

ANÁLOGOS DE INCRETINA Y SUS USOS

Esta divulgación se refiere a análogos de incretina que tienen actividad en cada uno de los receptores del polipéptido insulínotropo dependiente de glucosa (GIP), péptido-1 tipo glucagón (GLP-1) y glucagón. Los análogos de incretina descritos en la presente tienen características estructurales que proporcionan una actividad equilibrada y tienen una duración de acción extendida en cada uno de estos receptores. Dichos análogos de incretina pueden ser útiles para tratar trastornos como la diabetes mellitus tipo 2 (T2DM), la dislipidemia, el síndrome metabólico, la hepatopatía grasa no alcohólica (NAFLD), la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) y/o la obesidad.

En las últimas décadas, la prevalencia de la diabetes siguió aumentando. La T2DM es la forma más común de diabetes, al representar alrededor del 90 % de todos los casos de diabetes. La T2DM se caracteriza por los altos niveles de glucosa en sangre causados por la resistencia a la insulina. El tratamiento de referencia actual para la T2DM incluye dieta y ejercicio, así como el tratamiento con medicamentos orales y fármacos inyectables para reducir la glucosa, lo que incluye tratamientos a base de incretina, tales como los agonistas del receptor de GLP-1.

GLP-1 es un péptido de 36 aminoácidos, cuyo principal fragmento biológicamente activo se produce como un péptido amidado del terminal C de 30 aminoácidos (GLP-1₇₋₃₆; SEQ ID NO:2) que estimula la secreción de insulina dependiente de glucosa y que previene la hiperglucemia en diabéticos. Actualmente hay disponible una variedad de análogos de GLP-1 para tratar la T2DM, incluidos dulaglutida, exenatida y liraglutida. Sin embargo, muchos agonistas del receptor de GLP-1 que se comercializan en la actualidad son de dosis limitada debido a efectos secundarios gastrointestinales, tales como náuseas y vómitos. Cuando el tratamiento con medicamentos orales y tratamientos basados en incretina es insuficiente, se considera la insulina. A pesar de las opciones de tratamiento disponibles, un número significativo de personas que reciben tratamientos aprobados no está alcanzando los objetivos de control glucémico (véase, por ejemplo, Casagrande *et al.* (2013) *Diabetes Care* 36: 2271-2279).

La diabetes no controlada puede llevar a una o más condiciones que impactan la morbilidad y la mortalidad de tales individuos. Uno de los principales factores de riesgo de la T2DM es la obesidad, y la mayoría de las personas con T2DM (~90 %) tiene sobrepeso u obesidad. Se ha documentado que una disminución en la adiposidad

corporal conducirá a una mejora en las comorbilidades asociadas a la obesidad, entre las que se incluyen la hiperglucemia y los eventos cardiovasculares. Por lo tanto, se necesitan tratamientos efectivos en el control de la glucosa y la reducción de peso para un mejor manejo de la enfermedad.

En vista de esto, los nuevos tratamientos que se están estudiando incluyen compuestos que tienen no solo actividad en un receptor de GLP-1 sino también actividad en uno o más de otros receptores, tales como los receptores de GIP y/o glucagón. De hecho, se ha descrito que ciertos compuestos tienen actividad agonista triple (es decir, actividad en cada uno de los receptores de GLP-1, GIP y glucagón). Por ejemplo, la publicación de solicitud de patente internacional N.º WO 2015/067716 describe análogos de glucagón que tienen actividad agonista triple. Del mismo modo, la solicitud de patente internacional N.º WO 2016/198624 describe análogos de exendina-4, un análogo de GLP-1 en sí, que tienen actividad agonista triple. Del mismo modo, las solicitudes de patente internacional N.º WO 2014/049610 y WO 2017/116204 describen, cada una, una variedad de análogos que tienen actividad agonista triple. Por otra parte, la solicitud de patente internacional N.º 2017/153375 describe los coagonistas de glucagón y GLP-1 que también se dice que tienen actividad GIP.

Sin embargo, sigue existiendo la necesidad de tratamientos, especialmente para la T2DM, que sean capaces de proporcionar un control efectivo de la glucosa y que tengan beneficios para la pérdida de peso y un perfil favorable de efectos secundarios. También existe la necesidad de agentes terapéuticos disponibles para su uso con una duración de acción lo suficientemente extendida como para permitir una dosis tan poco frecuente como una vez al día, tres veces por semana, dos veces por semana o una vez por semana.

Los análogos de incretina descritos en la presente buscan satisfacer las necesidades anteriores. Por consiguiente, esta divulgación describe análogos de incretina con actividad en cada uno de los receptores de GIP, GLP-1 y glucagón. Ventajosamente, los análogos de incretina descritos en la presente tienen una actividad equilibrada que permite la administración de dosis que proporcionan una actividad suficiente en cada receptor para proporcionar los beneficios del agonismo de ese receptor mientras se evitan los efectos secundarios no deseados asociados con demasiada actividad. Además, los análogos de incretina descritos en la presente tienen una duración de acción extendida en cada uno de los receptores de GIP, GLP-1 y glucagón, lo que permite una dosis tan poco frecuente como una vez al día, tres veces por semana, dos veces por semana o una vez por semana. De esta manera, los

análogos de incretina dan como resultado un mejor control de la glucosa, beneficios metabólicos tales como la reducción del peso corporal y/o una mejor composición corporal, beneficios lipídicos tales como la proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9), y/u otros beneficios tales como un aumento en la masa ósea o en la formación ósea o una disminución en la reabsorción ósea. Esta divulgación también describe tratamientos efectivos para otros trastornos o condiciones, que incluyen obesidad, NAFLD, NASH, dislipidemia y/o trastorno metabólico.

En una forma de realización, se proporciona un análogo de incretina que incluye la fórmula:

$\text{YX}_2\text{QGTFTSDYSIX}_{13}\text{LDKX}_{17}\text{AX}_{19}\text{X}_{20}\text{AFIEYLLX}_{28}\text{X}_{29}\text{GPSSX}_{34}\text{APPPS}$, donde X_2 es Aib, X_{13} es L o αMeL , X_{17} es cualquier aminoácido con un grupo funcional disponible para la conjugación, donde el grupo funcional está conjugado con un ácido graso $\text{C}_{16}\text{-C}_{22}$, X_{19} es Q o A, X_{20} es Aib, αMeK , Q o H, X_{28} es E o A, X_{29} es G o Aib, X_{34} es G o Aib (SEQ ID NO:5), y el aminoácido del terminal C está opcionalmente amidado, o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

En otra forma de realización, se proporciona un método para tratar una enfermedad tal como la dislipidemia, la hepatopatía grasa, el síndrome metabólico, la NASH, la obesidad y la T2DM. Dichos métodos pueden incluir al menos una etapa de administrar a un individuo que lo necesite una cantidad eficaz de un análogo de incretina descrito en la presente. En algunos casos, la enfermedad es hepatopatía grasa, obesidad, NASH o T2DM.

En otra forma de realización, un análogo de incretina como se describe en la presente se proporciona para su uso en tratamiento. Por ejemplo, se proporciona un análogo de incretina como se describe en la presente para su uso en el tratamiento de una enfermedad tal como la dislipidemia, la hepatopatía grasa, el síndrome metabólico, la NASH, la obesidad y la T2DM. En algunos casos, la enfermedad es hepatopatía grasa, obesidad, NASH o T2DM.

En otra forma de realización, se proporciona un análogo de incretina como se describe en la presente para su uso en la producción de un medicamento para tratar la dislipidemia, la hepatopatía grasa, el síndrome metabólico, la NASH, la obesidad y la T2DM. En algunos casos, la enfermedad es hepatopatía grasa, obesidad, NASH o T2DM.

En otra forma de realización, se proporciona una composición farmacéutica que incluye un análogo de incretina como se describe en la presente y un diluyente, excipiente o portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos que se usan en la presente tienen el mismo significado que entiende normalmente una persona de nivel medio del oficio al que pertenece la invención. Si bien cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente se pueden usar en la práctica o en los ensayos de los análogos de incretina, las composiciones farmacéuticas y los métodos, en la presente se describen los métodos y los materiales preferidos.

Además, la referencia a un elemento mediante los artículos indefinidos "un" y "una" no excluyen la posibilidad de que haya más de un elemento presente, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y solo un elemento. Los artículos indefinidos "un" y "una" por lo general significan "al menos uno/a".

GIP es un péptido de 42 aminoácidos (SEQ ID NO:4) y es una incretina, que desempeña un papel fisiológico en la homeostasis de la glucosa al estimular la secreción de insulina de las células beta pancreáticas en presencia de glucosa.

GLP-1 es un péptido de 36 aminoácidos (SEQ ID NO:2) y también es una incretina, que estimula la secreción de insulina dependiente de glucosa y que se ha demostrado que previene la hiperglucemia en diabéticos.

El glucagón es un péptido de 29 aminoácidos (SEQ ID NO:1) que ayuda a mantener la glucosa en sangre al fijarse a los receptores de glucagón en los hepatocitos, y al activarlos, lo que hace que el hígado libere glucosa, almacenada en forma de glucógeno, a través de un proceso llamado glucogenólisis.

La oxintomodulina (OXM) es un péptido de 37 aminoácidos que incluye no solo la secuencia de 29 aminoácidos del glucagón, sino también una extensión del terminal carboxi del octapéptido (SEQ ID NO:3) que activa tanto los receptores de glucagón como los de GLP-1, con una potencia ligeramente mayor para el receptor de glucagón que para el receptor de GLP-1.

Además de la T2DM, se ha descrito que las incretinas y sus análogos que tienen actividad en uno o más de los receptores de GIP, GLP-1 y/o glucagón tienen un potencial de valor terapéutico en una serie de otras condiciones, enfermedades o trastornos, que incluyen, por ejemplo, obesidad, NAFLD y NASH, dislipidemia, síndrome metabólico, trastornos relacionados con los huesos, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson. Véase, por ejemplo, Jall *et al.* (2017) *Mol. Metab.* 6: 440-446; Carbone *et al.* (2016) *J. Gastroenterol. Hepatol.* 31: 23-31; Finan *et al.* (2016) *Trends Mol. Med.* 22: 359-376; Choi *et al.* (2017) *Potent body weight loss and efficacy in a NASH animal model by a novel long-acting GLP-1/Glucagon/GIP triple-agonist (HM15211)*, ADA Poster

1139-P; Ding (2008) *J. Bone Miner. Res.* 23: 536-543; Tai *et al.* (2018) *Brain Res.* 1678: 64-74; Müller *et al.* (2017) *Physiol. Rev.* 97: 721-766; Finan *et al.* (2013) *Sci. Transl. Med.* 5: 209; Hölscher (2014) *Biochem. Soc. Trans.* 42: 593-600.

Como se usa en la presente, "alrededor de" significa dentro de un rango significativo en términos estadísticos de un valor o valores tales como, por ejemplo, una concentración, longitud, peso molecular, pH, identidad de secuencia, marco de tiempo, temperatura o volumen determinados. Tal valor o rango puede estar en un orden de magnitud típicamente dentro del 20 %, más típicamente dentro del 10 % y aún más típicamente dentro del 5 % de un valor o rango dado. La variación admisible comprendida por "alrededor de" dependerá del sistema particular que se estudie y puede ser determinada con facilidad por una persona del oficio de nivel medio.

Como se usa en la presente, y en referencia a uno o más de los receptores de GIP, GLP-1 o glucagón, "actividad", "activar", "activación" y similares significan una capacidad de un compuesto, tal como los análogos de incretina descritos en la presente, para fijarse a una respuesta en el o los receptores, e inducirla, según se mide mediante los ensayos conocidos en la técnica, tales como los ensayos *in vitro* que se describen a continuación.

Como se usa en la presente, "aminoácido con un grupo funcional disponible para la conjugación" significa cualquier aminoácido natural o no natural con un grupo funcional que se puede conjugar con ácido graso mediante, por ejemplo, un ligador. Los ejemplos de estos grupos funcionales incluyen, entre otros, alquínilo, alquenilo, amino, azido, bromo, carboxilo, cloro, yodo, y grupos tiol. Los ejemplos de aminoácidos naturales que incluyen dichos grupos funcionales incluyen K (amino), C (tiol), E (carboxilo) y D (carboxilo).

Como se usa en la presente, "ácido graso C₁₆-C₂₂" significa un ácido carboxílico que tiene entre 16 y 22 átomos de carbono. El ácido graso C₁₆-C₂₂ adecuado para su uso en la presente puede ser un monoácido saturado o un diácido saturado. Como se usa en la presente, "saturado" significa que el ácido graso no contiene enlaces dobles o triples carbono-carbono.

Como se usa en la presente, "cantidad eficaz" significa una cantidad, concentración o dosis de uno o más análogos de incretina descritos en la presente, o una de sus sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico que, después de la administración de una dosis única o múltiple a un individuo que lo necesite, proporciona un efecto deseado en dicho individuo que está bajo diagnóstico o tratamiento. Una persona del oficio de nivel medio puede determinar fácilmente una cantidad eficaz

mediante el uso de técnicas conocidas y mediante la observación de los resultados obtenidos en circunstancias análogas. Al determinar la cantidad eficaz para un individuo, se consideran una serie de factores que incluyen, entre otros, la especie de mamífero; su tamaño, edad y salud general; la enfermedad o trastorno específico involucrado; el grado o la participación o la gravedad de la enfermedad o el trastorno; la respuesta del paciente individual; el análogo particular de incretina administrado; el modo de administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; el régimen de dosis seleccionado; el uso de medicación concomitante; y otras circunstancias relevantes.

Como se usa en la presente, "duración de acción extendida" significa que la afinidad de fijación y la actividad de un análogo de incretina continúan por un período de tiempo mayor que el GIP, el GLP-1 y los péptidos de glucagón humanos nativos, lo que permite una dosis al menos tan poco frecuente como una vez al día o incluso tres veces por semana, dos veces por semana o una vez por semana. El perfil de acción en el tiempo del análogo de incretina se puede medir mediante métodos de ensayo farmacocinéticos conocidos, tales como los que se utilizan en los ejemplos a continuación.

Como se usa en la presente, "análogo de incretina" significa un compuesto que tiene similitudes estructurales, aunque también múltiples diferencias, con respecto a cada GIP, GLP-1 y glucagón, especialmente GIP (SEQ ID NO:4), GLP-1 (SEQ ID NO:2) y glucagón (SEQ ID NO:1) humanos. Los análogos de incretina descritos en la presente incluyen secuencias de aminoácidos que dan como resultado compuestos que tienen afinidad y actividad en cada uno de los receptores de GIP, GLP-1 y glucagón (es decir, actividad agonista triple).

Como se usa en la presente, "individuo que lo necesite" significa un mamífero, como un ser humano, con una condición, enfermedad, trastorno o síntoma que requiere tratamiento o terapia, incluidos, por ejemplo, los enumerados en la presente.

Tal como se usa en la presente, "tratar", "tratamiento", "para tratar" y similares significan restringir, desacelerar, detener o revertir la progresión o gravedad de una condición, enfermedad, trastorno o síntoma existente.

Como se usa en la presente, y con referencia a un análogo de incretina, "actividad agonista triple" significa un análogo de incretina con actividad en cada uno de los receptores de GIP, GLP-1 y glucagón, especialmente un análogo que tiene una actividad equilibrada y suficiente en cada receptor para proporcionar los beneficios del agonismo de ese receptor al mismo tiempo que evita los efectos secundarios no

deseados asociados con demasiada actividad. Además, los análogos de incretina que tienen actividad agonista triple tienen una duración de acción extendida en cada uno de los receptores de GIP, GLP-1 y glucagón, lo que permite, de manera ventajosa, la dosis tan poco frecuente como una vez al día, tres veces por semana, dos veces por semana o una vez por semana.

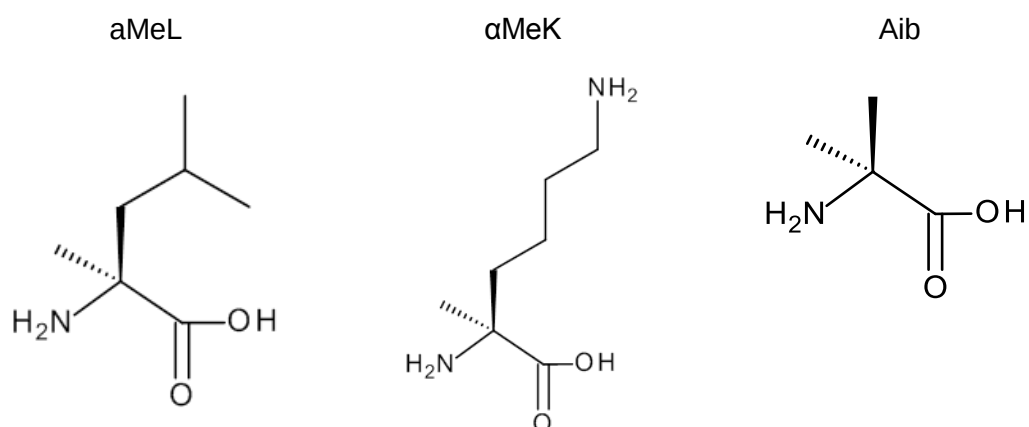
Las características estructurales de los análogos de incretina que se describen en la presente dan como resultado análogos que tienen actividad suficiente en cada uno de los receptores de GIP, GLP-1 y glucagón para obtener los efectos favorables de la actividad en cada receptor (es decir, actividad agonista triple), pero no tanta actividad en cualquiera de los receptores como para abrumar la actividad en los otros dos receptores o para dar lugar a efectos secundarios no deseados cuando al administrarse en una dosis suficiente para dar como resultado la actividad en los tres receptores. Los ejemplos no limitativos de tales características estructurales en ciertas formas de realización, y con referencia a la SEQ ID NO:5, incluyen L o α MeL en la posición 13, que se descubrió que contribuye a una actividad óptima del glucagón y GIP; Aib en la posición 20, que se descubrió que contribuye a una actividad óptima de GIP; acilación en la posición 17, que se descubrió que contribuye a una actividad óptima del glucagón; e Y en la posición 25, que se descubrió que contribuye a una actividad óptima del glucagón y/o GIP. Otros ejemplos de tales características estructurales incluyen los aminoácidos descritos en la presente en las posiciones 22, 24 y 28-39, que se descubrió que contribuyen a una fijación y una potencia óptimas en todos los tres receptores.

Las características estructurales de los análogos de incretina descritos en la presente también dan como resultado análogos que tienen muchos otros atributos beneficiosos y relevantes para su capacidad de desarrollo como tratamientos terapéuticos, que incluyen mejorar la solubilidad de los análogos en soluciones acuosas, mejorar la estabilidad química y física de la formulación, extender el perfil farmacocinético, y minimizar el potencial de inmunogenicidad. Los ejemplos no limitativos de determinadas características estructurales que dan lugar a tales atributos incluyen la acilación en la posición 17 con un ácido graso C₂₀, que contribuye a perfiles farmacocinéticos (PK) y capacidad de desarrollo óptimos; Aib, α MeK, Q o H en la posición 20, que contribuyen a los perfiles PK y capacidad de desarrollo óptimos; y los aminoácidos en las posiciones 22, 24 y 28-39, que contribuyen a un PK, una inmunogenicidad, una capacidad de desarrollo y una estabilidad óptimos.

Cabe señalar que las listas anteriores de características estructurales son a modo de ejemplo y no exhaustivas, y que la combinación de características beneficiosas

de los análogos de ejemplo descritos en la presente no es el resultado de modificación aislada alguna, sino que se logra a través de las nuevas combinaciones de la características estructurales descritas en la presente. Además, los efectos descritos anteriormente de las listas de modificaciones anteriores no son exclusivos, ya que muchas de estas modificaciones también tienen otros efectos importantes para las características de los compuestos descritos en la presente, como se describe a continuación.

Las secuencias de aminoácidos de los análogos de incretina descritos en la presente incorporan aminoácidos naturales, típicamente representados en la presente mediante el uso de códigos estándar de una letra (por ejemplo, L = leucina), así como residuos alfa-metil sustituidos de aminoácidos naturales (por ejemplo, α -metil leucina (α MeL) y α -metil lisina (α MeK)), y ciertos otros aminoácidos no naturales, tales como ácido alfa-aminoisobutírico (Aib). Las estructuras de estos aminoácidos se representan a continuación:



Como se señaló anteriormente, los análogos de incretina que se describen en la presente tienen similitudes estructurales, pero muchas diferencias estructurales, con respecto a cualquiera de los péptidos humanos nativos. Por ejemplo, cuando se compara con el GIP humano nativo (SEQ ID NO:4), los análogos de incretina descritos en la presente incluyen modificaciones en una o más de las posiciones 2, 3, 7, 13, 14, 17, 18-21, 23-25, 28-29 y 30-42. En algunos casos, los análogos de incretina descritos en la presente incluyen modificaciones a los aminoácidos del GIP humano nativo (SEQ ID NO:4) en cada una de las posiciones 2, 3, 7, 13, 14, 17, 18, 20, 21, 23-25, 29 y 30-42. En ciertos casos, los análogos de incretina descritos en la presente incluyen las siguientes modificaciones de aminoácidos: Aib en la posición 2; Q en la posición 3; T en la posición 7; L o α MeL en la posición 13; L en la posición 14; un residuo K modificado

en la posición 17 que está modificado a través de la conjugación con el grupo epsilon-amino de la cadena lateral K con un ácido graso C₁₆ a C₂₂, opcionalmente mediante el uso de un ligador; A en la posición 18; A en la posición 21; I en la posición 23; E en la posición 24; Y en la posición 25; G o Aib en la posición 29; y reemplazo de los aminoácidos en las posiciones 30-42 con una secuencia de aminoácidos seleccionada de GPSSGAPPPS (SEQ ID NO:26) y GPSS-Aib-APPPS (SEQ ID NO:27) (y análogos truncados de la cola). Incluso en otros casos, los análogos de incretina descritos en la presente también incluyen modificaciones en uno o más de A en la posición 19; αMeK, Aib o H en la posición 20; y E en la posición 28. En ciertos casos, los análogos de incretina descritos en la presente están amidados. Además de los cambios descritos en la presente, los análogos de incretina descritos en la presente pueden incluir una o más modificaciones de aminoácidos adicionales, siempre que, no obstante, los análogos sigan siendo capaces de fijarse a cada uno de los receptores de GIP, GLP-1 y glucagón, y de activarlos.

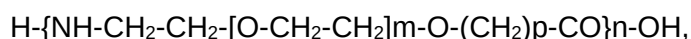
Como se señaló anteriormente, los análogos de incretina que se describen en la presente incluyen una porción ácido graso conjugado, por ejemplo, por medio de un ligador a un aminoácido natural o no natural con un grupo funcional disponible para la conjugación. Dicha conjugación a veces se denomina acilación. En ciertos casos, el aminoácido con un grupo funcional disponible para la conjugación puede ser K, C, E y D. En casos particulares, el aminoácido con un grupo funcional disponible para la conjugación es K, donde la conjugación es con un grupo epsilon-amino de una cadena lateral K.

La acilación de los análogos de incretina descritos en la presente se encuentra en la posición 17 en la SEQ ID NO:5, que se determinó que es la ubicación óptima para la inclusión de esta estructura. El ácido graso, y en ciertas formas de realización el ligador, actúan como aglutinantes de albúmina, y proporcionan un potencial para generar compuestos de acción extendida.

Los análogos de incretina descritos en la presente utilizan un ácido graso C₁₆-C₂₂ conjugado químicamente con el grupo funcional de un aminoácido, ya sea mediante un enlace directo o mediante un ligador. La longitud y la composición del ácido graso afectan la semivida de los análogos de incretina, su potencia en modelos animales *in vivo* y su solubilidad y estabilidad. La conjugación a un monoácido o diácido graso saturado C₁₆-C₂₂ da como resultado análogos de incretina que exhiben una semivida deseable, una potencia deseable en modelos animales *in vivo* y características de solubilidad y estabilidad deseables.

Los ejemplos de ácidos grasos C₁₆-C₂₂ saturados para uso en la presente incluyen, entre otros, ácido palmítico (ácido hexadecanoico) (monoácido C₁₆), ácido hexadecandioico (diácido C₁₆), ácido margárico (ácido heptadecanoico)(monoácido C₁₇), ácido heptadecandioico (diácido C₁₇), ácido esteárico (monoácido C₁₈), ácido octadecandioico (diácido C₁₈), ácido nonadecílico (ácido nonadecanoico) (monoácido C₁₉), ácido nonadecandioico (diácido C₁₉), ácido araquídico (ácido eicosanoico)(monoácido C₂₀), ácido eicosandioico (diácido C₂₀), ácido heneicosílico (ácido heneicosanoico) (monoácido C₂₁), ácido heneicosandioico (diácido C₂₁), ácido behénico (ácido docosanoico)(monoácido C₂₂), ácido docosandioico (diácido C₂₂), incluidos los derivados ramificados y sustituidos de estos.

En ciertos casos, el ácido graso C₁₆-C₂₂ puede ser un monoácido C₁₈ saturado, un diácido C₁₈ saturado, un monoácido C₁₉ saturado, un diácido C₁₉ saturado, un monoácido C₂₀ saturado, un diácido C₂₀ saturado y derivados ramificados y sustituidos de estos. En los casos más particulares, el ácido graso C₁₆-C₂₂ puede ser ácido esteárico, ácido araquídico y ácido eicosandioico, especialmente ácido araquídico. En algunos casos, el ligador puede tener de uno a cuatro aminoácidos, un amino carboxilato de polietilenglicol, o mezclas de estos. En ciertos casos, el amino carboxilato de polietilenglicol tiene la siguiente estructura:



donde m es cualquier número entero de 1 a 12, n es cualquier número entero de 1 a 12, y p es 1 o 2.

En ciertos casos, el ligador puede tener una o más porciones (2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetilo), opcionalmente en combinación con de uno a cuatro aminoácidos.

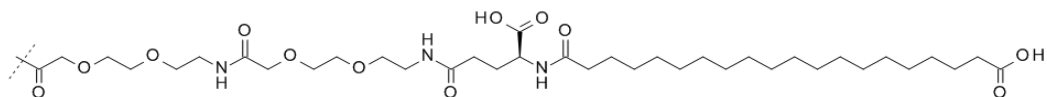
En los casos en que el ligador incluye al menos un aminoácido, el aminoácido puede ser de uno a cuatro residuos de aminoácidos Glu o γGlu. En algunos casos, el ligador puede incluir uno o dos residuos de aminoácidos Glu o γGlu, incluidas las formas D de estos. Por ejemplo, el ligador puede incluir uno o dos residuos de aminoácidos γGlu. Alternativamente, el ligador puede incluir de uno a cuatro residuos de aminoácidos (tales como, por ejemplo, aminoácidos Glu o γGlu) utilizados en combinación con hasta treinta y seis porciones (2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetilo). Específicamente, el ligador puede ser una combinación de uno a cuatro aminoácidos Glu o γGlu y de uno a cuatro porciones (2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetilo). En otros casos, el ligador puede ser una combinación de uno o dos aminoácidos γGlu y uno o dos porciones (2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetilo).

En un caso específico, los análogos de incretina descritos en la presente tienen

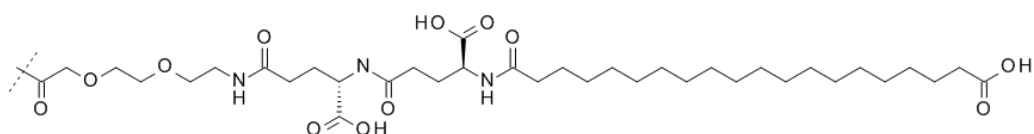
componentes ligadores y de ácidos grasos que tienen la estructura de la siguiente fórmula:



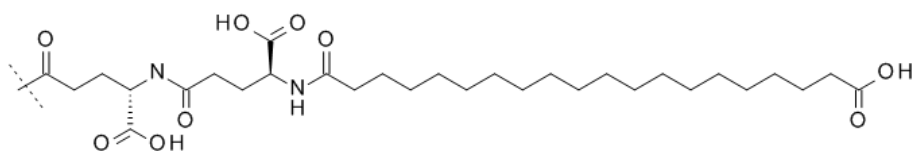
donde a es 0, 1 o 2, b es 1 o 2, y c es 16 o 18. En un caso particular, a es 2, b es 1 y c es 18, cuya estructura se muestra a continuación:



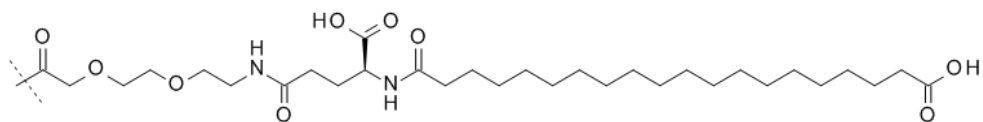
En otro caso específico, a es 1, b es 2 y c es 18, cuya estructura se muestra a continuación:



En otro caso específico, a es 0, b es 2 y c es 18, cuya estructura se muestra a continuación:



En otro caso específico, a es 1, b es 1 y c es 18, cuya estructura se muestra a continuación:



Como se muestra en las estructuras químicas de los Ejemplos 1-20 a continuación, las porciones ácido graso- ligador descritas anteriormente se pueden ligar al grupo epsilon (ε)-amino de la cadena lateral de lisina (K).

La afinidad de los análogos de incretina descritos en la presente para cada uno de los receptores de GIP, GLP-1 y glucagón puede medirse mediante el uso de técnicas conocidas en la técnica para medir los niveles de fijación al receptor, incluidas, por ejemplo, las descritas en los ejemplos a continuación, y comúnmente se expresa como un valor de la constante de inhibición (K_i). La actividad de los análogos de incretina descritos en la presente en cada uno de los receptores también se puede medir mediante el uso de técnicas conocidas en la técnica, que incluyen, por ejemplo, los

ensayos de actividad *in vitro* descritos a continuación, y se expresa comúnmente como un valor de concentración eficaz 50 (EC₅₀), que es la concentración del compuesto que causa la simulación máxima media en una curva de respuesta a la dosis.

Los análogos de incretina descritos en la presente pueden formularse como composiciones farmacéuticas, que se pueden administrar por vías parenterales (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular o transdérmica). Dichas composiciones farmacéuticas y las técnicas para prepararlas se conocen bien en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Troy, Ed., 21^a edición, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006). En casos particulares, los análogos de incretina se administran por vía subcutánea.

Los análogos de incretina descritos en la presente pueden reaccionar con cualquiera de una serie de ácidos/bases inorgánicos y orgánicos para formar sales de adición ácida/básica aceptables desde el punto de vista farmacéutico. Las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico y las técnicas comunes para su preparación se conocen bien en la técnica (véase, por ejemplo, Stahl *et al.*, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, 2^a edición revisada (Wiley-VCH, 2011)). Las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico para su uso en la presente incluyen sales de sodio, trifluoroacetato, clorhidrato y/o acetato.

La divulgación también proporciona y, por lo tanto, abarca nuevos intermediarios y métodos para sintetizar los análogos de incretina descritos en la presente, o sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos. Los intermediarios y los análogos de incretina descritos en la presente pueden prepararse mediante una variedad de técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, un método que utiliza síntesis química se ilustra en los Ejemplos a continuación. Las etapas de síntesis específicas para cada una de las vías descritas se pueden combinar de diferentes maneras para preparar los análogos de incretina descritos en la presente. Las personas del oficio de nivel medio pueden acceder con facilidad a los reactivos y los materiales de inicio.

Ciertos análogos de incretina descritos en la presente son generalmente eficaces en un amplio rango de dosis. Por ejemplo, las dosis para una administración de una vez por semana pueden estar dentro de un rango que va de alrededor de 0,01 a alrededor de 30 mg/persona/semana, dentro de un rango que va de alrededor de 0,1 a alrededor de 10 mg/persona/semana o incluso dentro de un rango que va de alrededor de 0,1 a alrededor de 3 mg/persona/semana. Por lo tanto, los análogos de incretina descritos en la presente se pueden administrar diariamente, tres veces por semana, dos veces por semana o una vez por semana, especialmente una vez por semana.

Los análogos de incretina descritos en la presente pueden usarse para tratar una variedad de condiciones, trastornos, enfermedades o síntomas. En particular, se proporcionan métodos para tratar la T2DM en un individuo, donde dichos métodos incluyen al menos una etapa de administrar a un individuo que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un análogo de incretina descrito en la presente, o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

Además, se proporcionan métodos para tratar la obesidad en un individuo, donde dichos métodos incluyen al menos una etapa de administrar a un individuo que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un análogo de incretina descrito en la presente, o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

Además, se proporcionan métodos para inducir la pérdida de peso no terapéutica en un individuo, donde dichos métodos incluyen al menos una etapa de administrar a un individuo que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un análogo de incretina descrito en la presente, o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

Además, se proporcionan métodos para tratar el síndrome metabólico en un individuo, donde dichos métodos incluyen al menos una etapa de administrar a un individuo que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un análogo de incretina descrito en la presente, o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

Además, se proporcionan métodos para tratar la NASH en un individuo, donde dichos métodos incluyen al menos una etapa de administrar a un individuo que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un análogo de incretina descrito en la presente, o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

Además, se proporcionan métodos para tratar la NAFLD en un individuo, donde dichos métodos incluyen al menos una etapa de administrar a un individuo que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un análogo de incretina descrito en la presente, o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.

En estos métodos, la eficacia de los análogos de incretina se puede evaluar, por ejemplo, al observar una reducción significativa de la glucosa en sangre, al observar un aumento significativo de la insulina, al observar una reducción significativa de la HbA1c y/o al observar una reducción significativa del peso corporal.

Alternativamente, los análogos de incretina descritos en la presente o las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estos se pueden usar para mejorar la resistencia ósea en un individuo que lo necesite. En algunos casos, el individuo que

lo necesita tiene hipoostosis o hipoosteoidosis, o se está curando de una fractura ósea, una cirugía ortopédica, un implante de prótesis, un implante dental, y/o una fusión espinal. Los análogos de incretina descritos en la presente también pueden usarse para el tratamiento de otros trastornos tales como la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Alzheimer.

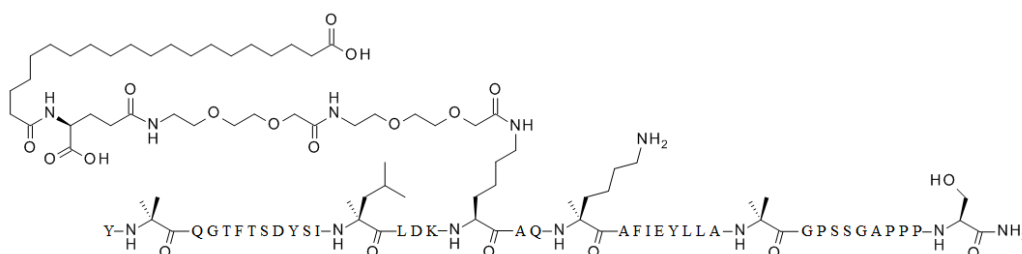
SÍNTESIS DE PÉPTIDOS

Ejemplo 1:

El Ejemplo 1 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ- α MeK-AFIEYLLA-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:7).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 1 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, α MeL13, K17, α MeK20 y Aib29, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



La estructura principal peptídica del Ejemplo 1 se sintetiza mediante la química de fluorenimetiloxycarbonilo (Fmoc)/terc-butilo (t-Bu) en un sintetizador de péptidos multiplex de 12 canales Symphony (Protein Technologies, Inc. Tucson, AZ).

La resina consiste en un 1 % de poliestireno reticulado DVB (resina de baja carga Fmoc-Rink-MBHA, 100-200 mesh, EMD Millipore) en una sustitución de 0,3-0,4 meq/g. Se utilizan grupos protectores de cadena lateral estándar. Fmoc-Lys(Mtt)-OH se usa para la lisina en la posición 17, y Boc-Tyr(tBu)-OH se usa para la tirosina en la posición 1. Los grupos Fmoc se eliminan antes de cada etapa de acoplamiento (2 x 7 minutos) con 20 % de piperidina en DMF. Todos los acoplamientos estándar de aminoácidos se realizan durante 1 hora a una amina primaria y 3 horas a una amina secundaria, mediante una relación molar igual de aminoácido Fmoc (0,3 mM), diisopropilcarbodiimida (0,9 mM) y Oxyma (0,9 mM), en un exceso molar de 9 veces sobre la carga teórica de péptidos. Las excepciones son los acoplamientos a los aminoácidos metilados con C α , que se acoplan durante 3 horas. Una vez completada la síntesis de la estructura principal peptídica, la resina se lava exhaustivamente con

DCM 6 veces para eliminar la DMF residual. El grupo protector Mtt en la lisina en la posición 17 se elimina selectivamente de la resina peptídica mediante dos tratamientos de hexafluoroisopropanol al 30 % (Oakwood Chemicals) en DCM (tratamiento de 2 x 40 minutos).

La posterior unión de la porción ácido graso-ligador se logra mediante el acoplamiento del ácido 2-[2-(2-Fmoc-amino-etoxi)-etoxi]-acético (Fmoc-AEEA-OH, ChemPep, Inc.), éster de α -t-butilo de ácido Fmoc-glutámico (Fmoc-Glu-OtBu, Ark Pharm, Inc.), ácido mono-otBu-eicosandioico (WuXi AppTec, Shanghai, China). Se utiliza un exceso de 3 veces de reactivos (AA:PyAOP:DIPEA = 1:1:1 mol/mol) para cada acoplamiento que dure 1 hora.

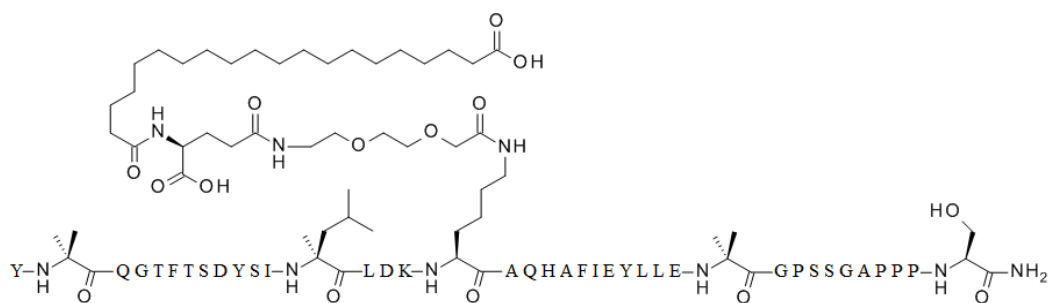
Una vez que se completa la síntesis, la resina peptídica se lava con DCM y luego se seca completamente al aire. La resina seca se trata con 10 ml de cóctel de escisión (ácido trifluoroacético: agua:triisopropilsilano, 95:2,5:2,5 v/v) durante 2 horas a temperatura ambiente. La resina se separa por filtración, se lava dos veces, cada una con 2 ml de TFA puro y los filtrados combinados se tratan con dietiléter a un frío de 5 veces (-20 °C) para precipitar el péptido crudo. La suspensión de péptido/éter se centrifuga luego a 3500 rpm durante 2 minutos para formar un pélet sólido, se decanta el sobrenadante y el pélet sólido se tritura con éter dos veces más y se seca al vacío. El péptido crudo se solubiliza en 20 % de acetonitrilo/20 % de ácido acético/60 % de agua y se purifica por RP-HPLC en una columna preparativa de fenil-hexilo de 5 μ m de Luna (21 x 250 mm, Phenomenex) con gradientes lineales de acetonitrilo al 100 % y sistema de amortiguación de TFA/agua al 0,1 % (acetonitrilo al 30-50 % en 60 min). La pureza del péptido se evalúa mediante RP-HPLC analítica y los criterios de agrupación son >95 %. La pureza de la agrupación principal del Ejemplo 1 resulta ser del 98,8 %. La liofilización posterior de la agrupación de producto principal final produce una sal de TFA peptídica liofilizada. El peso molecular se determina mediante LC-MS (obsd: M+4H+/4 =1226,8; Calc M+4H+/4 =1226,9).

Ejemplo 2:

El Ejemplo 2 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQHAFIEYLLA-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:6).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 2 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, α MeL13, K17 y Aib29, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



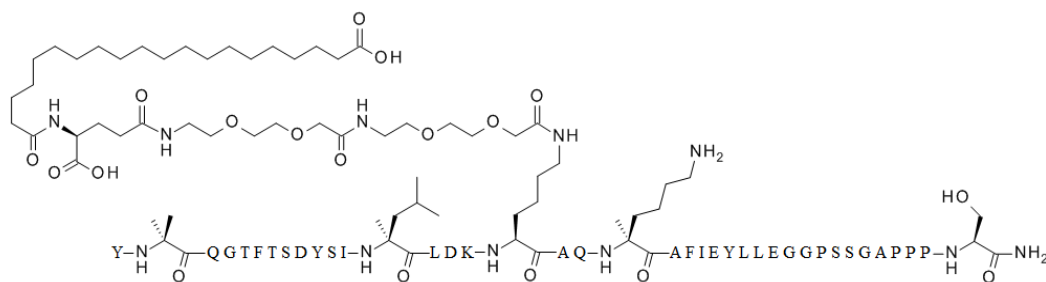
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 2.

Ejemplo 3:

El Ejemplo 3 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxy)-etoxy]-acetil)₂-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-αMeK-AFIEYLLLEGGPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:8).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 3 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, αMeL13, K17 y αMeK20, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



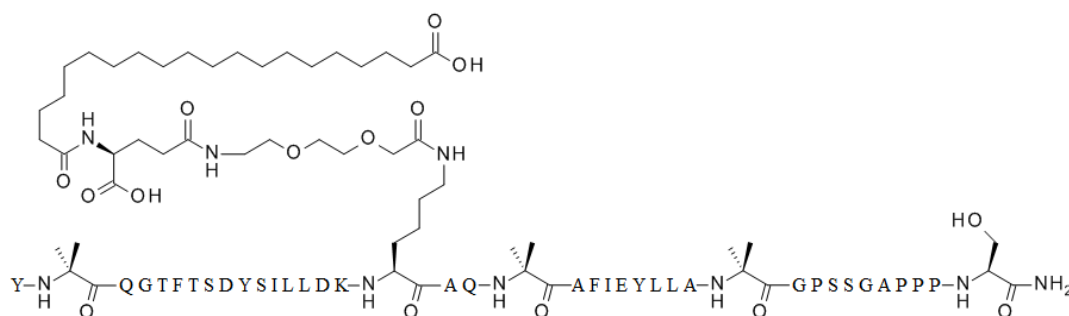
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 3.

Ejemplo 4:

El Ejemplo 4 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxy)-etoxy]-acetil)₂-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLA-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:9).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 4 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, K17, Aib20 y Aib29, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



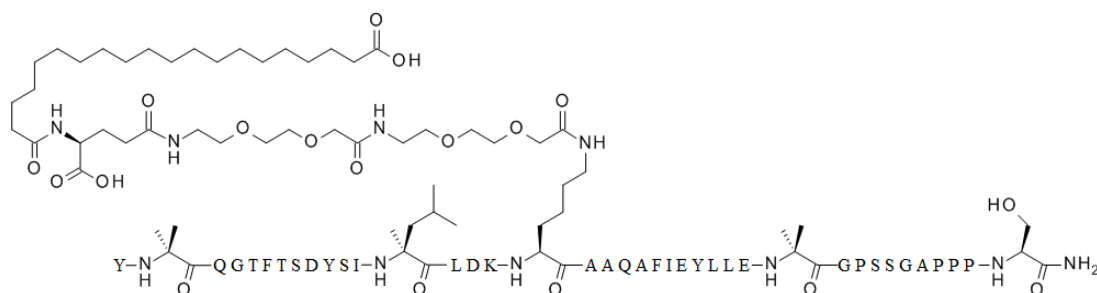
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, conjugar la porción ácido graso-ligador, examinar la pureza y confirmar el peso molecular del Ejemplo 4.

Ejemplo 5:

El Ejemplo 5 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AAQAFIEYLLE-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:10).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 5 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, α MeL13, K17 y Aib29, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



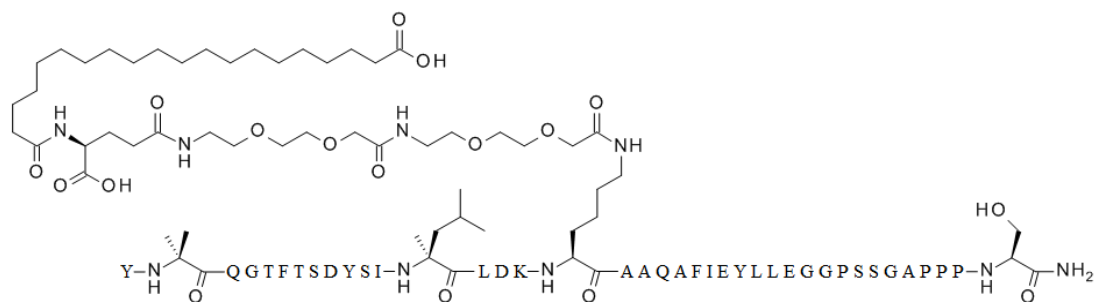
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, conjugar la porción ácido graso-ligador, examinar la pureza y confirmar el peso molecular del Ejemplo 5.

Ejemplo 6:

El Ejemplo 6 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AAQAFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:11).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 6 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, α MeL13 y K17, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



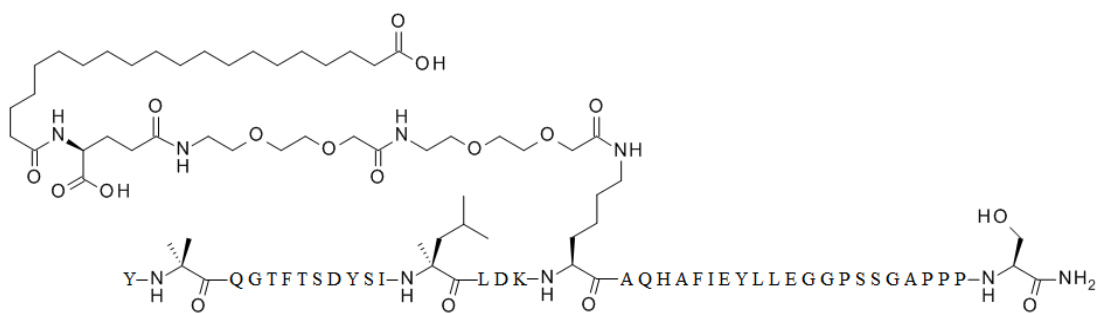
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 6.

Ejemplo 7:

El Ejemplo 7 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQHAFIEYLLLEGGPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:12).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 7 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, α MeL13 y K17, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



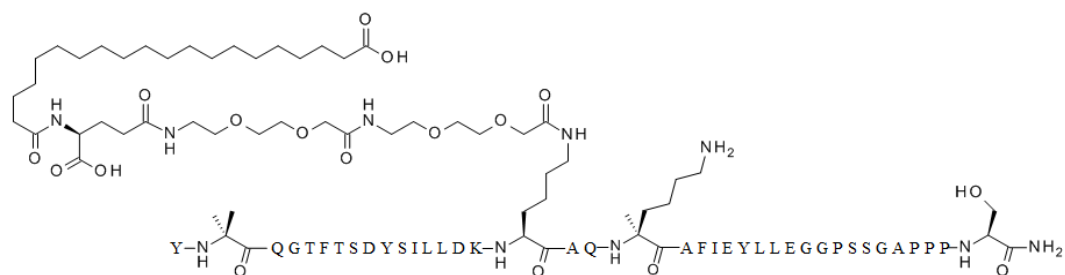
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 7.

Ejemplo 8:

El Ejemplo 8 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ- α MeK-AFIEYLLLEGGPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:13).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 8 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, K17 y α MeK20, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



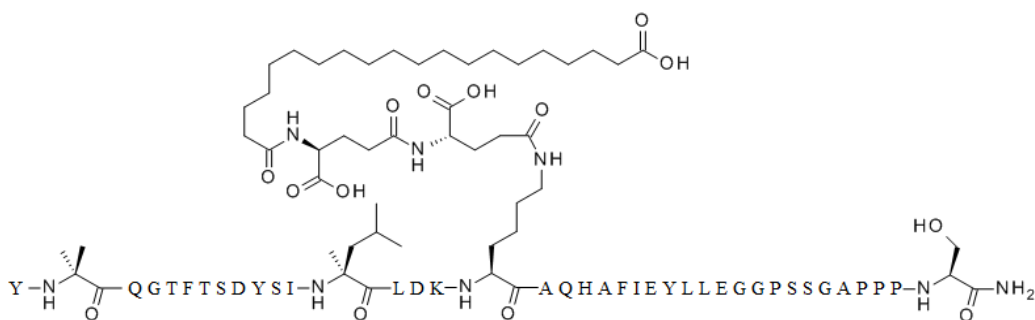
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 8.

Ejemplo 9:

El Ejemplo 9 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI-αMeL-LDKK((γGlu)₂-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQHAFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:14).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 9 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, αMeL13 y K17, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



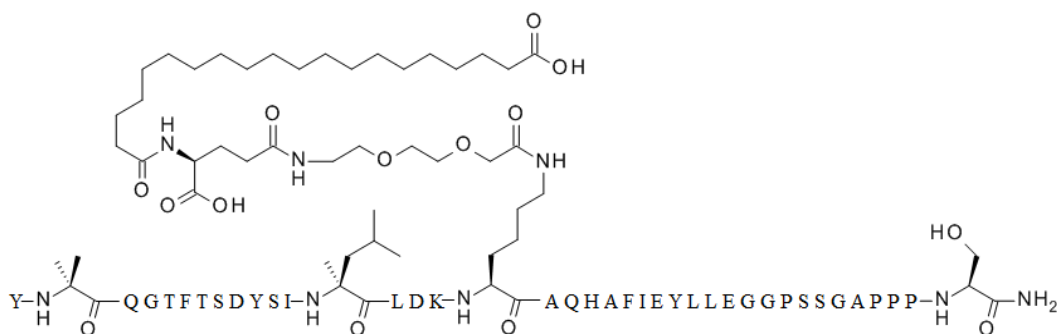
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 9.

Ejemplo 10:

El Ejemplo 10 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQHAFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:15).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 10 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, αMeL13 y K17, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



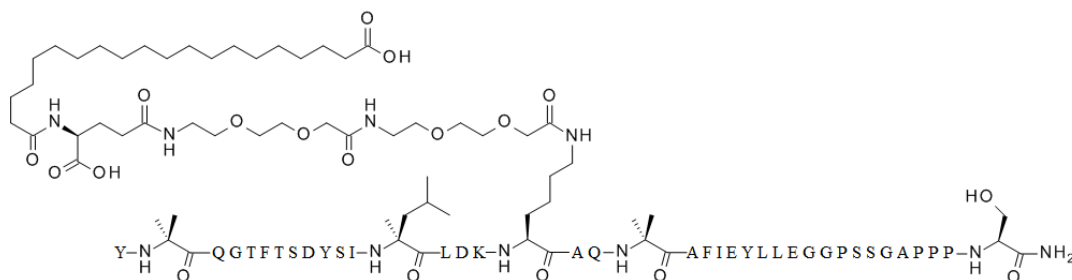
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 10.

Ejemplo 11:

El Ejemplo 11 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:16).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 11 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, αMeL13, K17 y Aib20, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 11.

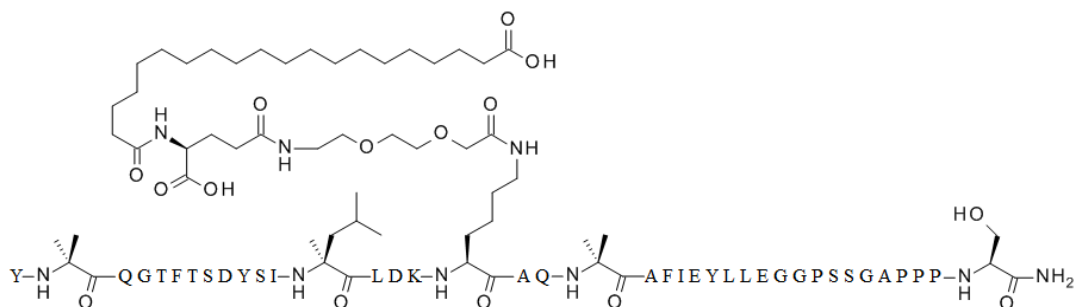
Ejemplo 12:

El Ejemplo 12 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:17).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 12 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, αMeL13, K17 y Aib20, donde se han expandido las estructuras de estos

residuos de aminoácidos:



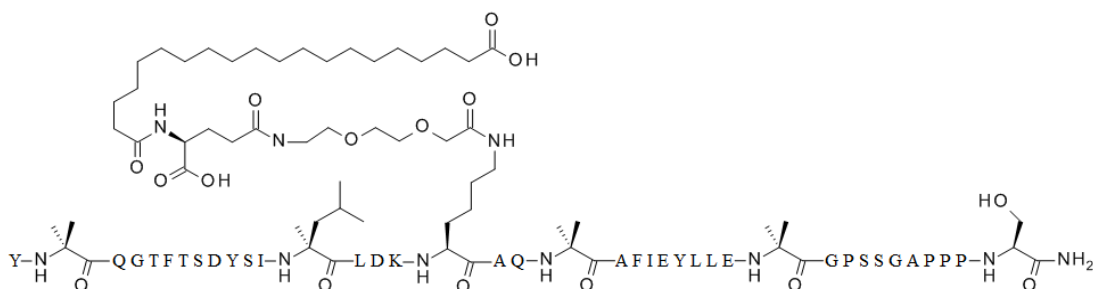
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 12.

Ejemplo 13:

El Ejemplo 13 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxy)-etoxy]-acetil)-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLE-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:18).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 13 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, αMeL13, K17, Aib20 y Aib29, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 13.

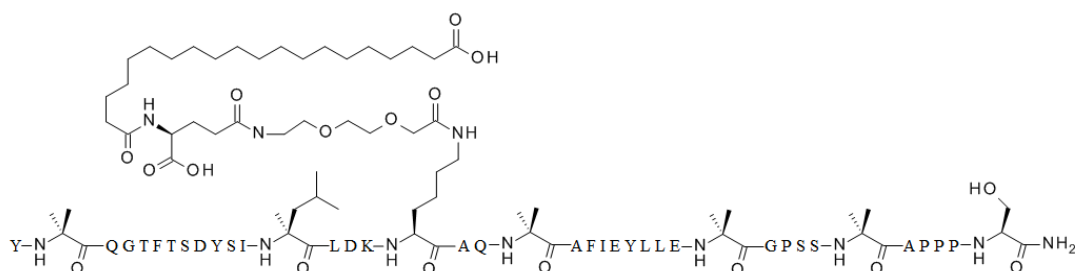
Ejemplo 14:

El Ejemplo 14 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxy)-etoxy]-acetil)-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLE-Aib-GPSS-Aib-APPPS-NH₂ (SEQ ID NO:19).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 14 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, αMeL13, K17, Aib20, Aib29 y Aib34, donde se han expandido las

estructuras de estos residuos de aminoácidos:



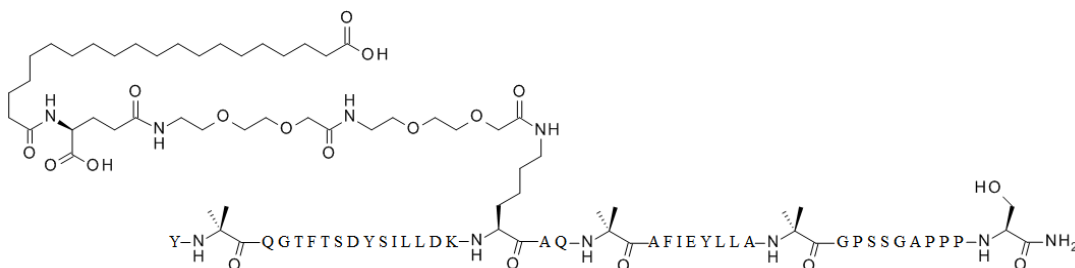
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 14.

Ejemplo 15:

El Ejemplo 15 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLA-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:20).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 15 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, K17, Aib20 y Aib29, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



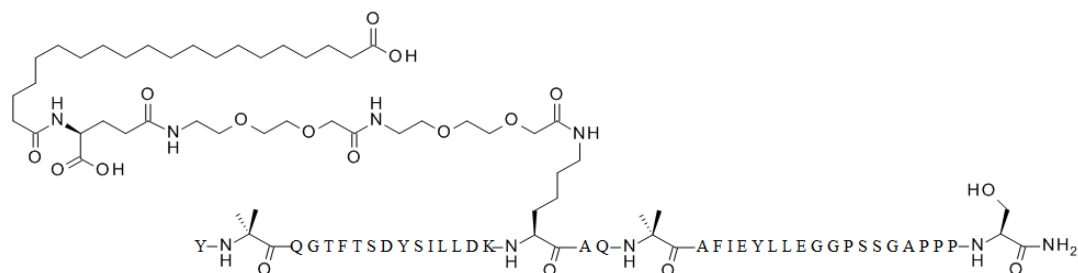
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 15.

Ejemplo 16:

El Ejemplo 16 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLEGPSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:21).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 16 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, K17, y Aib20, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



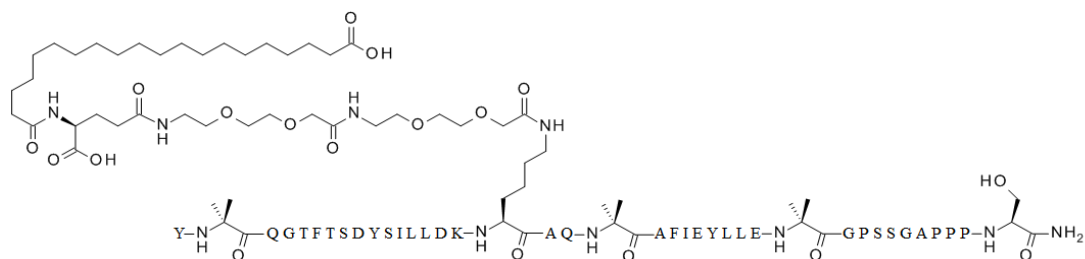
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 16.

Ejemplo 17:

El Ejemplo 17 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxy)-etoxy]-acetil)₂-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLE-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:22).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 17 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, K17, Aib20 y Aib29, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



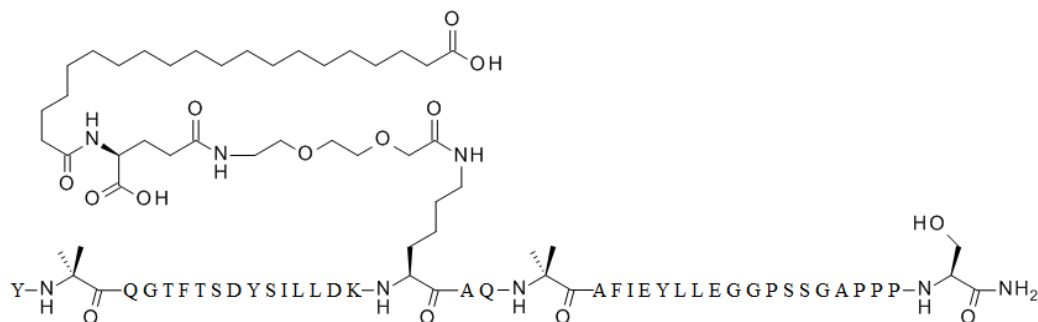
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 17.

Ejemplo 18:

El Ejemplo 18 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxy)-etoxy]-acetil)₂-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:23).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 18 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, K17 y Aib20, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



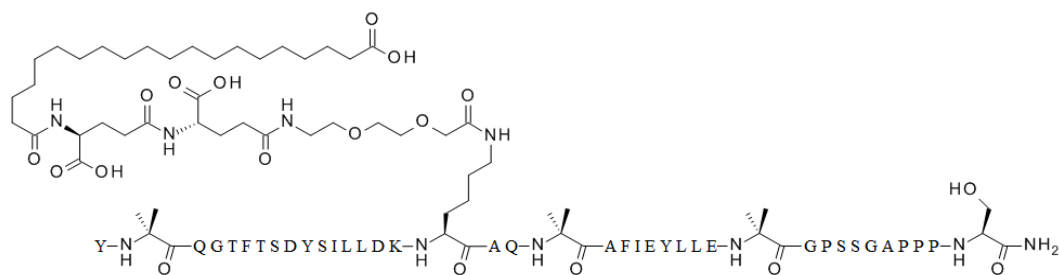
Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 18.

Ejemplo 19:

El Ejemplo 19 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxy)-etoxy]-acetil)-(γGlu)₂-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLE-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:24).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 19 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, K17, Aib20 y Aib29, donde se han expandido las estructuras de estos residuos de aminoácidos:



Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 19.

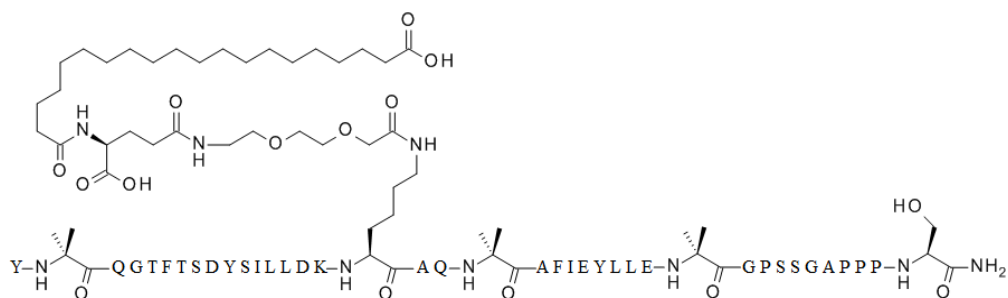
Ejemplo 20:

El Ejemplo 20 es un compuesto representado por la siguiente descripción:

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxy)-etoxy]-acetil)-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLE-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂ (SEQ ID NO:25).

A continuación se muestra una representación de la estructura del Ejemplo 20 que usa los códigos estándar de aminoácidos de una sola letra con la excepción de los residuos Aib2, K17, Aib20 y Aib29, donde se han expandido las estructuras de estos

residuos de aminoácidos:



Se utilizan procesos similares a los descritos anteriormente para el Ejemplo 1 para sintetizar la estructura principal peptídica, para conjugar la porción ácido graso-ligador, para examinar la pureza y para confirmar el peso molecular del Ejemplo 20.

FUNCIÓN IN VITRO

Afinidad de fijación:

Se llevan a cabo ensayos de fijación competitiva de radioligandos para determinar la constante de disociación de equilibrio para los compuestos y las moléculas comparadoras de ejemplo. Dicho ensayo utiliza métodos de ensayo de proximidad por centelleo (SPA) y membranas preparadas a partir de células HEK293 transfectadas que sobreexpresan el receptor de GIP humano (GIPR), el receptor de GLP-1 (GLP-1R) o el receptor de glucagón humano (GcgR).

Los ensayos se realizan en presencia de bacitracina como agente bloqueador no específico para evitar que las porciones aciladas de los análogos de prueba se fijen a los componentes de proteínas utilizados en los amortiguadores de ensayo estándar (por ejemplo, albúmina).

Las curvas de competencia se representan como el porcentaje de inhibición específica (eje y) frente a la concentración log del compuesto (eje x) y se analizan mediante un ajuste de regresión no lineal de cuatro parámetros con pendiente variable (ABase o Genedata). Los valores de K_i se calculan de acuerdo con la ecuación $K_i = IC_{50}/(1 + (D/K_d))$, donde IC_{50} es la concentración del compuesto que produce una inhibición de fijación del 50%, D es la concentración de radioligando utilizada en el ensayo y K_d es la constante de disociación de equilibrio para el receptor y el radioligando, determinada a partir del análisis de fijación de saturación (que se muestra en la Tabla 1 a continuación).

Tabla 1. Constantes de disociación de equilibrio (K_d) determinadas a partir del análisis de fijación de saturación.

	K_d , nM	
	GcgR	GIPR
GLP-1R		

1,2	3,9	0,14
-----	-----	------

Los valores de K_i de los análogos y las moléculas comparadoras de ejemplo se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Afinidad de fijación *in vitro* (K_i) de los Ejemplos y Comparadores para GIPR, GLP-1R y GcgR humanos.

Molécula	K_i , nM (SEM, n)		
	GcgR	GIPR	GLP-1R
hGcg	3,1 (0,5, 4)		
hGIP		0,12 (0,02, 4)	
hGLP-1			1,2 (0,2, 4)
Ejemplo 1	8,41 (2,71, 5)	0,0469 (0,00558, 4/5)	2,64 (0,501, 5)
Ejemplo 2	3,71 (1,49, 2)	0,0665 (0,0377, 2)	4,50 (0,735, 2)
Ejemplo 3	12,0 (2,74, 4)	0,0446 (0,00838, 4)	6,06 (0,849, 4)
Ejemplo 4	2,55 (0,411, 4)	0,0374 (0,0137, 4)	3,54 (0,503, 6)
Ejemplo 5	0,422 (0,0887, 3)	0,179 (0,0466, 3)	36,7 (8,99, 3)
Ejemplo 6	0,835 (0,369, 3)	0,249 (0,0369, 3)	36,7 (10,5, 3)
Ejemplo 7	16,3 (2,37, 5)	0,110 (0,0206, 5)	21,4 (3,53, 5)
Ejemplo 8	30,4 (38,9, 3)	0,0958 (0,0295, 3)	29,4 (29,8, 3)
Ejemplo 9	8,27 (0,855, 4)	0,126 (0,0274, 4)	11,5 (1,85, 4)
Ejemplo 10	7,37 (1,38, 4)	0,118 (0,0363, 4)	12,0 (2,75, 4)
Ejemplo 11	10,8 (1,11, 4)	0,0890 (0,0369, 3/4)	9,97 (1,53, 4)
Ejemplo 12	5,60 (0,796, 4)	0,0570 (0,00322, 4)	7,17 (1,68, 4)
Ejemplo 13	1,91 (0,128, 3)	0,0452 (0,00297, 3)	6,43 (1,89, 5)
Ejemplo 14	2,64 (0,231, 4)	0,0350 (0,00326, 4)	6,27 (1,12, 6)
Ejemplo 15	4,56 (2,68, 2)	0,0972 (n=1/2)	5,80 (1,80, 3)
Ejemplo 16	11,5 (1,97, 5)	0,106 (0,0182, 5)	16,1 (2,30, 6)
Ejemplo 17	5,81 (0,875, 3)	0,0895 (0,0290, 3)	10,2 (1,74, 3)
Ejemplo 18	5,71 (0,588, 4)	0,0835 (0,0128, 4)	8,06 (2,04, 4)
Ejemplo 19	5,20 (0,572, 3)	0,0789 (0,0261, 3)	12,0 (2,07, 3)
Ejemplo 20	3,76 (0,397, 3)	0,109 (0,0247, 3)	9,23 (2,14, 3)

NOTA: Un calificador (>) indica que los datos no alcanzaron el 50 % de inhibición en relación con la fijación máxima, por lo que la K_i se calculó mediante la concentración más alta probada en el ensayo. n = 1/x significa que solo se utiliza un valor del número total de réplicas (x) para expresar la media. SEM solo se calcula cuando n=2 o cuando existen resultados no calificados mayores.

Como se ve en la Tabla 2, los análogos de ejemplo tienen afinidad de fijación en cada uno de los receptores de GIP, GLP-1 y glucagón.

Actividad funcional:

La actividad funcional se determina en las líneas celulares clonales HEK-293 que expresan GIP-R GLP-1R- y GcgR. Cada línea celular que sobreexpresa el receptor se trata con péptido (20 puntos CRC, 2,75 veces dilución directa Labcyte Echo) en DMEM (Gibco Cat N.º 31053) complementado con 1X GlutaMAX™ (Gibco Cat N.º 35050), FBS al 0,25 % (suero bovino fetal, Gibco Cat N.º 26400), 0,05 % de fracción V BSA (albúmina de suero bovino, Gibco Cat N.º 15260), 250 μ M de IBMX y 20 mM de HEPES (Gibco Cat N.º 15630) en un volumen de ensayo de 20 μ l.

Después de una incubación de 60 minutos a temperatura ambiente, el aumento resultante en cAMP intracelular se determina cuantitativamente mediante el kit de ensayo CisBio cAMP Dynamic 2 HTRF (62AM4PEJ). Brevemente, los niveles de cAMP dentro de la célula se detectan al agregar el conjugado cAMP-d2 en el amortiguador de lisis celular seguido del anticuerpo anti-cAMP-Eu³⁺-criptato, también en el amortiguador de lisis celular. El ensayo competitivo resultante se incuba durante al menos 60 minutos a temperatura ambiente y luego se detecta mediante un instrumento PerkinElmer Envision® con una excitación a 320 nm y una emisión a 665 nm y 620 nm. Las unidades de Envision (emisión a 665nm/620nm*10.000) son inversamente proporcionales a la cantidad de cAMP presente y se convirtieron a nM de cAMP por cavidad mediante una curva estándar de cAMP.

La cantidad de cAMP generado (nM) en cada cavidad se convierte en un porcentaje de la respuesta máxima observada con ya sea GLP-1 humano (7-36)NH₂, Gcg humano o GIP humano (1-42)NH₂. Un valor relativo EC₅₀ se deriva por análisis de regresión no lineal mediante el porcentaje de respuesta máxima frente a la concentración de péptido agregado, ajustado a una ecuación logística de cuatro parámetros.

Los datos para los análogos de ejemplo y hGIP(1-42)NH₂, hGLP-1(7-36)NH₂ y hGcg se muestran en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3. Potencia funcional de cAMP (EC₅₀) para análogos y comparadores de ejemplo en presencia de FBS y BSA.

	cAMP EC ₅₀ , nM (SEM, n)		
	GcgR	GIPR	GLP-1R
hGcg	0,0125 (0,000280014, 112)		
gGIP amida		0,133 (0,0082, 60)	
hGLP-1 amida			0,0591 (0,00091, 113)
Ejemplo 1	2,54 (0,199, n=6)	0,914 (0,0915, 6)	7,49 (1,02, 6)
Ejemplo 2	2,66 (0,175, 5)	2,19 (0,392, 5)	12,8 (2,50, 5)
Ejemplo 3	8,03 (0,997, 6)	1,91 (0,205, 6)	12,9 (1,58, 6)
Ejemplo 4	2,49 (0,371, 7)	1,55 (0,245, 7)	10,4 (1,80, 7)
Ejemplo 5	1,47 (0,171, 6)	4,86 (0,682, 6)	22,3 (3,78, 6)
Ejemplo 6	1,99 (0,201, 6)	7,41 (0,667, 6)	21,2 (2,02, 6)
Ejemplo 7	14,2 (2,24, 6)	4,38 (0,750, 6)	15,5 (2,40, 6)
Ejemplo 8	6,24 (0,673, 6)	2,23 (0,164, 6)	9,39 (0,959, 6)
Ejemplo 9	6,32 (0,290, 4)	4,17 (0,695, 4)	9,76 (1,98, 4)
Ejemplo 10	8,42 (1,17, 4)	4,30 (0,987, 4)	19,3 (1,52, 4)
Ejemplo 11	11,9 (0,727, 6)	1,50 (0,124, 6)	10,3 (0,808, 6)
Ejemplo 12	6,61 (0,512, 6)	2,24 (0,303, 6)	12,4 (1,41, 6)
Ejemplo 13	3,61 (0,197, 8)	1,76 (0,126, 8)	12,2 (1,00, 8)

Ejemplo 14	4,05 (0,255, 7)	1,55 (0,165, 7)	14,4 (1,71, 7)
Ejemplo 15	5,92 (1,10, 4)	1,47 (0,264, 4)	10,7 (1,85, 4)
Ejemplo 16	13,2 (1,93, 6)	4,37 (0,589, 6)	19,0 (2,39, 6)
Ejemplo 17	8,05 (1,26, 3)	2,38 (0,212, 3)	18,4 (3,75, 3)
Ejemplo 18	5,71 (0,256, 4)	5,89 (1,05, 4)	16,1 (2,61, 4)
Ejemplo 19	8,45 (0,828, 3)	3,13 (0,179, 3)	24,4 (2,85, 3)
Ejemplo 20	3,97 (0,284, 3)	3,70 (1,02, 3)	20,6 (5,10, 3)

NOTA: La determinación de EC₅₀ de GLP-1(7-36)NH₂ humano en GLP-1R humano, Gcg humano en GCGR humano, y GIP(1-42)NH₂ humano en GIP-R humano: los rangos de concentración de péptidos fueron de 448 pM a 99,5 nM. La determinación de EC₅₀ de los Ejemplos en GLP-1R humano, GcgR humano y GIP-R humano: los rangos de concentración del péptido fueron de 51,5 fM a 11,4 μ M.

Como se ve en la Tabla 3, en presencia de FBS y BSA, los análogos de ejemplo tienen actividades agonistas según lo determinan los ensayos de cAMP GIP-R, GLP-1R y GcgR humanos, que son más bajos que los ligandos nativos.

Un conjunto adicional de ensayos de cAMP se lleva a cabo en células HEK293 que expresan los receptores de GLP-1, GIP y glucagón humanos. Mediante el uso de métodos de fluorescencia homogénea de resolución temporal, se llevan a cabo ensayos para determinar la potencia intrínseca de los análogos de ejemplo y las moléculas comparadoras realizada en presencia de caseína (en lugar de albúmina de suero) como un bloqueador no específico, que no interactúa con las porciones ácido graso de las moléculas analizadas.

Los niveles de cAMP intracelular se determinan mediante extrapolación con una curva estándar. Las curvas de respuesta a la dosis de los compuestos se representan como el porcentaje de estimulación normalizado a los valores mínimo (solo amortiguador) y máximo (concentración máxima de cada ligando de control) y se analizan mediante un ajuste de regresión no lineal de cuatro parámetros con una pendiente variable (Genedata Screener 13). EC₅₀ es la concentración del compuesto que causa la simulación máxima media en una curva de respuesta a la dosis.

Los datos se proporcionan a continuación en la Tabla 4.

Tabla 4. Activación funcional de hGLP-1R, hGIPR, hGcgR en presencia de caseína al 0,1 %.

	cAMP EC ₅₀ , nM (SEM, n)		
	GcGR	GIPR	GLP-1R
hGcg	0,0119 (0,00356, 163)		
hGIP amida		0,154 (0,037, 118)	
gGLP-1 amida			0,063 (0,022, 197)
Ejemplo 1	0,114 (0,0203, 5)	0,0523 (0,0112, 5)	0,153 (0,0132, 12)
Ejemplo 2	0,0553 (0,00975, 4)	0,0474 (0,00485, 4)	0,207 (0,0213, 6)
Ejemplo 3	0,152 (0,0147, 7)	0,0376 (0,00284, 7)	0,107 (0,0108, 7)

Ejemplo 4	0,0674 (0,00532, 15)	0,0648 (0,00507, 14)	0,180 (0,0144, 17)
Ejemplo 5	0,0226 (0,00304, 10)	0,0757 (0,0127, 5)	0,147 (0,0204, 7)
Ejemplo 6	0,0282 (0,00409, 7)	0,274 (0,0377, 7)	0,142 (0,0127, 10)
Ejemplo 7	0,180 (0,0190, 6)	0,0798 (0,0111, 6)	0,109 (0,0134, 5)
Ejemplo 8	0,120 (0,0210, 5)	0,114 (0,0101, 4)	0,117 (0,0151, 7)
Ejemplo 9	0,139 (0,0281, 5)	0,0522 (0,00816, 4)	0,0931 (0,00852, 8)
Ejemplo 10	0,123 (0,00784, 15)	0,0928 (0,00721, 16)	0,143 (0,0103, 12)
Ejemplo 11	0,205 (0,0175, 11)	0,0425 (0,00744, 12)	0,123 (0,0119, 13)
Ejemplo 12	0,122 (0,00931, 15)	0,0529 (0,00394, 18)	0,162 (0,0100, 18)
Ejemplo 13	0,0815 (0,00835, 12)	0,0391 (0,00315, 14)	0,125 (0,00961, 13)
Ejemplo 14	0,0876 (0,00687, 17/18)	0,0356 (0,00242, 20)	0,146 (0,0108, 17)
Ejemplo 15	0,131 (0,0141, 10)	0,0689 (0,00730, 9)	0,253 (0,0197, 9)
Ejemplo 16	0,174 (0,00882, 22)	0,114 (0,0100, 20)	0,157 (0,0105, 20)
Ejemplo 17	0,135 (0,00643, 12)	0,0439 (0,00457, 11)	0,153 (0,0135, 10)
Ejemplo 18	0,0861 (0,00631, 16)	0,123 (0,00954, 13)	0,141 (0,00862, 13)
Ejemplo 19	0,0874 (0,0317, 2)	0,0455 (0,00516, 2)	0,143 (0,0187, 3)
Ejemplo 20	0,0641 (0,00369, 12)	0,0572 (0,00527, 11)	0,149 (0,00937, 11)

Como se ve en la Tabla 4, los análogos de ejemplo estimulan el cAMP de los receptores de GIP, GLP-1 y glucagón humanos en presencia de caseína al 0,1 %.

ESTUDIOS IN VIVO

Farmacocinética en ratas Sprague Dawley macho:

La farmacocinética de los análogos de ejemplo se evalúa después de una administración subcutánea única de 100 nM/kg a ratas Sprague Dawley macho. Las muestras de sangre se recolectan durante 120 horas y las concentraciones plasmáticas individuales resultantes se utilizan para calcular los parámetros farmacocinéticos. Las concentraciones de péptido en plasma (K₃ EDTA) se determinaron mediante un método calificado LC/MS que mide la masa intacta del análogo. Cada péptido y un análogo como estándar interno se extraen de un 100 % de plasma específico de la especie mediante metanol con ácido fórmico al 0,1 %. Un instrumento de alta resolución Thermo Q-Exactive y un Thermo Easy Spray PepMap se combinan para la detección de LC/MS. Los parámetros farmacocinéticos medios se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Parámetros farmacocinéticos medios de péptidos después de una administración subcutánea única de 100 nMol/kg a ratas Sprague Dawley macho.

	T _{1/2} (h)	T _{max} (h)	C _{max} /D (kg*nmol/L/nmol)	AUCINF_D_obs (h*kg*nmol/L/nmol)	Cl/F (ml/hr/Kg)
Ejemplo 1	11,7	8	3,5	95,7	10,4
Ejemplo 3	19,2	16	2,5	146	6,9
Ejemplo 4	19,9	16	2,9	140	7,2
Ejemplo 10	23,4	24	3,1	203,5	4,9
Ejemplo 11	24,3	20	3,7	215,1	4,7
Ejemplo 12	26,5	24	3,7	197,1	5,1
Ejemplo 13	21,7	20	3,8	205,7	4,9
Ejemplo 16	29,1	20	3,8	274,9	3,6

Ejemplo 18	34,8	24	5,0	284,3	3,6
------------	------	----	-----	-------	-----

Abreviaturas: $T_{1/2}$ = semivida, T_{max} = tiempo hasta la concentración máxima, C_{max} = concentración plasmática máxima, $AUC_{INF_D_obs}$ = AUC_{inf} dividido por dosis, CL/F = depuración/biodisponibilidad.

NOTA: Los datos son la media, donde $n=3/\text{grupo}$.

Como se ve en la Tabla 5, los análogos de ejemplo muestran un perfil farmacocinético extendido.

Efecto *in vivo* en la secreción de insulina en ratas Wistar macho:

Se usa una prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa (ivGTT) en ratas (Wistar macho) para estimar la potencia insulínica de los análogos de ejemplo. La semaglutida GLP-1 RA se utiliza como control positivo. Las ratas con cánulas implantadas quirúrgicamente en la vena yugular y la arteria carótida (Envigo, Indianápolis, IN; 280-320 gramos) se alojan, una por jaula, en jaulas de policarbonato con tapas de filtro. Las ratas se mantienen en un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas a 21 °C y reciben la dieta global Teklad 2014 (Envigo, Indianápolis) y agua desionizada a demanda. Las ratas se aleatorizan según su peso corporal y recibieron dosis por vía subcutánea (sc) de 1,5 ml/kg de los análogos de ejemplo 16 horas antes de la administración de glucosa y luego se mantuvieron en ayunas. Las concentraciones de reserva de 211 nM de los análogos de ejemplo se diluyen en un amortiguador Tris a pH de 8,0 a 6,667 nMol/ml, 2,0 nMol/ml, 0,667 nMol/ml, 0,2 nMol/ml; las dosis probadas son vehículo, 1, 3 y 10 nMol/kg y, en algunos casos, 0,3 y 30 nMol/kg. La semaglutida se usa como control positivo y sus efectos insulínicos se miden tanto en su propia prueba (vehículo y dosis de 1, 3, 10 y 30 nMol/kg) como en relación con cada serie de los análogos de ejemplo (dosis de 10 nMol/kg).

Se recolecta una muestra de sangre de tiempo 0 en tubos de EDTA, y después de esto se administra glucosa (0,5 mg/kg, 5 ml/kg). Las muestras de sangre se recolectan para los niveles de glucosa e insulina a los 2, 4, 6, 10, 20 y 30 minutos después de la administración intravenosa de glucosa. La insulina en plasma se determina mediante un ensayo de electroquimioluminiscencia (Meso Scale, Gaithersburg, MD). El área de la insulina bajo la curva (AUC) se examina y se compara con el vehículo de control con $n = 6$ animales por grupo.

El análisis estadístico se realiza mediante JMP con un ANOVA de una vía seguido de la comparación de Dunnett con el vehículo de control. Los datos se proporcionan en la Tabla 6 a continuación.

Tabla 6. Efecto del vehículo, la semaglutida y los análogos de ejemplo en la secreción de insulina durante la prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa en ratas Wistar anestesiadas.

	AUC _{30min} de insulina después de una glucosa en bolo IV				Semaglutida (10 nmol/kg)
	Dosis (nmol/kg)				
	0	1	3	10	
Ej. 1	11,1±1,3	60,1±10,3*	53,8±5,1*	71,5±6,1*	51,86+/-6,7*
Ej. 3	12,6±2,1	34,4±2,9*	47,5±4,0*	51,6±5,4*	45,6 +/-6,6*
Ej. 4	13,7±2,3	27,4±3,0	52,9±3,0*	70,8±8,4*	44,7 +/-3,7*
Ej. 11	11,3±2,1	43,0±6,8*	59,2±6,3*	62,0±4,6*	55,1 +/-9,0*
Ej. 12	9,3±1,8	32,4+/-2,4*	44,8±2,3*	53,6±6,0*+	40,2+/-2,5*
Ej. 13	8,9±1,2	25,8±2,7	47,3±8,0*	70,6±4,8*	38,4 +/-6,0*
Ej. 16	14,4±2,1	18,9±3,5	50,3±4,2*	50,1±4,2*	56,3 +/-7,7*
Ej. 18	12,3±2,0	27,6±4,6	44,8±8,3*	57,3±10,0*	48,4 +/-6,6*

NOTA: los resultados se expresan como Media ± Error estándar de medias (SEM) de 6 ratas por grupo. La prueba estadística es ANOVA de una vía seguida de Dunnett *p<0,05 en comparación con el vehículo; +p<0,05 en comparación con la semaglutida.

Como se ve en la Tabla 6, los análogos de ejemplo muestran aumentos dependientes de la dosis de la secreción de insulina.

Estudios en ratones C57BL/6 con obesidad inducida por dieta:

Los análogos de incretina de ejemplo como se describen en la presente se proponen como un tratamiento no solo para la diabetes sino también para el síndrome metabólico, que es un conjunto de comorbilidades (dislipidemia, obesidad, esteatosis hepática, etc.) asociadas con la resistencia a la insulina y la diabetes. Para investigar los efectos de los análogos de ejemplo en parámetros tales como la pérdida de peso, el metabolismo, la composición corporal y la esteatosis hepática, se dosificaron a ratones C57BL/6 con obesidad inducida por dieta (DIO). Estos animales, aunque no son diabéticos, muestran resistencia a la insulina, dislipidemia y esteatosis hepática, todas características del síndrome metabólico, después de haber estado bajo una dieta alta en grasas durante 18 semanas.

Específicamente, en los estudios a continuación se utilizan ratones C57BL/6 DIO macho de 24 a 25 semanas de edad mantenidos con una dieta rica en calorías. Los ratones se alojan individualmente en una instalación a temperatura controlada (24 °C) con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas (las luces se encendían a las 22:00) y acceso libre a los alimentos (TD95217) y al agua. Después de un mínimo de 2 semanas de aclimatación a la instalación, los ratones se aleatorizan según su peso corporal, por lo que cada grupo experimental de animales tendría un peso corporal similar. Los pesos corporales oscilan entre 40 y 51 g.

Todos los grupos contienen 5-6 ratones. El vehículo, los análogos de ejemplo disueltos en el vehículo (40 mM de Tris-HCl a pH 8,0) y la semaglutida disuelta en el vehículo se administran mediante inyección subcutánea (SC) (10 ml/kg) a ratones DIO alimentados *ad libitum* 30 a 90 minutos antes del inicio del ciclo de oscuridad cada 3

días durante 15 días. Las inyecciones de SC se realizan en los días 1, 4, 7, 10 y 13. El peso corporal y la ingesta de alimentos se miden diariamente a lo largo del estudio.

Los cambios absolutos de peso corporal se calculan al restar el peso corporal del mismo animal antes de la primera inyección de vehículo, análogo o semaglutida. En los días 0 y 15, la masa grasa total se mide por resonancia magnética nuclear (RMN) mediante un instrumento del sistema médico Echo (Houston, TX). El día 15, los animales se sacrifican antes del fotoperíodo oscuro y los hígados se extraen y se congelan. Los triglicéridos en el hígado, determinados a partir de homogenados de hígados recolectados en el sacrificio, y el colesterol en plasma se miden en un analizador clínico Hitachi Modular P.

Los datos se presentan como media $\pm$ SEM de 5-6 animales por grupo en las Tablas 7 y 8 a continuación. El análisis estadístico se realiza mediante ANOVA de medidas repetidas, seguido del método de Dunnett para comparaciones múltiples. Las diferencias significativas se identifican en $p < 0,05$.

Tabla 7. Cambio de peso corporal después del tratamiento con los análogos de ejemplo después de quince días.

	Dosis de tratamiento					
	3 nmol/kg		10 nmol/kg		30 nmol/kg	
	Δ del vehículo (g)	% de cambio	Δ del vehículo (g)	% de cambio	Δ del vehículo (g)	% de cambio
Ej. 1	-5,42 $\pm$ 0,54	-10,04 $\pm$ 1,14	-9,26 $\pm$ 0,36	-20,20 $\pm$ 1,51	-21,36 $\pm$ 1,08	-44,82 $\pm$ 1,54
Ej. 3			-10,14 $\pm$ 0,72	-21,18 $\pm$ 1,98		
Ej. 4			-11,58 $\pm$ 0,85	-23,64 $\pm$ 1,70	-19,98 $\pm$ 1,63	-43,88 $\pm$ 3,71
Ej. 5			-12,30 $\pm$ 2,20	-25,40 $\pm$ 4,56		
Ej. 6			-11,72 $\pm$ 1,78	-24,02 $\pm$ 3,31		
Ej. 7	-5,26 $\pm$ 0,49	-12,22 $\pm$ 1,19	-8,38 $\pm$ 0,50	-19,65 $\pm$ 1,27	-16,26 $\pm$ 2,23	
Ej. 10	-5,4 $\pm$ 0,49	-12,70 $\pm$ 1,17	-10,98 $\pm$ 0,76	-24,95 $\pm$ 1,99	-17,08 $\pm$ 1,43	-39,51 $\pm$ 3,84
Ej. 11	-7,22 $\pm$ 0,38	-16,58 $\pm$ 0,88	-11,82 $\pm$ 1,72	-26,83 $\pm$ 4,04	-16,48 $\pm$ 1,98	-37,35 $\pm$ 3,91
Ej. 12	-8,40 $\pm$ 0,77	-19,33 $\pm$ 1,66	-10,34 $\pm$ 0,69	-23,37 $\pm$ 1,40	-17,44 $\pm$ 1,37	-46,60 $\pm$ 3,78
Ej. 13	-4,92 $\pm$ 0,86	-10,14 $\pm$ 1,87	-11,02 $\pm$ 0,77	-23,80 $\pm$ 1,25	-21,12 $\pm$ 2,09	
Ej. 14	-6,12 $\pm$ 0,80	-13,38 $\pm$ 1,80	-14,76 $\pm$ 1,06	-32,32 $\pm$ 2,49	-20,04 $\pm$ 2,40	-45,26 $\pm$ 4,79
Ej. 16	-7,44 $\pm$ 0,74	-16,78 $\pm$ 1,88	-12,24 $\pm$ 1,66	-28,08 $\pm$ 4,23	-16,70 $\pm$ 1,67	-37,42 $\pm$ 3,58
Ej. 18			-13,16 $\pm$ 0,82	-28,48 $\pm$ 2,05	-19,54 $\pm$ 2,37	-43,02 $\pm$ 4,59
Ej. 20	-4,18 $\pm$ 0,50	-8,98 $\pm$ 1,26	-10,76 $\pm$ 1,57	-24,42 $\pm$ 3,74	-23,00 $\pm$ 0,59	-52,14 $\pm$ 1,74
Sema		-2,62 $\pm$ 0,49		-10,31 $\pm$ 1,25		-15,49 $\pm$ 2,44

NOTA: " Δ del vehículo" se refiere a la diferencia entre el peso corporal en el día 15 entre los grupos de prueba y los grupos de vehículo. "% de cambio" se refiere al porcentaje de disminución de peso corporal entre los días 1 y 15 en los grupos de prueba. "Sema" significa semaglutida. Se registra el porcentaje de disminución de peso corporal de los animales que reciben el vehículo, y es inferior a aproximadamente el 1 % en cada estudio. Los datos de Δ del vehículo y el % de cambio son estadísticamente significativamente diferentes ($p < 0,05$) que el control para todos los Ejemplos en todas las dosis probadas.

Como se ve en la Tabla 7 anterior, los análogos de ejemplo muestran

reducciones dependientes de la dosis del peso corporal.

Los datos para los parámetros metabólicos en la dosis de 3 nmol/kg se proporcionan a continuación en la Tabla 8.

Tabla 8. Efecto del tratamiento con análogos de ejemplo a 3 nmol/kg en glucosa en sangre, insulina, colesterol, alanina aminotransferasa (ALT) y triglicéridos en el hígado después de quince días de tratamiento.

Tratamiento	Parámetros metabólicos (media±SEM)				
	Glucosa (mg/dl)	Insulina en plasma (pg/ml)	Colesterol (mg/dl)	ALT (IU/L)	Triglicéridos en el hígado (mg/g de tejido)
Vehículo	149,7±3,09	8549±1265	234,6±3,42	141,8±11,5	290,4±13,3
Semaglutida	137,8±7,34	4196±1014*	218,0±9,23	99,8±14,84	226,4±23,8
Ejemplo 1	107,4±4,38*	3439±936,4*	191,2±7,55*	118,0±20,73	150,6±37,0*
Ejemplo 7	109,3±5,78*	2656±949*	169,2±11,79*	51,0±7,78*	97,9±18,2*
Ejemplo 10	109,6±4,81*	571,4±158,4*	181,0±6,20*	77,2±9,35*	126,8±17,0*
Ejemplo 11	114,7±3,051*	1569±318,3*	178,2±7,95*	56,2±4,51*	93,8±21,8*
Ejemplo 12	114,9±2,12*	1691±231,3*	169,0±8,15*	58,6±6,03*	98,2±13,2*
Ejemplo 13	119,7±4,19*	2903±737,4*	192,2±11,44*	54,4±6,82*	94,5±22,0*
Ejemplo 14	111,5±1,77*	1971±499,8*	164,8±5,85*	31,4±2,79*	63,1±7,3*
Ejemplo 16	110,1±3,61*	3227±1070*	173,8±9,32*	20,6±4,43*	40,2±13,2*
Ejemplo 18	102,9±5,37*	1958±460,5*	190,0±13,71*	66,0±10,21*	109,5±22,9*

NOTA: *p<0,05 en comparación con el grupo de vehículo; ANOVA de una vía, de Dunnett.

Además de la pérdida sustancial de peso, y como se ve en la Tabla 8, los análogos de ejemplo reducen la glucosa en sangre, la insulina en plasma (como un signo del aumento de la sensibilidad a la insulina) y el colesterol en plasma, así como también mejoran la salud hepática demostrada por la disminución de la ALT en plasma y de los triglicéridos en el hígado.

SEQ ID NO:1 - glucagón humano

HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT

SEQ ID NO:2 - amida de GLP-1 humano (7-36)

HAEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR-NH₂

SEQ ID NO:3 - OXM humano

HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNTKRNRNNIA

SEQ ID NO:4 - GIP humano

YAEGTFISDYSIAMDKIHQQDFVNWLLAQKGKKNDWKHNITQ

SEQ ID NO:5 - análogo de incretina

YX₂QGTFTSDYSIX₁₃LDKX₁₇AX₁₉X₂₀AFIEYLLX₂₈X₂₉GPSSX₃₄APPPS

donde:

X₂ es Aib,

X₁₃ es L o αMeL,

X₁₇ es cualquier aminoácido con un grupo funcional disponible para la conjugación, y el grupo funcional se conjuga con un ácido graso C₁₆-C₂₂,

X₁₉ es Q o A,

X₂₀ es Aib, αMeK, Q o H,

X₂₈ es E o A,

X₂₉ es G o Aib, y

X₃₄ es G o Aib

SEQ ID NO:6 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQHAFIEYLLA-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:7 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-αMeK-AFIEYLLA-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:8 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-αMeK-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:9 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLA-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:10 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI-αMeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AAQAFIEYLLE-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:11 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AAQAFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:12 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQHAFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:13 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ- α MeK-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:14 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((γ Glu)₂-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQHAFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:15 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQHAFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:16 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:17 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:18 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLE-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:19 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSI- α MeL-LDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLE-Aib-GPSS-Aib-APPPS-NH₂

SEQ ID NO:20 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLA-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:21 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:22 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ Glu)-CO-(CH₂)₁₈-

CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLE-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:23 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-

CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLEGGPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:24 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γGlu)₂-CO-(CH₂)₁₈-

CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLE-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:25 - análogo de incretina

Y-Aib-QGTFTSDYSILLDKK((2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)-(γGlu)-CO-(CH₂)₁₈-

CO₂H)AQ-Aib-AFIEYLLE-Aib-GPSSGAPPPS-NH₂

SEQ ID NO:26 - secuencia artificial

GPSSGAPPPS

SEQ ID NO:27 - secuencia artificial

GPSS-Aib-APPPS

REIVINDICACIONES

1. Un análogo de incretina que comprende:
YX₂QGTFTSDYSIX₁₃LDKX₁₇AX₁₉X₂₀AFIEYLLX₂₈X₂₉GPSSX₃₄APPPS,
en donde:
X₂ es Aib,
X₁₃ es L o αMeL,
X₁₇ es cualquier aminoácido con un grupo funcional disponible para la conjugación, y el grupo funcional se conjuga con un ácido graso C₁₆-C₂₂,
X₁₉ es Q o A,
X₂₀ es Aib, αMeK, Q o H,
X₂₈ es E o A,
X₂₉ es G o Aib,
X₃₄ es G o Aib,
(SEQ ID NO:5), y
en donde el aminoácido del terminal C está opcionalmente amidado;
o una sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de este.
2. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de la reivindicación 1, en donde el aminoácido con el grupo funcional disponible para la conjugación en la posición X₁₇ se selecciona del grupo que consiste en K, C, E y D.
3. El análogo de incretina de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el aminoácido con el grupo funcional disponible para la conjugación en la posición X₁₇ es K.
4. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el aminoácido con el grupo funcional disponible para la conjugación en la posición X₁₇ y el ácido graso C₁₆-C₂₂ se conjugan mediante un ligador entre el aminoácido y el ácido graso.
5. El análogo de incretina de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el ligador comprende de uno a cuatro aminoácidos.
6. El análogo de incretina de acuerdo con la reivindicación 5, en donde los aminoácidos son Glu o γGlu.
7. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en donde el ligador comprende además una estructura de:
H-{NH-CH₂-CH₂-[O-CH₂-CH₂]m-O-(CH₂)p-CO}n-OH, en donde m es cualquier número entero de 1 a 12, n es cualquier número entero de 1 a 12, y p es 1 o 2.
8. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 7,

en donde el ligador comprende además de uno a cuatro porciones (2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetilo).

9. El análogo de incretina de acuerdo con la reivindicación 1, en donde X_{17} es K modificado químicamente mediante conjugación con un grupo epsilon-amino de una cadena lateral K con la siguiente estructura:

$(2-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_a-(\gamma Glu)_b-CO-(CH_2)_c-CO_2H$, en donde a es 0, 1 o 2; b es 1 o 2; y c es un número entero entre 16 y 18.

10. El análogo de incretina de acuerdo con la reivindicación 9, en donde a es 1.

11. El análogo de incretina de acuerdo con la reivindicación 9, en donde a es 2.

12. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en donde b es 1.

13. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en donde b es 2.

14. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, en donde c es 18.

15. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde X_{13} es αMeL .

16. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde X_{13} es L.

17. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en donde X_{20} es Aib.

18. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en donde X_{28} es E.

19. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en donde X_{29} es G.

20. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en donde X_{34} es G.

21. El análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, en donde X_{19} es A.

22. El análogo de incretina de acuerdo con la reivindicación 9, en donde a es 1, b es 1, c es 18, X_{13} es αMeL , X_{19} es A, X_{20} es Aib, X_{28} es E, X_{29} es G y X_{34} es G.

23. Un análogo de incretina que tiene una fórmula seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:21 y SEQ ID NO:23.

24. Un método para tratar una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en

diabetes mellitus, obesidad, hepatopatía grasa, esteatohepatitis no alcohólica, dislipidemia y síndrome metabólico, y el método comprende la etapa de:

administrar a un individuo que lo necesite una cantidad eficaz de un análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23.

25. Un método para tratar la diabetes mellitus tipo II, y el método comprende la etapa de:

administrar a un individuo que lo necesite una cantidad eficaz de un análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23.

26. Una composición farmacéutica que comprende:

un análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23; y

un diluyente, excipiente o portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

27. Un análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en diabetes mellitus, dislipidemia, hepatopatía grasa, síndrome metabólico, esteatohepatitis no alcohólica y obesidad.

28. Un análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 para su uso en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II.

29. El uso de un análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 en la producción de un medicamento para tratar una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en diabetes mellitus, dislipidemia, hepatopatía grasa, síndrome metabólico, esteatohepatitis no alcohólica y obesidad.

30. El uso de un análogo de incretina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 en la producción de un medicamento para tratar la diabetes mellitus tipo II.

RESUMEN

Se proporcionan análogos de incretina que tienen actividad en cada uno de los receptores de GIP, GLP-1 y glucagón. Los análogos de incretina tienen características estructurales que dan como resultado una actividad equilibrada y una duración de acción extendida en cada uno de estos receptores. También se proporcionan métodos para tratar enfermedades tales como diabetes mellitus, dislipidemia, hepatopatía grasa, síndrome metabólico, esteatohepatitis no alcohólica y obesidad.