

ANÁLOGOS NOVEDOSOS DE GLP-1

SOLICITUDES RELACIONADAS

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de tres solicitudes provisionales indias que tienen los núms. de solicitud. IN 201821013109 (presentada el 05 de abril de 2018); IN 201821040468 (presentada el 26 de octubre de 2018) e IN 201821040474 (presentada el 26 de octubre de 2018), que se
10 incorporan a la presente como referencia.

CAMPO DE LA DESCRIPCIÓN

La presente descripción se refiere a novedosos análogos del
15 péptido similar al glucagón-1 (GLP-1) (7-38) que tienen una secuencia de aminoácidos con Leu o Ile en el C-terminal. Los nuevos análogos son potentes agonistas de GLP-1 con efecto adverso reducido y duración de la acción mejorada. La presente descripción se refiere, además, a derivados acilados de los
20 nuevos análogos, que tienen una potencia y una duración de acción mejoradas adicionalmente y son adecuados para la administración oral. Los análogos descritos en la presente descripción están acilados con porciones prolongadoras, que aumentan la duración de la actividad de los compuestos. Los
25 análogos descritos en la presente descripción pueden ser útiles en el tratamiento de la diabetes y la obesidad.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

30 El péptido similar al glucagón-1 (GLP-1) es una hormona que se produce principalmente en las células L enteroendocrinas del intestino y se secreta en el torrente sanguíneo cuando los

alimentos que contienen grasa, hidrolizado de proteínas y/o glucosa ingresan al duodeno. El GLP-1 se deriva del procesamiento postraducciona1 específico de célula del gen de preproglucagón. Inicialmente, el péptido GLP-1 (1-37) se
5 identificó a partir de este procesamiento, pero fueron los dos productos truncados N-terminalmente, GLP-1 (7-37) (SEQ ID NO: 1) y GLP-1 (7-36) amida, los que se descubrió que reconocían el receptor pancreático y que se determinó que eran las especies activas *in vivo*. Se ha descubierto que el GLP-1
10 estimula la secreción de insulina, lo que provoca de esta manera la absorción de glucosa por las células y la disminución de los niveles de glucosa en suero. Los agonistas de GLP-1 están disponibles para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 (T2DM) como fármacos preferidos, ya que no provocan
15 hipoglucemia y tienen un beneficio positivo de pérdida de peso. Las sustancias endógenas, GLP-1 (7-37) y GLP-1 (7-36)amida, se escinden por peptidasas y por lo tanto tienen una vida media muy corta. Se hicieron esfuerzos para mejorar el desempeño mediante el desarrollo de análogos de GLP-1 con vida media
20 mejorada. El primer fármaco aprobado en 2005 fue la Exenatida con dosificación dos veces al día a un nivel de dosis de 10 mcg y se encontró que mostraba una mejora significativa en HbA1c, un marcador del control de la glucosa. Además, Novo Nordisk desarrolló la Liraglutida (Patente de Estados Unidos
25 núm. 6,268,343) (SEQ ID NO: 2) con una dosificación diaria de 1.8 mg, s.c./día y aprobada en 2010. La investigación y el desarrollo adicionales produjeron productos de administración semanal, como la Albiglutida, desarrollada por GSK y la Dulaglutida, desarrollada por Eli Lilly. Recientemente, la
30 USFDA aprobó la Semaglutida (publicación internacional núm. WO 2006/097537 A2), un análogo de GLP-1. La Semaglutida (SEQ ID

N0: 3) se comercializa con el nombre comercial de Ozempic®. Se administra como una inyección subcutánea una vez a la semana. En la bibliografía se informan muchos intentos para fabricar análogos de GLP-1 que tengan una potencia y una duración de la acción mejoradas. La Patente de Estados Unidos núm. 7,291,594 B2 (la patente de Estados Unidos '594) describe derivados de GLP-1 (7-35) que tienen varios residuos de arginina y/o lisina añadidos al extremo C terminal de los mismos para proporcionar una alta biodisponibilidad a través de las membranas mucosas. La patente de Estados Unidos '594 describe además que a estos derivados se les puede conferir resistencia a la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) mediante la sustitución del aminoácido 8 en su secuencia de aminoácidos de GLP-1 con Ser, o resistencia a la tripsina mediante la sustitución de los aminoácidos 26 y 34 con Gln y Asn, respectivamente.

La patente de Estados Unidos núm. 7,893,017 B2 (la patente de Estados Unidos '017) describe un análogo de GLP-1 acilado en donde el análogo de GLP-1 se estabiliza contra la DPP-IV mediante la modificación de al menos un residuo de aminoácido en las posiciones 7 y 8 con respecto a la secuencia GLP-1 (7-37) y en donde dicha acilación es un diácido unido directamente al residuo de aminoácido C-terminal de dicho análogo de GLP-1. La patente de Estados Unidos núm. 8,951,959 B2 (la patente de Estados Unidos '959) describe un análogo de GLP-1 (7-37) resistente a la DPP-IV que tiene un residuo de aminoácido no proteogénico que contiene un grupo triflurometilo en la posición 8 con respecto a la secuencia de GLP-1, y se acila con una porción que comprende dos grupos ácidos en el residuo de lisina en la posición 26.

La Patente de Estados Unidos núm. 7,084,243 B2 (la patente de Estados Unidos '243) describe análogos de GLP-1 (7-37) que tienen Val o Gly en la posición 8 con respecto a la secuencia de GLP-1 (7-37) como péptidos resistentes a DPP-IV.

5

La Publicación Internacional núm. WO 2017/149070 A1 (el documento WO '070) describe análogos de GLP-1 que tienen un Trp en una posición correspondiente a la posición 8 de GLP-1 (7-37) y estos compuestos Trp₈ demostraron ser muy estables
10 frente a la degradación por DPP-IV.

La Publicación Internacional núm. WO 2004/103390A2 (el documento WO '390) describe que la modificación en la posición P'₁ (correspondiente a la posición 9 en el caso de GLP-1 (7-
15 37)) puede producir análogos de GLP-1 con susceptibilidad muy reducida a la escisión mediada por enzimas (tal como DPP-IV) con respecto al sustrato nativo, pero que conserva aún la actividad del sustrato nativo. El documento WO '390 describe además análogos de GLP-1 (7-37) que tienen un aminoácido con
20 carbono C β tetrasustituido (tal como *terc*-leucina) en la posición 9 que proporciona análogos de GLP con resistencia a la degradación por DPP-IV.

La Publicación Internacional núm. WO 2015/086686 A2 (la
25 publicación WO '686) describe que se ha determinado que la incorporación de aminoácidos alfa-metil-funcionalizados directamente en la cadena principal de análogos de GLP-1 produce péptidos resistentes a las proteasas (lo que incluye resistentes a la DPP-IV).

30

Diversos otros agonistas de GLP-1 resistentes a la DPP-IV se describen en publicaciones de patentes tales como las

Publicaciones Internacionales núms. WO 2007/030519 A2, WO 2004/078777 A2, WO 2007/039140 A1, WO 2014/209886 A1, WO 2012/016419 A1, WO 2017/211922 A2, WO 2016/198544 A1 y WO 2013/051938 A2.

5

Diversas solicitudes de patente describen análogos de GLP-1 prolongados en el extremo C terminal con mayor estabilidad y duración de la acción más prolongada. Por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos núms. 7,482,321 B2, 9,498,534 B2 y 7,897,566 B2.

10

Diversas solicitudes de patente describen análogos de GLP-1 acilados en donde los análogos de GLP-1 se unen al sustituyente lipofílico opcionalmente mediante un enlazador para proporcionar una duración de la acción más prolongada.

15

La patente de Estados Unidos núm. 8,603,972 B2 (el documento US '972) describe derivados monoacilados de análogos de GLP-1 en donde el residuo Lys en la posición 37 o 38 del análogo de GLP-1 está acilado.

20

Las patentes de Estados Unidos núms. 8,648,041 B2, 9,758,560 B2, 9,006,178 B2, 9,266,940 B2, 9,708,383 B2 y las publicaciones de solicitud de patente de Estados Unidos núms. US 2015/0152157 A1, US 2015/0133374 A1 describen derivados diacilados de análogos de GLP-1.

25

La Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos núm. US 2016/0200791 A1 describe derivados triacilados de análogos de GLP-1.

30

Las Publicaciones Internacionales núms. WO 2016/083499 A1, WO 2016/097108 A1 y WO 2014/202727 A1 describen análogos de GLP-1 acilados en donde el residuo Lys de los análogos de GLP-1 está unido a dos porciones prolongadoras mediante un enlazador ramificado.

Las Publicaciones Internacionales núms. WO 2009/030771 A1 y WO 2018/083335 A1 describen diversos agentes acilantes (cadena lateral) que pueden unirse al residuo Lys de análogos de GLP-1 para proporcionar una duración de acción más prolongada.

La Publicación Internacional núm. WO 2013/186240 A2 describe análogos del péptido exendina-4 que tienen Gly, Ser o Ser funcionalizada, por ejemplo, Ser (OCH₃), D-Ser o D-Ser funcionalizada, por ejemplo, D-Ser(OCH₃), Aib, Ala o D-Ala en la posición 2 de la secuencia de aminoácidos de la exendina-4. Diversos otros análogos de GLP-1 se describen en solicitudes de patente tales como las Publicaciones Internacionales núms. WO 2005/027978 A2, WO 1998/008871 A1, WO 1999/043705 A1, WO 1999/043706 A1, WO 1999/043707 A1, WO 1999/043708 A1, WO 2000/034331 A2, WO 2009/030771 A1, WO 2011/080103 A1, WO 2012/140117 A1, WO 2012/062803 A1, WO 2012/062804 A1, WO 2013/037690 A1, WO 2014/202727 A1, WO 2015/000942 A1, WO 2015/022400 A1, WO 2016/083499 A1, WO 2016/097108 A1 y WO 2017/149070 A1.

Aún así, existe la necesidad de desarrollar análogos de GLP-1 que tengan las propiedades deseadas óptimas en términos de estabilidad y duración de la acción.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Un aspecto de la presente descripción proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos:

5 H-X2-X3-X4-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-X16-G-Q-A-A-X21-E-F-X24-A-W-L-V-R-G-R-G-X33-X34

en donde X2 es Ser, Ser(OMe), D-Ser, D-Ser(OMe), Ala o Aib;

X3 está ausente o es Gln;

X4 es Glu;

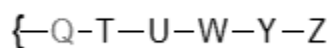
10 X16 es Glu;

X24 es Ile;

X33 es Leu, D-Leu, D-Ile o Ile;

X34 está ausente y

X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena
15 lateral de la Lys está acilado con una porción:



en donde Q y T están ausentes;

U está ausente o es $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-\}$, en donde
20 $\}$ es el punto de unión con el grupo W;

W está ausente o se selecciona de un grupo que consiste en $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-]$, $-C(O)-NH-(CH_2)_{3-4}-NH-]$, $-C(O)-C(CH_3)_2-NH-]$ y



en donde $]$ es el punto de unión con el grupo Y;

Y es $-C(O)-(CH_2)_2-CH(COOH)NH--$, en donde $--$ es el punto de unión con el grupo Z;

Z es $-C(O)-(CH_2)_n-COOH$ o $-C(O)-(CH_2)_n-CH_3$, en donde n es un
30 número entero de 14 a 20.

Los polipéptidos de la presente descripción son potentes agonistas de GLP-1 con menos efectos adversos. Además, los

polipéptidos de la presente descripción son estables y tienen una acción de duración prolongada y son adecuados para la administración oral.

5 DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1A ilustra la preparación de la Porción A-OSu (Intermediario 3). La Figura 1B ilustra la preparación de la Porción A-OSu (Intermediario 3).

10

La Figura 2 ilustra la preparación de la Porción C-OSu.

La Figura 3 ilustra la preparación de la Porción D-OSu.

15 La Figura 4 ilustra la preparación de la Porción E-OSu.

La Figura 5 ilustra la preparación de la Porción F-OSu.

20 Las Figuras 6A y 6B ilustran los resultados de una prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) para el Compuesto 1 en ratas; inyección única; AUC 0-120 min de glucosa 1 mg/kg (Figura 6A=después de 22 h, Figura 6B=después de 46 h).

25 La Figura 7 ilustra la reducción en los niveles de glucosa en sangre en ratones diabéticos tipo 2 db/db después del tratamiento crónico con el Compuesto 1.

La Figura 8 ilustra la reducción en la ingesta de alimentos en ratones db/db después del tratamiento con el Compuesto 1.

30

La Figura 9 ilustra la eficacia del Compuesto 1 en ratones db/db en la reducción del peso corporal.

La Figura 10 ilustra la reducción en Hb1Ac en ratones db/db después del tratamiento con el Compuesto 1.

ABREVIATURAS

5

Aib: Ácido 2-aminoisobutírico

ADO: Ácido 8-amino-3,6-dioxo-octanoico

OGTT: Test de tolerancia a la glucosa oral

DIPEA: *N,N'*-Di-isopropiletilamina

10 HOBT: 1-hidroxibenzotriazol

DIPC: *N,N'*-Di-isopropilcarbodiimida

HOSu: *N*-Hidroxisuccinimida

IBCF: Cloroformiato de isobutilo

NMM: *N*-Metilmorfolina

15 THF: Tetrahidrofurano

DCM: Diclorometano

DMAP: 4-Dimetilaminopiridina

DCC: Diciclohexil carbodiimida

DMAc: Dimetilacetamida

20

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente descripción proporciona un análogo de GLP-1 estable de acción prolongada, que no requiere una dosificación
25 subcutánea frecuente y también es adecuado para la administración oral. Sorprendentemente, se descubrió que la adición de una Leu adicional en el extremo C terminal de la secuencia producía péptidos con una potencia y duración de la acción significativamente mejoradas en comparación con el
30 péptido original. Los péptidos con una Ile adicional también mostraron un efecto similar de potencia y duración de la acción mejoradas en comparación con el péptido original.

Adicionalmente, la descripción en la presente demuestra porciones, que pueden unirse a péptidos que son análogos de GLP-1 (7-37) mediante una reacción de acilación para producir compuestos con una potencia significativamente mejorada y una
5 duración de la acción más prolongada. Las porciones prolongadoras de los compuestos descritos tienen enlaces más estables, que son menos susceptibles a la escisión por enzimas biológicas. Por tanto, los compuestos descritos en la presente descripción son más estables y requieren una administración
10 menos frecuente, lo que aumenta el cumplimiento del paciente. En consecuencia, en algunas modalidades, la descripción proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos:

15 H-X2-X3-X4-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-X16-G-Q-A-A-X21-E-F-X24-A-W-L-V-R-G-R-G-X33-X34 (SEQ ID NO: 4)

en donde X2 es Ser, Ser(OMe), D-Ser, D-Ser(OMe), Ala o Aib;

X3 está ausente o es Gln;

X4 es Glu;

20 X16 es Glu;

X24 es Ile;

X33 es Leu, D-Leu, D-Ile o Ile;

X34 está ausente y

X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena
25 lateral de la Lys está acilado.

En algunas modalidades, X21 puede acilarse con las porciones prolongadoras reportadas en las patentes de Estados Unidos núms. 6,268,343, 8,951,959 B2, 8,603,972 B2, 8,648,041 B2,
30 9,758,560 B2, 9,006,178 B2, 9,266,940 B2, 9,708,383 B2 y las publicaciones de solicitud de patente de Estados Unidos núms. 2015/0152157 A1 y US 2015/0133374 A1; Publicaciones

internacionales núms. WO 2009/030771 A1, WO 2006/097537 A2 y WO 2018/083335 A1.

En algunas modalidades, el Lys X21 está acilado en su grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral con una porción que comprende un grupo de ácido graso. El grupo de ácido graso puede unirse a Lys X21 mediante un enlazador. En consecuencia, en algunas modalidades, la presente descripción proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos:

10

H-X2-X3-X4-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-X16-G-Q-A-A-X21-E-F-X24-A-W-L-V-R-G-R-G-X33-X34

en donde X2 es Ser, Ser(OMe), D-Ser, D-Ser(OMe), Ala o Aib;
X3 está ausente o es Gln;

15 X4 es Glu;

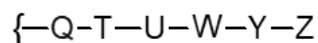
X16 es Glu;

X24 es Ile;

X33 es Leu, D-Leu, D-Ile o Ile;

X34 está ausente y

20 X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:

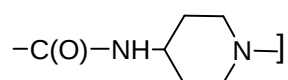


en donde Q y T están ausentes;

25 U está ausente o es $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-\}$, en donde } es el punto de unión con el grupo W;

W está ausente o se selecciona de un grupo que consiste en $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_{3-4}-NH-$, $-C(O)-C(CH_3)_2-NH-$ y

30



en donde] es el punto de unión con el grupo Y;

Y es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{COOH})\text{NH}-$, en donde $--$ es el punto de unión con el grupo Z;
 Z es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ o $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$, en donde n es un número entero de 14 a 20.

5

En algunas modalidades, el aminoácido en X2 se selecciona de Ser, Ser(OMe), D-Ser, D-Ser(OMe), Ala o Aib.

En algunas modalidades, X2 es Aib.

10

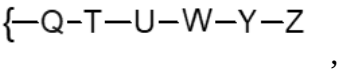
En algunas modalidades, X3 está ausente.

En algunas modalidades, X33 es Leu.

15 En algunas modalidades, X33 es Ile.

En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:

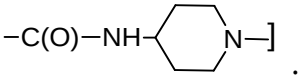
20



,

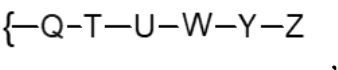
en donde W se selecciona de un grupo que consiste en $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{3-4}-\text{NH}-$], $-\text{C}(\text{O})-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{NH}-$] y

25



En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:

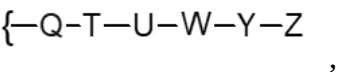
30



,

en donde tanto U como W están ausentes y Z es $-C(0)-(CH_2)_n-CH_3$,
en donde n es un número entero 14.

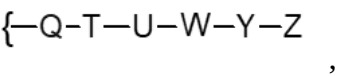
En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ
5 amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una
porción:



en donde W es $-C(0)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-$].

10

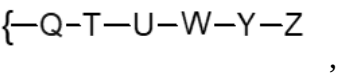
En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ
amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una
porción:



15

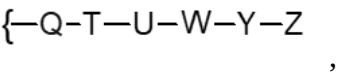
en donde W es $-C(0)-C(CH_3)_2-NH-$].

En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ
amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una
20 porción:



en donde W es $-C(0)-NH-(CH_2)_4-NH-$].

25 En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ
amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una
porción:



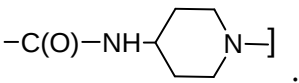
30

en donde W es $-C(0)-NH-(CH_2)_3-NH-$].

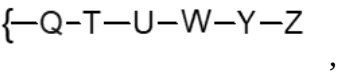
En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:



en donde W es

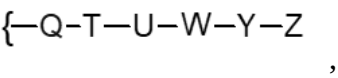


10 En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:



15 en donde Z es $-C(O)-(CH_2)_n-COOH$, en donde n es un número entero 16.

En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una
20 porción:



en donde Z es $-C(O)-(CH_2)_n-CH_3$, en donde n es un número entero 14.

25 En algunas modalidades, X2 es Ala o Aib;

X3 está ausente;

X33 es Leu;

U está ausente;

W está ausente;

30 Y es $-C(O)-(CH_2)_2-CH(COOH)NH--$, en donde -- es el punto de unión con el grupo Z;

Z es $-C(O)-(CH_2)_n-CH_3$, en donde n es un número entero 14.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos:

H-X2-X3-X4-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-X16-G-Q-A-A-X21-E-F-X24-A-W-

5 L-V-R-G-R-G-X33-X34

en donde X2 es Aib;

X3 está ausente;

X4 es Glu;

X16 es Glu;

10 X24 es Ile;

X33 es Leu;

X34 está ausente y

X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:

15

$\{-Q-T-U-W-Y-Z$

en donde Q y T están ausentes;

U es $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-\}$, en donde $\}$ es el punto de unión con el grupo W;

20 W es $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-]$, en donde $]$ es el punto de unión del grupo Y;

Y es $-C(O)-(CH_2)_2-CH(COOH)NH--$, en donde $--$ es el punto de unión con el grupo Z;

Z es $-C(O)-(CH_2)_n-COOH$, en donde n es un número entero 16.

25 En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos:

H-X2-X3-X4-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-X16-G-Q-A-A-X21-E-F-X24-A-W-

L-V-R-G-R-G-X33-X34

en donde X2 es Aib;

30 X3 está ausente;

X4 es Glu;

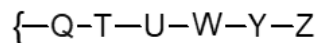
X16 es Glu;

X24 es Ile;

X33 es Leu;

X34 está ausente y

X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena
5 lateral de la Lys está acilado con una porción:



en donde Q y T están ausentes;

U es $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-\}$, en donde } es el punto de
10 unión con el grupo W;

W es $-C(O)-C(CH_3)_2-NH-]$, en donde] es el punto de unión con el
grupo Y;

Y es $-C(O)-(CH_2)_2-CH(COOH)NH--$, en donde -- es el punto de unión
con el grupo Z;

15 Z es $-C(O)-(CH_2)_n-COOH$, en donde n es un número entero 16.

En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un
polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos:

H-X2-X3-X4-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-X16-G-Q-A-A-X21-E-F-X24-A-W-
20 L-V-R-G-R-G-X33-X34

en donde X2 es Aib;

X3 está ausente;

X4 es Glu;

X16 es Glu;

25 X24 es Ile;

X33 es Leu;

X34 está ausente y

X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena
lateral de la Lys está acilado con una porción:

30 $\{-Q-T-U-W-Y-Z$

en donde Q y T están ausentes;

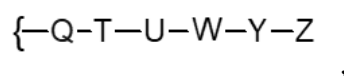
U es $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\}$, en donde $\}$ es el punto de unión con el grupo W;

W es $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{3-4}-\text{NH}-]$, en donde $]$ es el punto de unión con el grupo Y;

5 Y es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{COOH})\text{NH}-$, en donde $-$ es el punto de unión con el grupo Z;

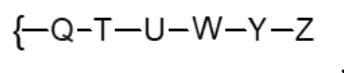
Z es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, en donde n es un número entero 16.

En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una
10 porción:



en donde W es $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}-]$.

15 En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:



20 en donde W es $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-]$.

En algunas modalidades, la descripción proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos:

H-X2-X3-X4-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-X16-G-Q-A-A-X21-E-F-X24-A-W-

25 L-V-R-G-R-G-X33-X34

en donde X2 es Aib;

X3 está ausente;

X4 es Glu;

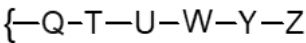
X16 es Glu;

30 X24 es Ile;

X33 es Leu;

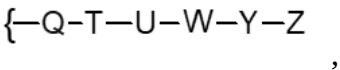
X34 está ausente y

X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:



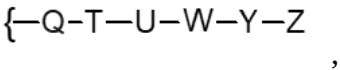
- 5 en donde Q y T están ausentes;
- U es $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-\}$, en donde $\}$ es el punto de unión con el grupo W;
- W es $-C(O)-NH-(CH_2)_4-NH-]$, en donde $]$ es el punto de unión del grupo Y;
- 10 Y es $-C(O)-(CH_2)_2-CH(COOH)NH--$, en donde $--$ es el punto de unión con el grupo Z;
- Z es $-C(O)-(CH_2)_n-COOH$ o $-C(O)-(CH_2)_n-CH_3$, en donde n es un número entero de 14 a 20.

- 15 En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:



- 20 en donde Z es $-C(O)-(CH_2)_n-COOH$, en donde n es un número entero 16.

- En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una
- 25 porción:



- en donde Z es $-C(O)-(CH_2)_n-CH_3$, en donde n es un número entero 14.

- 30 En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos:

H-X2-X3-X4-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-X16-G-Q-A-A-X21-E-F-X24-A-W-
L-V-R-G-R-G-X33-X34

en donde X2 es Aib;

X3 está ausente;

5 X4 es Glu;

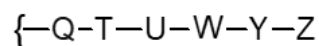
X16 es Glu;

X24 es Ile;

X33 es Leu;

X34 está ausente y

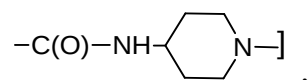
10 X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:



en donde Q y T están ausentes;

15 U es $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-\}$, en donde } es el punto de unión con el grupo W;

W es



20

en donde] es el punto de unión con el grupo Y;

Y es $-C(O)-(CH_2)_2-CH(COOH)NH--$, en donde -- es el punto de unión con el grupo Z; y

Z es $-C(O)-(CH_2)_n-COOH$, en donde n es un número entero 16.

25 En algunas modalidades, la presente descripción proporciona un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos:

H-X2-X3-X4-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-X16-G-Q-A-A-X21-E-F-X24-A-W-
L-V-R-G-R-G-X33-X34

en donde X2 es Ser, Ser(OMe), D-Ser, D-Ser(OMe);

30 X3 está ausente;

X4 es Glu;

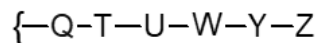
X16 es Glu;

X24 es Ile;

X33 es Leu;

X34 está ausente y

X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena
5 lateral de la Lys está acilado con una porción:



en donde Q y T están ausentes;

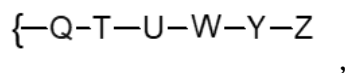
U es $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-\}$, en donde } es el punto
10 de unión con el grupo W;

W es $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_{3-4}-NH-]$, $-C(O)-C(CH_3)_2-NH-]$, en donde] es el punto de unión con el grupo
Y;

Y es $-C(O)-(CH_2)_2-CH(COOH)NH--$, en donde -- es el punto de unión
15 con el grupo Z; y

Z es $-C(O)-(CH_2)_n-COOH$ o $-C(O)-(CH_2)_n-CH_3$, en donde n es un
número entero de 14 a 20.

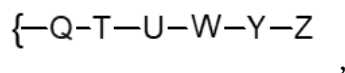
En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ
20 amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una
porción:



en donde W es $-C(O)-NH-(CH_2)_{3-4}-NH-]$.

25

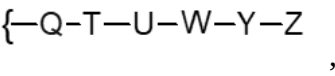
En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ
amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una
porción:



30

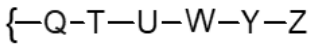
en donde W es $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-$;

En algunas modalidades, X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:



en donde W es $-C(=O)-C(CH_3)_2-NH-$

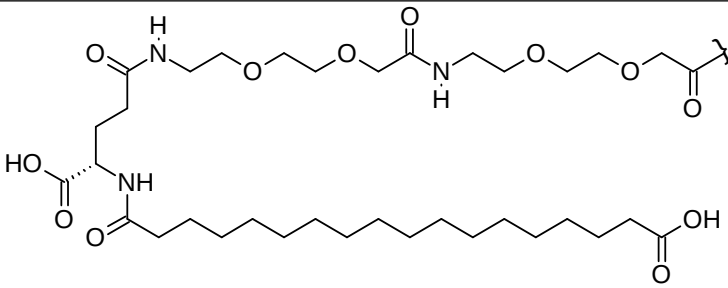
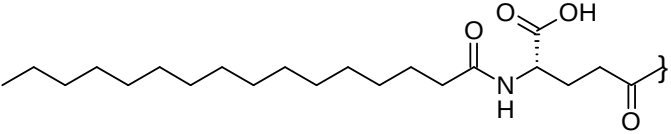
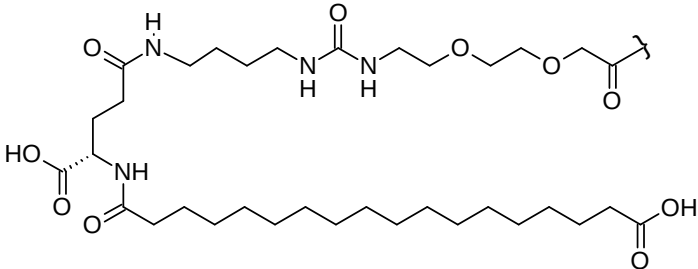
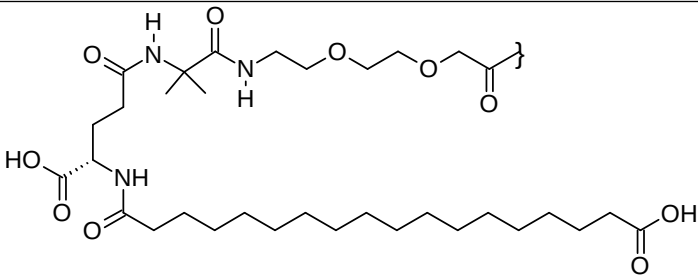
En algunas modalidades, X21 es Lys modificado con lípidos en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción



que se representa por las porciones proporcionadas en la Tabla 1

Tabla 1: Porciones representativas para el grupo $\{-Q-T-U-W-Y-$

Z

Designación	Porción
Porción A	
Porción B	
Porción C	
Porción D	

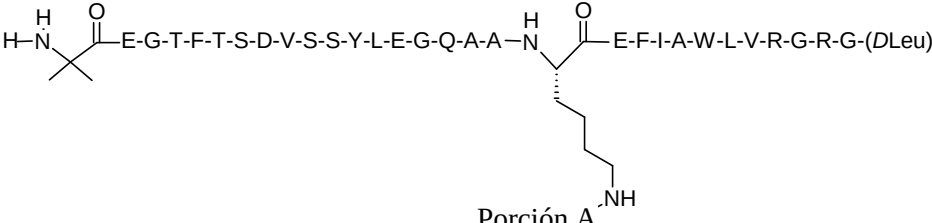
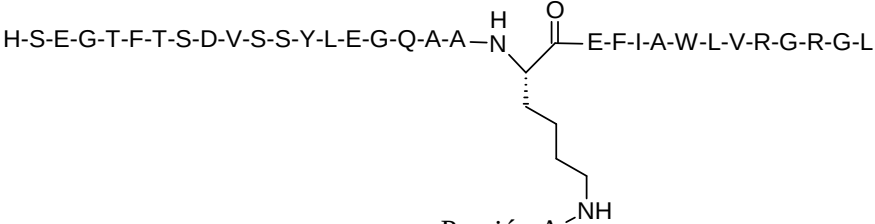
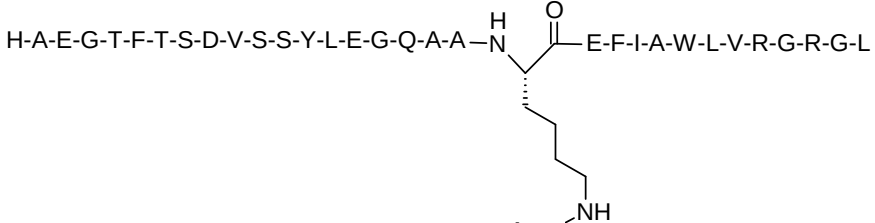
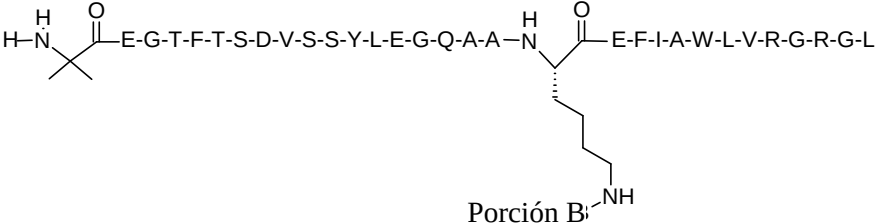
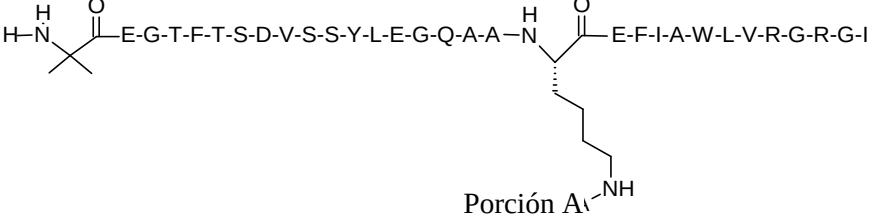
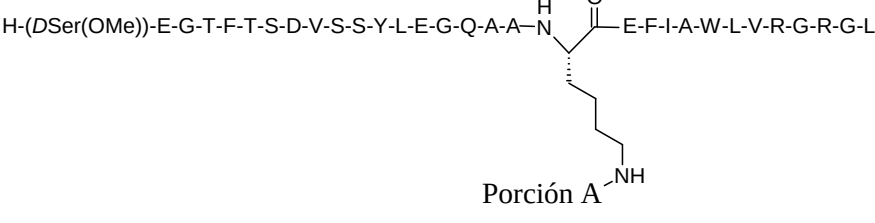
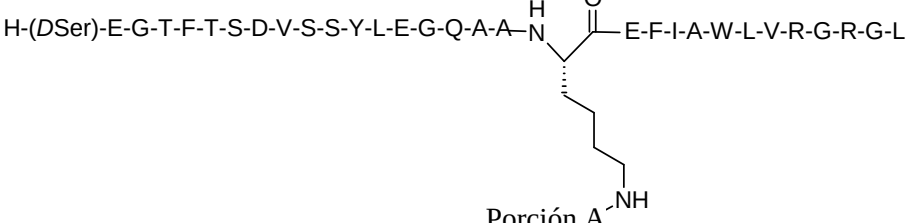
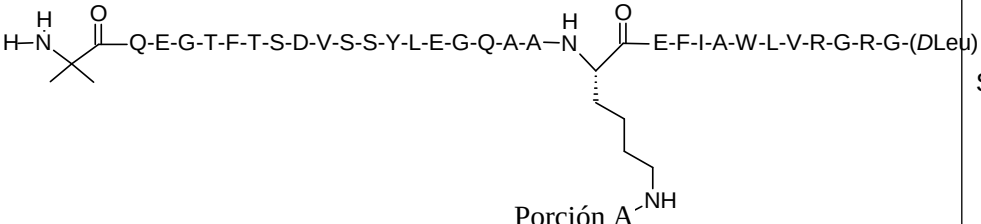
Porción E	
Porción F	

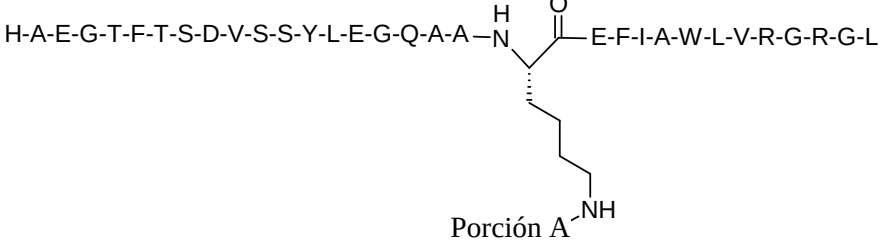
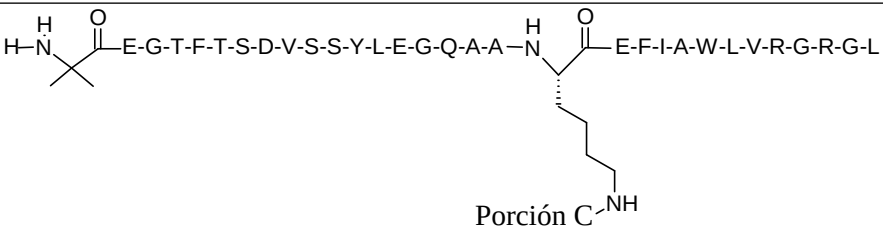
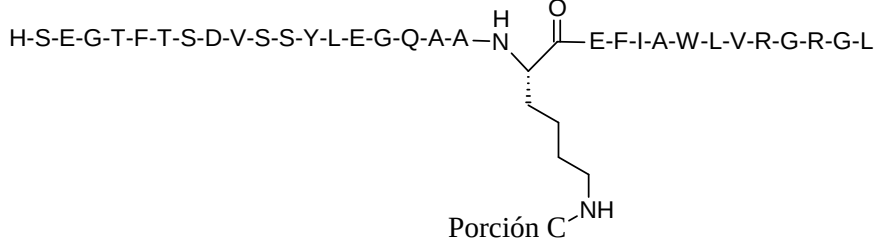
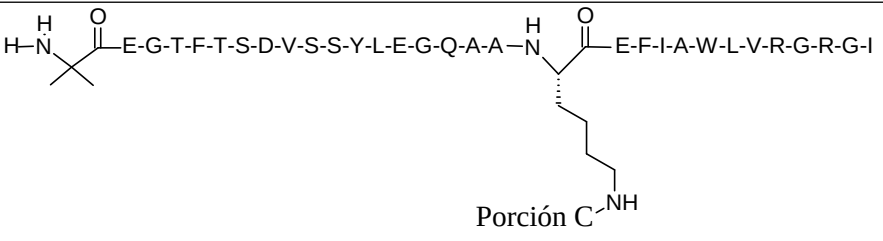
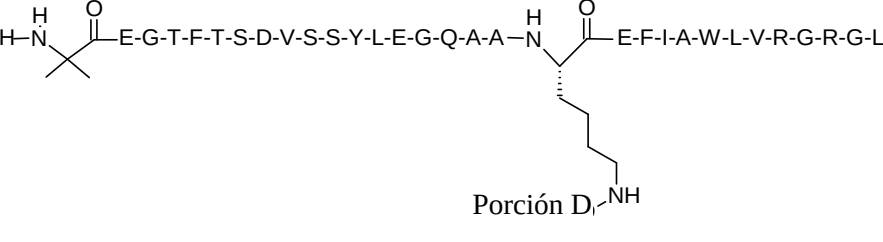
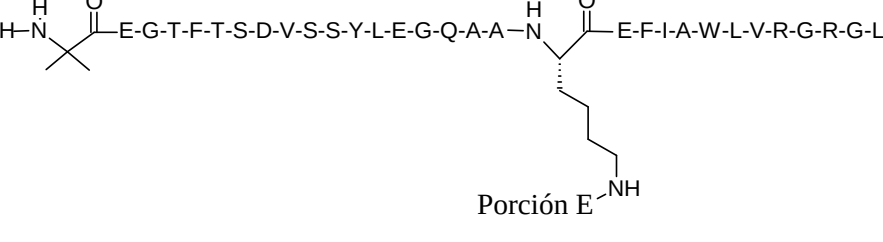
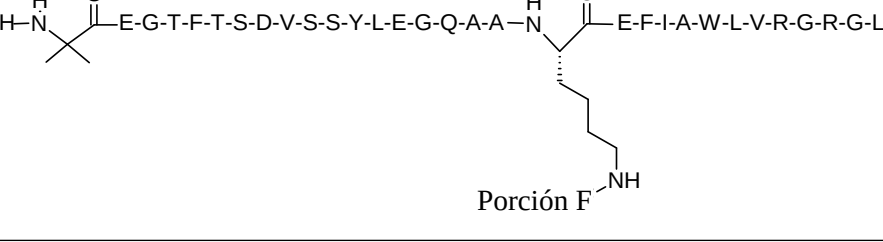
En otra modalidad, la presente descripción proporciona un polipéptido de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que se selecciona de los péptidos proporcionados

5 en la Tabla 2:

Tabla 2: Compuestos polipeptídicos representativos de la presente descripción

Comp. #	Estructura*	ID de secuencia
1	Porción A	SEQ ID NO: 05
2	Moiety A	SEQ ID NO: 06
3	Porción A	SEQ ID NO: 07

4	 Porción A	SEQ ID NO: 08
5	 Porción A	SEQ ID NO: 09
6	 Porción B	SEQ ID NO: 10
7	 Porción B	SEQ ID NO: 05
8	 Porción A	SEQ ID NO: 11
9	 Porción A	SEQ ID NO: 12
10	 Porción A	SEQ ID NO: 13
11	 Porción A	SEQ ID NO: 14

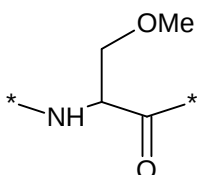
12	 Porción A	SEQ ID NO: 10
13	 Porción C	SEQ ID NO: 05
14	 Porción C	SEQ ID NO: 09
15	 Porción C	SEQ ID NO: 11
16	 Porción D	SEQ ID NO: 05
17	 Porción E	SEQ ID NO: 05
18	 Porción F	SEQ ID NO: 05

* A menos que se indique lo contrario, todos los aminoácidos en las estructuras tienen configuración L en la posición α . *D*, cuando se usa como prefijo de un aminoácido en la secuencia, indica la configuración D del aminoácido. Por ejemplo (*DSer*)

indica que el aminoácido serina en la secuencia tiene la configuración D.

A menos que se indique lo contrario, la descripción pretende
5 cubrir tanto los isómeros L como D de los aminoácidos en las secuencias.

Ser(OMe) como se describe en la presente en la descripción es el aminoácido serina con su grupo hidroxilo metilado y tiene
10 la siguiente estructura.



15 Las secuencias de polipéptidos mencionadas en la descripción se representan por el código de una sola letra de los aminoácidos según lo aprobado por la IUPAC.

Q, T, U, W, Y y Z, como se usa en la presente descripción para
20 definir la porción acilante de las modalidades de la presente descripción, son diferentes del código de una sola letra del aminoácido usado para indicar la secuencia polipeptídica.

Los polipéptidos de la presente descripción mostraron
25 sorprendentemente una reducción significativa en la glucosa en sangre cuando se sometieron a una prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) en ratas SD. El porcentaje de reducción de glucosa en sangre en ratas SD cuando se retaron con glucosa oral fue significativamente menor que los polipéptidos
30 correspondientes que carecían de Leu o Ile adicional en la posición X33.

La presente invención se ilustra adicionalmente en detalle con referencia a los siguientes ejemplos. Se desea que el ejemplo se considere en todos los aspectos como ilustrativo y no se pretende que limiten el alcance de la invención reivindicada.

5

EJEMPLOS:

Métodos generales de preparación:

El compuesto polipeptídico de la presente descripción puede prepararse mediante los métodos descritos a continuación en la presente descripción. El proceso implica dos etapas, que implican la preparación del péptido lineal original y la posterior unión de la cadena de ácido graso al péptido original.

15

Los péptidos descritos en la presente descripción pueden prepararse por síntesis química mediante el uso de técnicas en fase sólida tales como las descritas en G. Barany y R. B. Merrifield, "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology"; Volumen 2: "Special Methods in Peptide Synthesis, Part A", págs. 3-284, E. Gross y J. Meienhofer, Eds., Academic Press, Nueva York, 1980; y en J. M. Stewart y J. D. Young, "Solid-Phase Peptide Synthesis", 2da Ed., Pierce Chemical Co., Rockford, Ill., 1984. La estrategia deseada se basa en el grupo Fmoc (9-fluorenilmetil-oxicarbonilo) para la protección temporal del grupo α -amino, en combinación con grupos protectores tales como *terc*-butilo (-tBu), *terc*-butiloxicarbonilo (-Boc), grupos tritilo (-Trt) para la protección temporal de las cadenas laterales de los aminoácidos (ver, por ejemplo, E. Atherton y R. C. Sheppard, "The Fluorenylmethoxycarbonyl Amino Protecting Group", en "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology"; Volume 9: "Special

30

Methods in Peptide Synthesis, Parte C", págs. 1-38, S. Undenfriend y J. Meienhofer, Eds., Academic Press, San Diego, 1987).

5 Los péptidos pueden sintetizarse de forma escalonada sobre un soporte de polímero insoluble (también denominado como "resina") a partir del extremo C-terminal del péptido. Se inicia una síntesis al añadir el aminoácido C-terminal del péptido a la resina mediante la formación de un enlace amida o
10 éster. Esto permite la liberación eventual del péptido resultante como una amida o ácido carboxílico C-terminal, respectivamente.

Se requiere que el aminoácido C-terminal y todos los demás
15 aminoácidos usados en la síntesis tengan sus grupos α -amino y funcionalidades de la cadena lateral (si están presentes) protegidas diferencialmente de manera que el grupo protector del α -amino pueda eliminarse de manera selectiva durante la síntesis. El acoplamiento de un aminoácido se realiza mediante
20 la activación de su grupo carboxilo como un éster activo y la reacción del mismo con el grupo α -amino no bloqueado del aminoácido N-terminal unido a la resina. La secuencia de desprotección del grupo α -amino y acoplamiento se repite hasta que se ensambla toda la secuencia del péptido. A continuación,
25 el péptido se libera de la resina con la desprotección concomitante de las funcionalidades de la cadena lateral, usualmente en presencia de depuradores apropiados para limitar las reacciones secundarias. El péptido resultante se purifica finalmente mediante HPLC de fase inversa.

30

El péptido original puede acoplarse después a la cadena de ácido graso mediante el acoplamiento de la cadena de ácido

graso activada con el péptido original. La cadena de ácidos grasos puede prepararse mediante métodos bien conocidos en química orgánica. Por ejemplo, la cadena de ácidos grasos puede prepararse mediante el uso de métodos sintéticos en fase sólida
5 que permiten la preparación de cadenas de ácidos grasos lineales.

Los péptidos lineales sintetizados se purificaron mediante el procedimiento de HPLC preparativa como se describe a
10 continuación:

HPLC preparativa: Módulo de gradiente cuaternario WATERS 2555 (flujo total máximo: 300 ml/min, presión máxima: 3000 psi) o Shimadzu LC-8A (flujo total máximo: 150 ml: presión máxima: 20
15 Mpa)

Columna: C18, 10 μ

Flujo: 75 ml/min

Fase móvil: Para la primera purificación

Fase móvil A: tampón fosfato pH 7.5

20 Fase móvil B: Acetonitrilo

Gradiente: 10 a 40 % Fase móvil-B en 300 min.

Para la segunda purificación:

Fase móvil A: Ácido acético al 1 % en agua

Fase móvil B: Ácido acético al 1 % en acetonitrilo:n-propanol
25 (50:50)

Gradiente: 15 a 45 % Fase móvil B en 300 min

Los compuestos finales de la presente descripción se purificaron mediante el procedimiento de HPLC preparativa como se describe a continuación:

30 HPLC preparativa: Módulo de gradiente cuaternario WATERS 2555 (flujo total máximo: 300 ml/min, presión máxima: 3000 psi) o

Shimadzu LC-8A (flujo total máximo: 150 ml, presión máxima: 20 Mpa)

Columna: C18, 10 µ

Flujo: 75 ml/min

5 Fase móvil:

	Para la primera purificación	Para la segunda purificación
Fase móvil A	Tampón fosfato pH 7.5	Ácido acético al 1 % en agua
Fase móvil B	Acetonitrilo	Ácido acético al 1 % en acetonitrilo:n-propanol (50:50)
Gradiente	10 a 40 % Fase móvil-B en 300 min	15 a 45 % Fase móvil-B en 300 min

La pureza de los compuestos de la presente descripción se analizó mediante el método RP-HPLC como se describe a continuación:

Método de HPLC B1:

Columna: YMC Pack-Ph (4.6 mm x 150 mm 3 µ)

Eluyente: Fase móvil A: Ácido trifluoroacético al 0.1 % en agua

Fase móvil B: Ácido trifluoroacético al 0.1 % en acetonitrilo

15 Tasa de flujo: 1.5 ml/min

Detección: Detección UV a 210 nm

Temperatura de la columna: 50 °C

Tiempo de corrida: 50 min.

Gradiente:

Tiempo	% Fase móvil A	% Fase móvil B
0.01	90	10
35.0	20	80
40.0	20	80
41.0	90	10
50.0	90	10

Método de HPLC B2:

Columna: YMC-Pack Pro C18 (4 mm x 250 mm, 3 µ)

Eluyente: Fase móvil A: Tampón: Acetonitrilo (900:100)

Fase móvil B: Tampón: Acetonitrilo (300:700

5 Tampón: Dihidrógeno ortofosfato de potasio en agua, pH ajustado a 3.0±0.1 con ácido ortofosfórico

Tasa de flujo: 1.0 ml/min

Detección: Detección UV a 210 nm

Temperatura de la columna: 50 °C

10 Temperatura de la bandeja de muestras: 8 °C

Tiempo de corrida: 38 min.

Tiempo	% Fase móvil A	% Fase móvil B
0	100	0
5	100	0
30	0	100
32	0	100
32.1	100	0
38	100	0

Método de HPLC B3:

15 Columna: Waters X-Select CSH-C18 (150 mm X 4.6 mm; 2.5 µ)

Eluyente: Fase móvil A: Tampón: Acetonitrilo (900:100)

Fase móvil B: Tampón: Acetonitrilo (300:700

Tampón: Dihidrógeno ortofosfato de potasio en agua, pH ajustado a 1.5±0.1 con ácido ortofosfórico

20 Tasa de flujo: 0.9 ml/min

Detección: Detección UV a 210 nm

Temperatura de la columna: 40 °C

Temperatura de la bandeja de muestras: 5 °C

Tiempo de corrida: 100 min.

25

Tiempo	Fase móvil A	Fase móvil B
--------	--------------	--------------

0	50	50
40	43	57
55	43	57
90	0	100
91	50	50
100	50	50

Los compuestos de la presente descripción se analizaron por LCMS como se describe a continuación:

5 Los espectros de masas se registraron en LCMS mediante el uso de Waters Acquity® QDa®, Waters Micromass Quattro Micro API o Thermo Scientific LCQ Fleet™. La solución de prueba se preparó mediante la disolución de una cantidad adecuada de analito en
10 diluyente con una concentración final de 1 µg/ml a 50 µg/ml en dependencia de la ionización del analito. La solución de prueba se infundió a una tasa de aproximadamente 10 µl a 50 µl por minuto en LCMS durante 1 min y los espectros de masas se registraron en modo positivo o negativo de ionización por electropulverización (ESI) y en un intervalo de masa apropiado.

15

Ejemplo 1: Preparación de cadenas laterales de ácidos grasos activadas:

1. Preparación del ácido 18-[[[(1S)-1-carboxi-4-[2-[2-[2-[2-[2-
20 [2-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi-2-oxo-
etoxi]etoxi]etilamino]-2-oxo-etoxi]etoxi]etilamino]-4-oxo-
butil]amino]-18-oxo-octadecanoico (Porción A-OSu,
Intermediario-3)

25 La cadena lateral de ácido graso activada, Porción A-OSu, se preparó por síntesis en fase sólida mediante el uso de resina de cloruro de 2-clorotritilo como se representa

esquemáticamente en la Figura 1A. Se unió ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético (Intermediario-1) a resina de cloruro de 2-clorotritilo en presencia de *N,N'*-di-isopropiletilamina (DIPEA) lo que produjo ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El intermediario-1 puede prepararse mediante el acoplamiento de ácido 2-[2-(2-aminoetoxi)-etoxi]acético con éster de *N*-hidroxisuccinimida Fmoc. Alternativamente, el intermediario-1 está disponible comercialmente y puede adquirirse como tal. El grupo protector Fmoc se eliminó mediante el desbloqueo selectivo del grupo amino del ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina mediante el uso de piperidina y después el grupo amino libre se acopló a ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético mediante el uso de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) y *N,N'*-di-isopropilcarbodiimida (DIPC) lo que produjo ácido 2-[2-[2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. A continuación, el grupo Fmoc se eliminó mediante el desbloqueo selectivo del grupo amino del ácido 2-[2-[2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina mediante el uso de piperidina y después el grupo amino libre se acopló a Fmoc-Glu-OtBu mediante el uso de HOBt y DIPC para obtener ácido 2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-Fmoc-amino-5-*terc*-butoxi-5-oxo-pentanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El ácido 2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-Fmoc-amino-5-*terc*-butoxi-5-oxo-pentanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina resultante se desbloqueó de manera selectiva mediante el uso de piperidina y después se acopló con éster mono *terc*-butílico del ácido octadecanodioico para dar el intermediario-2, a saber, ácido [2-[2-[2-[2-[2-[2-[[[(4S)-5-

terc-butoxi-4-[(18-*terc*-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-

pentanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acético]

-2-Cl-Trt-Resina. A continuación, el intermediario 2 se

5 escindió de 2-Cl-Trt-Resina mediante el uso de trifluoroetanol:DCM (1:1). El compuesto resultante se hizo

reaccionar después con *N*-hidroxisuccinimida (HOSu) en presencia de cloroformiato de isobutilo (IBCF) y *N*-

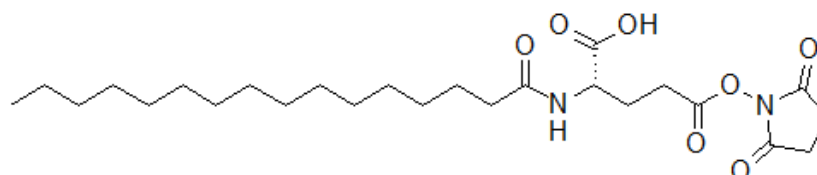
metilmorfolina (NMM) seguido de desprotección con ácido

10 trifluoroacético para producir el compuesto del título (Porción A-OSu, intermediario-3). El proceso completo también puede

representarse como se representa esquemáticamente en la Figura

1B.

15 2. Preparación de *N*-palmitoil-L- γ -glutamil éster succinimida (Porción B-OSu)



Porción B-OSu.

El éster alfa-*terc*-butílico del ácido L-glutámico (H-Glu-OtBu)

se hizo reaccionar con ácido palmítico en presencia de IBCF y

NMM para producir CH₃-(CH₂)₁₄-C(0)-Glu-OtBu, que después se hizo

25 reaccionar con HOSu en presencia de IBCF y NMM para producir

CH₃-(CH₂)₁₄-C(0)-Glu(OSu)-OtBu, que después se desprotegió con

ácido trifluoroacético para producir la Porción B-OSu.

3. Preparación del ácido 18-[[[(1S)-1-carboxi-4-[4-[2-[2-[2-

30 (2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi-2-oxo-

etoxi]etoxi]etilcarbamoilamino]butilamino]-4-oxo-

butil]amino]-18-oxo-octadecanoico (Porción C-OSu)

La cadena lateral de ácido graso activada, Porción C-OSu, se preparó por síntesis en fase sólida mediante el uso de resina de cloruro de 2-clorotritilo como se representa esquemáticamente en la Figura 2. Se unió ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético a una resina de cloruro de 2-clorotritilo en presencia de DIPEA para producir ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El grupo protector Fmoc se eliminó mediante el desbloqueo selectivo del grupo amino mediante el uso de piperidina y después el grupo amino libre se activó mediante el uso de *p*-nitrofenilcloroformiato en THF y DIPEA seguido de reacción con la sal de clorhidrato de Fmoc-amino butilamina en THF: DMAc y DIPEA, que produjo ácido 2-[2-[2-(4-Fmoc-aminobutilcarbamoilamino)etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El grupo Fmoc se eliminó por desbloqueo selectivo mediante el uso de piperidina y después el grupo amino libre se acopló a Fmoc-Glu-OtBu mediante el uso de HOBt y DIPC, lo que produjo ácido 2-[2-[2-[4-[[[(4S)-4-Fmoc-amino-5-terc-butoxi-5-oxo-pentanoil]amino]butilcarbamoilamino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El ácido 2-[2-[2-[4-[[[(4S)-4-Fmoc-amino-5-terc-butoxi-5-oxo-pentanoil]amino]-butilcarbamoilamino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina se desbloqueó de manera selectiva mediante el uso de piperidina y después se acopló con ácido octadecanodioico mono *terc*-butil éster para dar el intermediario ácido 2-[2-[2-[4-[[[(4S)-5-terc-butoxi-4-[(18-terc-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]butilcarbamoilamino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. A continuación, el intermediario se escindió de 2-Cl-Trt-Resina mediante el uso de trifluoroetanol:DCM (1:1) para obtener ácido 2-[2-[2-[4-[[[(4S)-5-terc-butoxi-4-[(18-terc-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]butilcarbamoilamino]etoxi]etoxi]acético

(LCMS= m/z: 814.56 (M+H⁺)). Después, el compuesto resultante se hizo reaccionar con HOSu en presencia de diciclohexil carbodiimida (DCC) para producir un intermediario protegido con succinimida, que se desprotegió con ácido trifluoroacético para producir el compuesto del título (Porción C-OSu).

4. Preparación del ácido 18-[[(1S)**]-1-carboxi-4-[[2-[2-[2-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi-2-oxo-etoxi]etoxi]etilamino]-1,1-dimetil-2-oxo-etil]amino]-4-oxo-butil]amino]-18-oxo-octadecanoico** (Porción D-OSu)

La cadena lateral de ácido graso se preparó por síntesis en fase sólida mediante el uso de resina de cloruro de 2-clorotritilo como se representa esquemáticamente en la Figura 3. Se unió ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético a una resina de cloruro de 2-clorotritilo en presencia de DIPEA para producir ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El grupo protector Fmoc se eliminó mediante el desbloqueo selectivo del grupo amino mediante el uso de piperidina seguido de acoplamiento con Fmoc-Aib-OH en THF: DMAc mediante el uso de DIPC y HOBt que produjo ácido 2-[2-[2-[(2-Fmoc-amino-2-metil-propanoil)amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El grupo Fmoc se eliminó mediante desbloqueo selectivo con piperidina y el grupo amino libre se acopló con Fmoc-Glu-OtBu mediante el uso de HOBt y DIPC para producir ácido 2-[2-[2-[[2-[[**(4S)**]-4-Fmoc-amino-5-terc-butoxi-5-oxo-pentanoil]amino]-2-metilpropanoil]amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El grupo Fmoc del compuesto resultante se desbloqueó de manera selectiva mediante el uso de piperidina y después el grupo amino libre se acopló con éster mono terc butílico del ácido octadecanodioico para dar ácido 2-[2-[2-[[2-[[**(4S)**]-5-terc-butoxi-4-[(18-terc-butoxi-18-oxo-

octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]-2-metilpropanoil]-
amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. A continuación, el
intermediario se escindió de 2-Cl-Trt-Resina mediante el uso
de trifluoroetanol:DCM (1:1) para obtener ácido 2-[2-[2-[2-
5 [[(4S)-5-terc-butoxi-4-[(18-terc-butoxi-18-oxo-
octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]-2-metil-
propanoil]amino]etoxi]etoxi]acético (LCMS= m/z: 786.39
(M+H⁺)). El compuesto resultante se hizo reaccionar después con
HOSu en presencia de DCC para producir un intermediario
10 protegido con succinimida, que se desprotegió con ácido
trifluoroacético para producir el compuesto del título (Porción
D-OSu).

**5. Preparación del ácido 18-[[[(1S)-1-carboxi-4-[3-[2-[2-[2-
15 (2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi-2-oxo-
etoxi]etoxi]etilcarbamoilamino]propilamino]-4-oxo-
butil]amino]-18-oxo-octadecanoico (Porción E-OSu)**

La cadena lateral de ácido graso se preparó por síntesis en
20 fase sólida mediante el uso de resina de cloruro de 2-
clorotritilo como se representa esquemáticamente en la Figura
4. Se unió ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético a una
resina de cloruro de 2-clorotritilo en presencia de DIPEA para
producir ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-
25 Trt-Resina. El grupo protector Fmoc se eliminó por desbloqueo
selectivo del grupo amino mediante el uso de piperidina y
después el grupo amino libre se activó mediante el uso de p-
nitrofenilcloroformiato en THF y DIPEA seguido de la reacción
con 1,3-diaminopropano en THF: DMAc en presencia de DIPEA
30 mediante el uso de HOBt para formar ácido NH₂-(CH₂)₃-NH-C(=O)-
{(2-(2-amino-etoxi)-etoxi}-acético-2-Cl-Trt-Resina. A
continuación, el grupo amino libre se acopló a Fmoc-Glu-OtBu

mediante el uso de HOBT y DIPIC, lo que produjo ácido 2-[2-[2-[3-[[[(4S)-4-Fmoc-amino-5-*terc*-butoxi-5-oxo-pentanoil]amino]propilcarbamoilamino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El ácido 2-[2-[2-[3-[[[(4S)-4-Fmoc-amino-5-*terc*-butoxi-5-oxo-pentanoil]amino]propilcarbamoilamino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina se desbloqueó de manera selectiva mediante el uso de piperidina y después se acopló con el éster mono *terc* butílico del ácido octadecanodioico para dar ácido 2-[2-[2-[3-[[[(4S)-5-*terc*-butoxi-4-[(18-*terc*-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]-propilcarbamoilamino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. A continuación, el intermediario se escindió de 2-Cl-Trt-Resina mediante el uso de trifluoroetanol:DCM (1:1) para obtener ácido 2-[2-[2-[3-[[[(4S)-5-*terc*-butoxi-4-[(18-*terc*-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]-propilcarbamoilamino]etoxi]etoxi]acético (LCMS= m/z: 801.41 (M+H⁺)). El compuesto resultante se hizo reaccionar después con HOSu en presencia de dicitclohexil carbodiimida (DCC) para producir un intermediario protegido con succinimida, que se desprotegió con ácido trifluoroacético para producir el compuesto del título (Porción E-OSu).

6. Preparación del ácido 18-[[[(1S)-1-carboxi-4-[4-[2-[2-[2-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi-2-oxo-etoxi]etoxi]etilcarbamoilamino]-1piperidil]-4-oxo-butil]amino]-18-oxo-octadecanoico (Porción F-OSu)

La cadena lateral de ácido graso se preparó por síntesis en fase sólida mediante el uso de resina de cloruro de 2-clorotritilo como se representa esquemáticamente en la Figura 5. Se unió ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético a resina de cloruro de 2-clorotritilo en presencia de DIPEA para

producir ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El grupo protector Fmoc se eliminó mediante el desbloqueo selectivo del grupo amino mediante el uso de piperidina y después el grupo amino libre se activó mediante el uso de p-nitrofenilcloroformiato en THF y DIPEA seguido de reacción con 4-amino-Boc-piperidina en THF: DMAc en presencia de DIPEA mediante el uso de HOBt que proporcionó ácido (2-[2-[2-(4-Boc-piperidilcarbamoilamino)etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El compuesto resultante en la escisión mediante el uso de ácido trifluoroacético produjo ácido 2-[2-[2-(4-piperidilcarbamoilamino)etoxi]etoxi]acético que en reacción posterior con Fmoc-OSu en presencia de trietilamina (TEA) produjo ácido 2-[2-[2-(4-Fmoc-piperidilcarbamoilamino)etoxi]etoxi]acético. Después, el compuesto obtenido se unió adicionalmente a la resina de cloruro de 2-clorotritilo en presencia de DIPEA para producir ácido 2-[2-[2-(4-Fmoc-piperidilcarbamoilamino)etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El grupo Fmoc se eliminó mediante un desbloqueo selectivo con piperidina y después el grupo amino libre se acopló con Fmoc-Glu-OtBu mediante el uso de HOBt y DIPC, lo que produjo ácido 2-[2-[2-[1-[(4S)-4-amino-5-*terc*-butoxi-5-oxo-pentanoil]-4-piperidil]carbamoilamino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. El compuesto resultante se desbloqueó de manera selectiva mediante el uso de piperidina y después se acopló con éster mono *terc*-butílico del ácido octadecanodioico para dar ácido 2-[2-[2-[1-[(4S)-5-*terc*-butoxi-4-[(18-*terc*-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]-4-piperidil]carbamoilamino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina. A continuación, el intermediario se escindió de 2-Cl-Trt-Resina mediante el uso de trifluoroetanol:DCM (1:1) para obtener ácido 2-[2-[2-[1-[(4S)-5-*terc*-butoxi-4-[(18-*terc*-butoxi-18-oxo-

octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]-4-
piperidil]carbamoilamino]etoxi]etoxi]acético (LCMS= m/z:
827.40 (M+H⁺)). El compuesto resultante se hizo reaccionar
después con HOSu en presencia de DCC para producir un
5 intermediario protegido con succinimida, que se desprotegió
mediante el uso de ácido trifluoroacético para producir el
compuesto del título, Porción F-OSu.

Ejemplo 2: Síntesis del Compuesto 1:

10 ***N*-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-carboxiheptadecanoilamino)-
4(S)carboxibutirilamino]etoxi)etoxi]acetilamino)etoxi]etoxi)a
cetil][(Aib⁸, Arg³⁴, Leu³⁸ péptido GLP-1 (7-38)**

Parte A. Síntesis del péptido lineal parental Aib⁸, Arg³⁴, Leu³⁸ GLP-1 (7-38)

15

El péptido original se sintetizó por el método de fase sólida.
La resina de partida usada para la síntesis fue la resina Wang.
Se usó leucina protegida con Fmoc para el acoplamiento con la
resina Wang. El acoplamiento se realizó mediante el uso de
20 diisopropilcarbodiimida, *N*-hidroxibenzotriazol (DIC-HOBt) como
reactivo de acoplamiento en presencia de 4-
dimetilaminopiridina (DMAP) que produjo Fmoc-Leu-resina Wang.
El desbloqueo selectivo del grupo amino de Fmoc-Leu-resina Wang
mediante el uso de piperidina seguido de acoplamiento con Fmoc-
25 Gly-OH mediante el uso de HOBt y DIPC produjo Fmoc-Gly-Leu-
resina Wang. Esto completa un ciclo. Se usó anhídrido acético
y diisopropiletilamina/piridina para terminar los grupos amino
no acoplados en cada acoplamiento de aminoácidos.

30 Las 2 etapas anteriores, es decir, el desbloqueo selectivo de
la protección con Fmoc del aminoácido unido a la resina y el
acoplamiento del siguiente residuo de aminoácido en secuencia

con el grupo amino protegido con Fmoc se repitió para los 30
residuos de aminoácidos restantes. El desbloqueo selectivo, es
decir, la desprotección del grupo Fmoc se realizó mediante el
uso de piperidina y el acoplamiento con el siguiente aminoácido
5 protegido con Fmoc se realizó mediante el uso de HOBt/DIPC. La
cadena lateral de los aminoácidos protegidos con Fmoc se
protegió ortogonalmente, por ejemplo, el grupo hidroxilo de
serina, tirosina o treonina se protegió con grupo *terc*-butilo
(-tBu), el grupo amino y guanido de lisina y arginina se
10 protegieron con grupo *terc*-butiloxicarbonilo (-Boc) y
2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo (-Pbf)
respectivamente, el imidazol de histidina se protegió con
tritilo (-Trt) y los grupos de ácido carboxílico de ácido
aspártico o ácido glutámico se protegieron con el grupo -tBu.
15 Las dos etapas mencionadas anteriormente, es decir, el
desbloqueo selectivo y después el acoplamiento con el siguiente
aminoácido protegido con Fmoc, se realizaron para obtener Fmoc-
His(Trt)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)-Phe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-
Asp(OtBu)-Val-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Tyr(tBu)-Leu-Glu(OtBu)-Gly-
20 Gln-Ala-Ala-Lys(Boc)-Glu(OtBu)-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-
Arg(Pbf)-Gly-Arg(Pbf)-Gly-Leu-resina.

El desbloqueo de Fmoc-His(Trt)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)-Phe-
Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Val-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Tyr(tBu)-
25 Leu-Glu(OtBu)-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys(Boc)-Glu(OtBu)-Phe-Ile-Ala-
Trp-Leu-Val-Arg(Pbf)-Gly-Arg(Pbf)-Gly-Leu-Resina mediante el
uso de piperidina seguido de escisión y desprotección mediante
el uso de ácido trifluoroacético con etano-1,2-ditiool dio como
resultado H-His-Aib-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-
30 Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-
Arg-Gly-Arg-Gly-Leu-OH (Aib⁸, Arg³⁴, Leu³⁸ péptido GLP-1 (7-38))
crudo que se purificó mediante HPLC.

Parte B:

El injerto de la cadena de ácido graso activada, Porción A-OSu sobre el (péptido lineal) purificado H-His-Aib-Glu-Gly-Thr-
5 Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Arg-Gly-Arg-Gly-Leu-OH obtenido en la Parte A, en acetonitrilo a pH aproximadamente 10 dio como resultado el péptido del título crudo que se purificó mediante HPLC preparativa. La caracterización de los compuestos se
10 proporciona en la Tabla 3.

Ejemplo 3: Preparación de los compuestos 2, 3, 5, 9, 10 y 12

Los péptidos lineales de los compuestos 2, 3, 5, 9, 10 y 12 se
15 prepararon por el método de fase sólida según el proceso análogo dado para el Ejemplo 1, Parte A. El injerto de la cadena de ácido graso activada, Porción A-OSu de acuerdo con el proceso del Ejemplo 1, Parte B sobre los péptidos lineales respectivos proporcionó el compuesto 2, 3, 5, 9, 10 y 12.

20

Ejemplo 4: Preparación de los Compuestos 4 y 11:

Los péptidos lineales del Compuesto 4 y 11 se prepararon por el método de fase sólida según el proceso análogo dado para el
25 Ejemplo 2, Parte A, excepto que aquí se acopló primero la D-leucina protegida con Fmoc con resina Wang y después se acoplaron secuencialmente otros aminoácidos. El injerto de la cadena de ácido graso activada, Porción A-OSu sobre el péptido lineal respectivo de acuerdo con el proceso del Ejemplo 2,
30 Parte B proporcionó el Compuesto 4 y 11.

Ejemplo 5: Preparación del Compuesto 8

El péptido lineal se preparó por el método de fase sólida según el proceso análogo proporcionado para el Ejemplo 2, Parte A, excepto que aquí se acopló primero isoleucina protegida con Fmoc con resina Wang y después se acoplaron secuencialmente otros aminoácidos. El injerto de la cadena de ácido graso activada, Porción A-OSu sobre el péptido lineal de acuerdo con el proceso del Ejemplo 2, Parte B proporcionó el Compuesto 8.

Ejemplo 6: Preparación del Compuesto 6

El péptido lineal se preparó por el método de fase sólida según el proceso análogo dado en el Ejemplo 2, Parte A. El injerto de la cadena de ácido graso activada Porción B-OSu sobre el péptido lineal de acuerdo con el proceso análogo del Ejemplo 2, Parte B proporcionó el Compuesto 6.

Ejemplo 7: Preparación del Compuesto 7

El injerto de la cadena de ácido graso activada, Porción B-OSu sobre el péptido lineal del Ejemplo 2, Parte A, de acuerdo con el proceso análogo del Ejemplo 2, Parte B proporcionó el Compuesto 7.

Ejemplo 8: Preparación del Compuesto 13

El injerto de cadena de ácido graso activada, Porción C-OSu sobre el péptido lineal del ejemplo 1, parte A, de acuerdo con el proceso análogo del Ejemplo 1, Parte B, proporcionó el compuesto 13.

Ejemplo 9: Preparación del Compuesto 14

El péptido lineal se preparó por el método de fase sólida según el proceso análogo dado en el Ejemplo 2, Parte A. El injerto de la cadena de ácido graso activada, Porción C-OSu sobre el péptido lineal de acuerdo con el proceso análogo del Ejemplo 2, Parte B proporcionó el Compuesto 14.

Ejemplo 10: Preparación del Compuesto 15

El péptido lineal se preparó por el método en fase sólida según el proceso análogo proporcionado para el Ejemplo 2, la Parte A a partir de que la isoleucina protegida con Fmoc se acopló primero con resina Wang y después se acoplaron secuencialmente otros aminoácidos. El injerto de la cadena de ácido graso activada, Porción C-OSu sobre el péptido lineal de acuerdo con el proceso análogo del Ejemplo 2, Parte B, proporcionó el Compuesto 15.

Ejemplo 11: Preparación del Compuesto 16

El injerto de la cadena de ácido graso activada, Porción D-OSu sobre el péptido lineal del Ejemplo 2, Parte A, de acuerdo con el proceso análogo del Ejemplo 2, Parte B proporcionó el Compuesto 16.

Ejemplo 12: Preparación del Compuesto 17

El injerto de la cadena de ácido graso activada, Porción E-OSu sobre el péptido lineal del ejemplo 2, Parte A de acuerdo con el proceso análogo del Ejemplo 2, Parte B, proporcionó el compuesto 17.

Ejemplo 13: Preparación del Compuesto 18

El injerto de la cadena de ácido graso activada, Porción F-0Su sobre el péptido lineal del Ejemplo 2, Parte A, de acuerdo con el proceso análogo del Ejemplo 2, Parte B proporcionó el compuesto 18.

5

Los datos de caracterización de los compuestos sintetizados de la presente descripción se proporcionan a continuación en la siguiente Tabla 3.

10

Tabla 3: Datos de caracterización de compuestos representativos de la presente descripción

Comp. #	Datos de LCMS	Pureza por HPLC
1	m/z = 1057.52 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4226.05	98.32 % (Método B2), RT = 24.85 min.
2	m/z = 1061.74 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4242.93	99.02 % (Método B1), RT = 18.53 min.
3	m/z = 1087.65 (M-4H) ⁻⁴ , Masa calculada = 4354.63	98.12 % (Método B1), RT = 18.48 min.
4	m/z = 1055.68 (M-4H) ⁻⁴ , Masa calculada = 4226.75	98.97 % (Método B1), RT = 18.32 min.
5	m/z = 1057.88 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4227.49	96.75 % (Método B1), RT = 17.09 min.
6	m/z = 967.26 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada: 3865.01	98.68 % (Método B3), RT = 44.04 min.
7	m/z = 968.53 (M-4H) ⁻⁴ , Masa calculada = 3878.15	97.39 % (Método B3), RT = 27.79 min.
8	m/z = 1057.72 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4226.85	95.70 % (Método B1), RT = 16.62 min.
9	m/z = 1061.67 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4242.65	95.15 % (Método B1), RT = 16.48 min.
10	m/z = 1058.18 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4228.69	93.66 % (Método B1), RT = 16.13 min.

11	m/z = 1056.95 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada: 4223.77	95.70 % (Método B2), RT = 24.46 min
12	m/z = 1405.12 (MH ₃ ³⁺), Masa calculada: 4212.34	97.51 % (Método B1), RT = 19.06 min.
13	m/z = 1049.59 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4194.33	96.01 % (Método B2), RT = 25.16 min.
14	m/z = 1050.13 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4196.49	92.06 % (Método B2), RT = 24.55 min.
15	m/z = 1049.61 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4194.41	94.41 % (Método B2), RT = 24.82 min.
16	m/z = 1042.34 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4165.32	94.56 % (Método B2), RT = 25.26 min.
17	m/z = 1046.18 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4180.72	94.33 % (Método B2), RT = 25.17 min.
18	m/z = 1052.77 (MH ₄ ⁴⁺), Masa calculada = 4207.08	93.12 % (Método B2), RT = 24.92 min.

Ejemplo 14: Prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) en ratas; Inyección única; 1 mg/kg

5 Los animales se dividieron en tres grupos: un grupo de control normal, un grupo de prueba y un tercer grupo con semaglutida, con 4 animales en cada grupo. Los animales se mantuvieron en ayunas durante 12 horas antes del inicio de la OGTT. A los animales del grupo de ensayo, se les inyectó el Compuesto 1

10 por vía subcutánea a una dosis de 1 mg/kg. Al grupo con semaglutida, se le inyectó una dosis de 1 mg/kg por vía subcutánea. Después de 22 h, 166 h y 334 h de la inyección subcutánea del fármaco de prueba o semaglutida, se midió la glucosa en sangre con un medidor de glucosa en sangre

15 (mediciones de tiempo 0). A continuación, todos los animales recibieron 2 g/kg de solución de glucosa por vía oral. Se midió la glucosa en sangre a los 20, 40, 60, 90 y 120 minutos después del reto con glucosa. Se registró el peso corporal y la ingesta

de alimentos. Los datos de glucosa en sangre se analizaron mediante el uso de ANOVA bidireccional seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni mediante el uso de PRISM (Graph Pad versión 5.03). Los datos de $AUC_{0-120 \text{ min}}$ de glucosa en sangre se
5 analizaron mediante la prueba t.

Los polipéptidos de la presente descripción han mostrado un efecto reductor de la glucosa significativo en comparación con el grupo de control cuando se estudiaron en la prueba de
10 tolerancia a la glucosa oral (OGTT) en ratas. Por ejemplo, la Figura 6 proporciona el cambio en el nivel de glucosa en sangre desde el tiempo 0 hasta 120 min después de 22 h y 46 h en el grupo de prueba al que se le administró el Compuesto 1 y el grupo de tratamiento con semaglutida. A las 22 horas después
15 de la dosis única, el Compuesto 1 mostró una reducción estadísticamente significativa en el nivel de glucosa en sangre con $p < 0.001$ frente al control normal en ANOVA seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni. El efecto reductor de la glucosa del Compuesto 1 fue superior al efecto reductor de la
20 glucosa observado con la semaglutida (ver la Figura 6A). Se observó la superioridad del efecto reductor de la glucosa del Compuesto 1 incluso después de 46 horas desde la administración subcutánea (Figura 6B). Además, tanto el Compuesto 1 como la semaglutida mostraron una reducción estadísticamente
25 significativa en la ingesta de alimentos en comparación con el control cuando se observaron el día 2 así como también el día 4 (ver las Tablas 4 y 5). La reducción de la ingesta de alimentos mostrada por el Compuesto 1 el día 4 fue mayor que la de la semaglutida (ver la Tabla 5). En términos de reducción
30 del peso corporal, solo el compuesto de prueba mostró una reducción significativa del peso corporal el día 4.

Tabla 4: Efecto del tratamiento sobre la ingesta de alimentos y el peso corporal el día 2

Consumo de alimentos (g) (día 0 hasta el día 2)			Peso corporal (g) (Día 2)		
	Media	SD	Media	SD	% de cambio frente al valor basal
Control normal	33.0	4.7	480.6	15.6	8.89
Compuesto 1	2.63***	2.5	365.6	21.0	-9.33
Semaglutida	5.03***	3.4	428.1	42.3	-7.65

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 frente al control normal; ANOVA unidireccional seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni

Tabla 5: Efecto del tratamiento sobre la ingesta de alimentos y el peso corporal el día 4

Consumo de alimentos (g) (día 0 hasta el día 4)			Peso corporal (g) (Día 4)		
	Media	SD	Media	SD	% de cambio frente al valor basal
Control normal	90.5	5.6	491.3	16.9	2.1
Compuesto 1	43.25***,##	2.8	436.2*	21.1	-7.5
Semaglutida	55.73***	4.1	427.2	42.3	-5.3

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 frente al control normal; ANOVA unidireccional seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni
#p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 frente a semaglutida; ANOVA

5 unidireccional seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni

Se encontró sorprendentemente que los compuestos que tenían X33 como Leu e Ile mostraron una reducción significativa de la glucosa en sangre en los estudios dados, mientras que los
10 compuestos con aminoácidos distintos de Leu e Ile tuvieron un

efecto significativamente menor en la reducción de la glucosa en sangre. El polipéptido de la presente descripción ha mostrado una reducción significativa de la glucosa en sangre en comparación con el grupo de control. También se probaron 5 compuestos que tienen aminoácidos distintos de Leu o Ile en las posiciones X33. Por ejemplo, la Leu en la posición 32 en el Compuesto 1 (SEQ ID NO: 05) se reemplazó con Lys y Ser para obtener los compuestos Std-1 y Std-2, respectivamente. Std-1 y Std-2 mostraron solo aproximadamente 35 y 15 % de reducción en 10 el AUC_{0-120 min} de glucosa en sangre (Tabla 6).

Tabla 6: Reducción porcentual del AUC_{0-120 min} de glucosa en sangre en la prueba OGTT a dosis de 1 mg/kg después de 24 h.

Comp. #	% de reducción de la glucosa	Comp/std Semaglutida	Comp. #	% de reducción de la glucosa	Comp/std Liraglutida
Std-1	35.1	0.71	6	75.8	1.83
Std-2	14.8	0.30	7	71.9	1.73
Semaglutida	49.3		Liraglutida	41.5	

De manera similar, el compuesto 6 que se diferencia de la liraglutida por tener una Leu adicional en la posición 32 y el compuesto 7 que se diferencia de la liraglutida por tener el 2do aminoácido Ala reemplazado por Aib y por tener Leu como un aminoácido adicional en 32, mostró un efecto de disminución de la glucosa en sangre a las 24 h que fue significativamente mayor que el de la liraglutida (Tabla 6).

Una vez que se determinó que el Compuesto 1 era significativamente mejor en términos de reducción de la glucosa, reducción de la ingesta de alimentos y del peso corporal, se realizaron experimentos para determinar la

duración de la acción del compuesto de la presente invención. Se estudió el efecto de los compuestos representativos de la presente invención (Compuestos 1, 13 y 16) después de 166 h (7 días) y 334 h (14 días) y se comparó con el de la semaglutida.

5 Los compuestos se probaron según el método que se proporciona más abajo:

Los animales se dividieron en tres grupos: un grupo de control normal, un grupo de prueba y un tercer grupo con semaglutida,
10 con 4 animales en cada grupo. Los animales se mantuvieron en ayunas durante 12 horas antes del inicio de la OGTT. A los animales del grupo de ensayo, se les inyectaron subcutáneamente el Compuesto 1, el Compuesto 13 y el Compuesto 16 a una dosis de 1 mg/kg. Al grupo con semaglutida, se le inyectó una dosis
15 de 1 mg/kg por vía subcutánea. Después de 22 h, 166 h y 334 h desde la inyección subcutánea del compuesto de prueba o semaglutida, se midió la glucosa en sangre con un medidor de glucosa en sangre (mediciones de tiempo 0). A continuación, todos los animales recibieron 2 g/kg de solución de glucosa
20 por vía oral. Se midió la glucosa en sangre a los 20, 40, 60, 90 y 120 minutos después del reto con glucosa. Se registró el peso corporal y la ingesta de alimentos. Los datos de glucosa en sangre se analizaron mediante el uso de ANOVA bidireccional seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni mediante el uso
25 de PRISM (Graph Pad versión 5.03). Los datos de $AUC_{0-120 \text{ min}}$ de glucosa en sangre se analizaron mediante la prueba t.

La Tabla 7 proporciona la reducción en AUC de la glucosa en sangre para los compuestos representativos de la presente
30 invención (Compuestos 1, 13 y 16) en comparación con el grupo de control después de 1 día, 7 días y 14 días de administración.

Tabla 7: Reducción porcentual en AUC_{0-120 min} de glucosa en sangre en la prueba OGTT a dosis de 1 mg/kg.

Compuesto #	Tiempo	AUC de glucosa en sangre (mg/dl*min)	Cambio en el AUC (mg/dl*min)
		Media	
Semaglutida Exp. 1	22 h	5458.0	-63.4
	168 h	12 785.0	-25.5
	336 h	16 223.0	-2.4
Comp. 1 Exp. 1	22 h	3173.0	-78.7
	168 h	5941.0	-65.4
	336 h	11 920.0	-28.3
Comp. 13 Exp. 1	22 h	2795.0	-81.2
	168 h	6950.0	-59.5
	336 h	11 368.0	-31.6
Semaglutida Exp. 2	22 h	4258	-50
	168 h	7410	-26.6
	336 h	8023.0	-5.5
Comp. 16 Exp. 2	22 h	1646	-80.7
	168 h	4283	-57.6
	336 h	8295.0	-2.3

5 Los Compuestos 1 y 13 se estudiaron y compararon con la semaglutida en un experimento (Exp. 1) y el Compuesto 16 se estudió y comparó con la semaglutida en un experimento separado (Exp. 2). Después de 168 h desde la inyección, los Compuestos 1, 13 y 16 de la presente invención mostraron una reducción de

10 aproximadamente un 60 % en el AUC de glucosa en sangre en comparación con el nivel de glucosa en sangre en el tiempo cero. Por otro lado, la semaglutida mostró una reducción de aproximadamente un 25 % en el nivel de glucosa en sangre con respecto al nivel de glucosa en sangre en el tiempo cero.

15

Se hicieron observaciones similares en la cantidad de alimentos consumidos y el cambio del peso corporal. Como puede verse en

la Tabla 8 más abajo, los animales a los que se les administraron los compuestos representativos (Compuestos 1, 13 y 16) consumieron significativamente menos alimento en comparación con los animales a los que se les administró semaglutida. El Compuesto 16 mostró una reducción sustancial del peso corporal lo que demuestra una utilidad potencial para el tratamiento de la obesidad.

Tabla 8: Efecto sobre el consumo de alimentos y el peso corporal en la prueba OGTT a dosis de 1 mg/kg

Compuesto #	Tiempo	Consumo de alimentos (g)	Cambio del peso corporal (%)
		Media	Media
Semaglutida Exp. 1	48 h	17.5	-6.5
	154 h	86.3	4.5
	324 h	107.9	11.8
Comp. 1 Exp. 1	48 h	8.3	-9.8
	154 h	69.6	5.2
	324 h	99.4	9.3
Comp. 13 Exp. 1	48 h	8.4	-10.2
	154 h	62.3	4.5
	324 h	82.44	8.2
Semaglutida Exp. 2	48 h	19.3	-8.7
	154 h	50.4	0.2
	324 h	96.8	3.8
Comp. 16 Exp. 2	48 h	5.9	-10.7
	154 h	44.1.0	-7.0
	324 h	104.3	-4.3

Ejemplo 15: Reducción de HbA1c en ratones diabéticos tipo 2 db/db después del tratamiento crónico

Este estudio se realizó en un modelo de ratón diabético. Los animales se dividieron en tres grupos de tratamiento: un grupo

de control diabético, un grupo de prueba y un grupo de tratamiento con semaglutida. El Compuesto 1 de la presente descripción se inyectó por vía subcutánea a una dosis de 0.3 mg/kg una vez al día durante 3 días (qd*3) seguido de una dosis de 0.1 mg/kg cada día alterno durante 7 dosis (q2d*7) seguido de una dosis de 0.1 mg/kg una vez cada cuatro días durante dos ciclos de dosis (q4d*2). Se administró el mismo régimen de dosificación en el grupo de tratamiento con semaglutida. Se midieron diariamente los niveles de glucosa en sangre y el peso corporal. El % de HbA1c se midió el día 0, el día 7, el día 14 y el día 27 mediante cromatografía en columna. La ingesta de alimentos acumulada se calculó el día 27. Los datos del % de HbA1C se analizaron mediante ANOVA bidireccional seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni mediante el uso de PRISM (Graph Pad versión 5.03).

Los animales del grupo de prueba a los que se administró el Compuesto 1 mostraron una reducción estadísticamente significativa en los niveles de glucosa en sangre en comparación con el grupo de control diabético (ver la Figura 7), y el efecto fue superior al del grupo de tratamiento con semaglutida en la última fase del estudio. Los animales del grupo de prueba a los que se administró el Compuesto 1 mostraron una reducción significativa en la ingesta de alimentos, como puede verse en los resultados proporcionados en la Figura 8. La Figura 8 proporciona la ingesta de alimentos acumulada del día 0 al 27 por ratones control y db/db tratados con el compuesto de prueba. Tanto el compuesto de prueba como la semaglutida mostraron una reducción estadísticamente significativa en la ingesta de alimentos en comparación con el grupo de control diabético. Además, el compuesto de prueba mostró una ingesta de alimentos significativamente menor en

comparación con la semaglutida. En el mismo estudio, el Compuesto 1 también ha mostrado una reducción significativa en el peso corporal en comparación con el grupo de control diabético. La Figura 9 proporciona el resultado del % de cambio en el peso corporal para el grupo de control y de prueba desde el día 0 hasta el día 27. El Compuesto de prueba 1 mostró una reducción significativa de -16 % en comparación con -8 % observado en el grupo de tratamiento con semaglutida (ver la Figura 09).

En la diabetes mellitus, cantidades más altas de HbA1c, lo que indica un control deficiente de los niveles de glucosa en sangre, se han asociado con enfermedades cardiovasculares, nefropatía, neuropatía y retinopatía. En un estudio de 27 días, el Compuesto 1 mostró una reducción estadísticamente significativa en el nivel de HbA1c en ratones diabéticos de tipo 2 db/db después del tratamiento crónico. La Tabla 9 más abajo y la Figura 10 proporcionan el nivel de HbA1c a los días 0 y 27 en el grupo de control diabético y el grupo después del tratamiento crónico con el Compuesto 1. El efecto fue estadísticamente significativo incluso en comparación con la semaglutida.

Tabla 9: Efecto del tratamiento sobre los niveles de % de HbA1c en ratones db/db

Punto temporal (días)	% de HbA1c										
	Control diabético (DC)			Compuesto 1				Semaglutida			
	Media	SD	n	Media	SD	n	% de cambio frente a DC	Media	SD	n	% de cambio frente a DC

0	4.70	0.52	6	4.87	0.59	6	-	5.05	0.35	5	-
27	7.30	1.17	6	3.73***##	0.86	6	-3.57	5.03***	0.69	5	-2.26

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 frente al control diabético; ANOVA bidireccional seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni

5 #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 frente a semaglutida; ANOVA unidireccional seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni

En un estudio separado, se estudiaron los Compuestos de prueba 1, 13 y 16 y se compararon con la semaglutida por su efecto sobre la HbA1c y el nivel de insulina y consumo de alimentos acumulado, cambio de peso corporal y AUC de glucosa en sangre. El estudio se realizó de manera similar al anterior en un modelo de ratón diabético. Los animales se dividieron en tres grupos de tratamiento: un grupo de control diabético, un grupo de prueba y un grupo de tratamiento con semaglutida. Los compuestos representativos de la presente descripción, Compuesto 1, Compuesto 13 y Compuesto 16, se inyectaron por vía subcutánea a una dosis de 3.04 o 6.078 nM (cada día alterno hasta el día 28 (q2d*15). Se administró el mismo régimen de dosificación en el grupo de tratamiento con semaglutida. Se midieron diariamente los niveles de glucosa en sangre y el peso corporal. El % de HbA1c y la insulina se midió el día 0, el día 14 y el día 29. Se calculó la ingesta de alimentos acumulada y el cambio de peso corporal los días 14 y 29. Los datos de % HbA1c, insulina se analizaron mediante ANOVA bidireccional seguido de pruebas posteriores de Bonferroni mediante el uso de PRISM (Graph Pad versión 5.03). Mientras que los datos del AUC de glucosa en sangre, el cambio de peso corporal y la ingesta de alimentos acumulada se analizaron mediante un ANOVA unidireccional seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni

mediante el uso de PRISM (Graph Pad versión 5.03). Desde el día 29 hasta el día 45, los animales se mantuvieron en un período de recuperación durante el cual no se administró ningún tratamiento farmacológico. Durante este período se midió la glucosa en sangre y el peso corporal. El día 45, se midieron los cambios de peso corporal, % de HbA1c, e insulina.

Los resultados se proporcionan en las Tablas 10, 11 y 12 más abajo.

10

Tabla 10: HbA1C (%): Compuesto 1 (6.078 nM), Compuesto 13 (3.04 y 6.078 nM), Compuesto 16 (3.04 y 6.078 nM); (q2d*15) (n=7)

Punto tempo ral (días)	% de HbA1C													
	Control diabético (DC)		Compues to 1, 6.078 nM, q2d*15		Compues to 13, 3.04 nM, q2d*15		Compues to 13, 6.078 nM, q2d*15		Compues to 16, 3.04 nM, q2d*15		Compues to 16, 6.078 nM, q2d*15		Semaglut ida, 12.15 nM, q2d*15	
	Med ia	S D	Med ia	S D	Med ia	S D	Med ia	SD	Med ia	SD	Med ia	SD	Medi a	SD
0	7.72	1.1	7.88	0.8	7.75	1.1	7.83	0.76	7.74	1.27	7.83	0.99	7.66	1.13
14	8.00	1.1	6.4**	0.5	6.6*	0.9	6.00***	0.53	5.67*** #	0.68	5.64*** #	0.49	7.04	1.15
29	8.30	1.1	6.2***	0.5	6.4***	0.8	5.64***	0.51	5.33*** #	0.39	5.16*** #	0.24	6.47***	1.03

*=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001 frente a control diabético,
 #p<0.05, # p<0.01, ###p<0.001 frente a semaglutida; ANOVA de una vía seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni

5 **Tabla 11: Insulina (ng/ml): Compuesto 1 (6.078 nM), Compuesto 13 (3.04 y 6.078 nM), Compuesto 16 (3.04 y 6.078 nM); (q2d*15) (n=7)**

Punto tempo- ral (días)	Insulina (ng/ml)													
	Control diabético		Compuesto 1, 6.078 nM, q2d*15		Compuesto 13, 3.04 nM, q2d*15		Compuesto 13, 6.078 nM, q2d*15		Compuesto 16, 3.04 nM, q2d*15		Compuesto 16, 6.078 nM, q2d*15		Sema, 12.15 nM, q2d*15	
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD
0	17.6	5.5	18.0	5.8	21.7	12.1	26.2	14.0	13.9	6.6	21.8	9.6	18.7	10.3
14	23.0	10.7	58.1*	31.6	41.8	28.2	61.2*	23.7	50.8	27.7	58.1*	12.5	37.5	26.5
29	16.9	6.6	54.7*	6.4	54.4	27.0	59.4*	22.4	53.8	23.5	68.2*	27.1	48.1	25.3

*=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001 frente a Control diabético,
 #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 frente a semaglutida; ANOVA unidireccional seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni

15 **Tabla 12: Consumo de alimentos acumulado, AUC de glucosa en sangre(mg/dl*días) y cambios de peso corporal: Compuesto 1 (6.078 nM), Compuesto 13 (3.04 y 6.078 nM), Compuesto 16 (3.04 y 6.078 nM); (q2d*15)**

Grupos (n=7)	Ingesta de alimentos acumulada (g) Día 0-29		AUC de glucosa en sangre (día 0-29) (mg/dl*días)			Cambio de peso corporal Día 29, % de cambio frente al Día 0	
	Media	SD	Media	SD	% de cambio frente a Control	Media	SD
Control diabético	99.3	37.16	16 948.1	281.48		9.4	6.4
Compuesto 1, 6.078 nM	79.8	25.09	9194.6***	450.84	-45.75	-0.3	2.2
Compuesto 13, 3.04 nM	75.2	18.45	9515.4***	805.21	-43.86	1.2	3.8
Compuesto 13, 6.078 nM	70.4	10.85	8451.7***##	612.94	-50.13	-1.1	2.4
Compuesto 16, 3.04 nM	77.4	23.82	9399.0***	680.38	-44.54	-1.4	5.4
Compuesto 16, 6.078 nM	66.7	29.48	8086.1***##	623.80	-52.29	-5.5	3.1
Semaglutida, 12.155 nM	92.0	6.64	9867.9***	832.73	-41.78	0.7	3.9

*=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001 frente a Control diabético, #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 frente a semaglutida; ANOVA unidireccional seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni

5

Los compuestos representativos de la presente descripción (Compuestos 1, 13 y 16) a dosis de aproximadamente 3 nM y 6 nM mostraron una reducción significativa en HbA1c, glucosa en sangre, consumo de alimentos y peso corporal en comparación con el control (Tabla 12). La reducción fue comparable a la mostrada por la semaglutida a una dosis de aproximadamente 12 nM. Además, el efecto se observó incluso después de 29 días

10

(Tablas 13 y 14), lo que demuestra el potencial de los compuestos de la presente invención para desarrollar fármacos de acción prolongada que no requieren una administración frecuente y, por lo tanto, aumentan el cumplimiento del

5 paciente.

Tabla 13: Estudio de recuperación-AUC de glucosa en sangre
(mg/dl*días)

Grupos (n=3)	AUC de glucosa en sangre (día 30-37) (mg/dl*días)		% de cambio frente a control	AUC de glucosa en sangre (día 38-45) (mg/dl*días)		% de cambio frente a control
	Media	SD		Media	SD	
Control diabético	3591.7	47.04		3601.7	38.66	
Compuesto 1, 6.078 nM	2787.3*	17.67	-22.39	3335.7	66.11	-7.39
Compuesto 13, 3.04 nM	2588.7**	411.97	-27.93	3401.0	61.00	-5.57
Compuesto 13, 6.078 nM	2875.7	436.87	-19.94	3361.0	205.83	-6.68
Compuesto 16, 3.04 nM	2420.0**	89.71	-32.62	3284.0*	81.66	-8.82
Compuesto 16, 6.078 nM	2167.7***	210.19	-39.65	3134.7**	103.39	-12.97
Semaglutida, 12.155 nM	3032.0	182.40	-15.58	3415.7	88.82	-5.16

10 *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 frente a Control diabético y #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 frente a semaglutida; ANOVA de una vía seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni

Tabla 14: Estudio de recuperación: % de HbA1C e insulina
(ng/ml)

15

Grupos (n=3)	% de HbA1C		Delta HbA1C frente a DC	Insulina (ng/ml)		% de cambio de peso corporal frente al día 45	
	Media	SD		Media	SD	Media	SD
Control diabético	8.5	0.4		20.6	12.0	7.8	1.08
Compuesto 1, 6.078 nM	7.6	0.5	-0.9	30.9	8.9	5.9	3.68
Compuesto 13, 3.04 nM	7.5	0.4	-1.0	31.2	32.7	6.6	0.86
Compuesto 13, 6.0788 nM	7.3	0.4	-1.2	34.3	12.4	5.5	2.19
Compuesto 16, 3.04 nM	7.1*	0.2	-1.4	15.5	8.2	6.1	0.38
Compuesto 16, 6.078 nM	7.2*	0.5	-1.3	18.4	18.7	5.7	0.36
Semaglutida, 12.155 nM	7.8	0.3	-0.7	19.7	4.2	9.5	4.68

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 frente a Control diabético y #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 frente a semaglutida; ANOVA de una vía seguido de pruebas a posteriori de Bonferroni

5

Estos resultados demuestran que el compuesto de la presente invención puede encontrar un uso potencial para el tratamiento de la diabetes y la obesidad.

REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos:

H-X2-X3-X4-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-X16-G-Q-A-A-X21-E-F-X24-

5 A-W-L-V-R-G-R-G-X33-X34

en donde X2 es Ser, Ser(OMe), D-Ser, D-Ser(OMe), Ala o Aib;

X3 está ausente o es Gln;

X4 es Glu;

X16 es Glu;

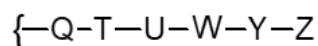
10 X24 es Ile;

X33 es Leu, -D-Leu, D-Ile o Ile;

X34 está ausente y

X21 es Lys, en donde el grupo amino (ϵ amino) de la cadena lateral de la Lys está acilado con una porción:

15

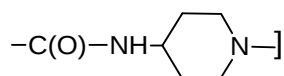


en donde Q y T están ausentes;

U está ausente o es $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-\}$, en donde } es el punto de unión con el grupo W;

20

W está ausente o se selecciona de un grupo que consiste en $-C(O)-CH_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-]$, $-C(O)-NH-(CH_2)_{3-4}-NH-]$, $-C(O)-C(CH_3)_2-NH-]$ y



25

en donde] es el punto de unión con el grupo Y;

Y es $-C(O)-(CH_2)_2-CH(COOH)NH--$ y -- es el punto de unión con el grupo Z;

Z es $-C(O)-(CH_2)_n-COOH$ o $-C(O)-(CH_2)_n-CH_3$, en donde n es un número entero de 14 a 20.

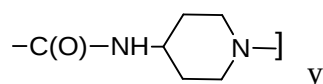
30

2. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde
 X2 es Aib;
 X3 está ausente;
 X33 es Leu;
 5 U es $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\}$;
 W es $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-]$ y
 Z es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, en donde n es un número entero 16.

3. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde
 10 X2 es Aib;
 X3 está ausente;
 X33 es Leu;
 U es $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\}$;
 W es $-\text{C}(\text{O})-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{NH}-]$ y
 15 Z es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, en donde n es un número entero 16.

4. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde
 X2 es Aib;
 X3 está ausente;
 20 X33 es Leu;
 U es $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\}$;
 W es $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}-]$ y
 Z es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, en donde n es un número entero 16.

25 5. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde
 X2 es Aib;
 X3 está ausente;
 X33 es Leu;
 U es $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\}$;
 30 W es



Z es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, en donde n es un número entero 16.

6. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde

5 X2 es Aib;

X3 está ausente;

X33 es Leu;

U es $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\}$;

W es $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-]$ y

10 Z es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, en donde n es un número entero 16.

7. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde

X2 es Ser, Ser(OMe), D-Ser, D-Ser(OMe);

X3 está ausente;

15 X33 es Leu;

U es $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\}$;

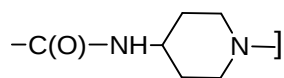
W es $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-]$, $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{3-4}-\text{NH}-]$, $-\text{C}(\text{O})-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{NH}-]$ y

20 Z es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ o $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$, en donde n es un número entero de 14 a 20.

8. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde

W se selecciona de un grupo que consiste en $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{3-4}-\text{NH}-]$, $-\text{C}(\text{O})-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{NH}-]$ y

25



9. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde

X2 es Ala;

30 X3 está ausente;

X33 es Leu;

W está ausente;

Z es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$, en donde n es un número entero 14.

10. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde

X2 es Aib;

5 X3 está ausente;

X33 es Leu;

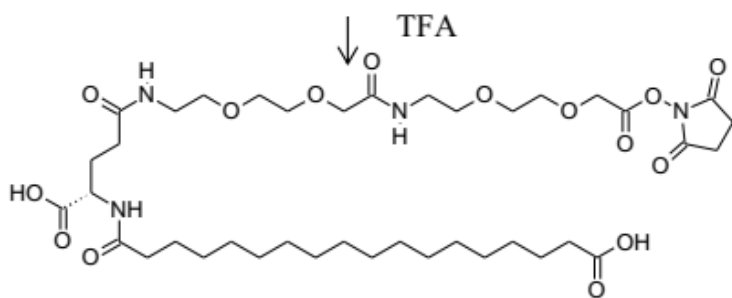
W está ausente;

Z es $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$, en donde n es un número entero 14.

RESUMEN

La presente descripción se refiere a análogos novedosos del péptido similar al glucagón-1 (GLP-1) (7-37) que tienen una
5 secuencia de aminoácidos con Leu o Ile en el C-terminal. Los nuevos análogos son potentes agonistas de GLP-1 con efecto adverso reducido y duración de la acción mejorada. La presente descripción se refiere además a derivados acilados de los nuevos análogos que tienen una potencia y duración de la acción
10 mejoradas adicionalmente y son adecuados para la administración oral. Los análogos de la presente descripción pueden ser útiles en el tratamiento de la diabetes y la obesidad.

2-Cl-Trt-Resina + ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético
 ↓ DIPEA
 ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina
 ↓ Piperidina al 50 % en DMF
 ácido 2-[2-(2-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina
 ↓ ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético, DIPC +HOBt
 ácido 2-[2-[2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina
 ↓ Piperidina al 50 % en DMF
 ácido 2-[2-[2-[2-(2-aminoetoxi)etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina
 ↓ Fmoc-Glu-OtBu +DIPC+HOBt
 ácido 2-[2-[2-[2-[2-(2-Fmoc-amino-5-terc-butoxi-5-oxo-pentanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina
 ↓ Piperidina al 50 % en DMF
 ácido 2-[2-[2-[2-[2-(2-amino-5-terc-butoxi-5-oxo-pentanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina
 ↓ éster mono terc-butílico del ácido octadecanodioico +DIPC+HOBt
 ácido [2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-5-terc-butoxi-4-[(18-terc-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acético]-2-Cl-Trt-Resina
 ↓ Trifluoroetanol:DCM (1:1)
 ácido 2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-5-terc-butoxi-4-[(18-terc-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]etoxi]etoxi]acetil]amino]etoxi]etoxi]acético
 ↓ IBCF+NMM+HOSu
 18-[[[(1S)-1-terc-butoxicarbonil-4-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi-2-oxo-etoxi]etoxi]etilamino]-2-oxo-etoxi]etoxi]etilamino]-4-oxo-butil]amino]-18-oxo-octadecanoato de terc-butilo



Porción A-OSu

Figura 1A

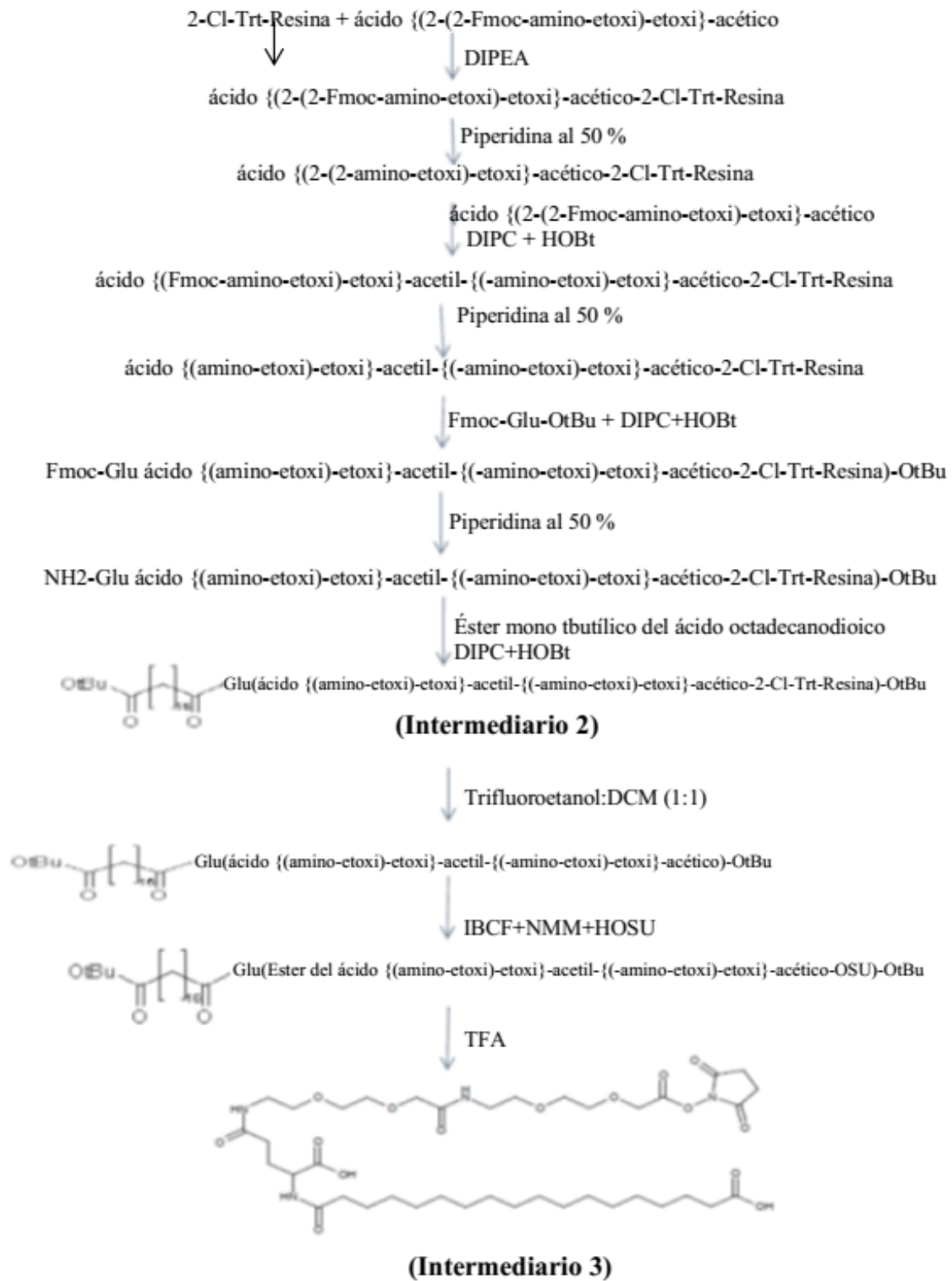
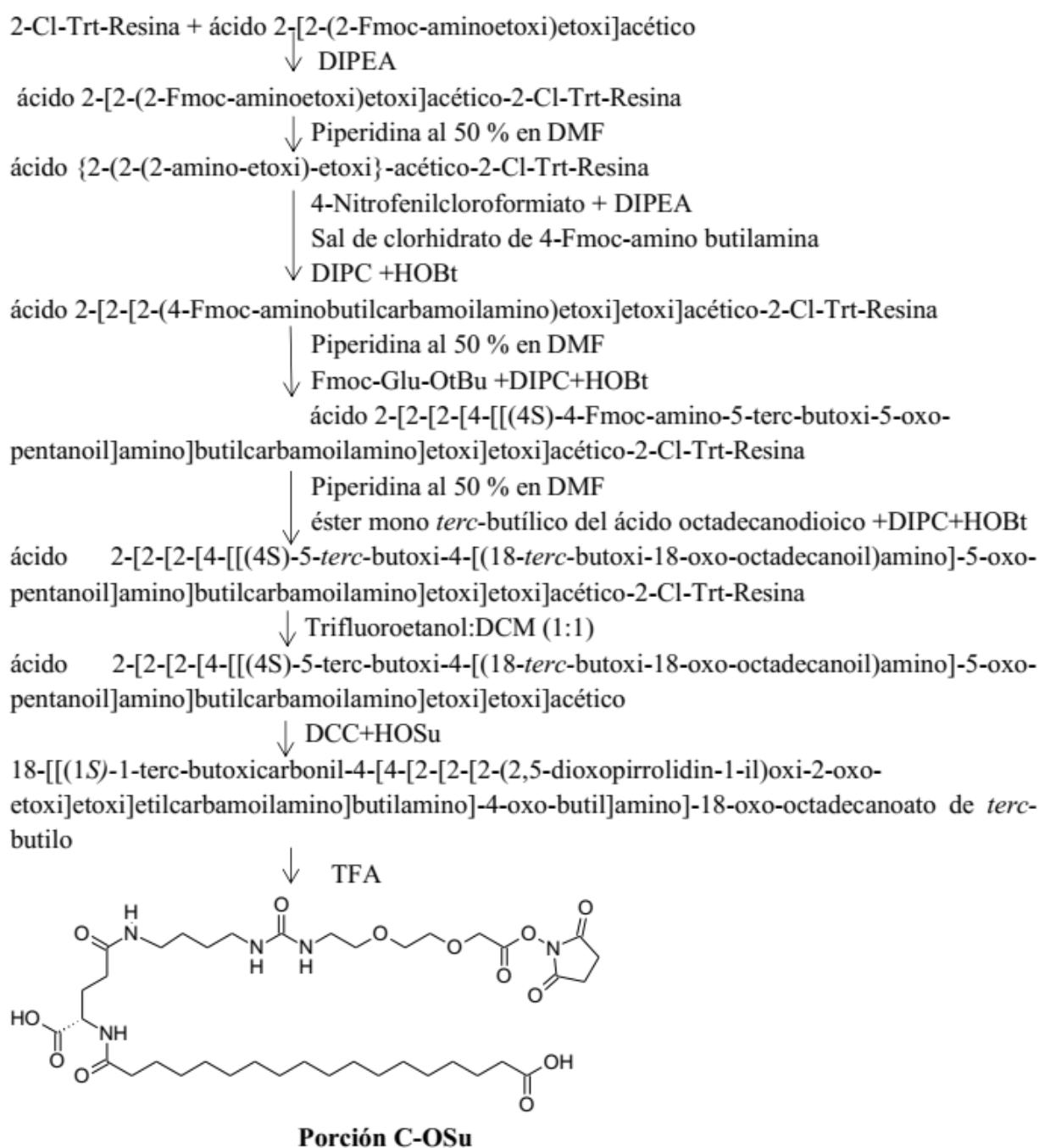
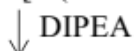


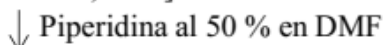
Figura 1B

**Figura 2**

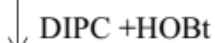
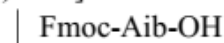
2-Cl-Trt-Resina + ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético



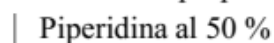
ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina



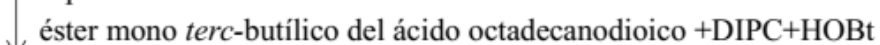
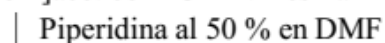
ácido 2-[2-(2-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina



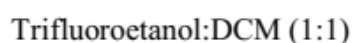
ácido 2-[2-[2-[(2-Fmoc-amino-2-metil-propanoil)amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina



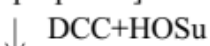
ácido 2-[2-[2-[2-[[[(4S)-4-Fmoc-amino-5-*terc*-butoxi-5-oxo-pentanoil]amino]-2-metil-propanoil]amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina



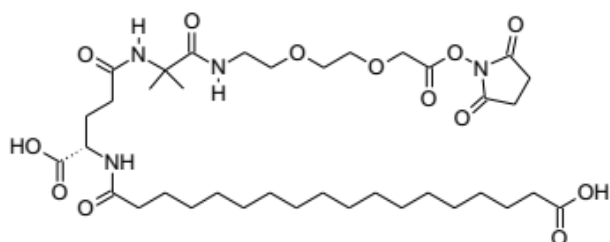
ácido 2-[2-[2-[2-[[[(4S)-5-*terc*-butoxi-4-[(18-*terc*-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]-2-metilpropanoil]amino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina



ácido 2-[2-[2-[2-[[[(4S)-5-*terc*-butoxi-4-[(18-*terc*-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]-2-metil-propanoil]amino]etoxi]etoxi]acético



18-[[[(1S)-1-*terc*-butoxicarbonil-4-[[2-[2-[2-[2-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi-2-oxo-etoxi]etoxi]etilamino]-1,1-dimetil-2-oxo-etil]amino]-4-oxo-butil]amino]-18-oxo-octadecanoato de *terc*-butilo



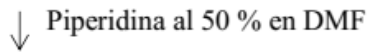
Porción D-OSu

Figura 3

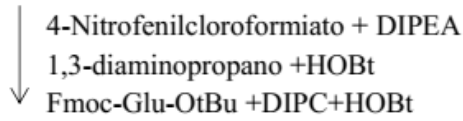
2-Cl-Trt-Resina + ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético



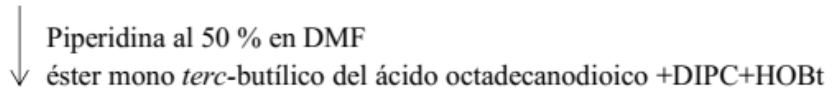
ácido 2-[2-(2-Fmoc-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina



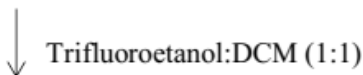
ácido 2-[2-(2-aminoetoxi)etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina



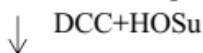
ácido 2-[2-[2-[3-[[[(4S)-4-Fmoc-amino-5-terc-butoxi-5-oxo-pentanoil]amino]propilcarbamoilamino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina



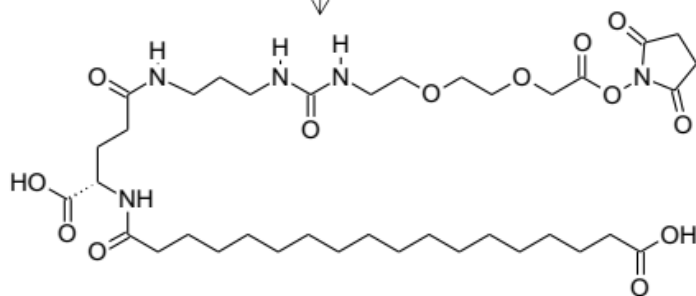
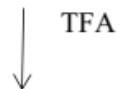
ácido 2-[2-[2-[3-[[[(4S)-5-terc-butoxi-4-[(18-terc-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]propilcarbamoilamino]etoxi]etoxi]acético-2-Cl-Trt-Resina



ácido 2-[2-[2-[3-[[[(4S)-5-terc-butoxi-4-[(18-terc-butoxi-18-oxo-octadecanoil)amino]-5-oxo-pentanoil]amino]propilcarbamoilamino]etoxi]etoxi]acético

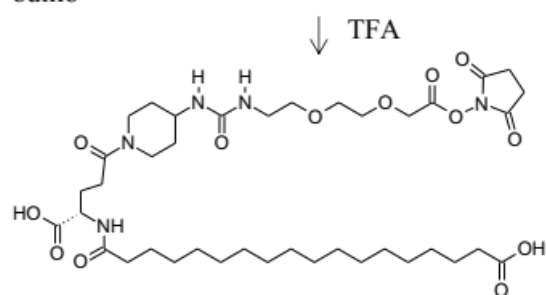
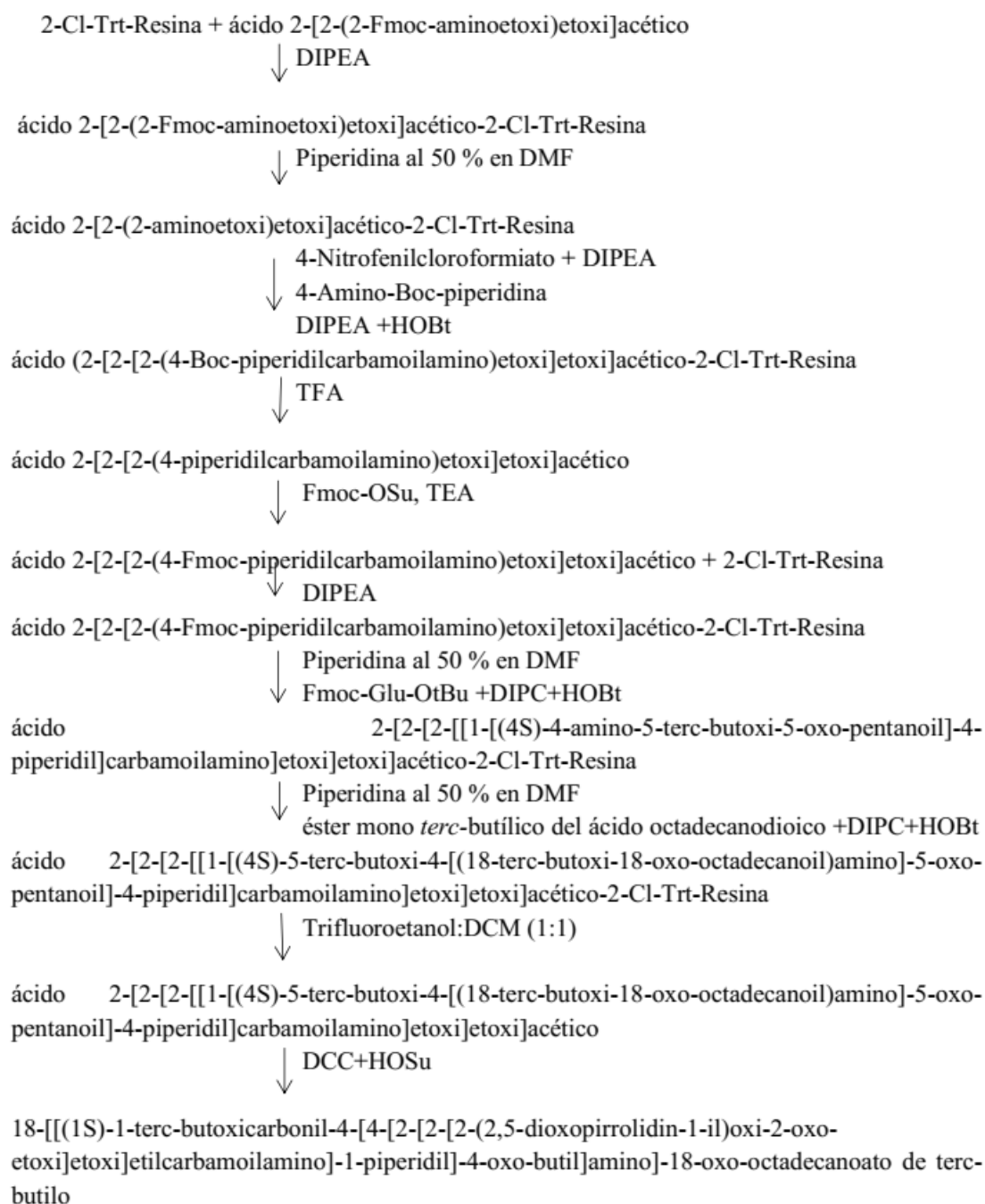


18-[[[(1S)-1-terc-butoxicarbonil-4-[3-[2-[2-[2-(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi-2-oxo-etoxi]etoxi]etilcarbamoilamino]propilamino]-4-oxo-butil]amino]-18-oxo-octadecanoato de terc-butilo



Porción E-OSu

Figura 4



Porción F-OSu

Figura 5

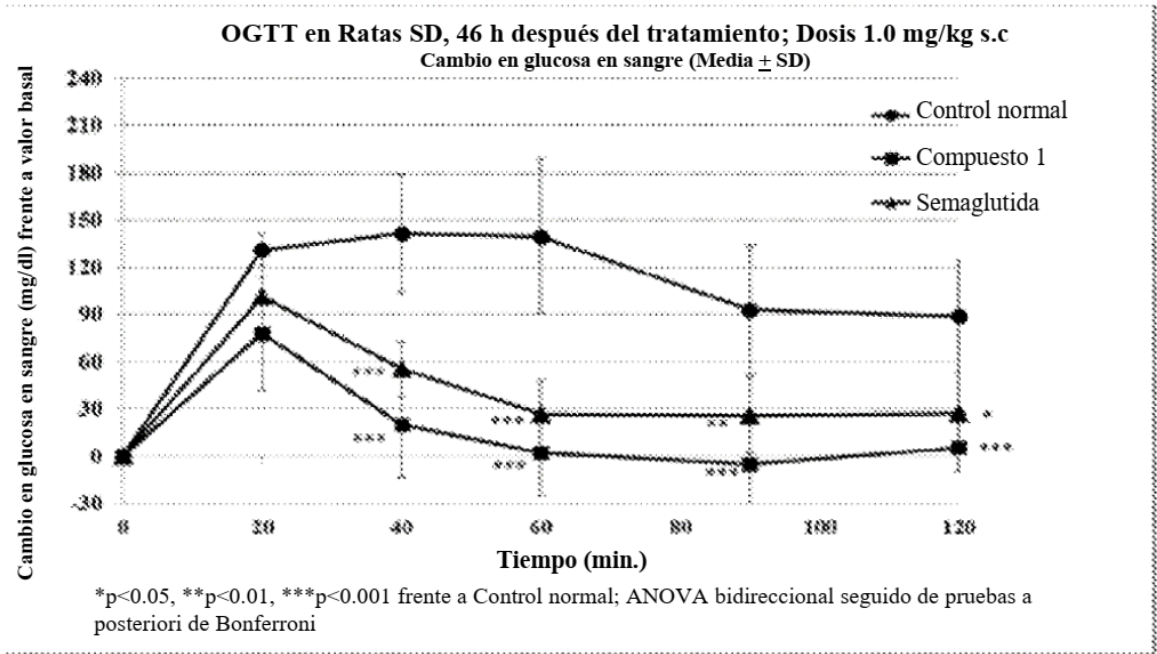


Figura 6 (A)

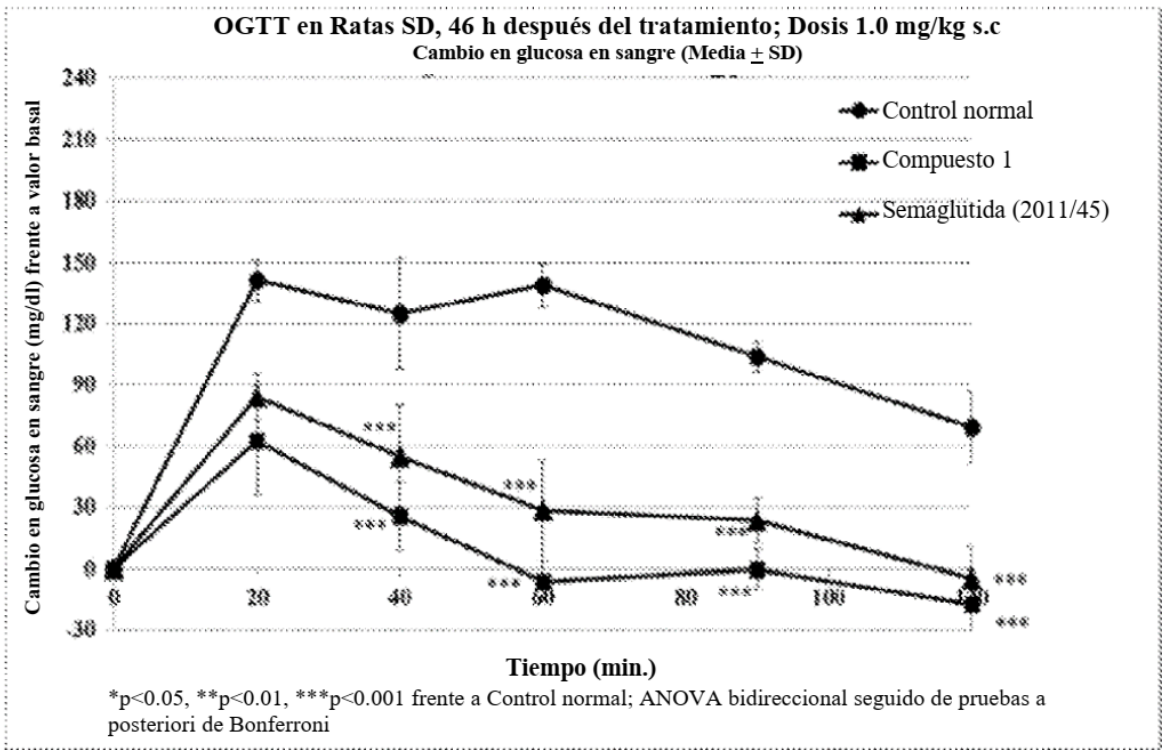


Figura 6 (B)

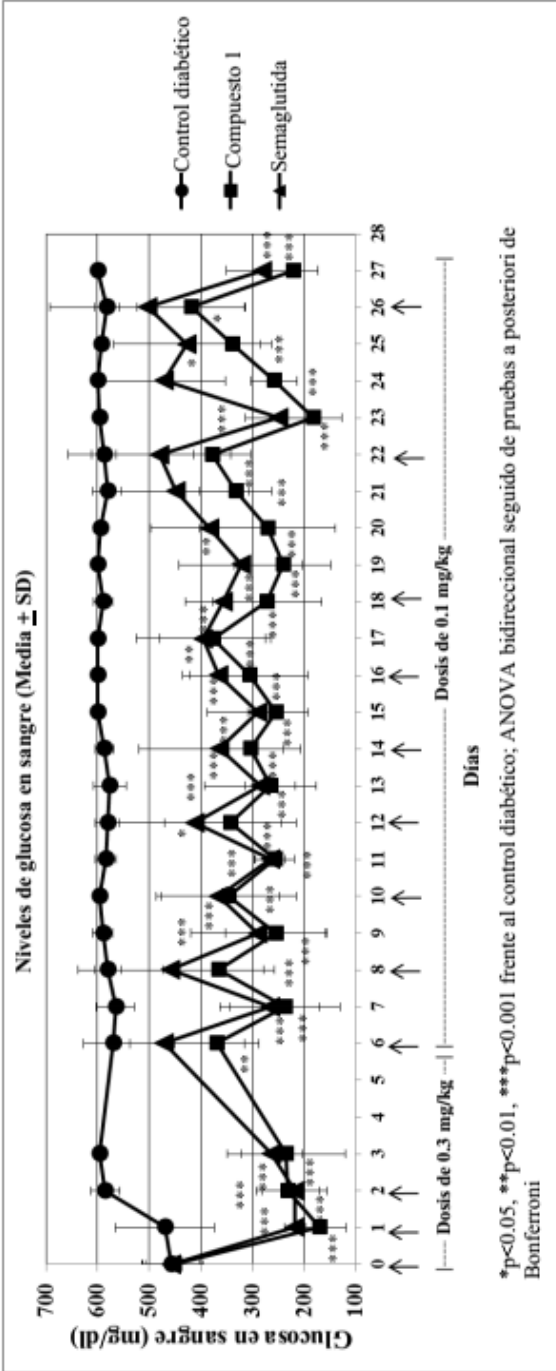
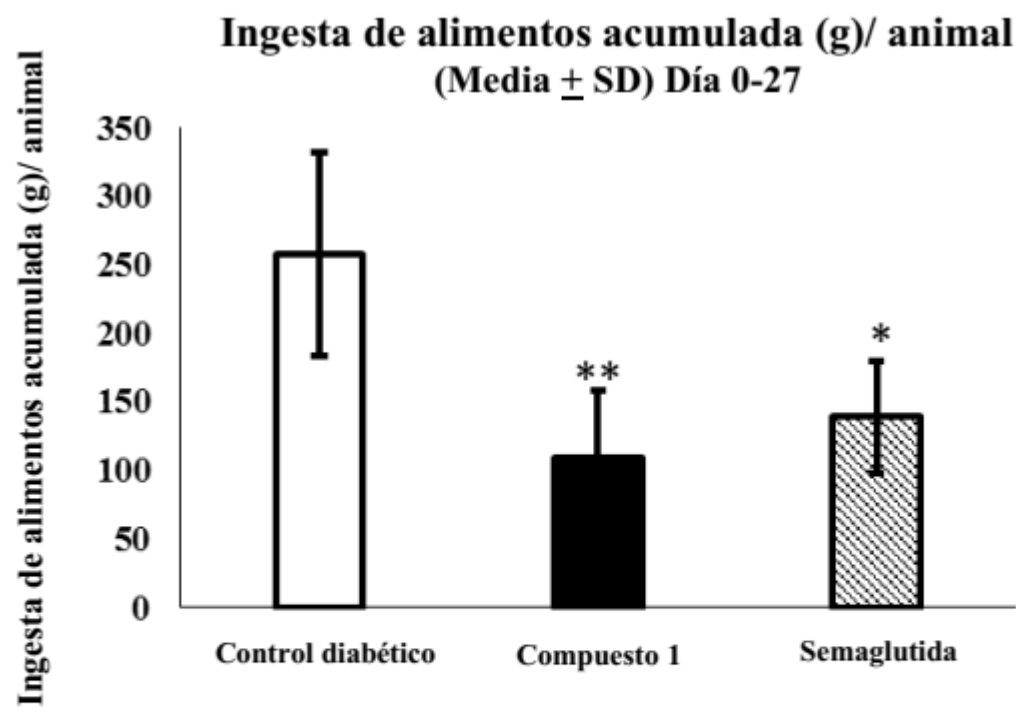


Figura 7



*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 frente al control diabético; ANOVA unidireccional seguido de pruebas a posteriori de Dunnett

Figura 8

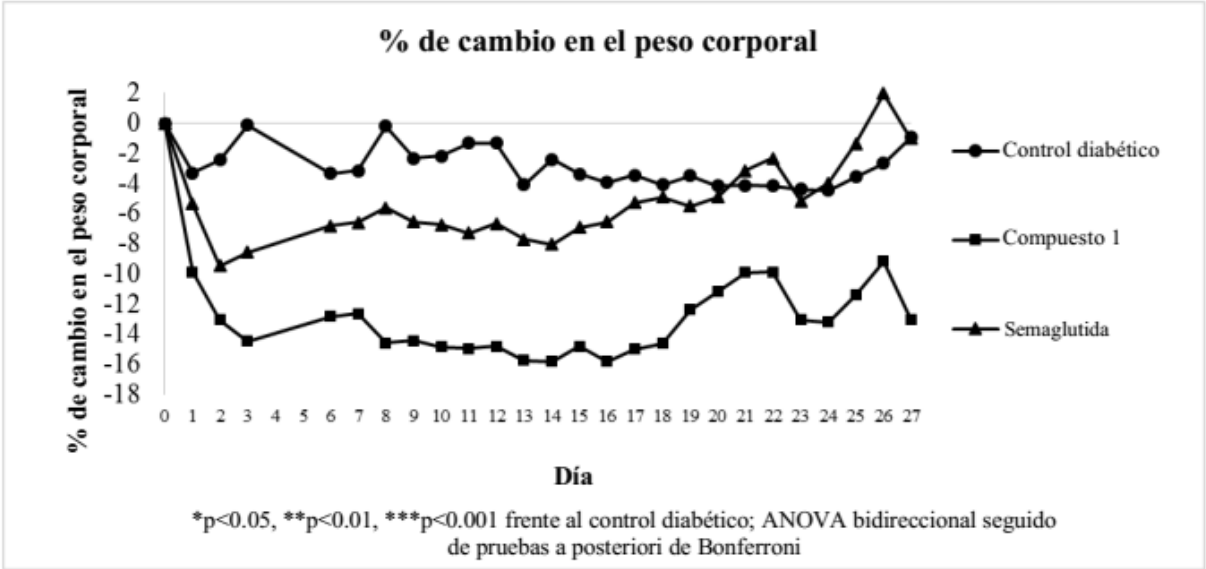


Figura 9

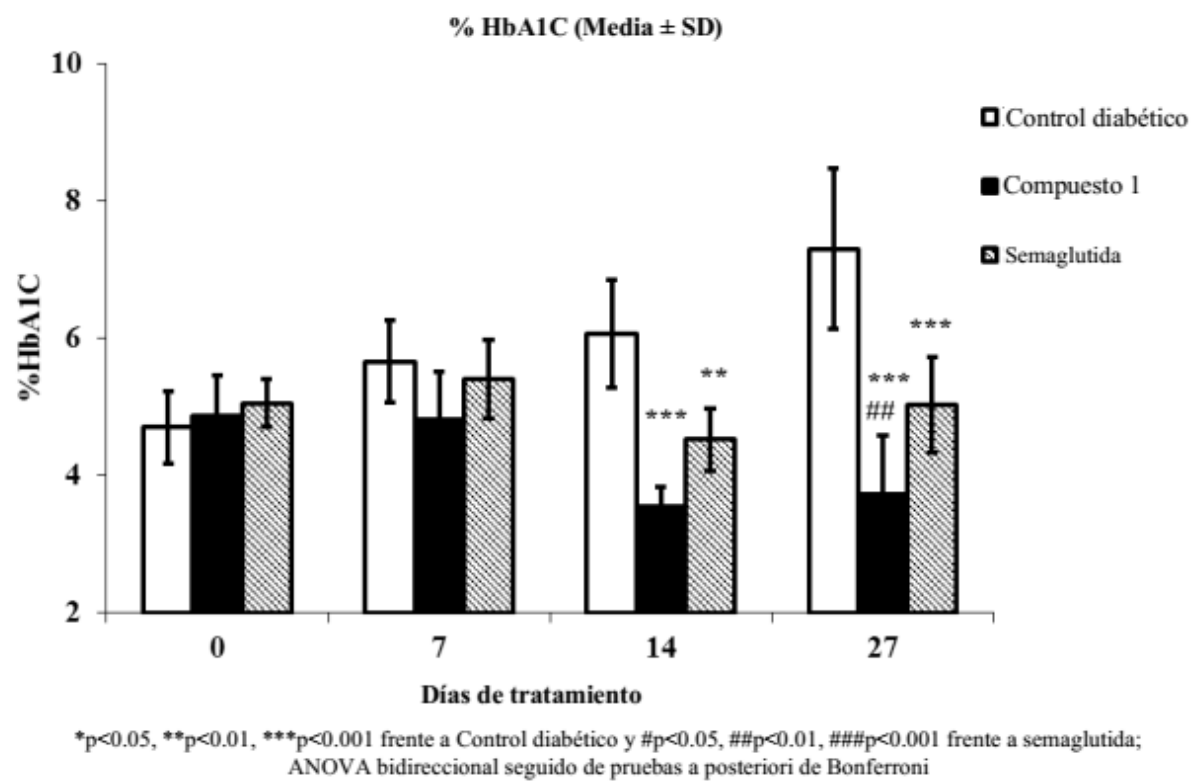


Figura 10