.49	0.87 ± 0.16	0.91 ± 0.17	0.53 ± 0.24	Ambigua

*-representa significancia (p<0.05) en comparación con DIO de Vehículo y se calculó por ANOVA de Una Vía con una Comparación de Dunnett usando Software GraphPad Prizm (La Jolla, Ca). #-parte inferior de la curva fijada a la dosis más alta.

Tabla 9. Administración de dosis crónica *in vivo* en ratones de DIO macho.

Dosis	Ejemplo 7	
	0 nmol/kg (n=5)	24 nmol/kg (n=5)
Cambio de peso corporal (% de cambio $\pm$ SEM)	3.8 $\pm$ 0.41	-11 $\pm$ 1.6*
AUC de glucosa en sangre durante ipGTT (mg/dL $\times$ min ⁻¹)	46453 $\pm$ 883	26495 $\pm$ 1399*
AUC de insulina sérica durante ipGTT (ng/mL $\times$ min ⁻¹)	423 $\pm$ 67	144 $\pm$ 17*
Glucosa en sangre en ayuno (mg/dL $\pm$ SEM)	142 $\pm$ 6.8	87 $\pm$ 3.5*
Insulina sérica en ayuno (ng/mL $\pm$ SEM)	2.3 $\pm$ 0.29	0.26 $\pm$ 0.14*

*-representa significancia (p<0.05) en comparación con DIO de Vehículo y se calculó por ANOVA de Una Vía con una Comparación de Dunnett usando Software GraphPad Prizm (La Jolla, Ca)

Ratones C57BL6 de 22 semanas de edad (en dieta con alto contenido de grasa desde 6 semanas de edad, Jackson Laboratories 380050, Bar Harbor, ME) se alojaron y trataron como se describe anteriormente. Los animales se aleatorizaron por peso corporal a los grupos de tratamiento usando la aleatorización en bloque. En el día 1 del experimento los animales y alimentos se pesaron y se registraron. Los animales se separaron en tres grupos iguales y comenzaron en días separados (datos combinados) para simplificar la logística del estudio. A los animales se les administró una inyección s.c. única del tratamiento indicado en citrato 20 mM pH 7 en los días 1 (inicio), 4, 7, 10, y 13 del experimento en un volumen de 10 ml/kg. A los animales control de vehículo se les inyectó un volumen similar de esta solución. Las soluciones se conservaron en viales estériles tapados almacenados a 4°C durante la duración del estudio.

En el día 14 del estudio (la mañana del experimento de absorción de glucosa in vivo), los ratones de DIO se colocaron en jaulas limpias y el alimento se removió durante 4 horas. Los animales luego se anestesiaron con isoflurano al 2%, y 10 µCi de [³H]-2-desoxiglucosa junto con la dosis de insulina indicada o solución salina (juntas en 100 µl de solución salina estéril) se inyectaron de manera retro-orbital con una jeringa de 0.3 ml. La punta de la cola se resecó y a los 2, 5, 10, 15, 20 y 30 minutos después de la

inyección de isótopo, una gota de sangre se tomó para la medición de glucosa en sangre por triplicado a través del medidor de glucosa Accu-Chek Aviva (Roche; Indianapolis, EN). Estos valores representan Cp. En los mismos puntos de tiempo

5 indicados anteriormente, se tomaron 10 μ l adicionales de sangre y se colocaron en un tubo de heparina, se mezclaron y se colocaron sobre hielo. Cinco (5) μ l de la sangre heparizada luego se transfirieron a un tubo de microcentrífuga limpio, y se añadieron secuencialmente 125 μ l

10 de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 1 M y 125 μ l de ZnSO_4 1 M. El tubo luego se mezcló y se colocó en hielo. Los tubos se centrifugaron a 8000 rcf durante 5 minutos. Doscientos μ l del sobrenadante se combinaron con 5 ml de fluido de escintilación y se contaron para determinar las desintegraciones de plasma por minuto

15 (DPM). Estos valores representan C*p.

Después que la muestra de sangre final se recolectó a los 30 minutos, los animales luego se sometieron a eutanasia por dislocación cervical y las muestras de tejidos (cuadriceps rojo (RQ), cuadriceps blanco (WQ), sóleo,

20 extensor digitorum largo (EDL)) se removieron y se congelaron entre mordazas enfriadas en nitrógeno líquido. Los tejidos se almacenaron a -80°C hasta que se procesaron. Los tejidos luego se procesaron para conteo colocando 50-100 mg de peso de tejido seco en un tubo de lisis Matrix D de 2 ml mantenido

25 en hielo seco. Se añadió al tubo 1 ml de ácido perclórico al

0.5% y el tejido se homogenizó a una temperatura de 6.0 durante 30 segundos usando Fastprep-24 (MP Bio, Santa Ana, CA). La muestra se neutralizó mediante la adición de 20 µl de KOH 5N, se mezcló y se centrifugó a 2000 rcf durante 15 minutos a 4°C. Trescientos µl del sobrenadante neutralizado se colocaron en dos tubos de microcentrífuga limpios separados de 1.5 ml. Trescientos µl de agua destilada se añadieron al primer tubo, mientras que 150 µl de hidróxido de bario ($\text{Ba}(\text{OH})_2$) y 150 µl de sulfato de zinc (ZnSO_4) se añadieron secuencialmente al segundo tubo. Las muestras luego se mezclaron y se incubaron durante 1 hora en hielo. Ambos juegos de tubos luego se centrifugaron a 3000 rcf durante 15 minutos a 4°C. Dos cientos µl de cada tubo se añadieron a un vial de escintilación de 7 ml y luego se añadieron 5 ml de fluido de escintilación (Scinti-Safe). Los viales luego se contaron para DPM en un contador Beckman Scintillation (Beckman-Coulter, Brea CA). La diferencia en el DPM entre estas muestras representa C*m.

La absorción de 2-desoxiglucosa por los respectivos tejidos se calculó por la siguiente fórmula:

$$R_g = (C^*m) / \int C_p^* / C_p dt$$

R_g = velocidad metabólica de la glucosa ($\mu\text{mol}/100 \text{ g}/\text{min}$)

C^*m = 2DG6P acumulado (dpm/100 g de peso húmedo) a $t = 30 \text{ min}$

C^*p = actividad 2DG en plasma (dpm/ml)

C_p es glucosa en plasma (mM)

Las Tablas 10 y 11 a continuación muestran los datos correspondientes para cada una de las mediciones anteriores. Los datos se representan como la media aritmética con SEM.

5 Los datos en la Tabla 10 demuestran que la administración subcutánea una vez cada tres días del Ejemplo 7 durante 14 días consecutivos resulta en un aumento significativo de la absorción de glucosa muscular cuando se estimula con una concentración submáxima de insulina (0.5
10 U/kg) en RQ, WQ y EDL, mientras que la absorción en el músculo soleo no se alteró en comparación con el valor correspondiente para los ratones de DIO de vehículo. Además, los datos en la Tabla 11 indican que los pesos combinados de ambos músculos de EDL aumentan significativamente por la
15 administración subcutánea una vez cada tres días del Ejemplo 7 durante 14 días consecutivos.

Tabla 10. Absorción de glucosa en el músculo *in vivo* en ratones de DIO macho tratados con la molécula del Ejemplo 7.

20 Tejido 2 - Absorción de Desoxiglucosa $\mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$

Grupo	Tejido	Solución salina	N	0.5 U/kg	N	5 U/kg	N
Vehículo	RQ	3.02±0.22	6	6.378±0.7	5	12.38±2.04	6
Ejemplo 7	RQ	4.97±0.74	4	13.33±1.36*	12	16.65±1.27	6
Vehículo	WQ	2.53±0.24	6	5.66±0.74	6	8.93±0.79	6
Ejemplo 7	WQ	5.33±1.06	4	8.20±0.96*	12	10.85±0.33	6
25 Vehículo	EDL	2.88±0.21	6	8.93±1.23	6	12.98±1.12	6

Ejemplo 7	EDL	9.05±1.6*	4	14.59±1.09*	12	15.44±1.62	5
Vehículo	Sóleo	2.27±0.63	6	5.97±1.05	6	13.13±1.66	5
Ejemplo 7	Sóleo	2.51±0.32	6	7.22±1.40	12	16.51±1.78	6

* -representa significancia ($p < 0.05$) en comparación con DIO de vehículo y se calculó por ANOVA de Dos Vías con una comparación de Dunnett usando software JMP (V 5.0; SAS Institute, Cary, NC).

Tabla 11. Pesos de músculo Sóleo y EDL combinados del experimento de absorción de glucosa en el músculo *in vivo* en ratones de DIO macho tratados con la molécula del Ejemplo 7.

	Tejido	Peso (mg)	N
Vehículo	Sóleo	20.88±0.87	17
Ejemplo 7	Sóleo	22.42±0.50	18
Vehículo	EDL	24.42±1.06	18
Ejemplo 7	EDL	27.18±0.89*	18

* -representa significancia ($p < 0.05$) en comparación con DIO de vehículo y se calculó por ANOVA de Una Vía con una comparación de Dunnett usando software GraphPad Prizm (La Jolla, Ca).

Ratones (C57Bl/6db-/db-) Deficientes del Receptor de Leptina
In vivo - administración de dosis crónica

Se realizaron estudios de farmacología *in vivo* que investigan los parámetros de eficacia de diabetes para las

moléculas de los Ejemplos 1, 2, 3 y 4, en ratón db/db, un modelo preclínico de uso común de T2D. Esta cepa de ratón tiene una mutación genética en el receptor de leptina que resulta en una falta de señalización de leptina, una adipocina importante para el mantenimiento de la ingesta de alimentos (Coleman DL. Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia*; 14(3):141-8, (1978)). Estos ratones se volvieron obesos alrededor de 3 a 4 semanas en una dieta normal de roedores chow. Demostraron aumentos en la insulina en plasma y glucosa en sangre, y exhibieron disminución de la glucosa en sangre en respuesta a una serie de agentes sensibilizantes a la insulina. Por lo tanto, el propósito de este estudio es evaluar la capacidad de mejorar la sensibilidad a la insulina y, posteriormente, disminuir la glucosa en plasma.

Ratones db/db macho (BKS.Cg-+ *Lepr^{db}/+* *Lepr^{db}/OlaHsd*) (Harlan Indianapolis) de 5-6 semanas de edad se alojaron 3-4 por jaula y se mantuvieron con botellas de agua y 5008 Chow (LabDiet; St Louis) durante 2 semanas en el vivero y en un ciclo de luz normal antes del inicio del experimento. La evaluación del peso corporal, consumo de alimentos y otros parámetros en suero se determinaron como se explica anteriormente en el Modelo de DIO *in vivo* - administración de dosis crónica, con la excepción del consumo de alimentos que se promedió en cada jaula de animales (3-4

animales por jaula; 2 jaulas por tratamiento). El porcentaje de cambio de peso corporal es el porcentaje de cambio al final del estudio desde el día 1 del peso corporal.

En el día 1 del estudio, los ratones se restringieron ligeramente y la cola se resecó usando un bisturí limpio. Una gota de sangre se colocó sobre una tira de prueba de glucosa y se analizó usando un medidor de glucosa en sangre accuCheck (Roche, Indianapolis). Los animales luego se aleatorizaron con base en la glucosa en sangre en grupos de tratamiento mediante aleatorización en bloque. A los animales se les administró una inyección subcutánea única del tratamiento indicado (estudios de 4 días) o dosificado una vez cada tres días del experimento (comenzando el día 1, estudios de 14 y 16 días) a un volumen de 10 ml/kg ya sea en HCl de Tris 20 mM pH 8 o citrato 20 mM pH 7. A los animales control de vehículo se les inyectó un volumen similar de esta solución. Las soluciones se conservaron en viales estériles tapados almacenados a 4°C durante la duración del estudio. Cada día del estudio (16 días) o cada día de dosificación (estudio de 14 días) justo antes de la dosificación, los animales se desangraron para la determinación de glucosa en sangre como se describe a continuación. Los animales se sacrificaron por asfixia con CO₂ después de la medición de la glucosa ya sea en los días 4, 14 o 16 (con base en la duración del estudio).

El AUC de la glucosa (desde 0, regla Trapezoidal) y significancia estadística (* = $p > 0.05$ vs. 0 dosis; post hoc de Dunnett de ANOVA de una vía) se calcularon usando el software GraphPad Prism (La Jolla, CA).

5 Las Tablas 12, 13 y 14 a continuación muestran datos correspondientes a cada una de las mediciones anteriores. Los datos se representan como la media aritmética con SEM.

Los datos en la Tabla 12 demuestran que los
10 Ejemplos 1-3 reducen significativamente el AUC de la glucosa en sangre medida durante 4 días después de una inyección única. Los datos en las Tablas 12 y 13 demuestran que los Ejemplos 1-3 indujeron una disminución significativa del peso corporal después de ser administrados por administración s.c.
15 durante 4 (una inyección) o 13 (inyectados en los días 1, 4, 7, 10 y 13 de los días del estudio). La Tabla 14 a continuación demuestra que el Ejemplo 4 reduce significativamente tanto el peso corporal como el AUC de la glucosa (dosificada el día 1, 4, 7, 10 y 13 del estudio) en
20 un estudio de 16 días en ratones db/db. La glucosa y peso corporal significativos que disminuyen los efectos del Ejemplo 4 produjeron una ED₅₀ calculada de 13.04 nmol/kg y 30.16 nmol/kg, respectivamente.

Tabla 12. Administración de dosis crónica *in vivo* en ratones *db/db* macho.

4 días, 1 inyección						
	Ejemplo 1		Ejemplo 2		Ejemplo 3	
Dosis	0mg/kg (n=7)	0.6mg/kg (n=7)	0mg/kg (n=6)	0.6mg/kg (n=6)	0mg/kg (n=6)	0.6mg/kg (n=6)
Cambio de peso corporal (% de cambio $\pm$ SEM)	0.7 $\pm$ 1.2	-5 $\pm$ 0.22*	4.5 $\pm$ 0.42	-1.9 $\pm$ 0.31*	0.23 $\pm$ 0.44	-4.7 $\pm$ 0.59*
AUC de glucosa en sangre (mg/dL $\times$ día ⁻¹ $\pm$ SEM)	1331 $\pm$ 44	910 $\pm$ 41*	1235 $\pm$ 59	760 $\pm$ 24	1185 $\pm$ 120	866 $\pm$ 48*

*-representa significancia (p<0.05) en comparación con el Vehículo y se calculó por ANOVA de Una Vía con un post hoc de Dunnett usando Software GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA).

Tabla 13. Administración de dosis crónica *in vivo* en ratones *db/db* macho.

14 días, 5 inyecciones						
	Ejemplo 1			Ejemplo 2		
Dosis	0mg/kg (n=5)	0.3mg/kg (n=5)	0.6mg/kg (n=5)	0mg/kg (n=5)	0.3mg/kg (n=5)	0.6mg/kg (n=5)
Cambio de peso corporal (% de cambio $\pm$ SEM)	14 $\pm$ 1.1	11 $\pm$ 1.2	2.7 $\pm$ 2.2*	14 $\pm$ 1.1	6.8 $\pm$ 1.3*	9.7 $\pm$ 1
AUC de glucosa en sangre (mg/dL $\times$ día ⁻¹ $\pm$ SEM)	5413 $\pm$ 386	4705 $\pm$ 147	4409 $\pm$ 321	5413 $\pm$ 386	4762 $\pm$ 174	4385 $\pm$ 144

*-representa significancia (p<0.05) en comparación con el Vehículo y se calculó por ANOVA de Una Vía con un post hoc de Dunnett usando Software GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA).

Tabla 14. Administración de dosis crónica in vivo en ratones db/db macho.

16 días, 5 inyecciones

	Ejemplo 4						
Dosis	0 nmol/kg (n=5)	2.4 nmol/kg (n=5)	7.2 nmol/kg (n=5)	24 nmol/kg (n=5)	72 nmol/kg (n=5)	144 nmol/kg (n=5)	ED ₅₀ nmol/kg
Cambio de peso corporal (% de cambio ±SEM)	9.3 ± 1.1	9.7 ± 2.3	8.1 ± 1.2	6.0 ± 1.7	6.9 ± 1.0	-3.4 ± 4.6*	Ambigua
AUC de glucosa en sangre (mg/dL x día ⁻¹ ±SEM)	7592 ±303	7270 ± 191	6455 ± 484	5945 ± 621*	5746 ± 424*	5143 ± 199*	14.52

*-representa significancia (p<0.05) en comparación con el Vehículo y se calculó por ANOVA de Una Vía con un post hoc de Dunnett usando Software GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA).

Estos datos demuestran que los compuestos descritos en la presente son capaces de tratar la diabetes tipo II.

Enfermedad renal crónica - nefropatía hipertensa

5 Un modelo de riñón remanente de ratón ("remanente") que implica la reducción quirúrgica de $\frac{3}{4}$ de la masa renal completa se utilizó como un modelo preclínico de la enfermedad renal hipertensa (*Kidney Int* 64(1):350-5, (2003)). Este modelo resulta en hipertensión y modesta albuminuria con
10 el tiempo y también muestra elevaciones de la creatinina en suero consistente con disminuciones de la velocidad de filtración glomerular (GFR) y por lo tanto representa las últimas etapas de la enfermedad renal crónica en humanos (que se aproxima a la etapa 3).

15 La reducción quirúrgica de la masa renal (N = 40 ratones) o cirugía simulada se realizó por Taconic, Inc. en ratones 129S6 macho de 8-9 semanas de edad (obtenidos por Taconic, Inc.). La aleatorización en 5 grupos equivalentes de 8 ratones con riñón remanente se realizó a las 15 semanas
20 después de la cirugía por relación de albúmina en orina a creatinina (ACR) y peso corporal. Ya sea 0.9% de solución salina fisiológica con citrato 20 mM ("control de solución salina") o diferentes niveles de dosis del compuesto del Ejemplo 2 (7.2, 24, 72 y 144 nmol/kg) se dosificaron por vía
25 subcutánea tres veces a la semana comenzando a las 16 semanas

de edad durante 2 semanas.

La duración del estudio es de 9 semanas. Después de 2 semanas de dosificación, una necropsia se realizó en todos los grupos excepto el grupo de 144 nmol/kg del Ejemplo 2 que
5 sigue siendo monitoreado para ACR durante otras 7 semanas para determinar la durabilidad de los efectos del compuesto del Ejemplo 2 en ACR en orina.

Para todos los grupos excepto el grupo de 144 nmol/kg del Ejemplo 2, los criterios de valoración del
10 estudio son el peso corporal, peso del riñón, peso del corazón, creatinina en suero y ACR en orina. Para el grupo de 144 nmol/kg del Ejemplo 2, los criterios de valoración son el peso corporal y ACR en orina. No hay muertes durante el estudio.

15 El peso corporal se determinó en el valor basal y en la terminación con una balanza Metler Toledo. El corazón y riñón se removieron en la necropsia y se pesaron en una balanza Metler Toledo. La sangre (500 ul) se recolectó del seno retro-orbital en la terminación bajo anestesia con
20 isoflurano. La sangre coagulada se centrifugó para obtener suero. El suero se analizó para BUN y creatinina en un analizador Roche Hitachi Modular Analytics P con reactivos de Roche.

La Tabla 15 a continuación muestra los datos
25 correspondientes a las mediciones anteriores. Los datos

mostrados representan la media aritmética $\pm$ SEM para los parámetros listados. Todos los datos representan un valor de N de 8 animales por grupo.

5 **Tabla 15. Medición in vivo del peso corporal, peso del corazón, peso del riñón, BUN y creatinina en suero en un modelo de enfermedad renal crónica de nefropatía hipertensa.**

10

15

20

Parámetro	Simulación	Solución salina	7.2 nmol/kg del Ejemplo 2	24 nmol/kg del Ejemplo 2	72 nmol/kg del Ejemplo 2	144 nmol/kg del Ejemplo 2
Peso Corporal Inicial (g)	nd	26.7 $\pm$ 0.8	26.0 $\pm$ 0.6	26.5 $\pm$ 0.9	25.7 $\pm$ 0.8	26.3 $\pm$ 0.8
Peso Corporal Final (g)	27.2 $\pm$ 0.7	27.9 $\pm$ 0.7	25.5 $\pm$ 1.2	24.0 $\pm$ 0.5 ^a	24.8 $\pm$ 0.4 ^a	24.5 $\pm$ 0.7 ^a
Peso del Corazón (mg)	142 $\pm$ 7 ^a	195 $\pm$ 22	172 $\pm$ 11	142 $\pm$ 4 ^a	151 $\pm$ 4 ^a	nd
Peso del Riñón (mg)	158 $\pm$ 4 ^a	206 $\pm$ 6	204 $\pm$ 12	188 $\pm$ 8	195 $\pm$ 6	nd
BUN en Suero (mg/dL)	33 $\pm$ 3 ^a	57 $\pm$ 4	49 $\pm$ 3	44 $\pm$ 1 ^a	46 $\pm$ 3 ^a	nd
Creatinina en Suero (mg/dL)	0.128 $\pm$ 0.004 ^a	0.261 $\pm$ 0.018	0.240 $\pm$ 0.010	0.213 $\pm$ 0.008 ^a	0.228 $\pm$ 0.014	nd

a-indica diferencias significativas con respecto al grupo de

25 control de solución salina.

nd-indica no determinado.

Los datos en la Tabla 15 demuestran que el control de la enfermedad muestra aumentos significativos en el peso del corazón, peso del riñón, BUN en suero y creatinina en suero con respecto al control simulado debido a una enfermedad renal crónica asociada con la masa renal quirúrgicamente reducida. Los datos en la Tabla 15 demuestran que el compuesto del Ejemplo 2 reduce significativamente el peso corporal en todos los niveles de dosis excepto el de 7.2 nmol/kg con respecto al control de solución salina. El compuesto del Ejemplo 2 también reduce significativamente el peso del corazón en los niveles de dosis de 24 y 72 nmol/kg sin efecto sobre el peso del riñón en comparación con el grupo control de solución salina. El compuesto del Ejemplo 2 también reduce significativamente el BUN en suero en los niveles de dosis de 24 y 72 nmol/kg y creatinina en suero en el nivel de dosis de 24 nmol/kg en comparación con el grupo control de solución salina.

Una recolección de muestra de orina para medir ACR en orina se realizó en el valor basal (-1), 1 y 2 semanas para la solución salina y todos los niveles de dosis del compuesto del Ejemplo 2. Las recolecciones de muestra de orina también se recolectaron para el nivel de dosis de 144 nmol/kg del Ejemplo 2 a las 4, 6 y 9 semanas. Las recolecciones de muestra de orina se realizaron mediante

colocando los ratones en la parte superior de una microplaca de polipropileno de 96 cavidades para recolectar su orina durante un período de tiempo de 2 h. La orina recolectada se colocó en hielo, se centrifugó y se sometió al análisis de albúmina y creatinina.

La creatinina y albúmina en orina se determinaron en un analizador Roche Hitachi Modular Analytics P. La creatinina en orina se determinó con el reactivo Creatinine Plus de Roche. Para la albúmina en orina, el ensayo Roche Microalbumin se modificó para adaptar la curva de calibración para medir la albúmina en orina en ratones. El límite de detección del ensayo para la albúmina en orina es 4.9 mcg por ml. Los ratones simulados no tienen albúmina detectable en la orina.

La Tabla 16 muestra los datos correspondientes a las mediciones de ACR en orina. Los datos mostrados son la media aritmética $\pm$ SEM en cada punto de tiempo. Hay 8 ratones por grupo.

Tabla 16. Medición *in vivo* de la Relación de Albúmina a Creatinina (ACR) en un modelo de enfermedad renal crónica de nefropatía hipertensa.

	ACR (mcg/mg)					
	-1 semana	1 semana	2 semana	4 semanas	6 semanas	9 semanas
Solución salina	2205 $\pm$ 411	1824 $\pm$ 480	1866 $\pm$ 720	nd	nd	nd

5

Ejemplo 2 -7.2 nmol/kg	2273 $\pm$ 576	1215 $\pm$ 321	630 $\pm$ 200 ^a	nd	nd	nd
Ejemplo 2 -24 nmol/kg	2228 $\pm$ 410	636 $\pm$ 173 ^a	246 $\pm$ 50 ^a	nd	nd	nd
Ejemplo 2 -72 nmol/kg	2141 $\pm$ 416	1053 $\pm$ 230	304 $\pm$ 68 ^a	nd	nd	nd
Ejemplo 2 -144 nmol/kg	2271 $\pm$ 500	889 $\pm$ 218	336 $\pm$ 85 ^a	266 $\pm$ 52	328 $\pm$ 136	834 $\pm$ 412

a-indica diferencias significativas con respecto al grupo de control de solución salina.

nd-indica no determinado.

Los datos en la Tabla 16 demuestran que el compuesto del Ejemplo 2 reduce significativamente la ACR en orina en el nivel de dosis de 24 nmol/kg tan pronto como 1 semana de dosificación y en todos los niveles de dosis con respecto al control de solución salina después de 2 semanas de dosificación en el modelo de riñón remanente. Los datos en la Tabla 16 demuestran además que hay durabilidad en el efecto de disminución de ACR en orina con el compuesto del Ejemplo 2 a 144 nmol/kg y que la reducción de ACR puede no ser simplemente de origen hemodinámico ya que el efecto persiste hasta 7 semanas después que la dosificación del compuesto del Ejemplo 2 se detiene.

En general, estos datos demuestran que el compuesto del Ejemplo 2 mejora la función renal bajo condiciones hipertensas asociadas con la enfermedad renal crónica con reducciones de BUN en suero, creatinina en suero y ACR en orina con respecto a los controles no tratados.

Todos los datos se analizaron con el software JMP v.8.0 (SAS Institute). El análisis estadístico de albuminuria (ACR) se realizó por lo siguiente: 1) los datos se analizaron en escala logarítmica para estabilizar la varianza sobre
5 diferentes grupos de tratamiento; 2) se realizó el análisis de datos en JMP v.8.0 usando un ANOVA y prueba t de Dunnett en cada punto de tiempo. Todos los otros datos se evaluaron por ANOVA con datos de transformada logarítmica si los datos fueron asimétricos y una prueba t no apareada de Student. Los
10 valores atípicos estadísticos se removieron antes del análisis. Un valor p de < 0.05 se consideró estadísticamente significativo.

Estos datos demuestran que los compuestos resumidos en la presente son capaces de tratar la enfermedad renal
15 crónica causada por nefropatía hipertensa.

Enfermedad renal crónica - nefropatía hipertensa

Un modelo de riñón remanente de ratón ("remanente") que implica la reducción quirúrgica de $\frac{3}{4}$ de la masa renal
20 completa se utilizó como un modelo preclínico de enfermedad renal hipertensa (*Kidney Int.* 64(1):350-5, (2003)). Este modelo resulta en hipertensión y modesta albuminuria con el tiempo y también muestra elevaciones de creatinina en suero consistentes con disminuciones de la velocidad de filtración
25 glomerular (GFR) y por lo tanto representa las últimas etapas

de la enfermedad renal crónica en humanos (que se aproxima a la etapa 3).

La reducción quirúrgica de la masa renal (N = 32 ratones) (obtenida por Taconic, Inc.) se realizó por Taconic, Inc. en ratones 129S6 macho de 9-10 semanas de edad. La aleatorización en 4 grupos equivalentes de 8 ratones con riñón remanente se realizó a las 17 semanas después de la cirugía por relación de albúmina a creatinina en orina (ACR) y peso corporal. Ya sea solución salina fisiológica inyectable al 0.9% ("control de solución salina") o diferentes niveles de dosis del Ejemplo 4 (2.6, 7.2 y 24 nmol/kg, Lote # BCA-BE03935-019) se dosificaron por vía subcutánea tres veces a la semana comenzando a las 18 semanas posteriores a la cirugía.

La duración del estudio es de 8 semanas. Una estrategia de dosificación intermitente se utilizó ya que el Ejemplo 4 se administró sólo durante las dos primeras semanas y luego otra vez durante la cuarta semana del estudio, por lo tanto hay períodos de tiempo durante el estudio en los cuales no hay exposición de los animales al Ejemplo 4. Esto se hace para determinar si los efectos del compuesto del Ejemplo 4 en la albuminuria son simplemente impulsados por hemodinámica o si hay efectos de más duración en la función renal.

Para todos los grupos, los criterios de valoración para el estudio son peso corporal, peso del riñón, peso del

corazón, albuminuria, creatinina en suero y puntuaciones de patología renal para la dilatación de la pelvis, cambios tubulares, proteína tubular, regeneración tubular, cambios glomerulares, inflamación intersticial, fibrosis intersticial, puntuación de Masson y una puntuación de PAS. Hay una muerte en el grupo de dosis de 2.6 nmol/kg del Ejemplo 4 durante el estudio.

El peso corporal se determinó en el valor basal y en la terminación con una balanza Metler Toledo. El corazón y el riñón se removieron en la necropsia y se pesaron en una balanza Metler Toledo. La sangre (500 ul) se recolectó del seno retro-orbital en la terminación bajo anestesia con isoflurano. La sangre coagulada se centrifugó para obtener suero. El suero se analizó para la creatinina en un analizador Roche Hitachi Modular Analytics P con reactivos de Roche.

La Tabla 17 a continuación muestra los datos correspondientes a las mediciones anteriores. Los datos mostrados representan la media aritmética $\pm$ SEM para los parámetros listados. Todos los datos representan un valor de N de 7-8 animales por grupo.

Tabla 17. Medición in vivo del peso corporal, peso del corazón, peso del riñón y creatinina en suero en un modelo de enfermedad renal crónica de nefropatía hipertensa.

Parámetro	Solución salina	2.6 nmol/kg del Ejemplo 4	7.2 nmol/kg del Ejemplo 4	24 nmol/kg del Ejemplo 4
Peso Corporal Inicial (g)	29.7 ± 0.8	32.3 ± 0.9	30.1 ± 1.0	30.6 ± 0.6
Peso Corporal Final (g)	30.9 ± 0.8	31.8 ± 1.1	29.8 ± 1.0	31.6 ± 0.6
Peso del Corazón (mg)	239 ± 17	203 ± 8	203 ± 10	205 ± 8
Peso del Riñón (mg)	289 ± 9	280 ± 13	277 ± 14	310 ± 8
Creatinina en Suero (mg/dL)	0.224 ± 0.010	0.220 ± 0.013	0.201 ± 0.008	0.188 ± 0.013 ^a

a-indica diferencias significativas con respecto al grupo de control de solución salina

Los datos en la Tabla 17 demuestran que el compuesto del Ejemplo 4 no muestra efectos significativos en el peso corporal, peso del corazón o peso del riñón, aunque hay una tendencia de disminución del peso del corazón con el compuesto del Ejemplo 4. El compuesto del Ejemplo 4 en el nivel de dosis de 24 nmol/kg reduce significativamente la creatinina en suero con respecto al grupo de solución salina.

Medición de albuminuria

Una recolección de muestra de orina para medir la relación de albúmina a creatinina en orina (ACR) se realizó

en el valor basal, 1, 2, 4, 6 y 8 semanas de dosificación para la solución salina y todos los grupos de dosis del Ejemplo 4. Las recolecciones de muestra de orina se realizaron colocando los ratones en la parte superior de una microplaca de polipropileno de 96 cavidades para recolectar su orina durante un período de tiempo de 2 h. La orina recolectada se colocó en hielo, se centrifugó y se sometió al análisis de albúmina y creatinina.

La creatinina y albúmina en orina se determinaron en un analizador Roche Hitachi Modular Analytics P. La creatinina en orina se determinó con el reactivo Creatinine Plus de Roche. Para la albúmina en orina, el ensayo Roche Microalbumin se modificó para adaptar la curva de calibración para medir la albúmina en orina en ratones.

La Tabla 18 muestra los datos correspondientes a las mediciones de albuminuria. Los datos mostrados son la media aritmética $\pm$ SEM en cada punto de tiempo. Hay 9-10 ratones por grupo.

Tabla 18. Medición *in vivo* de la Relación de Albúmina a Creatinina (ACR) en un modelo de enfermedad renal crónica de nefropatía hipertensa durante 8 semanas.

	ACR (mcg/mg)					
	-1 semana	1 semana	2 semana	4 semanas	6 semanas	8 semanas

	Solución salina	1586 $\pm$ 242	909 $\pm$ 232	1296 $\pm$ 437	1992 $\pm$ 585	2415 $\pm$ 732	2902 $\pm$ 1236
	Ejemplo 4 a 2.6 nmol/kg	1617 $\pm$ 429	618 $\pm$ 147	254 $\pm$ 98 ^a	245 $\pm$ 121 ^a	358 $\pm$ 143 ^a	687 $\pm$ 108
5	Ejemplo 4 a 7.2 nmol/kg	1599 $\pm$ 298	540 $\pm$ 188	206 $\pm$ 41 ^a	176 $\pm$ 110 ^a	169 $\pm$ 17 ^a	479 $\pm$ 87 ^a
	Ejemplo 4 a 24 nmol/kg	1792 $\pm$ 728	415 $\pm$ 77	123 $\pm$ 35 ^a	73 $\pm$ 22 ^a	175 $\pm$ 73 ^a	278 $\pm$ 161 ^a

a-indica diferencias significativas con respecto al grupo de control de solución salina.

Los datos en la Tabla 18 demuestran que el compuesto del Ejemplo 4 reduce significativamente la albuminuria en todos los niveles de dosis con respecto al control de solución salina en el modelo de riñón remanente. Los datos en la Tabla 18 además demuestran que hay un efecto dependiente de la dosis en la albuminuria con respecto al grupo de control de solución salina tan temprano como 1 semana de dosificación con el compuesto del Ejemplo 4 que resulta en un retorno de la albuminuria a valores casi normales después de sólo 2 semanas de dosificación en el nivel de dosis más alto del compuesto del Ejemplo 4. Los datos demuestran además que el efecto del compuesto del Ejemplo 4 en la albuminuria puede no ser simplemente de origen hemodinámico ya que el efecto persiste en los puntos de tiempo de 6 y 8 semanas cuando el compuesto del Ejemplo 4 ya no está presente con base en las propiedades farmacocinéticas del compuesto del Ejemplo 4.

En general, estos datos demuestran que el compuesto del Ejemplo 4 mejora la función renal bajo condiciones hipertensas con reducciones de la creatinina en suero y albuminuria que se asocian con la enfermedad renal crónica.

5

Patología renal

Los riñones remanentes se removieron en la terminación del estudio, se fijaron en formalina y se procesaron para seccionamiento en parafina de acuerdo con la metodología estándar. Secciones de riñón se evaluaron para lesiones renales por un patólogo certificado por el consejo. La proteína tubular, regeneración tubular, esclerosis glomerular, fibrosis/inflamación peri-glomerular, inflamación intersticial y fibrosis intersticial se puntuaron semi-cuantitativamente usando la siguiente escala: ninguna (0),
 10 mínimo (1), ligera (2), moderada (3), marcada (4) y grave (5). Las puntuaciones de patología se obtienen con secciones teñidas con tricromo y PAS de H&E, Masson.
 15

La Tabla 19 muestra los datos correspondientes a las mediciones de la patología renal. Los datos mostrados son la media aritmética $\pm$ SEM para cada parámetro. Hay 7-8 ratones por grupo.
 20

Tabla 19. Medición in vivo de la patología renal en un modelo de enfermedad renal crónica hipertensa.
 25

Parámetro	Solución salina	Ejemplo 4 2.6 nmol/kg	Ejemplo 4 7.2 nmol/kg	Ejemplo 4 24 nmol/kg
Proteína tubular	1.3 ± 0.3	0.4 ± 0.2 ^a	0.1 ± 0.1 ^a	0.0 ± 0.0 ^a
Regeneración tubular	1.4 ± 0.3	0.9 ± 0.2	0.6 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.2 ^a
Esclerosis glomerular	1.3 ± 0.4	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.3	0.3 ± 0.2 ^a
Fibrosis/inflamación peri-glomerular	1.1 ± 0.4	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.2
Fibrosis intersticial	1.6 ± 0.3	1.0 ± 0.0 ^a	0.9 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.2 ^a
Inflamación intersticial	1.3 ± 0.4	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.4 ± 0.2 ^a

a-indica diferencias significativas con respecto al grupo de control de solución salina.

Los datos en la Tabla 19 demuestran que el compuesto del ejemplo 4 reduce significativamente la patología renal en todos los niveles de dosis con respecto al control de solución salina para proteína tubular y fibrosis intersticial en el modelo de riñón remanente. Los datos en la Tabla 19 demuestran además que el compuesto del Ejemplo 4 muestra reducciones significativas de regeneración tubular, esclerosis glomerular, e inflamación intersticial en el nivel de dosis más alto con respecto al grupo de control de solución salina. Estos datos demuestran que la mejora de la función renal con el compuesto del Ejemplo 4 en este modelo se acompaña de mejoras significativas en la estructura renal con reducciones de la patología renal debido a la enfermedad renal hipertensa.

Métodos Estadísticos

Los datos de patología se evaluaron estadísticamente con el software R ajustando un modelo logit
5 ordenado a las puntuaciones categóricas, y luego comparando las diferencias entre los diferentes grupos de tratamiento. El análisis estadístico de albuminuria (ACR) se realizó con software R por lo siguiente: 1) los datos se analizaron en escala logarítmica para estabilizar la varianza sobre
10 diferentes grupos de tratamiento, 2) el análisis de datos se realizó usando un modelo mixto con grupo de tratamiento, tiempo y sus interacciones como términos del modelo, más la ACR basal se incluyó como covariable, 3) las observaciones de cada animal en momentos diferentes se trataron como
15 mediciones repetidas usando una estructura de covarianza CS y 4) los valores p de la prueba no se ajustaron para múltiples pruebas. Todos los otros datos se evaluaron por ANOVA con datos de transformada logarítmica y una prueba t no pareada de Student con software JMP v.8.0 (SAS Institute). Los
20 valores atípicos estadísticos se removieron antes del análisis. Un valor de p de < 0.05 se consideró estadísticamente significativo.

Estos datos demuestran que los compuestos descritos en la presente son capaces de tratar la enfermedad renal
25 crónica causada por nefropatía hipertensa.

Los efectos de la urocortina 2 de actuación prolongada en la regulación de la presión arterial en el modelo de SHR

Ratas macho espontáneamente hipertensas (SHR/NCrl, Charles River Laboratories, Inc.) fueron implantadas con transmisores Data Science International (TA11PA-C40) para la recolección de datos de la presión arterial y frecuencia cardíaca. A todas las SHR se les permitió recuperarse del procedimiento de implantación quirúrgica durante al menos 2 semanas antes de la iniciación de los experimentos. Durante la fase de monitoreo (día 1 a día 21), los parámetros cardiovasculares (presión arterial, sistólica y diastólica medias y frecuencia cardíaca) se monitorearon continuamente a través del radiotransmisor en SHR conscientes, libremente móviles y sin molestias en sus jaulas individuales. Los datos de telemetría de los implantes de telemetría de DSI luego se convirtieron a una señal análoga calibrada que se introduce a un sistema de análisis y adquisición de datos producido comercialmente (PONEMAH). Todas las ratas se alojaron individualmente en una habitación de temperatura y humedad controlada y se mantuvieron en un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad.

Los SHR se aleatorizaron a grupos de acuerdo con la presión arterial media (MAP) recolectada 7 días antes que la dosificación comenzara. A las ratas se les administró

vehículo (amortiguador de Tris-HCl 20 mM, pH 8.0) o uno de los 4 niveles de dosis (2.4, 7.2, 24, 72 nmol/kg) del compuesto del Ejemplo 4 dos veces a la semana durante 2 semanas con inyección subcutánea (inyecciones en el día 1, 4, 5 8 y 11). Los datos de la presión arterial se recolectaron durante una semana adicional para evaluar las respuestas de presión arterial después del retiro del tratamiento del Ejemplo 4.

El compuesto de la dosis del Ejemplo 4 redujo de 10 manera dependiente la presión arterial (Tabla 21, 22). Se logró reducción de MAP máxima a las 24 horas después de la dosificación. Los efectos que disminuyen la presión arterial del compuesto del Ejemplo 4 se disminuyeron con dosificación repetida como se demuestra en la tabla que compara MAP 15 después de la 1^a inyección en el día 1 y 4^a inyección en el día 11. Después del retiro del compuesto del Ejemplo 4, los niveles de presión arterial en todos los grupos de tratamiento se recuperaron y no fueron diferentes del grupo de vehículo.

20 La Tabla 20 a continuación muestra los resultados de AUC con valores P para períodos de tiempo (1-68 horas) y (241-332 horas).

Tabla 20: ANCOVA de 1 vía para AUC durante 68 horas después 25 de la primera dosis (Día 1), y durante 92 horas después de la

última dosis (Día 11) .

5

10

		Media de LS		Diferencia		
Día	Tratamiento	Estimación	s.e.	Estimación	s.e.	valor p ajustado
1 (1-68 hrs)	7.2 nmol/kg de TA1	9313.8	103.17	-732.1	146.26	<.0001
	72 nmol/kg de TA1	8829.7	109.22	-1216.2	150.10	<.0001
	Control	10045.9	102.28			
11 (241-332 hrs)	7.2 nmol/kg de TA1	13271.5	127.15	-484.7	180.26	0.0385
	72 nmol/kg de TA1	12971.8	134.60	-784.4	184.98	0.0007
	Control	13756.2	126.06			

15

Tabla 21: MAP después de la 1ª o 4ª inyecciones de vehículo o el compuesto del Ejemplo 4. N = 7-8/grupo. Las horas indican el tiempo de inyección respectivo posterior en el día o día 11

20

25

Tratamiento	MAP posterior a la inyección en el día 1					
	1-24 hrs		26-48 hrs		50-68 hrs	
	MEDIA	s.e.	MEDIA	s.e.	MEDIA	s.e.
Control	149.9	3.4	149.3	2.4	147.3	3.3
72 nmol/kg	128.6	2.3	130.4	3.5	143.1	4.0
24 nmol/kg	137.6	3.3	131.8	2.5	137.2	2.3
7.2 nmol/kg	140.1	4.2	140.6	3.4	144.3	4.0
2.4 nmol/kg	149.0	2.5	147.6	3.1	148.6	2.8
Tratamiento	MAP (media±sem) posterior a la inyección en el día 11					
	1-24 hrs		26-48 hrs		50-68 hrs	

	MEDIA	s.e.	MEDIA	s.e.	MEDIA	s.e.
Control	150.0	3.7	151.4	2.8	149.6	2.5
72 nmol/kg	139.3	2.6	142.3	1.9	145.0	2.7
24 nmol/kg	142.9	2.3	145.1	2.0	145.1	1.4
7.2 nmol/kg	146.2	3.8	148.1	3.8	148.8	4.6
2.4 nmol/kg	151.4	2.6	153.0	2.6	151.7	3.1

5

Tabla 22: ANCOVA de 1 vía para el AUC durante 68 horas después de la 1ª inyección (Día 1) o la 4ª inyección (día 11), con UAC basal (durante 22 horas) como la covariable y comparación de cada tratamiento con el vehículo por la prueba de Dunnett.

10

		Media de LS		Diferencia del Control		
Día	Tratamiento	Estimación	s.e.	Estimación	s.e.	Valor p ajustado
1 (1-68 hrs)	Control	10045.9	102.28			
	72 nmol/kg	8829.7	109.22	-1216.2	150.1	<.0001
	24 nmol/kg	9180.3	109.89	-865.6	149.27	<.0001
	7.2 nmol/kg	9313.8	103.17	-732.1	146.26	<.0001
	2.4 nmol/kg	9935.2	101.91	-110.6	144.29	0.8613
11 (1-68 hrs)	Control	10141.8	95.82			
	72 nmol/kg	9432.6	102.32	-709.3	140.62	<.0001
	24 nmol/kg	9778.3	102.95	-363.5	139.84	0.0472
	7.2 nmol/kg	9732.8	96.66	-409	137.03	0.019
	2.4 nmol/kg	10180.7	95.47	38.9	135.18	0.9954

15

20

Los datos en las Tablas 20-22 y los resultados estadísticos en la Tabla 20 demuestran que el compuesto del

25

Ejemplo 4 reduce de manera dependiente de la dosis la presión arterial después de la primera inyección. La reducción de MAP máxima se logró a las 24 horas después de la dosis. Después del retiro del compuesto del Ejemplo 4, MAP en todos los grupos de tratamiento se recupera y no es diferente del grupo de vehículo en 336 hrs.

Los datos de MAP se evaluaron estadísticamente con el software SAS por ANCOVA de 1 vía para AUC durante 68 horas después de la primera dosis (Día 1), y durante 92 horas después de la última dosis (Día 11).

Enfermedad renal crónica - nefropatía diabética

El modelo de renina viral (AAV) adeno-asociado con db/db no nefrectomizados representa un modelo progresivo de la enfermedad renal diabética con hipertensión impulsada por un transgen de renina AAV (*Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 309(5):R467-74, (2015)). Este modelo exhibe albuminuria evidente que aumenta progresivamente con el tiempo y también muestra disminuciones de la velocidad de filtración glomerular (GFR) y por lo tanto representa las últimas etapas de la nefropatía diabética en humanos (que se aproxima a la etapa 3-4).

La cirugía de uninefrectomía (UniNx) en ratones db/db hembra en un fondo de C57BLKS/J (obtenido de Harlan Laboratories) se realizó por Harlan Laboratories a las 4

semanas de edad con remoción del riñón derecho para acelerar la enfermedad renal diabética. Los animales se recibieron a las 5 semanas de edad y se alojaron en jaulas micro-aisladoras a 3 ratones por jaula y están en un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad. Todos los ratones db/db son alimentados ad libitum con dieta especial Purina 5008 y se les permitió libre acceso al agua en autoclave.

Los ratones se aclimataron durante 7 semanas antes de la administración de Renina AAV (5×10^9 GC) por vía intravenosa por el seno retro-orbital para inducir la hipertensión persistente. La aleatorización por relación de albúmina a creatinina en orina (ACR), glucosa en sangre y peso corporal se realizó a las 15 semanas de edad (un punto en el que se establecen la enfermedad renal y la patología en este modelo con base en observaciones) en 2 grupos de 12 ratones de control de solución salina y 33 ratones para recibir el tratamiento con Lisinopril.

La dosificación con lisinopril (30 mg/L) comenzó a las 16 semanas de edad. Después de 2 semanas de tratamiento con Lisinopril, los 33 ratones se aleatorizaron por ACR en orina, glucosa en sangre y peso corporal en 4 grupos (un grupo de 9 ratones y 3 grupos de 8 ratones).

En los 4 grupos de ratones db/db con renina AAV UniNx que reciben tratamiento con Lisinopril, ya sea solución salina fisiológica al 0.9% inyectable ("control de solución

salina" N = 9) o diferentes niveles de dosis del Ejemplo 4 (7.2, 24 o 72 nmol/kg, N = 8 por nivel de dosis) se dosificaron en 0.2 ml s.c. por inyección que comenzó a las 18 semanas de edad y continuó 3 veces a la semana durante 12
5 semanas. La albúmina y creatinina se midieron en la orina con un analizador Roche Hitachi Modular Analytics P con reactivos de Roche para la detección de albúmina y creatinina.

Hubo 6 muertes en el grupo de control de enfermedad de solución salina, 2 muertes en el grupo de Lisinopril más
10 solución salina, 1 muerte en el grupo de lisinopril más 7.2 nmol/kg del Ejemplo 4, 3 muertes en el grupo de Lisinopril más 24 nmol/kg del Ejemplo 4 y 3 muertes en el grupo de Lisinopril más 72 nmol/kg del Ejemplo 4 durante el transcurso del estudio.

15 Para todos los grupos, los parámetros medidos son el peso corporal, peso del riñón, peso del corazón, relación de albúmina a creatinina en suero, creatinina en suero y puntuaciones de patología renal para la expansión de matriz mesangial, fibrosis glomerular, regeneración tubular,
20 inflamación intersticial y fibrosis intersticial.

A las 15 y 27 semanas de edad, la sangre (30 a 50 uL) de todos los ratones db/db de renina AAV UniNx se obtuvo de la vena de la cola y se dejó caer sobre una tira de electrodo de sensor de glucosa en sangre Precision PCX
25 (Abbott Laboratories) para la determinación de la glucosa en

sangre con un glucómetro MediSense Precision PCX (Abbott Laboratories). Los datos de la glucosa en sangre se usan para bloquear los ratones db/db UniNx en grupos equivalentes. El peso corporal se determinó en el valor basal y en la

5 terminación con una balanza Metler Toledo. El corazón y riñón se removieron en la necropsia y se pesaron en una balanza Metler Toledo. La sangre (500 ul) se recolectó del seno retro-orbital en la terminación bajo anestesia con isoflurano. La sangre coagulada se centrifugó para obtener

10 suero. El suero se analizó para la creatinina en un analizador Roche Hitachi Modular Analytics P con reactivos de Roche.

La Tabla 23 a continuación muestra los datos correspondientes a las mediciones del peso corporal, glucosa

15 en sangre, peso del riñón, peso del corazón y creatinina en suero. Los datos mostrados representan la media aritmética $\pm$ SEM para los parámetros listados. Todos los datos representan un valor de N de 5-8 animales por grupo excepto para el grupo de control de solución salina (N = 6-12).

20

Tabla 23. Medición *in vivo* del peso corporal, glucosa en sangre, peso del riñón, peso del corazón y creatinina en suero en un modelo de enfermedad renal crónica por nefropatía diabética después de 12 semanas.

25

Parámetro	Solución	Lisinopril	Lisinopril	Lisinopril	Lisinopril
-----------	----------	------------	------------	------------	------------

		salina	más Solución salina	más 7.2 nmol/kg del Ejemplo 4	más 24 nmol/kg del Ejemplo 4	más 72 nmol/kg del Ejemplo 4
5	Peso Corporal Inicial (g)	62.3 ± 0.9	61.6 ± 2.3	66.7 ± 1.2	62.5 ± 1.2	62.0 ± 1.8
	Peso Corporal Final (g)	56.0 ± 4.6	61.8 ± 4.9	68.8 ± 2.5 ^a	59.1 ± 2.3	59.4 ± 4.3
10	Glucosa en Sangre Inicial (mg/dL)	339 ± 29	444 ± 48	333 ± 38	461 ± 19	455 ± 26
	Glucosa en Sangre Final (mg/dL)	202 ± 22 ^b	466 ± 71	222 ± 15 ^b	362 ± 55	260 ± 81 ^b
15	Peso del Riñón (mgs)	394 ± 22	392 ± 17	371 ± 18	345 ± 4	319 ± 13 ^{a b}
	Peso del Corazón (mgs)	326 ± 32	227 ± 26 ^a	278 ± 12	231 ± 17 ^a	255 ± 13 ^a
20	Creatinina en Suero (mg/dL)	0.188 ± 0.020	0.130 ± 0.070 ^a	0.141 ± 0.009	0.118 ± 0.010 ^a	0.348 ± 0.144 ^b

a-indica diferencias significativas con respecto al grupo de control de solución salina.

b-indica diferencias significativas con respecto al grupo de Lisinopril solo.

25 Los datos en la Tabla 23 demuestran que el grupo de

control de solución salina pierde peso durante el curso del estudio debido a los efectos del transgén renina, mientras que la adición de Lisinopril evita este efecto en el peso corporal. El compuesto del Ejemplo 4 en el nivel de dosis de 7.2 nmol/kg añadido a Lisinopril aumenta significativamente el peso corporal con respecto al grupo de control de solución salina. La pérdida de peso corporal en el grupo de control de solución salina también conduce a una reducción de la glucosa en sangre al final del estudio, mientras que Lisinopril evita significativamente este efecto en la glucosa en sangre. La adición del Ejemplo 4 en los niveles de dosis de 7.2 y 72 nmol/kg a Lisinopril resulta en una reducción significativa de la glucosa en sangre con respecto al grupo de Lisinopril solo. El lisinopril solo no tiene ningún efecto en el peso del riñón con respecto al grupo de control de solución salina, mientras que la adición del compuesto del Ejemplo 4 en el nivel de dosis de 72 nmol/kg a Lisinopril resulta en una reducción significativa del peso del riñón con respecto al grupo de control de solución salina y grupo de Lisinopril solo. El tratamiento con Lisinopril solo, así como la adición del compuesto del Ejemplo 4 (24 y 72 nmol/kg) a Lisinopril resulta en una reducción significativa del peso del corazón con respecto al grupo de control de solución salina. La adición del compuesto del Ejemplo 4 en el nivel de dosis de 24 nmol/kg a Lisinopril, así como Lisinopril solo, resulta en

una reducción significativa de la creatinina en suero con respecto al grupo de control de solución salina. La adición del compuesto del Ejemplo 4 en el nivel de dosis de 72 nmol/kg a Lisinopril resulta en un aumento significativo de creatinina en suero con respecto al grupo de Lisinopril solo.

La orina se recolectó por un método de recolección de muestras para recolectar orina durante un período de tiempo de 2-4 h. Un ratón individual se colocó en la parte superior de una microplaca de polipropileno de 96 cavidades y luego se cubrió por una cámara de plexiglás con agujeros para respirar pero sin acceso a los alimentos o agua. Al final del período de tiempo, la orina se removi6 de la placa con una micropipeta y se coloc6 en hielo, se centrifug6 y se sometió al análisis de albúmina y creatinina. La albúmina, creatinina y glucosa en suero se determinaron en un analizador Roche Hitachi Modular Analytics P. La creatinina en orina se determin6 con el reactivo Creatinin Plus de Roche. Para la albúmina en orina, el ensayo Roche Microalbumin se modific6 para adaptar la curva de calibración para medir la albúmina en orina en ratones. La albuminuria se defini6 como la relación de albúmina a creatinina (ACR).

La Tabla 24 a continuación muestra los datos correspondientes a las mediciones de albuminuria. Los datos mostrados son la media aritmética $\pm$ SEM en cada punto de tiempo dado como semanas de tratamiento con el compuesto del

Ejemplo 4. Hubo 6-8 ratones por grupo durante los puntos de tiempo excepto para el grupo de solución salina (N = 5-12).

Tabla 24. Medición *in vivo* de la Relación de Albúmina a Creatinina (ACR) en un modelo de enfermedad renal crónica por nefropatía diabética durante 12 semanas.

Semanas de tratamiento con el Ejemplo 4)	Solución salina	Lisinopril más Solución salina	Lisinopril más 7.2 nmol/kg del Ejemplo 4	Lisinopril más 24 nmol/kg del Ejemplo 4	Lisinopril más 72 nmol/kg del Ejemplo 4
0	25385 ± 3804	15203 ± 2835	15724 ± 2826	14329 ± 2306	15086 ± 2722
1	43984 ± 6671	16491 ± 3362	16336 ± 2761 ^a	13219 ± 2137 ^a	14706 ± 2352 ^a
2	51871 ± 9107	16160 ± 4162 ^a	7095 ± 1170 ^{ab}	3612 ± 218 ^{ab}	5918 ± 741 ^{ab}
3	47313 ± 8939	13069 ± 3295 ^a	9745 ± 1416 ^a	9735 ± 2066 ^a	9098 ± 1359 ^a
6	41647 ± 5750	11584 ± 3132 ^a	4164 ± 1271 ^{ab}	3880 ± 713 ^{ab}	4783 ± 769 ^{ab}
8	49725 ± 5663	12484 ± 4626 ^a	19633 ± 8562 ^a	11852 ± 7132 ^a	6156 ± 1165 ^a
10	63009 ± 8448	20429 ± 4998 ^a	13192 ± 5454 ^a	5029 ± 1473 ^{ab}	7935 ± 1029 ^{ab}
12	38176 ± 6750 ^c	19075 ± 6268 ^a	26527 ± 8454 ^a	7372 ± 3934 ^{abc}	6257 ± 1649 ^{ab c}

a-indica diferencias significativas con respecto al grupo de control de solución salina.

b-indica diferencias significativas con respecto al grupo de Lisinopril más solución salina.

c-indica diferencias significativas desde la Semana 0 a la

Semana 12 dentro del grupo.

Los datos en la Tabla 24 demuestran que hay albuminuria significativa en todos los grupos de db/db con Renina AAV UniNx en el momento que se inició el compuesto del Ejemplo 4 (semana 0). Los datos en la Tabla 24 muestran que el tratamiento con Lisinopril durante 2 semanas anteriores a la dosificación del compuesto del Ejemplo 4 muestra una tendencia para disminuir la albuminuria con respecto al grupo control de solución salina en la semana 0. Una comparación estadística general de todos los valores de ACR muestra que todos los grupos de Lisinopril se mejoraron significativamente para ACR con respecto al grupo de solución salina. El compuesto del Ejemplo 4 añadido a Lisinopril en general muestra un efecto de disminución de ACR significativo adicional con respecto a Lisinopril solo en los niveles de dosis de 24 y 72 nmol/kg. El compuesto del Ejemplo 4 en los niveles de dosis de 24 y 72 nmol/kg también muestra una reducción significativa de ACR en la semana 12 con respecto a los valores basales respectivos en la semana 0, mientras que el grupo de solución salina muestra un aumento significativo durante este tiempo y el Lisinopril solo no tiene efecto significativo.

Medición de la Patología Renal

Los riñones se removieron en la terminación del

estudio, se fijaron en formalina y se procesaron para seccionamiento en parafina de acuerdo con la metodología estándar. Las secciones de riñón se evaluaron para lesiones renales por un patólogo certificado por el consejo. Las principales patologías renales en este modelo diabético son aumentos de la fibrosis glomerular e intersticial, así como aumentos de la inflamación intersticial. Las patologías renales son semi-cuantitativamente calificadas usando la siguiente escala: ninguna (0), mínima (1), ligera (2), moderada (3), marcada (4) y grave (5). Las puntuaciones de patología se obtienen usando secciones teñidas con PAS y Tricromo de H&E, Masson.

La Tabla 25 a continuación muestra los datos correspondientes a las mediciones de la patología renal. Los datos mostrados representan la media aritmética $\pm$ SEM para los parámetros listados. Todos los datos representan un valor de N de 4-7 animales por grupo.

Tabla 25. Medición in vivo de la patología renal en un modelo de enfermedad renal crónica por nefropatía diabética después de 12 semanas.

Parámetro	Solución salina	Lisinopril más Solución salina	Lisinopril más 7.2 nmol/kg del Ejemplo 4	Lisinopril más 24 nmol/kg del Ejemplo 4	Lisinopril más 72 nmol/kg del Ejemplo 4
Expansión de Matriz Mesangial	3.8 ± 0.3	2.1 ± 0.1^a	1.2 ± 0.2^{ab}	1.4 ± 0.2^{ab}	1.6 ± 0.2^a
Fibrosis	2.8 ± 0.3	1.4 ± 0.2^a	1.3 ± 0.2^a	1.0 ± 0.0^a	1.0 ± 0.3^a

Glomerular					
Regeneración tubular	3.3 ± 0.5	2.0 ± 0.2 ^a	1.0 ± 0.0 ab	1.0 ± 0.3 ab	1.0 ± 0.3 ab
Inflamación intersticial	2.3 ± 0.3	1.1 ± 0.3 ^a	0.3 ± 0.2 ab	0.2 ± 0.2 ab	0.2 ± 0.2 ab
Fibrosis intersticial	2.5 ± 0.3	2.0 ± 0.3	1.0 ± 0.0 ab	1.2 ± 0.2 ^a	1.2 ± 0.2 ^a

5 a-indica diferencias significativas con respecto al grupo de control de solución salina.

b-indica diferencias significativas con respecto al grupo de Lisinopril más solución salina.

10 Los datos en la Tabla 25 demuestran que el tratamiento de Lisinopril más solución salina reduce significativamente todos los parámetros de patología renal con respecto al grupo control de solución salina con la excepción de fibrosis intersticial. Los datos en la Tabla 25 también demuestran que Lisinopril más el compuesto del

15 Ejemplo 4 reduce significativamente la patología renal para todos los parámetros con respecto al grupo de control de solución salina. Los datos en la Tabla 25 demuestran además que el Lisinopril más el compuesto del Ejemplo 4 reduce significativamente la patología renal para expansión de

20 matriz mesangial, regeneración tubular, inflamación intersticial y fibrosis intersticial en un mínimo de al menos un nivel de dosis del Ejemplo 4 con respecto al grupo de Lisinopril más solución salina.

25 En general, estos datos demuestran que la mejora en la función renal obtenida con Lisinopril más el compuesto del

tratamiento del Ejemplo 4 en este modelo de nefropatía diabética se acompaña por mejoras significativas en la estructura renal con reducciones en las principales patologías renales debido a la enfermedad renal hipertensa
5 diabética. Estos datos demuestran que el compuesto del Ejemplo 4 es capaz de tratar la enfermedad renal crónica causada por la diabetes e hipertensión.

Los datos de patología se evalúan estadísticamente con software R ajustando un modelo logit ordenado a las
10 puntuaciones categóricas, y luego comparando las diferencias entre los diferentes grupos de tratamiento. El análisis estadístico de albuminuria (ACR) se realizó con software R por el siguiente: 1) los datos se analizaron en escala logarítmica para estabilizar la varianza sobre diferentes
15 grupos de tratamiento, 2) el análisis de datos se realizó usando un modelo mixto con grupo de tratamiento, tiempo y su interacciones como términos del modelo, más ACR basal se incluye como covariable, 3) observaciones de cada animal en momentos diferentes se tratan como mediciones repetidas
20 usando una estructura de covarianza CS y 4) los valores p de la prueba no se ajustan para múltiples pruebas. Todos los otros datos se evaluaron por ANOVA con datos transformados logarítmicamente y una prueba t no pareada de Student con software JMP v.8.0 (SAS Institute). Los valores atípicos
25 estadísticos se removieron antes del análisis. El valor p

<0.05 se consideró estadísticamente significativo.

Estos datos demuestran que los compuestos descritos en la presente son capaces de tratar la enfermedad renal crónica causada por nefropatía hipertensa.

5 Como se señaló anteriormente, la Tabla 1 proporciona la actividad *in vitro* para hCRHR2b para los compuestos de los Ejemplos 1-7 (así como estos datos para hUCN1 y hUCN2). La Tabla 26 a continuación proporciona la hCRHR2b en un ensayo de cAMP para los compuestos del Ejemplo 10 9. Estos datos muestran además que tales compuestos tienen actividad agonista de CRHR2 en un ensayo de cAMP.

Tabla 26

15	Compuesto No.	hCRHR2b EC50 promedio (nM)	28	83.2 (n=2)
	21	5.25 (n=2)	29	64.7 (n=2)
	22	1.20 (n=2)	30	12.4 (n=2)
	23	17.9 (n=2)	31	3.20 (n=2)
	24	25.3 (n=2)	32	9.18 (n=2)
	25	63.5 (n=2)	33	8.68 (n=2)
	26	15.62 (n=2)	34	4.54 (n=2)
	27	31.54 (n=2)	35	404 (n=2)
20	36	330.9 (n=2)	52	1.16 (n=2)
	37	24.09 (n=2)	53	4.01 (n=2)
	38	2.33 (n=2)	54	4.26 (n=2)
	39	26.99 (n=2)	55	1.51 (n=2)
	40	55.86 (n=4)	56	1.17 (n=3)
	41	207.0 (n=4)	57	3.65 (n=2)
	42	500.2 (n=2)	58	3.79 (n=2)
25				

5	43	12.56 (n=4)	59	2.62 (n=2)
	44	13.37 (n=2)	60	2.55 (n=4)
	45	27.69 (n=4)	61	2.50 (n=2)
	46	11.67 (n=4)	62	4.50 (n=2)
	47	4.56 (n=5)	63	1.30 (n=2)
	48	3.61 (n=5)	64	1.63 (n=2)
	49	2.86 (n=2)	65	1.24 (n=2)
	50	3.56 (n=2)	66	1.45 (n=2)
	51	2.42 (n=2)		

MODALIDADES NUMERADAS:

1. Un compuesto de la Fórmula:

10 X_1 I V X_2 S L D V P I G L L Q I L X_3 E Q E K Q E K E K Q Q A K^{*}
T N A X_4 I L A Q V-NH₂

en donde X_1 indica que el residuo I es modificado ya sea por acetilación o metilación en el extremo N-terminal, en donde X_2 es L o T, en donde X_3 es L o I, en donde X_4 es Q o E, y en donde K^{*} en la posición 29 es modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con un grupo de la fórmula - X_5 - X_6 , en donde

X_5 se selecciona del grupo que consiste de:

uno a cuatro aminoácidos, una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil), y combinaciones de uno a cuatro aminoácidos y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil),

X_6 es un ácido graso de C₁₄-C₂₄ (SEQ ID NO:16),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 2. El compuesto o sal de la modalidad numerada 1,

en donde X_5 se selecciona del grupo que consiste de: uno a cuatro aminoácidos E o γ E, una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil), y combinaciones de uno a cuatro aminoácidos E o γ E y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil).

3. El compuesto o sal de la modalidad numerada 2, en donde X_5 es una combinación de uno a cuatro aminoácidos E o γ E y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil).

4. El compuesto o sal de la modalidad numerada 3, en donde X_5 es una combinación de dos a cuatro aminoácidos γ E y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil).

5. El compuesto o sal de las modalidades numeradas 1 a 4, en donde X_5 es una combinación de dos aminoácidos γ E y dos porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil).

6. El compuesto o sal de cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 5, en donde X_6 es un ácido graso de cadena recta de la fórmula $\text{CO}-(\text{CH}_2)_x-\text{CO}_2\text{H}$, en donde x es 16, 18, o 20.

7. El compuesto o sal de cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 6, en donde el grupo de la fórmula $-\text{X}_5-\text{X}_6$ es $([2-(2-\text{Amino-etoxi})-\text{etoxi}]-\text{acetil})_2-(\gamma\text{E})_2-\text{CO}-(\text{CH}_2)_x-\text{CO}_2\text{H}$ donde x es 16 o 18.

8. El compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 7, en donde el aminoácido terminal es amidado como una amida primaria C-terminal.

5 9. El compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 8, en donde X_1 indica que el residuo I es modificado por acetilación en el extremo N-terminal, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, y el grupo de la fórmula $-X_5-X_6$ es $([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-(\gamma\text{E})_2\text{-CO}-(\text{CH}_2)_x\text{-CO}_2\text{H}$ donde x es 16 o 18 (SEQ ID NO:17).

10 10. El compuesto o sal de acuerdo con cualquier modalidad numerada 9, en donde x es 18 (SEQ ID NO:2).

11. El compuesto o sal de acuerdo con cualquier modalidad numerada 9, en donde x es 16 (SEQ ID NO:1).

15 12. El compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 8, en donde X_1 indica que el residuo I es modificado por metilación en el extremo N-terminal, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, y el grupo de la fórmula $-X_5-X_6$ es $([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-(\gamma\text{E})_2\text{-CO}-(\text{CH}_2)_{18}\text{-CO}_2\text{H}$ (SEQ ID NO:4).

20 13. El compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 8, en donde X_1 indica que el residuo I es modificado por metilación en el extremo N-terminal, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es Q, y el grupo de la fórmula $-X_5-X_6$ es $([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-(\gamma\text{E})_2\text{-CO}-(\text{CH}_2)_{16}\text{-CO}_2\text{H}$ (SEQ ID NO:3).

25

14. El compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 8, en donde X_1 indica que el residuo I es modificado por metilación en el extremo N-terminal, X_2 es T, X_3 es L, X_4 es E, y el grupo de la fórmula
5 $-X_5-X_6$ es $([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-(\gamma\text{E})_2\text{-CO}-(\text{CH}_2)_{18}\text{-CO}_2\text{H}$ (SEQ ID NO:5).

15. El compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 8, en donde X_1 indica que el residuo I es modificado por metilación en el extremo N-
10 terminal, X_2 es L, X_3 es L, X_4 es E, y el grupo de la fórmula $-X_5-X_6$ es $([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-(\gamma\text{E})_2\text{-CO}-(\text{CH}_2)_{18}\text{-CO}_2\text{H}$ (SEQ ID NO:6).

16. El compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 8, en donde X_1 indica que el
15 residuo I es modificado por metilación en el extremo N-terminal, X_2 es T, X_3 es I, X_4 es E, y el grupo de la fórmula $-X_5-X_6$ es $([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-(\gamma\text{E})_2\text{-CO}-(\text{CH}_2)_{18}\text{-CO}_2\text{H}$ (SEQ ID NO:7).

17. Una composición farmacéutica, caracterizada
20 porque comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 16 y one o uno o más portadores, diluyentes, y excipientes farmacéuticamente aceptables.

18. Un método para tratar la diabetes tipo II en
25 un paciente, que comprende administrar a un paciente en

necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 16.

19. El método de la modalidad numerada 18, en
5 donde la administración a un paciente en necesidad de tal tratamiento de una cantidad efectiva de un compuesto o sal se combina con dieta y ejercicio.

20. Un método para tratar enfermedad renal crónica en un paciente, que comprende administrar a un paciente en
10 necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 16.

21. El método de acuerdo con la modalidad numerada 20, en donde la enfermedad renal crónica es causada por
15 nefropatía diabética.

22. El método de acuerdo con la modalidad numerada 20, en donde la enfermedad renal crónica es causada por nefropatía hipertensiva.

23. Los métodos de acuerdo con cualquiera de las
20 modalidades numeradas 19 a 22, en donde la administración del compuesto o sal al paciente en necesidad de tal tratamiento es subcutánea.

24. Un compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 16, para uso en terapia.

25 25. Un compuesto o sal de acuerdo con cualquiera

de las modalidades numeradas 1 a 16, para uso en el tratamiento de diabetes tipo II.

26. Un compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 1 a 16, para uso en el
5 tratamiento de enfermedad renal crónica.

27. un compuesto o sal para uso de acuerdo con cualquiera de las modalidades numeradas 24 a 26 en donde la administración del compuesto o sal es subcutánea.

28. Un compuesto de la Fórmula:

10 X_1 I V X_2 S L D V P I G L L Q I L X_3 E Q E K Q E K E K Q Q A K
T N A X_4 I L A Q V-NH₂

en donde X_1 indica que el residuo I es modificado ya sea por acetilación o metilación en el extremo N-terminal, en donde X_2 es L o T, en donde X_3 es L o I, en donde X_4 es Q o E
15 (SEQ ID NO:18).

29. un compuesto de la fórmula:

Ile	Val	Xaa	Ser	Leu	Asp	Val	Pro	Ile	Xaa	Leu	Leu	Gln	Xaa	Xaa
1				5					10				15	
Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Lys	Lys	Xaa	Lys	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
20				20					25				30	
Asn	Ala	Xaa	Ile	Leu	Ala	Xaa	Val	(SEQ ID NO: 68)						

35

En donde:

Ile en la posición 1 opcionalmente se puede derivar en la
25 amina N-terminal con un grupo metilo o un grupo acetilo;

Xaa en la posición 3 es Leu o Thr;
 Xaa en la posición 10 es Gly o Lys;
 Xaa en la posición 14 es Ile o Lys;
 Xaa en la posición 15 es Leu o Lys;
 5 Xaa en la posición 16 es Leu, Ile, o Lys;
 Xaa en la posición 17 es Glu o Lys;
 Xaa en la posición 18 es Gln o Lys;
 Xaa en la posición 19 es Glu o Lys;
 Xaa en la posición 21 es Gln o Lys;
 10 Xaa en la posición 22 es Glu o Lys;
 Xaa en la posición 24 es Glu o Lys;
 Xaa en la posición 26 es Gln o Lys;
 Xaa en la posición 27 es Gln o Lys;
 Xaa en la posición 28 es Ala o Lys;
 15 Xaa en la posición 29 es Thr o Lys;
 Xaa en la posición 30 es Thr, Glu o Lys;
 Xaa en la posición 33 es Gln, Arg, o Glu;
 Xaa en la posición 37 es Gln, His, o Arg; y
 Val en la posición 38 está amidado opcionalmente en el
 20 carboxilo C-terminal;
 siempre que la epsilon-amina de Lys en exactamente una de las
 posiciones 10 y 14-30 se modifica con -X5-X6, donde X5 es 1 a
 4 aminoácidos y/o 1 a 4 porciones de ([2-(2-amino-etoxi)-
 etoxi]-acetil) y X6 es el ácido graso C14-C24; y
 25 siempre que si cualquiera de las posiciones 10, 14-19, 21,

22, 24, y 26-30 es Lys entonces esa posición es la única de las posiciones 10, 14-19, 21, 22, 24, y 26-30 que es Lys; y siempre que cuando uno de las posiciones 10, 14-19, 21, 22, 24, y 26-30 se Lys, ese Lys se modifica con X5-X6.

5

10

15

20

25

25

20

15

10

5

Compuesto No.	Ejemplo No.	Modificación N-terminal	Secuencia de péptido	SEQ ID NO:	Posición de Lisina Modificada	Modificación C-terminal	Cadena lateral en Lisina modificada
1	1	Ac	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAQILAQV	1	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-(γE)2-CO-(CH ₂)16-COOH
2	2	Ac	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAQILAQV	2	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-(γE)2-CO-(CH ₂)18-CO ₂ H
3	3	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAQILAQV	3	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-(γE)2-CO-(CH ₂)16-CO ₂ H
4	4	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAQILAQV	4	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-(γE)2-CO-(CH ₂)18-CO ₂ H
5	5	Me	IVTSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAEILAQV	5	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-(γE)2-CO-(CH ₂)18-CO ₂ H
6	6	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAEILAQV	6	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-(γE)2-CO-(CH ₂)18-CO ₂ H
7	7	Me	IVTSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAEILAQV	7	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2---(γE)2-CO-(CH ₂)18-CO ₂ H
-	-	Me o Ac	IVXSLDVPIGLLQILXEQEK QEKEKQQAQTNAQILAQV X en 3 es L o T X en 16 es L o I X en 33 es Q o E	8	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-(γE)2-CO-(CH ₂)x-CO ₂ H donde x es 16 o 18
9	8	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAQILAQV	9	29	amida	-γGlu-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-(γE)2-CO-(CH ₂)18-COOH
10	8	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAQILAQV	10	29	amida	-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-(γE)2-CO-(CH ₂)16-COOH

Compuesto No.	Ejemplo No.	Modificación N-terminal	Secuencia de péptido	SEQ ID NO:	Posición de Lisina Modificada	Modificación C-terminal	Cadena lateral en Lisina modificada
11	8	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAKTNAQILAQV	11	29	amida	-γE-γE-γE-γE-CO-(CH ₂) ₁₈ -COOH
12	8	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAKTNAQILAQV	12	29	amida	-γE-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-γE-γE-CO-(CH ₂) ₁₈ -COOH
13	8	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAKTNAQILAQV	13	29	amida	-γE-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂) ₁₈ -COOH
14	8	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAKTNAQILAQV	14	29	amida	-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-γE-γE-CO-(CH ₂) ₁₈ -COOH
-	-	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQAR ARAAREQATTNARILARV	15	-	-	Ninguna
-	-	Me o Ac	IVXSLDVPIGLLQILXEQEK QEKEKQQAKTNAXILAQV X en 3 es L o T X en 16 es L o I X en 33 es Q o E	16	29	amida	Como se describe en la presente.
17	-	Ac	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAKTNAQILAQV	17	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-(γE)2-CO-(CH ₂) _x -CO ₂ H, donde x es 16 o 18
-	-	Me o Ac	IVXSLDVPIGLLQILXEQEK QEKEKQQAKTNAXILAQV X en 3 es L o T X en 16 es L o I X en 33 es Q o E	18	-	amida	Ninguna
-	-	-	EKQEKEKQ	19	-	-	Ninguna

25

20

15

10

5

Compuesto No.	Ejemplo No.	Modificación N-terminal	Secuencia de péptido	SEQ ID NO:	Posición de Lisina Modificada	Modificación C-terminal	Cadena lateral en Lisina modificada
-	-	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQATTNARILARV	20	-	-	Ninguna
21	9	-	IVLSLDVPIGLLQKILLEQEK QEKEKQQATTNARILARV	21	14	amida	-γE-CO- (CH ₂) 14-CH ₃
22	9	-	IVLSLDVPIGLLQIKLEQEK QEKEKQQATTNARILARV	22	15	amida	-γE-CO- (CH ₂) 14-CH ₃
23	9	-	IVLSLDVPIGLLQIILKQEK QEKEKQQATTNARILARV	23	17	amida	-γE-CO- (CH ₂) 14-CH ₃
24	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQKK QEKEKQQATTNARILARV	24	19	amida	-γE-CO- (CH ₂) 14-CH ₃
25	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQATTNARILARV	25	20	amida	-γE-CO- (CH ₂) 14-CH ₃
26	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK KEKEKQQATTNARILARV	26	21	amida	-γE-CO- (CH ₂) 14-CH ₃
27	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QKKEKQQATTNARILARV	27	22	amida	-γE-CO- (CH ₂) 14-CH ₃
28	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQATTNARILARV	28	23	amida	-γE-CO- (CH ₂) 14-CH ₃
29	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKKKQQATTNARILARV	29	24	amida	-γE-CO- (CH ₂) 14-CH ₃
30	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQATTNARILARV	30	25	amida	-γE-CO- (CH ₂) 14-CH ₃

Compuesto No.	Ejemplo No.	Modificación N-terminal	Secuencia de péptido	SEQ ID NO:	Posición de Lisina Modificada	Modificación C-terminal	Cadena lateral en Lisina modificada
31	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQATTNARILARV	31	25	amida	-γE-γE- CO- (CH ₂) ₁₄ -CH ₃
32	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQATTNARILARV	32	25	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-γE- CO- (CH ₂) ₁₄ -CH ₃
33	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKKQATTNARILARV	33	26	amida	-γE-CO- (CH ₂) ₁₄ -CH ₃
34	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKKQATTNARILARV	34	26	amida	-γE-γE- CO- (CH ₂) ₁₄ -CH ₃
35	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQKATTNARILARV	35	27	amida	-γE-CO- (CH ₂) ₁₄ -CH ₃
36	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQKTTNARILARV	36	28	amida	-γE-CO- (CH ₂) ₁₄ -CH ₃
37	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKTNARILARV	37	29	amida	-γE-CO- (CH ₂) ₁₄ -CH ₃
38	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKTNARILARV	38	29	amida	-γE-γE-CO- (CH ₂) ₁₄ -CH ₃
39	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQATKNARILARV	39	30	amida	-γE-CO- (CH ₂) ₁₄ -CH ₃
40	9	-	IVLSLDVPIGLLQKILLEQEK QEKEKQQATTNAQILAHV	40	14	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO- (CH ₂) ₁₆ -COOH
41	9	-	IVLSLDVPIGLLQIKLEQEK QEKEKQQATTNAQILAHV	41	15	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO- (CH ₂) ₁₆ -COOH

Compuesto No.	Ejemplo No.	Modificación N-terminal	Secuencia de péptido	SEQ ID NO:	Posición de Lisina Modificada	Modificación C-terminal	Cadena lateral en Lisina modificada
42	9	-	IVLSLDVPIGLLQILKEQEK QEKEKQQATTNAQILAHV	42	16	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
43	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLKQEK QEKEKQQATTNAQILAHV	43	17	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
44	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEKEK QEKEKQQATTNAQILAHV	44	18	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
45	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK KEKEKQQATTNAQILAHV	45	21	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
46	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQATTNAQILAHV	46	25	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
47	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKKQATTNAQILAHV	47	26	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
48	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKTNAQILAHV	48	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
49	9	-	IVLSLDVPIKLLQILLEQEK QEKEKQQATTNAQILAQV	49	10	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
50	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLKQEK QEKEKQQATTNAQILAQV	50	17	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
51	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKKQATTNAQILAQV	51	26	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
52	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKTNAQILAQV	52	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH

25

20

15

10

5

Compuesto No.	Ejemplo No.	Modificación N-terminal	Secuencia de péptido	SEQ ID NO:	Posición de Lisina Modificada	Modificación C-terminal	Cadena lateral en Lisina modificada
53	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLKQEK QEKEKQATENAQILAQV	53	17	amida	([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
54	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQATENAQILAQV	54	26	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
55	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKENAQILAQV	55	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
56	9	-	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKENAQILAQV	56	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)16-COOH
57	9	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKENAEILAQV	57	29	amida	-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-γE-γE-CO-(CH ₂)18-COOH
58	9	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKENAEILAQV	58	29	amida	-γE -γE-CO-(CH ₂)18-COOH
59	9	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKENAEILAQV	59	29	amida	-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-γE-γE-CO-(CH ₂)18-COOH
60	9	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKTNAQILAQV	60	29	amida	-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)18-COOH
61	9	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKTNAQILAQV	61	29	amida	-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-γE-γE-CO-(CH ₂)18-COOH
62	9	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKTNAQILAQV	62	29	amida	-γE-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)2-γE-γE-CO-(CH ₂)18-COOH
63	9	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQAKTNAQILAQV	63	29	amida	-γE-γE-([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-γE-γE-CO-(CH ₂)18-COOH

25

20

15

10

5

Compuesto No.	Ejemplo No.	Modificación N-terminal	Secuencia de péptido	SEQ ID NO:	Posición de Lisina Modificada	Modificación C-terminal	Cadena lateral en Lisina modificada
64	9	Me	IVLSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAQILAQV	64	29	amida	-γE-γE-γE-γE-CO- (CH ₂) 18-COOH
65	-	Me	IVTSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAQILAQV	65	29		-γE- ([2- (2-Amino-etoxi) -etoxi] -acetil) 2-γE-γE-CO- (CH ₂) 18-COOH
66	9	Me	IVTSLDVPIGLLQILLEQEK QEKEKQQAQTNAEILAQV	66	29	amida	-γE- ([2- (2-Amino-etoxi) -etoxi] -acetil) 2-γE-γE-CO- (CH ₂) 18-COOH
-	-	-, Me, Ac	IVXSOLDVPIGLLQILXEQEK QEKEKQQAQTXNAXILAXV X en la posición 3 es L o T X en la posición 16 es L o I X en la posición 30 es T o E X en la posición 33 es Q, R, o E X en la posición 37 es Q, H, o R	67	Como se describe en la presente	Como se describe en la presente	Como se describe en la presente.

Como se señaló anteriormente, ciertas modalidades se pueden diseñar en las cuales el paciente es un animal, tal como un gato. A continuación se muestra una lista de las secuencias de varias secuencias de Urocortina 2 encontradas en humanos y algunas especies animales.

	HUMANA	IVLSLDVPIGLLQILLEQARARAAREQATTNARILARVGH	:41
	RATÓN	VILSLDVPIGLLRILLEQARYKAARNQAATNAQILAHV---	:38
	RATA	VILSLDVPIGLLRILLEQARNKAARNQAATNAQILARV---	:38
	ORANGUTÁN	IVLSLDVPIGLLQILLEQARARAAREQATTNARILAHVG--	:39
10	PERRO	IILSLDVPIGLLQILLEQARARASREQATTNARILAQVG--	:39
	BOVINO	ITLSLDVPLGLLQILLEQARARAVREQAAANARILAHVGH-	:40
	CABALLO	ITLSLDVPVGLLQILLEQVRARAAREQAAANARILAHVG--	:39
	CERDO	ITLSLDVPLGLLQILLEQARARAVREQAAANARILAHVG--	:39
	ELEFANTE	ITLSLDVPLGLLQILLEQARIRAAREQAAANARILAHVG--	:39
15	PEZ	ISLDVPTSILSVLIDIAKNQDMRTKAAANAELMARIG----	:37

Adicionalmente, la información acerca de la urocortina 2 para gatos se encuentra en la base de datos de GENBANK y se reproduce a continuación:

20 NÚMERO DE ACCESO DE GENBANK XR_002150782 (VERSIÓN XR_002150782.1)

1 gctctgggtg ggatgggcag ggccttgggg gctgagtaga tccgggtatg ggttatttga
61 ggtctccgga tgtggagtct ctggctgctt ctctaccttg aggaccccat tcctgccctt
121 ctttgtccac gatctgctgc aagctccctc agacctgagg ctcccctttt gtccctctgt
25 181 gttctctcca tgccttggtg tccttatctt catcatgctg tctgtctctg ggggtggctcc

241 agcctctttg tcttccagtc tccctctttt gctctgcctc catgtcctcc ctctcgtctt
 301 tttccctctt ctccctcccc tccccaactg tacccatctc tacatctaga tccagaccta
 361 gctgtgctct ctgtctcttt cactctcctt cttgctctct ccgtctccct ggccccctgct
 421 ctgtctggct gtcttgctgt ttcattctctg tctctcttat ctccgtccca tgccctggcct
 481 ctctaattctc tacctctctg tctccttccc ttgggtctccc tctctctgtc tgtctacttt
 5 541 ccccgctctgc atctgtccat gcgccacggc tgcccagaac ccctgccctg agcctctttt
 601 ctccctcgag cctgaccacg cgatgaccag gtgggctctg ctgggtgctga tgatcctgac
 661 gtcgggcagg gccctgcttg tccccatgac ccctattcca gccttccagc tctccctca
 721 gaaccctccc caagccaactc cccgccctgt ggctcagag agccctcag ccagcaccgt
 781 gggccccctc actgcttggg gccaccctag ccctggcccc cgcccaggcc cccgcacac
 841 tctctcactg gatgtcccca ttggcctcct gcggatctta ctggagcaag cccgagccag
 10 901 agctgtgagg gagcaggccg ctgccaacgc tcgcatcctg gcccatgttg gccgccgctg
 961 agcctcaggg cgggggtcac cctgaattag gagacctgga aggcagcagc agagcaggac
 1021 gcactacatc tgggcacagt gcgcctggcc acagccccgt gcagtactg ccatgtggtg
 1081 tcatatcaca gctgagtgcc tcacagagcc acagtttggt tggacagccc gggcattgcc
 1141 atatcgggtg actgccaaat ggagtcttgc catacctgga gccacacaga cttacaatat
 1201 gtctggacag cttggacact actgtggaat gtgactaccg tgtggagtct tgccatgtct
 15 1261 gggtgcccca cagtcaaaga gcaagaatct ggacactgcc aatgtggcca ctcttgtgcc
 1321 agtttttagga acctcaacat aggagcccag tattgcatct cagacccatc cacctaagac
 1381 cagacctgca ggtcttccct gcccccaaca ggtcaccaca caggggagtg caggctgagg
 1441 gtcacatgca tgttttgtgc ttcattgaggc agcaccacc ccagaagaat ggggccgtca
 1501 caggcatctc caggcatggg tgaccgtacg tggaaaagtct gtggttgtga cagccttgcc
 1561 ttgtgccctg cacacctggc ctgcggccctt ggacacacga tgactcagga gagaggaggc
 20 1621 tcgggctgct ggggctccg tccagcccca tacctccttt gttgaattgt cccaagcaaa
 1681 ctaaaatgtg ctcacctttc caagccttag tttcttcctc tgtaaagcag aatgatgcca
 1741 ccaagcttct tgcaaacatt gaggtagcgt gcacttgaag gttctagcac gcaggaagag
 1801 ctcaataaat gtagtgactg ga

NÚMERO DE ACCESO DE GENBANK XM_006928725 (VERSIÓN
XM_006928725.2)

```

1  gtccctctgt ccagccctgg tcaactgttct gtgactctca gtgtccaact tgtcccaaaa
61  aaggagtaga cagagtggag gctgaggaca cgtcctcact gccccccag gaggggatga
5  121  gtcagagggtg gggggctgct tcatgccgga gccgtgcca gtcctacct caggggctga
181  gagagataaa tgggcccgga agggggcaga ggcccgaaca cagcacagca ccgcctggtc
241  ccagccgcgg gcagccctgg cggccccacc ttgtccaga agaggctgct gctgcctgac
301  cacgcgatga ccaggtgggc tctgtgtgtg ctgatgatcc tgacgtcggg cagggccctg
361  cttgtcccca tgaccctat tccagccttc cagctcctcc ctcagaacct tcccaagcc
421  actccccgcc ctgtggcctc agagagcccc tcagccagca ccgtgggccc ctccactgct
10  481  tggggccacc ctagccctgg cccccgcca ggccccgca tcaactctctc actggatgtc
541  cccattggcc tcctgcggat cttactggag caagcccag ccagagctgt gagggagcag
601  gccgtgcca acgctcgcat cctggcccat gttggccgcc gctgagcctc agggcggggg
661  tcaccctgaa ttaggagacc tggaaggcag cagcagagca ggacgcacta catctgggca
721  cagtgcgctt ggccacagcc ccgtgcagtc actgccatgt ggtgtcatat cacagctgag
781  tgcctcacag agccacagtt tgtttggaca gcccgggcat tgccatatcg ggtgactgcc
15  841  aaatggagtc ttgccatacc tggagccaca cagacttaca atatgtctg acagcttga
901  cactactgtg gaatgtgact accgtgtgga gtcttgccat gtctgggtgc cccacagtca
961  aagagcaaga atctggacac tgccaatgtg gccactcttg tgccagtttt aggaacctca
1021 acataggagc ccagtattgc atctcagacc catccaccta agaccagacc tgcaggctctt
1081 ccctgcccc aacaggtcac cacacagggg agtgcaggct gagggtcaca tgcattttt
1141 gtgcttcatt aggcagcacc caccacagaa gaatggggcc gtcacaggca tctccaggca
20  1201 tgggtgaccg tacgtggaaa gtctgtggtt gtgacagcct tgccttgtgg taggtgtacg
1261 tgtgatcggt ggtgcatct ctgctgtgg

```

Se pueden diseñar modalidades específicas en las
cuales las moléculas de las SEQ. ID NOS. 1, 2, 3, 5, 6 y 7 se
usan para tratar la enfermedad renal crónica y/o diabetes en
gatos u otros animales.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la Fórmula:

X₁ I V X₂ S L D V P I G L L Q I L X₃ E Q E K Q E K E K Q Q A K*
 5 T N A X₄ I L A Q V-NH₂

caracterizado porque X₁ indica que el residuo I es modificado ya sea por acetilación o metilación en el extremo N-terminal;

en donde X₂ es L o T;

10 en donde X₃ es L o I;

en donde X₄ es Q o E; y

en donde un residuo K modificado ("K*") en la posición 29 es modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con un grupo de la
 15 Fórmula -X₅-X₆, en donde

X₅ se selecciona del grupo que consiste de:

uno a cuatro más aminoácidos;

una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil); y

20 combinaciones de uno a cuatro aminoácidos y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil);

X₆ es un ácido graso de C₁₄-C₂₄ (SEQ ID NO:16);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto o sal de conformidad con la
 25 reivindicación 1, caracterizado porque X₅ se selecciona del

grupo que consiste de:

uno a cuatro aminoácidos E o γ E;

una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil); y

5 combinaciones de uno a cuatro aminoácidos E o γ E y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil).

3. El compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque X_5 es una combinación de uno a cuatro aminoácidos E o γ E y una a cuatro porciones
10 de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil).

4. El compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque X_5 es una combinación de dos a cuatro aminoácidos γ E y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil).

15 5. El compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque X_5 es una combinación de dos aminoácidos γ E y dos porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil).

6. El compuesto o sal de conformidad con
20 cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque X_6 es un ácido graso de cadena recta de la Fórmula $\text{CO}-(\text{CH}_2)_x-\text{CO}_2\text{H}$, en donde x es 16, 18, o 20.

7. El compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado
25 porque el grupo de la Fórmula

$-X_5-X_6$ es $([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-(\gamma E)_2\text{-CO}-(CH_2)_x\text{-CO}_2H$ donde x es 16 o 18.

8. El compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque el aminoácido C-terminal es amidado como una amida primaria C-terminal.

9. El compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque:

10 X_1 indica que el residuo I es modificado por acetilación en el extremo N-terminal;

X_2 es L;

X_3 es L;

X_4 es Q; y

15 el grupo de la Fórmula $-X_5-X_6$ es $([2-(2\text{-Amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-(\gamma E)_2\text{-CO}-(CH_2)_x\text{-CO}_2H$ donde x es 16 o 18.

10. El compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado porque x es 18.

11. El compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado porque x es 16.

12. El compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque:

25 X_1 indica que el residuo I es modificado por metilación en el extremo N-terminal;

X_2 es L;

X_3 es L;

X_4 es Q; y

el grupo de la Fórmula $-X_5-X_6$ es ([2-(2-Amino-
5 etoxi)-etoxi]-acetil) $_2$ -(γ E) $_2$ -CO-(CH $_2$) $_{18}$ -CO $_2$ H.

13. El compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque:

X_1 indica que el residuo I es modificado por
10 metilación en el extremo N-terminal;

X_2 es L;

X_3 es L;

X_4 es Q; y

el grupo de la Fórmula $-X_5-X_6$ es ([2-(2-Amino-
15 etoxi)-etoxi]-acetil) $_2$ -(γ E) $_2$ -CO-(CH $_2$) $_{16}$ -CO $_2$ H.

14. El compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque:

X_1 indica que el residuo I es modificado por
20 metilación en el extremo N-terminal;

X_2 es T;

X_3 es L;

X_4 es E; y

el grupo de la Fórmula $-X_5-X_6$ es ([2-(2-Amino-
25 etoxi)-etoxi]-acetil) $_2$ -(γ E) $_2$ -CO-(CH $_2$) $_{18}$ -CO $_2$ H.

15. El compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque:

X_1 indica que el residuo I es modificado por
5 metilación en el extremo N-terminal;

X_2 es L;

X_3 es L;

X_4 es E; y

el grupo de la Fórmula $-X_5-X_6$ es ([2-(2-Amino-
10 etoxi)-etoxi]-acetil) $_2-(\gamma E)_2-CO-(CH_2)_{18}-CO_2H$.

16. El compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque:

X_1 indica que el residuo I es modificado por
15 metilación en el extremo N-terminal;

X_2 es T;

X_3 es I;

X_4 es E; y

el grupo de la Fórmula $-X_5-X_6$ es ([2-(2-Amino-
20 etoxi)-etoxi]-acetil) $_2-(\gamma E)_2-CO-(CH_2)_{18}-CO_2H$.

17. Un compuesto, caracterizado porque comprende:
la secuencia de aminoácidos

IVX₂SLDVPIGLLQILX₃EQEKQEKEKQQATX₇NAX₄ILAX₈V-NH₂ (SEQ ID NO:67)

en donde X_2 es L o T;

25 en donde X_3 es L o I;

en donde X_4 es Q, R, o E;

en donde X_7 es T o E; y

en donde X_8 es Q, H o R,

en donde un residuo K modificado (" K^* ") es
 5 sustituido por el residuo de aminoácido en la posición 10 o
 en cualquier residuo de aminoácido entre la posición 14 y la
 posición 30 inclusive, en donde K^* es modificado por tener el
 grupo epsilon-amino de la cadena lateral K unido a un grupo
 de la Fórmula $-X_5-X_6$, en donde

10 X_5 se selecciona del grupo que consiste de:

entre uno a cuatro residuos aminoácidos;

entre una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-
 etoxi)-etoxi]-acetilo; y

combinaciones de uno a cuatro residuos
 15 aminoácidos y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-
 etoxi]-acetilo;

X_6 es un ácido graso de $C_{14}-C_{24}$;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

18. Un compuesto o sal de conformidad con la
 20 reivindicación 17, caracterizado porque X_8 es ya sea un
 residuo H o Q.

19. Un compuesto o sal de conformidad con la
 reivindicación 17, caracterizado porque X_5 comprende 1 o 2
 residuos aminoácidos y 1 o 2 porciones de ([2-(2-Amino-
 25 etoxi)-etoxi]-acetilo.

20. Un compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 19, caracterizado porque X_5 comprende dos residuos aminoácidos y dos porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetilo, en donde los dos residuos aminoácidos son
5 residuos ya sea E o γ E.

21. Un compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado porque X_1 es modificado en el extremo N-terminal ya sea por acetilación o metilación.

22. Un compuesto o sal de conformidad con la
10 reivindicación 17, caracterizado porque X_2 es un residuo L.

23. Un compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado porque X_3 es un residuo L.

24. Un compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado porque X_4 es un residuo Q.

15 25. Un compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado porque X_7 es un residuo T.

26. Un compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado porque X_5 comprende entre uno a cuatro residuos aminoácidos de manera que no son porciones
20 de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetilo en la molécula sintética.

27. Un compuesto o sal de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado porque el residuo I en la posición 1 es modificado en el extremo N-terminal por una de
25 acetilación o metilación.

28. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende un compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 27 y uno o más portadores, diluyentes, y excipientes farmacéuticamente
5 aceptables.

29. Un método para tratar la diabetes tipo II en un paciente, caracterizado porque comprende administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto o sal de conformidad con cualquiera
10 de las reivindicaciones 1 a 28.

30. Un método para tratar la enfermedad renal crónica en un paciente, caracterizado porque comprende administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto o sal de conformidad con
15 cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28.

31. El método de conformidad con la reivindicación 30, caracterizado porque la enfermedad renal crónica es causada por nefropatía diabética.

32. El método de conformidad con la reivindicación
20 30, caracterizado porque la enfermedad renal crónica es causada por nefropatía hipertensiva.

33. Los métodos de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 30 a 32, caracterizados porque la administración del compuesto o sal al paciente en necesidad
25 de tal tratamiento es subcutánea.

34. Un compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, caracterizado para uso en terapia.

35. Un compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, caracterizado para uso en el tratamiento de diabetes tipo II.

36. Un compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, caracterizado para uso en el tratamiento de enfermedad renal crónica.

37. Un compuesto de la Fórmula:

X_1 I V X_2 S L D V P I G L L Q I L X_3 E Q E K Q E K E K Q Q A K
T N A X_4 I L A Q V-NH₂

caracterizado porque X_1 indica que el residuo I es modificado ya sea por acetilación o metilación en el extremo N-terminal;

en donde X_2 es L o T;

en donde X_3 es L o I;

en donde X_4 es Q o E (SEQ ID NO:18).

38. Un método para tratar la diabetes tipo II en un gato, caracterizado porque comprende administrar a un gato en necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las SEQ. ID NOS. 1, 2, 3, 5, 6, y 7.

39. Un método para tratar la enfermedad renal crónica en un gato, caracterizado porque comprende

administrar a un gato en necesidad de tal tratamiento una cantidad efectiva de un compuesto o sal de conformidad con cualquiera de las SEQ. ID NOS. 1, 2, 3, 5, 6, y 7.

5

10

15

20

25

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de la Fórmula:



en donde el X_1 indica que el residuo I es modificado ya sea por acetilación o metilación en el extremo N-terminal; en donde X_2 es L o T; en donde X_3 es L o I; en donde X_4 es Q o E; y en donde un residuo K modificado (" K^* ") en la posición 29
10 es modificado a través de la conjugación al grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con un grupo de la Fórmula $-X_5-X_6$, en donde X_5 se selecciona del grupo que consiste de uno a cuatro aminoácidos; una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil); y combinaciones de uno a cuatro
15 aminoácidos y una a cuatro porciones de ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil); y X_6 es un ácido graso de $C_{14}-C_{24}$. En algunas modalidades, el grupo de la Fórmula $-X_5-X_6$ es ([2-(2-Amino-etoxi)-etoxi]-acetil) $_2$ -(γ E) $_2$ -CO-(CH $_2$) $_x$ -CO $_2$ H donde x es 16 o 18.

20

25

X21061 Sequences June72017_ST25.txt
SEQUENCE LISTING

```

<110> Eli Lilly and Company
<120> NOVEL FATTY ACID MODIFIED UROCORTIN-2 ANALOGS FOR THE TREATMENT
      OF DIABETES AND CHRONIC KIDNEY DISEASE
<130> X21061
<150> 62/362711
<151> 2016-07-15
<150> 62/491385
<151> 2017-04-28
<150> 62/431682
<151> 2016-12-08
<160> 68
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> ACETYLATION

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to
      the epsilon-amino group of the K side-chain with
      ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-Glu)2-CO-(CH2)16-COO
      H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 1
Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1      5      10      15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
      20      25      30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
      35

<210> 2
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> ACETYLATION

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Lys at position 29 is Lys which is chemically modified through
      conjugation to the epsilon-amino group of the Lys side-chain with
      ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)2-CO-(CH2)18-CO2
      H

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 2
Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1      5      10      15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
      20      25      30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
      35

```

<210> 3
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with
 ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)2-CO-(CH2)16-COO
 H

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 3

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 4
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with
 ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)2-CO-(CH2)18-CO2
 H

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 4

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 5
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with
 ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)2-CO-(CH2)18-COO

H

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 5

Ile Val Thr Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Glu Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 6
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to
 the epsilon-amino group of the K side-chain with
 ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)2-CO-(CH2)18-COO
 H

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 6

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Glu Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 7
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to
 the epsilon-amino group of the K side-chain with
 ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)2-CO-(CH2)18-COO
 H

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 7

Ile Val Thr Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Ile
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Glu Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 8
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETYLTATION

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> METHYLATION

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa at position 3 is Leu or Thr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa at position 16 is Leu or Ile

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with
 ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)2-CO-(CH2)x-CO2H
 where x is 16 or 18

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (33)..(33)
 <223> Xaa at position 33 is Gln or Glu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 8

Ile Val Xaa Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Xaa
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Xaa Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 9
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with
 (gamma-glu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)2-CO-(CH2)18-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 9

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 10

<211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)2-CO-(CH2)16-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 10

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 11
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-(gamma-glu)-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)18-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 11

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 12
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-(gamma-glu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)18-COOH

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl
 <400> 12

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 13
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-(gamma-glu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)18-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 13

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 14
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)18-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 14

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 15
 <211> 38
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (38)..(38)

<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 15

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gln Ala Arg Ala Arg Ala Ala Arg Glu Gln Ala Thr Thr Asn Ala
20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
35

<210> 16

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETYLATION

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> METHYLATION

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa at position 3 is Leu or Thr

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> Xaa at position 16 is Leu or Ile

<220>

<221> MOD_RES

<222> (29)..(29)

<223> Lys at 29 is modified at the epsilon-amine with -X5-X6, where X5 is 1 to 4 amino acids and/or 1 to 4 ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl) moieties; X6 is C14-C24 fatty acid.

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (33)..(33)

<223> Xaa at position 33 is Gln or Glu

<220>

<221> MOD_RES

<222> (38)..(38)

<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 16

Ile Val Xaa Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Xaa
1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
20 25 30

Xaa Ile Leu Ala Gln Val
35

<210> 17

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> ACETYLATION

<220>

<221> MOD_RES

<222> (29)..(29)

<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with [2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)2-CO-(CH2)x-COOH, where x is 16 or 18

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 17

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 18
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> METHYLATION

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETYLATION

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa at position 3 is Leu or Thr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa at position 16 is Leu or Ile

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (33)..(33)
 <223> Xaa at position 33 is Gln or Glu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 18

Ile Val Xaa Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Xaa
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Xaa Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 19
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<400> 19

Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln
 1 5

<210> 20
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)

<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 20

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
35

<210> 21

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Lys at position 14 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>

<221> MOD_RES

<222> (38)..(38)

<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 21

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Lys Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
35

<210> 22

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (15)..(15)

<223> Lys at position 15 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>

<221> MOD_RES

<222> (38)..(38)

<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 22

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Lys Leu
1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
35

<210> 23

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17)..(17)

<223> Lys at position 17 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl
 <400> 23

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Lys Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 24
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (19)..(19)
 <223> Lys at position 19 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 24
 Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Lys Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 25
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (20)..(20)
 <223> Lys at position 20 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 25
 Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 26
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (21)..(21)
 <223> Lys at position 21 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl
 <400> 26

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Lys Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 27
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (22)..(22)
 <223> Lys at position 22 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl
 <400> 27

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Lys Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 28
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (23)..(23)
 <223> Lys at position 23 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl
 <400> 28

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 29
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (24)..(24)
 <223> Lys at position 24 is chemically modified through conjugation to

the epsilon-amino group of the K side-chain with
 gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl
 <400> 29

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Lys Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 30
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Lys at position 25 is chemically modified through conjugation to
 the epsilon-amino group of the K side-chain with
 (gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 30

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 31
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Lys at position 25 is chemically modified through conjugation to
 the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma
 -glu)-(gamma-glu)- CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 31

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 32
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES

<222> (25)..(25)
 <223> Lys at position 25 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with
 ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)-(gamma-glu)- CO-(CH2)14-CH3

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 32

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 33
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)
 <223> Lys at position 26 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with
 (gamma-glu)-CO-(CH2)14-CH3

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 33

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Lys Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 34
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)
 <223> Lys at position 26 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with
 (gamma-glu)-(gamma-glu)- CO-(CH2)14-CH3

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 34

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Lys Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 35
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (27)..(27)
 <223> Lys at position 27 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 35

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Lys Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 36
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys at position 28 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 36

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Lys Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 37
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₄-CH₃

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 37

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 38
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)14-CH3

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 38

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 39
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)
 <223> Lys at position 30 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-CO-(CH2)14-CH3

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 39

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Lys Asn Ala
 20 25 30

Arg Ile Leu Ala Arg Val
 35

<210> 40
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (14)..(14)
 <223> Lys at position 14 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 40

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Lys Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala His Val
 35

<210> 41
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15)..(15)
 <223> Lys at position 15 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 41

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Lys Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala His Val
 35

<210> 42
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Lys at position 16 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 42

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Lys
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala His Val
 35

<210> 43
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 <223> Lys at position 17 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 43

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Lys Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala His Val
 35

<210> 44
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (18)..(18)
 <223> Lys at position 18 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 44

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Lys Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala His Val
 35

<210> 45
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (21)..(21)
 <223> Lys at position 21 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 45

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Lys Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala His Val
 35

<210> 46
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Lys at position 25 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 46

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala His Val
35

<210> 47
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (26)..(26)
<223> Lys at position 26 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with
([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 47

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Ala Thr Thr Asn Ala
20 25 30

Gln Ile Leu Ala His Val
35

<210> 48
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with
([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 48

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
20 25 30

Gln Ile Leu Ala His Val
35

<210> 49
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10)..(10)
<223> Lys at position 10 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with
([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 49

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Lys Leu Leu Gln Ile Leu Leu

1 5 10 15
Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 50
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> Lys at position 17 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 50

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1 5 10 15

Lys Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 51
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (26)..(26)
<223> Lys at position 26 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 51

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Lys Gln Ala Thr Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 52
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)

<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 52

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
35

<210> 53

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17)..(17)

<223> Lys at position 17 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>

<221> MOD_RES

<222> (38)..(38)

<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 53

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1 5 10 15

Lys Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Glu Asn Ala
20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
35

<210> 54

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (26)..(26)

<223> Lys at position 26 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)16-COOH

<220>

<221> MOD_RES

<222> (38)..(38)

<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 54

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Lys Gln Ala Thr Glu Asn Ala
20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
35

<210> 55

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (29)..(29)

<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-

(CH₂)₁₆-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl
 <400> 55

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Glu Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 56
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)-2-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₆-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl
 <400> 56

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Glu Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 57
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with ([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₈-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl
 <400> 57

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Glu Asn Ala
 20 25 30

Glu Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 58
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

```

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Methylation

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to
the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)
-(gamma-glu)-CO-(CH2)18-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 58
Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1      5      10      15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Glu Asn Ala
      20      25      30

Glu Ile Leu Ala Gln Val
      35

<210> 59
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Methylation

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to
the epsilon-amino group of the K side-chain with
(gamma-glu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)-(gamma-glu)-(gam
ma-glu)-CO-(CH2)18-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 59
Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1      5      10      15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Glu Asn Ala
      20      25      30

Glu Ile Leu Ala Gln Val
      35

<210> 60
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Methylation

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to
the epsilon-amino group of the K side-chain with
(gamma-glu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)2-co
-(CH2)18-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

```

<400> 60

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 61

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Methylation

<220>

<221> MOD_RES

<222> (29)..(29)

<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to
 the epsilon-amino group of the K side-chain with
 (gamma-gu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)-(gamma-glu)-(gamma-
 a-glu)-CO-(CH2)18-COOH

<220>

<221> MOD_RES

<222> (38)..(38)

<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 61

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 62

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Methylation

<220>

<221> MOD_RES

<222> (29)..(29)

<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to
 the epsilon-amino group of the K side-chain with
 (gamma-glu)-(gamma-glu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(ga-
 mma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)18-COOH

<220>

<221> MOD_RES

<222> (38)..(38)

<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 62

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 63

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

```

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Methylation

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to
the epsilon-amino group of the K side-chain with
(gamma-glu)-(gamma-glu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)-(gamma-
ma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)18-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 63

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1      5      10     15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
      20     25     30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
      35

<210> 64
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Methylation

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to
the epsilon-amino group of the K side-chain with
(gamma-glu)-(gamma-glu)-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH2)18-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 64

Ile Val Leu Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
1      5      10     15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
      20     25     30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
      35

<210> 65
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Methylation

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to
the epsilon-amino group of the K side-chain with
(gamma-glu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)2-(gamma-glu)-(ga
mma-glu)-CO-(CH2)18-COOH

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 65

```

Ile Val Thr Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Gln Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 66
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Methylation

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys at position 29 is chemically modified through conjugation to the epsilon-amino group of the K side-chain with (gamma-glu)-([2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-acetyl)²-(gamma-glu)-(gamma-glu)-CO-(CH₂)₁₈-COOH

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 66

Ile Val Thr Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Leu
 1 5 10 15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Lys Thr Asn Ala
 20 25 30

Glu Ile Leu Ala Gln Val
 35

<210> 67
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic Construct

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> METHYLATION

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> UNMODIFIED

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> ACETYLATION

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa at position 3 is Leu or Thr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa at position 16 is Leu or Ile

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (20)..(20)
 <223> Lys at position 20 may be modified as described herein.

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (23)..(23)
 <223> Lys at position 23 may be modified as described herein.

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Lys at position 25 may be modified as described herein.

<220>

```

<221> MISC_FEATURE
<222> (30)..(30)
<223> Xaa at position 30 is Thr or Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (33)..(33)
<223> Xaa at position 33 is Gln, Arg, or Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> Xaa at position 37 is Gln, His, or Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 67
Ile Val Xaa Ser Leu Asp Val Pro Ile Gly Leu Leu Gln Ile Leu Xaa
1      5      10     15

Glu Gln Glu Lys Gln Glu Lys Glu Lys Gln Gln Ala Thr Xaa Asn Ala
      20     25     30

Xaa Ile Leu Ala Xaa Val
      35

<210> 68
<211> 38
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> UNMODIFIED

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> METHYLATION

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> ACETYLATION

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa at position 3 is Leu or Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)..(10)
<223> Xaa at position 10 is Gly or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (10)..(10)
<223> Lys at position 10 may be modified as described herein.

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Lys at position 14 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> Xaa at position 14 is Ile or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (15)..(15)
<223> Lys at position 15 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> Xaa at position 15 is Leu or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (16)..(16)
<223> Lys at position 16 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> Xaa at position 16 is Leu, Ile, or Lys

<220>

```

<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> Lys at position 17 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)..(17)
<223> Xaa at position 17 is Glu or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (18)..(18)
<223> Lys at position 18 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (18)..(18)
<223> Xaa at position 18 is Gln or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (19)..(19)
<223> Lys at position 19 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (19)..(19)
<223> Xaa at position 19 is Glu or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (20)..(20)
<223> Lys at position 20 may be modified as described herein.

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Lys at position 21 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (21)..(21)
<223> Xaa at position 21 is Gln or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (22)..(22)
<223> Lys at position 22 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (22)..(22)
<223> Xaa at position 22 is Glu or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (23)..(23)
<223> Lys at position 23 may be modified as described herein.

<220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> Lys at position 24 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (24)..(24)
<223> Xaa at position 24 is Glu or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (25)..(25)
<223> Lys at position 25 may be modified as described herein.

<220>
<221> MOD_RES
<222> (26)..(26)
<223> Lys at position 26 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(26)
<223> Xaa at position 26 is Gln or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (27)..(27)
<223> Lys at position 27 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(27)
<223> Xaa at position 27 is Gln or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (28)..(28)
<223> Lys at position 28 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (28)..(28)
<223> Xaa at position 28 is Ala or Lys

```

<220>
<221> MOD_RES
<222> (29)..(29)
<223> Lys at position 29 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (29)..(29)
<223> Xaa at position 29 is Thr or Lys

<220>
<221> MOD_RES
<222> (30)..(30)
<223> Lys at position 30 may be modified as described herein.

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (30)..(30)
<223> Xaa at position 30 is Thr, Glu, or Lys

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (33)..(33)
<223> Xaa at position 33 is Gln, Arg, or Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> Xaa at position 37 is Gln, His, or Arg

<220>
<221> MOD_RES
<222> (38)..(38)
<223> Val at position 38 is amidated at the C-terminal carboxyl

<400> 68
Ile Val Xaa Ser Leu Asp Val Pro Ile Xaa Leu Leu Gln Xaa Xaa Xaa
1      5      10     15

Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Lys Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Ala
20     25     30

Xaa Ile Leu Ala Xaa Val
35

```