

AGONISTA DUAL DE GLP-1/GIP, MÉTODO DE PREPARACIÓN Y USO DEL MISMO

CAMPO TÉCNICO

La presente invención se relaciona con el campo de la medicina, y en particular se relaciona con un agonista dual de GLP-1/GIP y su uso en la fabricación de un medicamento para tratar la diabetes mellitus.

ANTECEDENTES

La diabetes mellitus de Tipo II es una clase de enfermedad metabólica crónica caracterizada clínicamente por hiperglucemia causada por resistencia a la insulina. La elevada glucosa en sangre puede aumentar la incidencia y mortalidad de otras enfermedades. Todos los métodos comúnmente utilizados para tratar la enfermedad actualmente, tales como realizar más ejercicio, controlar la dieta, administrar oralmente una droga hipoglucémica e inyectar una droga terapéutica sólo pueden mantener temporalmente el equilibrio de glucosa en sangre, y fundamentalmente no pueden tratar la diabetes mellitus y diversas complicaciones complejas causadas por la hiperglucemia. En consecuencia, es de gran importancia clínica explorar ampliamente y desarrollar una droga terapéutica para tratar la diabetes mellitus que involucre novedosos mecanismos hipoglucémicos con elevada seguridad.

El péptido-1 de tipo glucagon (GLP-1, por sus siglas en inglés) es una clase de hormona producida principalmente por las células L intestinales y pertenece a las incretinas. La GLP-1 es una importante hormona incretina secretada por las células L intestinales, y sus funciones fisiológicas principales en el cuerpo incluyen estimular la secreción y liberación de insulina, inhibir la secreción de glucagon, promover la proliferación de células β pancreáticas e inhibir su apoptosis, inhibir el vaciamiento gástrico, promover la generación de saciedad y lo similar. La función del polipéptido insulínico dependiente de la glucosa (GIP, por sus siglas en inglés) es regular la glucosa en sangre mediante la promoción de insulina y glucagon, lo cual también ha sido ampliamente confirmado y aplicado.

Se han descrito compuestos con actividad agonista dual de GLP-1/GIP en las WO2013164483A1, WO2014192284A1 y WO2016111971A1.

Modificar un polipéptido con un ácido graso, mediante lo cual la cadena de ácido graso está físicamente unida a un subdominio/motivo de albúmina, puede, por ejemplo, aumentar la vida media, mejorando de ese modo la farmacocinética del péptido. Aunque la vida

media de un péptido puede mejorarse mediante el uso de un ácido graso, el efecto prolongado específico y algunos efectos secundarios son aún problemas técnicos que necesitan ser resueltos.

Una serie de efectos adversos se produce mediante GLP-1. Por ejemplo, hay preocupaciones en cuanto a los efectos de agonistas del receptor de GLP-1 en tejidos de páncreas y tiroides, ya que estudios en animales y análisis de bases de datos de drogas han demostrado que estas drogas están asociadas con pancreatitis, cáncer de páncreas y cáncer de tiroides. De acuerdo con otros casos informados, el uso de GLP-1 (principalmente Exenatide) está asociado con la aparición de daño renal agudo, principalmente debido a perturbaciones hemodinámicas causadas por náuseas, vómitos y diarrea. Los síntomas más comunes asociados con el uso de agonistas del receptor de GLP-1 son síntomas gastrointestinales, principalmente que incluyen náusea. Otras reacciones adversas comunes incluyen reacciones en el sitio de inyección, dolor de cabeza y nasofaringitis y lo similar (Filippatos TD, Panagiotopoulou TV, Elisaf MS. *Adverse Effects of GLP-1 Receptor Agonists*. Rev Diabet Stud. 2014 otoño-invierno; 11(3-4):202-30. doi: 10.1900/RDS.2014.11.202. Epub 10 Feb 2015. PMID: 26177483; PMCID: PMC5397288.)

Respecto de los efectos secundarios de Tirzepatide (Mathiesen DS, Bagger JI, Bergmann NC, Lund A, Christensen MB, Vilsbøll T, Knop FK. *The Effects of Dual GLP-1/GIP Receptor Agonism on Glucagon Secretion-A Review*. Int J Mol Sci. 2019 Ago 22;20(17): 4092. doi: 10.3390/ijms20174092. PMID: 31443356; PMCID: PMC6747202.): a la dosis más alta, el número de eventos adversos causados por Tirzepatide excede aquél causado por Dulaglutide, especialmente eventos adversos en el tracto gastrointestinal (66,0% para sujetos que tomaron 15 mg de Tirzepatide versus 42,6% para los sujetos que tomaron 1,5 mg de Dulaglutide), y el número total de episodios hipoglucémicos causados por Tirzepatide también excede aquél causado por Dulaglutide (7,5% para los sujetos que tomaron 15 mg de Tirzepatide versus 3,7% para los sujetos que tomaron Dulaglutide) (Frias J.P., Nauck M.A., Van J., Kutner M.E., Cui X., Benson C., Urva S., Gimeno R.E., Milicevic Z., Robins D., et al. *Efficacy and safety of LY3298176, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist, in subjects with type 2 diabetes mellitus: a randomised, placebo-controlled and active comparator-controlled phase 2 trial*. Lancet. 2018;392:2180–2193. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32260-8). Con el objeto de evitar este problema, se informó una estrategia de titulación para reducir los eventos adversos de Tirzepatide (Frias J.P., Nauck M.A., Van J., Benson C., Bray R., Milicevic Z., Haupt A., Robins D.A. 993-P: *A 12-week, randomized, placebo-controlled study assessing the efficacy and safety of three dose-escalation algorithms of Tirzepatide, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist, in subjects with type 2 diabetes mellitus*. Diabetes mellitus. 2019;68:993. doi: 10.2337/db19-993-P). Más aún, comparando con los estudios

previamente informados, el régimen de escalado de dosis de tres etapas para administrar 15 mg de Tirzepatide parece ineficaz para reducir la incidencia global de efectos secundarios gastrointestinales (Frias J.P., Nauck M.A., Van J., Kutner M.E., Cui X., Benson C., Urva S., Gimeno R.E., Milicevic Z., Robins D., et al. *Efficacy and safety of LY3298176, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist, in subjects with type 2 diabetes mellitus: a randomised, placebo-controlled and active comparator-controlled phase 2 trial*. Lancet. 2018;392:2180–2193. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32260-8). En los sujetos administrados con 15 mg de Tirzepatide, la incidencia de episodios hipoglucémicos también aumentó hasta aproximadamente 16%. Aunque el tratamiento con Tirzepatide estaba aún asociado con la pérdida de peso deseada (aproximadamente 5,6 kg después de 12 semanas), la elevada incidencia de efectos secundarios gastrointestinales provocó incertidumbre respecto del potencial clínico de Tirzepatide. Además, la estrategia de titulación dada en las instrucciones del producto comercial para Tirzepatide dura un tiempo prolongado. La dosificación inicial es de 2,5 mg y la dosificación aumenta hasta 5 mg después de 4 semanas. Si la dosificación necesita ser incrementada para controlar la glucosa en sangre, la dosificación actual debe mantenerse durante 4 semanas antes de incrementar unos 2,5 mg adicionales, lo cual es muy inconveniente.

En la actualidad, existe una necesidad en medicina de proporcionar nuevos compuestos, que sean agonistas duales de los receptores de GIP y GLP-1, y que tengan la posibilidad de ser administrados una vez a la semana, lo que ofrece una opción más segura, más eficaz y más conveniente.

Resumen de la invención.

Un objeto de la presente invención es proporcionar algunos compuestos agonistas duales de GLP-1/GIP de larga duración. Comparados con compuestos agonistas duales de GLP-1/GIP de la técnica, los compuestos de acuerdo con la presente invención tienen una larga vida media y/o una mayor duración de la acción. Los compuestos de acuerdo con la presente invención tienen un efecto hipoglucémico más fuerte. Los compuestos de acuerdo con la presente invención tienen menos efectos secundarios, incluyendo, pero no limitados a, reacciones gastrointestinales y riesgos de seguridad cardíaca y lo similar. Los compuestos de acuerdo con la presente invención podrían adoptar estrategias de titulación más breves. Los compuestos de acuerdo con la presente invención tienen una ventana de seguridad más amplia. Además, los compuestos de acuerdo con la presente invención tienen un efecto protector en el hígado.

Como parte de la presente invención, el solicitante halló que las selecciones en términos de la longitud, composición y posición de unión de las cadenas de ácido graso, y el enlazador

entre el péptido y la cadena de ácido graso, tienen un efecto inesperado en la prolongación de la vida media del polipéptido.

Una forma de realización de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (AI) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-A11-A12-A13-L-D-K-A17-A-Q-A20-E-F-V-K-W-L-L-K-A29-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K Fórmula (AI);

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe;

A11 es Aib o Ala;

A12 es Ala, Ile, Lys, Phe o Pya(4);

A13 es Aib, Cha, Leu, α MePhe o α MeTyr;

A17 es Gln o Ile;

A20 es Ala o Ser;

A29 es Gln o Gly;

1, 2, 3 o 4 K, que están seleccionadas del grupo que consiste en la K en la posición 16, la K en la posición 24, la K en la posición 28 y la K en la posición 40, están químicamente modificadas mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$, en donde cada $\underline{a}$ es independientemente un entero desde 0 a 5, cada $\underline{b}$ es independientemente un entero desde 0 a 5, y cada $\underline{c}$ es independientemente un entero desde 10 a 24, en donde Z está independientemente seleccionado del grupo que consiste en -CH₃, ácidos carboxílicos o bioisómeros de ácidos carboxílicos, fosfonatos o sulfonatos.

en una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (AI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde,

X₁ es Aib; X₂ es α MePhe;

A11 es Aib o Ala;

A12 es Ala, Ile, Lys, Phe o Pya(4);

A13 es Aib, Cha, Leu, α MePhe o α MeTyr;

A17 es Gln o Ile;

A20 es Ala o Ser;

A29 es Gln o Gly,

1, 2, 3 o 4 K, que están seleccionadas del grupo que consiste en la K en la posición 16, la K en la posición 24, la K en la posición 28 y la K en la posición 40, están químicamente modificadas mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}$, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; en donde Z está independientemente seleccionado del grupo que consiste en $-\text{CH}_3$, ácidos carboxílicos o bioisómeros de ácidos carboxílicos, fosfonatos o sulfonatos; además, la presente invención proporciona además compuestos en donde $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de 14, 16, 18 o 20.

El péptido de la anterior Fórmula (AI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde A11 es Aib; y/o

el péptido de la anterior Fórmula (AI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde A12 es Ile; y/o

el péptido de la anterior Fórmula (AI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde A13 es Aib; y/o

el péptido de la anterior Fórmula (AI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde A17 es Gln; y/o

el péptido de la anterior Fórmula (AI) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde A20 es Ala; y/o

el péptido de la anterior Fórmula (AI), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde A29 es Gly.

Una forma de realización de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K Fórmula (I);

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; 1, 2, 3 o 4 K, que están seleccionadas del grupo que consiste en la K en la posición 16, la K en la posición 24, la K en la posición 28 y la K en la posición 40, están químicamente modificadas mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}$, en donde cada $\underline{a}$ es independientemente un entero desde 0 a 5, cada $\underline{b}$ es independientemente un entero desde 0 a 5, y cada $\underline{c}$ es independientemente un entero desde 10 a 24, en donde Z está independientemente seleccionado del grupo que consiste en $-\text{CH}_3$, ácidos carboxílicos o

bioisósteros de ácidos carboxílicos, fosfonatos o sulfonatos; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde 1 K seleccionada del grupo que consiste en la K en la posición 16, la K en la posición 24, la K en la posición 28 y la K en la posición 40 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$. Por ejemplo, la K en la posición 16 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$. Por ejemplo, la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$. Por ejemplo, la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$. Por ejemplo, la K en la posición 40 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$.

En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde 2 K seleccionadas del grupo que consiste en la K en la posición 16, la K en la posición 24, la K en la posición 28 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$. Por ejemplo, la K en la posición 16 y la K en la posición 24 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$. Por ejemplo, la K en la posición 16 y la K en la posición 28 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$. Por ejemplo, la K en la posición 16 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$. Por ejemplo, la K en la posición 24 y la K en la posición 28 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$. Por ejemplo, la K en la posición 24 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$.

$[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$. Por ejemplo, la K en la posición 28 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$.

En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde 3 K seleccionadas del grupo que consiste en la K en la posición 16, la K en la posición 24, la K en la posición 28 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con tres cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$. Por ejemplo, la K en la posición 16, la K en la posición 24 y la K en la posición 28 están químicamente modificadas con tres cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$. Por ejemplo, la K en la posición 16, la K en la posición 24 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con tres cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$. Por ejemplo, la K en la posición 16, la K en la posición 28 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con tres cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$. Por ejemplo, la K en la posición 24, la K en la posición 28 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con tres cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$.

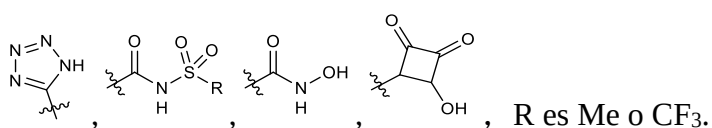
En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde 4 K seleccionadas del grupo que consiste en la K en la posición 16, la K en la posición 24, la K en la posición 28 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con cuatro cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$. Por ejemplo, la K en la posición 16, la K en la posición 24, la K en la posición 28 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con cuatro cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-Z}$.

En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Z está independientemente seleccionado del grupo que consiste en $-\text{CH}_3$, ácidos carboxílicos o

bioisósteros de ácidos carboxílicos, fosfonatos o sulfonatos, por ejemplo, pero no limitado a los casos en donde dicho Z puede comprender un grupo de ácido carboxílico ($-\text{CO}_2\text{H}$) o

de bioisósteros de ácidos carboxílicos (por ejemplo ) , de un ácido fosfónico ($-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$) o de un ácido sulfónico ($-\text{SO}_2\text{OH}$), preferiblemente $-\text{CO}_2\text{H}$.

En cuanto a bioisósteros de ácidos carboxílicos, se conocen en el arte bioisósteros de ácidos carboxílicos adecuados. Preferiblemente, los bioisósteros tienen protones con un pK_a similar al de los correspondientes ácidos carboxílicos. Los ejemplos de bioisósteros adecuados pueden incluir, pero no están limitados a, tetrazoles, acilsulfonamidas, acilhidroxilaminas y derivados de ácido escuárico, como se muestra a continuación:



En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, preferiblemente 1, 2 o 3, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, preferiblemente 1, 2 o 3, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde $\underline{c}$ es 14, 16, 18 o 20.

Una forma de realización de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K Fórmula (I);

en donde X₁ es Aib; X₂ es αMePhe ; X₃ es Aib; X₄ es Aib; 1 K o 2 K seleccionadas del grupo que consiste en la K en la posición 16, la K en la posición 24, la K en la posición 28 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$, en donde Z está independientemente seleccionado del grupo que consiste en $-\text{CH}_3$, ácidos carboxílicos o bioisósteros de ácidos carboxílicos, fosfonatos o sulfonatos, preferiblemente $-\text{CO}_2\text{H}$, en donde cada $\underline{a}$ es independientemente un entero desde 0 a 5, cada $\underline{b}$ es independientemente un entero desde 0 a 5, y cada $\underline{c}$ es independientemente un entero desde 10 a 24, y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X₁ es Aib; X₂ es

α MePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; 1 K o 2 K seleccionadas del grupo que consiste en la K en la posición 16, la K en la posición 24, la K en la posición 28 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}$, en donde Z está independientemente seleccionado del grupo que consiste en $-\text{CH}_3$, ácidos carboxílicos o bioisómeros de ácidos carboxílicos, fosfonatos o sulfonatos, preferiblemente $-\text{CO}_2\text{H}$, en donde a está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, b está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y c está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde c es 14, 16, 18 o 20.

Una forma de realización de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

$\text{Y-X}_1\text{-E-G-T-X}_2\text{-T-S-D-Y-X}_3\text{-I-X}_4\text{-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K}$ Fórmula (I);

en donde X_1 es Aib; X_2 es α MePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde a está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, b está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, y c está independientemente seleccionado de un entero de 10 a 24; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X_1 es Aib; X_2 es α MePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde a está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, b está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y c está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde c es 14, 16, 18 o 20.

Una forma de realización adicional de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

$\text{Y-X}_1\text{-E-G-T-X}_2\text{-T-S-D-Y-X}_3\text{-I-X}_4\text{-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K}$ Fórmula (I);

en donde X_1 es Aib; X_2 es α MePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K

con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 10 a 24; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X_1 es Aib; X_2 es αMePhe ; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde $\underline{c}$ es 14, 16, 18 o 20.

Una forma de realización adicional de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

Y- X_1 -E-G-T- X_2 -T-S-D-Y- X_3 -I- X_4 -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K Fórmula (I);

en donde X_1 es Aib; X_2 es αMePhe ; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 16 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 10 a 24; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X_1 es Aib; X_2 es αMePhe ; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 16 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde $\underline{c}$ es 14, 16, 18 o 20.

Una forma de realización adicional de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K Fórmula (I);

en donde X₁ es Aib; X₂ es αMePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 40 está químicamente modificada mediante conjugación del ε-amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H, en donde a está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, b está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, y c está independientemente seleccionado de un entero de 10 a 24; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X₁ es Aib; X₂ es αMePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 40 está químicamente modificada mediante conjugación del ε-amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H, en donde a está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, b está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y c está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde c es 14, 16, 18 o 20.

Una forma de realización adicional de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K Fórmula (I);

en donde X₁ es Aib; X₂ es αMePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 24 y la K en la posición 28 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε-aminos de las cadenas laterales de las K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H, en donde a está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, b está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, y c está independientemente seleccionado de un entero de 10 a 22; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X₁ es Aib; X₂ es αMePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 24 y la K en la posición 28 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε-aminos de las cadenas laterales de las K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_a-(γ-Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H, en donde a está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, b está independientemente

seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde $\underline{c}$ es 14, 16, 18 o 20.

Una forma de realización adicional de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K Fórmula (I);

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 16 y la K en la posición 24 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_a-(γ -Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 10 a 22; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 16 y la K en la posición 24 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_a-(γ -Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde $\underline{c}$ es 14, 16, 18 o 20.

Una forma de realización adicional de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K Fórmula (I);

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 16 y la K en la posición 28 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)_a-(γ -Glu)_b-CO-(CH₂)_c-CO₂H, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 10 a 22; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X_1 es Aib; X_2 es α MePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 16 y la K en la posición 28 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde a está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, b está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y c está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde c es 14, 16, 18 o 20.

Una forma de realización adicional de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

Y- X_1 -E-G-T- X_2 -T-S-D-Y- X_3 -I- X_4 -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K Fórmula (I);

en donde X_1 es Aib; X_2 es α MePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 16 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde a está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, b está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, y c está independientemente seleccionado de un entero de 10 a 22; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X_1 es Aib; X_2 es α MePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 16 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ϵ -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO-(CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde a está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, b está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y c está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde c es 14, 16, 18 o 20.

Una forma de realización adicional de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

Y- X_1 -E-G-T- X_2 -T-S-D-Y- X_3 -I- X_4 -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K Fórmula (I);

en donde X_1 es Aib; X_2 es α MePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 24 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 10 a 22; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X_1 es Aib; X_2 es α MePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 24 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde $\underline{c}$ es 14, 16, 18 o 20.

Una forma de realización adicional de la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

Y- X_1 -E-G-T- X_2 -T-S-D-Y- X_3 -I- X_4 -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K Fórmula (I);

en donde X_1 es Aib; X_2 es α MePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 28 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 0 a 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 10 a 22; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal.

En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X_1 es Aib; X_2 es α MePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 28 y la K en la posición 40 están químicamente modificadas con dos cadenas modificadoras mediante conjugación de los ε -aminos de las cadenas laterales de las K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_a(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-CO}_2\text{H}$, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un

entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde $\underline{c}$ es 14, 16, 18 o 20.

En todas las formas de realización anteriormente mencionadas, cada $\underline{a}$ es independientemente un entero de 1 a 3, cada $\underline{b}$ es independientemente un entero de 1 a 3, y cada $\underline{c}$ es independientemente un entero de 12 a 22. Además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde $\underline{c}$ es 14, 16, 18 o 20. Entre todas las formas de realización anteriormente descritas, se prefieren las formas de realización en las cuales está modificada la K en la posición 24 o la K en la posición 28.

En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la siguiente Fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:7).

En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la siguiente Fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:13).

En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la siguiente Fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:14).

En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la siguiente Fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₃-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:15).

En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la siguiente Fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₃-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:16).

En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la siguiente Fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:8).

En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la siguiente Fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:17).

En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la siguiente Fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₃-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:18).

En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la siguiente Fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₃-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:19).

En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la siguiente Fórmula o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₃-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:20).

La presente invención proporciona además un método para aumentar la duración de la acción del agonista dual de GLP-1/GIP en un sujeto, caracterizado por utilizar el agonista dual de GLP-1/GIP acilado proporcionado por la presente invención como se describe anteriormente.

En una forma de realización, la presente invención proporciona una composición que comprende el compuesto de acuerdo con la presente invención y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Una forma de realización proporciona un uso del compuesto de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriormente mencionadas en la fabricación de un

medicamento para tratar o prevenir una enfermedad seleccionada de hiperglucemia, tolerancia alterada a la glucosa, diabetes mellitus de Tipo I, diabetes mellitus de Tipo II, obesidad, hipertensión, Síndrome X, dislipidemia, deterioro cognitivo, aterosclerosis, infarto del miocardio, enfermedad cardíaca coronaria y otras enfermedades cardiovasculares, ataque cerebral, síndrome de intestino inflamatorio, dispepsia y úlceras gástricas.

Una forma de realización proporciona un uso del compuesto de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriormente mencionadas en la fabricación de un medicamento para demorar o prevenir el desarrollo de la enfermedad de diabetes mellitus de Tipo II.

Una forma de realización proporciona un uso del compuesto de acuerdo con una cualquiera de las formas de realización anteriormente mencionadas en la fabricación de un medicamento para reducir la ingesta de alimento, reducir la apoptosis de las células β , aumentar la función de las células β y el volumen de las células β , y/o restaurar la sensibilidad a la glucosa de las células β .

En una forma de realización, la presente invención proporciona un método para tratar diabetes mellitus de Tipo II, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz del compuesto de acuerdo con la presente invención.

En una forma de realización, la presente invención proporciona un método para mejorar el control de glucosa en sangre en un sujeto que sufre de diabetes mellitus de Tipo II, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz del compuesto de acuerdo con la presente invención como un anexo a la dieta y ejercicio.

En una forma de realización, la presente invención proporciona un método para gestión crónica del peso en un sujeto con un índice de masa corporal inicial ≥ 27 y diabetes de Tipo 2, que comprende administrar un sujeto que lo necesita, una cantidad eficaz del compuesto de acuerdo con la presente invención como un anexo a una dieta reducida en calorías y aumentada actividad física.

En una forma de realización, la presente invención proporciona un método para tratar un síndrome metabólico, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la presente invención. En una forma de realización adicional, la presente invención proporciona un método para tratar dislipidemia, obesidad y/o esteatosis hepática asociadas con resistencia a la insulina y diabetes mellitus, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la presente invención. Adicionalmente, la presente invención proporciona además un método para tratar la fragilidad o aumentar la resistencia ósea, que

comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la presente invención.

En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la presente invención como un anexo a una dieta y ejercicio para control de la glucosa en un sujeto diabético de Tipo II. En una forma de realización, la presente invención proporciona un compuesto de la presente invención para gestión del peso crónica como un anexo a una dieta reducida en calorías y aumento en la actividad física en un sujeto con un índice de masa corporal inicial ≥ 27 y diabetes de Tipo II.

Debido a las actividades anteriormente mencionadas de los compuestos de acuerdo con la presente invención hacia el receptor de GLP-1 y el receptor de GIP, el compuesto de acuerdo con la presente invención puede ser utilizado como un medicamento para tratar o prevenir diversas enfermedades, tal como la obesidad. El compuesto de acuerdo con la presente invención puede ser utilizado como un medicamento para prevenir o tratar una enfermedad, tal como obesidad sintomática, obesidad basada en obesidad simple, afecciones o enfermedades relacionadas con la obesidad, trastornos alimentarios, diabetes mellitus (por ejemplo, diabetes mellitus de Tipo I, diabetes mellitus de Tipo II, diabetes mellitus gestacional, diabetes mellitus por obesidad), hiperlipidemia (por ej. hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, hiper-LDL-colesterolemia, colesterolemia de bajo HDL, hiperlipidemia postprandial), hipertensión, falla cardíaca, complicaciones de la diabetes mellitus [por ejemplo, neuropatía, nefropatía, retinopatía, cardiomiopatía diabética, cataratas, macroangiopatía, osteopenia, coma diabético hiperosmolar], enfermedad infecciosa (por ejemplo, infección del tracto respiratorio, infección del tracto urinario, infección gastrointestinal, infección del tejido blando superficial, infección de extremidades inferiores), gangrena diabética, xerostomía, hipoacusia, trastorno cerebrovascular, trastorno de circulación de sangre periférica, síndrome metabólico (con tres o más afecciones seleccionadas del grupo que consiste en hipertrigliceridemia (TG), colesterolemia de bajo HDL (HDL-C), hipertensión, obesidad abdominal, y tolerancia alterada a la glucosa), sarcopenia, y lo similar.

Los ejemplos de obesidad sintomática incluyen: obesidad endocrina (por ej. síndrome de Cushing, hipotiroidismo, insulinoma, diabetes mellitus de Tipo II obesa, pseudohipotiroidismo, hipogonadismo), obesidad central (por ej. obesidad hipotalámica, síndrome de lóbulo frontal, síndrome de Klein-Lewis), obesidad genética (por ej. síndrome de Prader-Willi, síndrome de Laurence-Moon-Biedl), obesidad inducida por drogas (por ej. drogas de esteroides, fenotiazinas, insulina, sulfonilurea (SU), obesidad inducida por bloqueadores β), y lo similar.

Los ejemplos de afecciones o enfermedades asociadas con la obesidad incluyen: trastorno de tolerancia a la glucosa, diabetes mellitus (especialmente diabetes mellitus de Tipo II, diabetes mellitus por obesidad), metabolismo lipídico anormal (sinónimo de hiperlipidemia anterior), hipertensión, falla cardíaca, hiperuricemia, hígado graso (incluyendo hepatitis no alcohólica), enfermedad cardíaca coronaria (infarto del miocardio, angina de pecho), infarto cerebral (trombosis cerebral, ataque isquémico transitorio), enfermedad de huesos/articulaciones (osteoartritis de rodilla, osteoartritis de cadera, espondilitis deformante, dolor de cintura), síndrome de apnea del sueño/ síndrome de Pickwick, trastornos menstruales (ciclo menstrual anormal, menstruación y ciclo anormal, amenorrea, síntomas menstruales anormales), síndrome metabólico, y lo similar.

Los compuestos proporcionados por la presente invención tienen actividad agonista dual de GLP-1/GIP, una larga vida media, y muestran una duración más prolongada del efecto de la droga.

Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden reaccionar con cualquiera de una variedad de ácidos inorgánicos y orgánicos para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables y los métodos comúnmente utilizados para su preparación son bien conocidos en la técnica.

Las secuencias de aminoácidos de la presente invención contienen los códigos estándar de una sola letra o de tres letras para los veinte aminoácidos naturales. Además, "Aib" es ácido α -aminoisobutírico, " α MePhe" es α -metilfenilalanina, "Pya(4)" es 4-piridilalanina; "Cha" es ciclohexilalanina, " α MeTyr" es α -metiltirosina.

"AEEA" como se describe en la presente invención es una abreviatura para 2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetilo. "Ste" como se describe en la presente invención representa octadecanodioilo -C(O)-C₁₆H₃₂-C(O)- derivado del ácido octadecanodioico.

"Cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" como se describe en la presente invención se refiere a la cantidad o dosis del compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la presente invención que, tras administración simple o múltiple al sujeto, proporciona el efecto deseado en el sujeto bajo diagnóstico o tratamiento.

"Dosis eficaz mínima" como se describe en la presente invención, se refiere a la dosis de administración mínima a la cual se produce el efecto de la droga. Específicamente, en lo que respecta al experimento del efecto de la droga en administraciones múltiples en ratones db/db en la presente invención, se refiere a la dosis mínima a la cual el AUC (área bajo la curva) de glucosa en sangre del grupo que tomó el compuesto de ensayo es significativamente diferente ($p < 0,05$) de aquella del grupo Vehículo.

“Dosis eficaz” como se describe en la presente invención se refiere a la dosis de administración a la cual se produce el efecto de la droga. Específicamente, en lo que respecta al experimento del efecto de la droga en administraciones múltiples en ratones db/db en la presente invención, se refiere a la dosis a la cual el AUC de glucosa en sangre del grupo que tomó el compuesto de ensayo es significativamente diferente ($p < 0,05$) de aquella del grupo Vehículo.

"Grupo Vehículo" como se describe en la presente invención se refiere al grupo de control con vehículo.

El "AUC" como se describe en la presente invención se refiere al área bajo la curva de concentración-tiempo, esto es, el área rodeada por la curva concentración de droga-tiempo y el eje del tiempo. Este parámetro es un indicador importante para evaluar el grado de absorción de la droga, lo cual refleja las características de exposición de una droga en el cuerpo.

El "MRT" como se describe en la presente invención se refiere al tiempo medio de residencia, y es el valor promedio que una molécula de droga reside en el cuerpo y significa el tiempo requerido para que el 63,2% de la droga sea eliminada del cuerpo.

La "MTD" como se describe en la presente invención se refiere a la dosis máxima tolerada, que es la mayor dosis que no causa la muerte de los animales de ensayo.

El “estándar interno” como se describe en la presente invención se refiere a una cantidad especificada de un determinado compuesto puro agregada a la mezcla para corregir los errores debidos a fluctuaciones de señal de instrumentos, operaciones del personal y lo similar.

El “AUC de inhibición de glucosa en sangre” como se describe en la presente invención es el porcentaje de reducción del AUC de glucosa en sangre en el grupo que tomó el compuesto de ensayo comparando con el grupo que tomó el Vehículo.
$$\text{AUC de inhibición de glucosa en sangre} = (\text{AUC}_{\text{Vehículo de glucosa en sangre}} - \text{AUC}_{\text{Compuesto de ensayo de glucosa en sangre}}) / \text{AUC}_{\text{Vehículo de glucosa en sangre}}$$

La “estrategia de titulación” como se describe en la presente invención es un método de escalado de dosis, esto es, después de la dosis inicial, se ajusta la frecuencia para el escalado de dosis y la dosificación para obtener la dosificación de administración óptima.

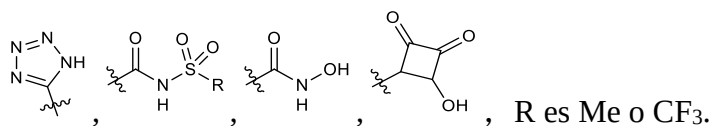
El “sujeto” como se describe en la presente invención incluye seres humanos o animales, preferiblemente seres humanos.

La “cadena modificadora” como se describe en la presente invención es $[(2-(2\text{-amino-etoxi-etoxi})\text{-acetil})_a-(\gamma\text{-Glu})_b\text{-CO}-(\text{CH}_2)_c\text{-Z}]$, en donde cada a es

independientemente un entero desde 0 a 5, cada $\underline{b}$ es independientemente un entero desde 0 a 5, y cada $\underline{c}$ es independientemente un entero desde 10 a 22; preferiblemente, en donde $\underline{a}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, $\underline{b}$ está independientemente seleccionado de un entero de 1, 2, 3, 4 o 5, y $\underline{c}$ está independientemente seleccionado de un entero de 12 a 22; además, la presente invención proporciona adicionalmente compuestos en donde $\underline{c}$ es 14, 16, 18 o 20, en donde Z está independientemente seleccionado del grupo que consiste en $-\text{CH}_3$, ácidos carboxílicos o bioisómeros de ácidos carboxílicos, fosfonatos o sulfonatos, por ejemplo, pero no limitado a los casos en donde dicho Z puede comprender un grupo de ácido carboxílico ($-\text{CO}_2\text{H}$) o

de bioisómeros de ácidos carboxílicos (por ejemplo , de ácido fosfónico ($-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$) o de ácido sulfónico ($-\text{SO}_2\text{OH}$), preferiblemente $-\text{CO}_2\text{H}$.

En cuanto a los bioisómeros de ácidos carboxílicos, los bioisómeros de ácidos carboxílicos adecuados son bien conocidos en el arte. Preferiblemente, los bioisómeros tienen protones con un pK_a similar a aquel del correspondiente ácido carboxílico. Los ejemplos de bioisómeros adecuados pueden incluir, pero no están limitados a, tetrazoles, acilsulfonamidas, acilhidroxilaminas y derivados de ácido escuárico, como se muestra a continuación:



En cuanto a los péptidos mencionados en la presente, de acuerdo con la designación convencional de los péptidos, el extremo izquierdo es el extremo N-terminal (amino terminal) y el extremo derecho es el extremo C-terminal (carboxilo terminal). El extremo C-terminal del péptido puede ser uno cualquiera de amida ($-\text{CONH}_2$), carboxilo ($-\text{COOH}$), carboxilato ($-\text{COO}^-$), alquilamido ($-\text{CONHR}'$) y éster ($-\text{COOR}'$), y R' es alquilo C_{1-8} . En particular, se prefieren las amidas ($-\text{CONH}_2$).

El “acoplamiento” o “incorporación” en el proceso de preparación de la presente invención se refiere al proceso de agregar un nuevo aminoácido a los aminoácidos combinados o péptido.

Descripción de los Dibujos

Las Figuras 1A-1B muestran los cambios en glucosa en sangre en ratones db/db después de la administración. La Figura 1A muestra los cambios en glucosa en sangre en ratones db/db después de una única administración subcutánea de P007, P008, P014, P019, Tirzepatide y P001 a 10 nmol/kg; y la Figura 1B muestra los cambios en glucosa en sangre

en ratones db/db después de una única administración subcutánea de P013, P015, P016, P017, P018, P020 y Tirzepatide a 10 nmol/kg.

Las Figuras 2A-2C muestran el AUC de glucosa en sangre en ratones db/db después de administración. La Figura 2A muestra el AUC desde 0 a 48 horas después de una única administración subcutánea de P007, P008, P014, P019, Tirzepatide y P001 a 10 nmol/kg; la Figura 2B muestra el AUC desde 0 a 72 horas después de una única administración subcutánea de P007, P008, P014, P019 y Tirzepatide a 10 nmol/kg; y la Figura 2C muestra el AUC desde 0 a 56 horas después de una única administración subcutánea de P013, P015, P016, P017, P018, P020 y Tirzepatide a 10 nmol/kg. En la Figura 2A, Prueba T, $*p<0,05$, $**p<0,01$, $***p<0,001$, vs. vehículo; $\$p<0,05$, $\$\$p<0,01$, $\$\$\$p<0,001$, vs. P001. En la Figura 2B, Prueba T, $*p<0,05$, $**p<0,01$, $***p<0,001$, vs. vehículo; $\#p<0,05$, $\#\#p<0,01$, vs. Tirzepatide. En la Figura 2C, Prueba T, $*p<0,05$, $**p<0,01$, $***p<0,001$ vs. Vehículo; $\#p<0,05$, vs. Tirzepatide.

Las Figuras 3A-3D muestran cambios en la glucosa en sangre en ratones db/db después de administraciones múltiples. La Figura 3A compara los cambios de glucosa en sangre en ratones db/db después de administraciones múltiples subcutáneas de P014 y Tirzepatide; la Figura 3B compara los cambios en glucosa en sangre en ratones db/db después de administraciones múltiples subcutáneas de P016 y Tirzepatide; la Figura 3C compara los cambios en glucosa en sangre en ratones db/db después de administraciones múltiples subcutáneas de P017 y Tirzepatide; y la Figura 3D compara los cambios en glucosa en sangre en ratones db/db después de administraciones múltiples subcutáneas de P020 y Tirzepatide.

La presente invención también incluye novedosos intermediarios y métodos útiles en la síntesis de los compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos de acuerdo con la presente invención. Los intermediarios y compuestos de acuerdo con la presente invención pueden prepararse mediante diversos métodos conocidos en la técnica. En particular, se ejemplifican en los siguientes Ejemplos a continuación métodos que utilizan síntesis química. Las etapas de síntesis específicas de cada ruta como se describe pueden combinarse de diversas maneras para preparar compuestos o sales de los mismos de acuerdo con la presente invención. Los reactivos y materiales de partida están fácilmente disponibles para aquellos expertos en la técnica. Debe entenderse que estos ejemplos no están destinados a limitar el alcance de la presente invención de ninguna manera. La espectrometría de masa es realizada en un espectrómetro de masa cromatografía líquida Agilent 1260/6110, y el rango de barrido es entre 100 y 1500.

Ejemplo 1:

De acuerdo con las condiciones de reacción expresadas anteriormente, cada aminoácido es acoplado sucesivamente a partir del segundo aminoácido en el extremo C-terminal al

extremo N-terminal. Si el acoplamiento es incompleto (ocurre una reacción de desarrollo de color), se realiza una segunda condensación utilizando HBTU/DIEA para asegurar que cada aminoácido está completamente condensado. Se realizan los acoplamientos sucesivamente en el siguiente orden: Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ala-OH.H₂O, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Gly-Gly-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Lys(Mtt)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH.H₂O, Fmoc-Ala-OH.H₂O, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Ala-OH.H₂O, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Aib-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Aib-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc- α -Me-Phe-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-Gly-OH, Fmoc-Aib-OH y Boc-Tyr(tBu)-OH.

Se obtiene la siguiente resina: resina

Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-

Lys(Mtt)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink Linker-Nle-MBHA.

Cuando la condensación anterior está completa, se eliminan los grupos protectores Mtt con solución 50% de HFIP/DCM durante 30 minutos. Después de lavado y filtración, se obtiene el siguiente intermediario péptido-resina 1:

Resina

Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink Linker-Nle-MBHA.

(2) Etapas de Modificación con Cadena Modificadora

Se cargan 4 equivalentes de Fmoc-AEEA-OH y HOBt y se disuelven en una cantidad apropiada de DMF/DCM. Separadamente, se cargan 4 equivalentes de DIC y se diluyen doblemente con DCM. Se agrega el diluyente lentamente a la solución de DMF/DCM, y se hace reaccionar bajo agitación a -5 a 0°C durante no menos de 60 minutos de modo de activarse para uso posterior.

Se agrega la solución de Fmoc-AEEA-OH activada al intermediario péptido-resina 1 previamente hinchado y lavado. Se controla la temperatura de reacción a 10 a 30°C. Se lleva a cabo la reacción de acoplamiento durante 240 a 480 minutos. Se filtra y lava la

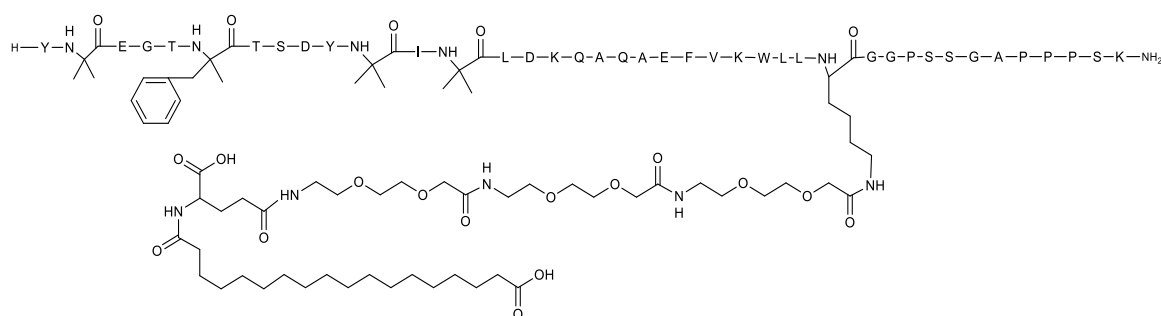
resina. Se eliminan los grupos protectores Fmoc con solución 20% de PIP/DMF durante 30 minutos, Se filtra y lava la resina. De acuerdo con las condiciones de reacción como se indica anteriormente, se acoplan sucesivamente en la resina Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH y octadecanodioato de mono terbutilo, se desprotegen los Fmoc, se lava con DCM y se seca para obtener el siguiente péptido-resina P015: resina Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(tBuO-Ste- γ -Glu(α -OtBu)- γ -Glu(α -OtBu)- γ -Glu(α -OtBu)-AEEA-AEEA)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink-Linker-Nle-MBHA.

Se carga el péptido-resina P015. Se agregan 12-15 mL/g de reactivo de escisión para el péptido-resina (TFA:EDT:TIS:H₂O, 94:2:2:2 v/v) y se hace reaccionar con agitación a 25 $\pm$ 5°C durante 4 horas. Se filtra la mezcla de reacción con un embudo con núcleo de arena. Se recolecta el filtrado. Se lava la resina con una pequeña cantidad de TFA tres veces, y los filtrados se combinan y concentran bajo presión reducida. Se agrega metil terbutil éter (MBTE) y se lava el precipitado resultante con MBTE 3 o 4 veces, y se seca evaporando el MBTE. El producto crudo es secado bajo presión reducida a temperatura ambiente hasta peso constante para obtener el producto P015 crudo, que es subsiguientemente purificado y secado para obtener la muestra P015 (el peso molecular determinado por MS es 5255,2).

Ejemplo 2:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₃-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:19).



La estructura anterior contiene el código estándar de aminoácidos de una única letra con la excepción de los residuos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K28 en donde las estructuras de los residuos aminoácidos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K28 han sido expandidas.

El método de preparación aplica una estrategia de síntesis polipeptídica en fase sólida Fmoc, en donde dicho método comprende:

(1) Síntesis del Intermediario Péptido-resina 2

La resina Fmoc-Rink Linker-Nle-MBHA ($S=0,49$ mmol/g) es cargada, hinchada con una cantidad apropiada de DCM, lavada con DCM 2 o 3 veces, desprotegida con solución 20% de PIP/DMF durante 30 mins, lavada y filtrada para obtener una resina NH_2 -Rink linker-Nle-MBHA con Fmoc eliminado, que es succionada para eliminar el solvente para uso posterior.

Se cargan 4 equivalentes de Fmoc-Lys(Boc)-OH y HOBt respectivamente, y se disuelven en una cantidad apropiada de DMF/DCM. Separadamente, se cargan 4 equivalentes de DIC y se diluyen doblemente con DCM. Se agrega lentamente el diluyente a la solución de DMF/DCM, y se hace reaccionar bajo agitación a -5 a 0°C durante no menos de 60 minutos de modo de activarse para uso posterior.

Se agrega la solución Fmoc-Lys(Boc)-OH activada a la resina NH_2 -Rink linker-Nle-MBHA. Se controla la temperatura de reacción a 10 a 30°C . Se realiza la reacción de acoplamiento durante 240 a 480 minutos. Después de filtración y lavado, se obtiene una resina Fmoc-Lys(Boc)-Rink linker-Nle-MBHA. La resina es desprotegida con solución 20% de PIP/DMF durante 30 min. Después de filtración y lavado, se obtiene una resina Lys(Boc)-Rink linker-Nle-MBHA con Fmoc eliminado.

De acuerdo con las condiciones de reacción expresadas anteriormente, cada aminoácido es acoplado sucesivamente a partir del segundo aminoácido en el extremo C-terminal al extremo N-terminal. Si el acoplamiento es incompleto (ocurre una reacción de desarrollo de color), se realiza una segunda condensación utilizando HBTU/DIEA para asegurar que cada aminoácido está completamente condensado. Se realizan los acoplamientos sucesivamente en el siguiente orden: Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ala-OH. H_2O , Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Gly-Gly-OH, Fmoc-Lys(Mtt)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH. H_2O , Fmoc-Ala-OH. H_2O , Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Ala-OH. H_2O , Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Aib-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Aib-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH,

Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc- α -Me-Phe-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-Gly-OH, Fmoc-Aib-OH y Boc-Tyr(tBu)-OH.

Se obtiene la siguiente resina: Resina Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Mtt)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink Linker-Nle-MBHA.

Cuando la condensación anterior está completa, se eliminan los grupos protectores Mtt con solución 50% de HFIP/DCM durante 30 minutos. Después de lavado y filtración, se obtiene el siguiente intermediario péptido-resina 2: Resina Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink Linker-Nle-MBHA.

(2) Etapas de Modificación con Cadena Modificadora

Se cargan 4 equivalentes de Fmoc-AEEA-OH y HOBt y se disuelven en una cantidad apropiada de DMF/DCM. Separadamente, se cargan 4 equivalentes de DIC y se diluyen doblemente con DCM. Se agrega el diluyente lentamente a la solución de DMF/DCM, y se hace reaccionar bajo agitación a -5 a 0°C durante no menos de 60 minutos de modo de activarse para uso posterior.

Se agrega la solución de Fmoc-AEEA-OH activada al intermediario péptido-resina 2 previamente hinchado y lavado. Se controla la temperatura de reacción a 10 a 30°C. Se lleva a cabo la reacción de acoplamiento durante 240 a 480 minutos. Se filtra y lava la resina. Se eliminan los grupos protectores Fmoc con solución 20% de PIP/DMF durante 30 minutos, Se filtra y lava la resina. De acuerdo con las condiciones de reacción como se indica anteriormente, se acoplan sucesivamente en la resina Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH y octadecanodioato de mono-terbutilo activados, se desprotegen los Fmoc, se lava con DCM y se seca para obtener el siguiente péptido-resina, P019: Resina Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(tBuO-Ste- γ -Glu(α -OtBu)-AEEA-AEEA-AEEA)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink-Linker-Nle-MBHA.

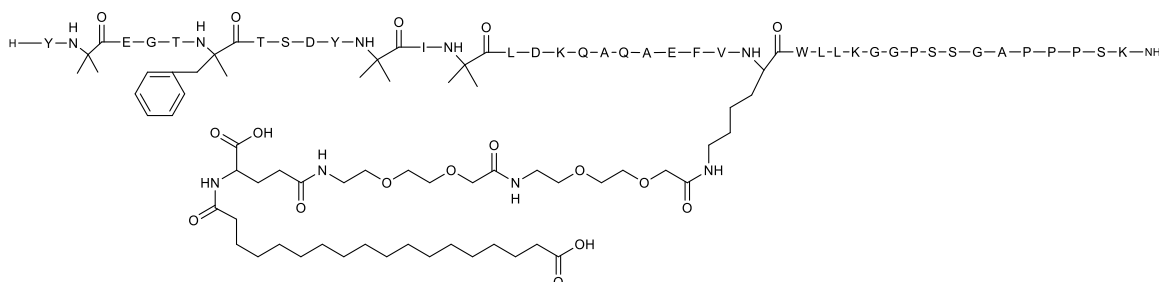
Se carga el péptido-resina P019. Se agregan 12-15 mL/g de reactivo de escisión para el péptido-resina (TFA:EDT:TIS:H₂O, 94:2:2:2 v/v) y se hace reaccionar con agitación a

25±5°C durante 4 horas. Se filtra la mezcla de reacción con un embudo con núcleo de arena. Se recolecta el filtrado. Se lava la resina con una pequeña cantidad de TFA tres veces, y los filtrados se combinan y concentran bajo presión reducida. Se agrega metil terbutil éter (MBTE) y se lava el precipitado resultante con MBTE 3 o 4 veces, y se seca evaporando el MBTE. El producto crudo es secado bajo presión reducida a temperatura ambiente hasta peso constante para obtener el producto P019 crudo, que es subsiguientemente purificado y secado para obtener la muestra P019 (el peso molecular determinado por MS es 5142,0).

Ejemplo 3

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es αMePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ε-amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ-Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:7).



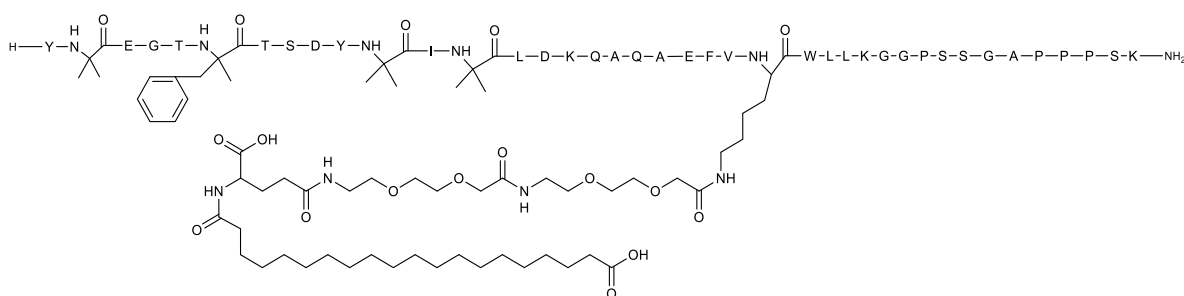
La estructura anterior contiene el código estándar de aminoácidos de una única letra con la excepción de los residuos Aib2, αMePhe6, Aib11, Aib13 y K24 en donde las estructuras de los residuos aminoácidos Aib2, αMePhe6, Aib11, Aib13 y K24 han sido expandidas.

De manera similar al método descrito en el Ejemplo 1 anterior, se utiliza el intermediario péptido-resina 1 para llevar a cabo las etapas de preparación para sintetizar el péptido de la SEQ ID NO: 7 de la presente invención (el peso molecular determinado por MS es 4997,2). La diferencia es que el proceso de modificación con la cadena modificadora es el acoplamiento secuencial de Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α-OtBu)-OH y octadecanodioato de mono-terbutilo en la resina. El producto resultante es desprotegido del grupo Fmoc y lavado con DCM para obtener el péptido-resina P007. Las otras etapas son similares.

Ejemplo 4

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₁₈-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:13).



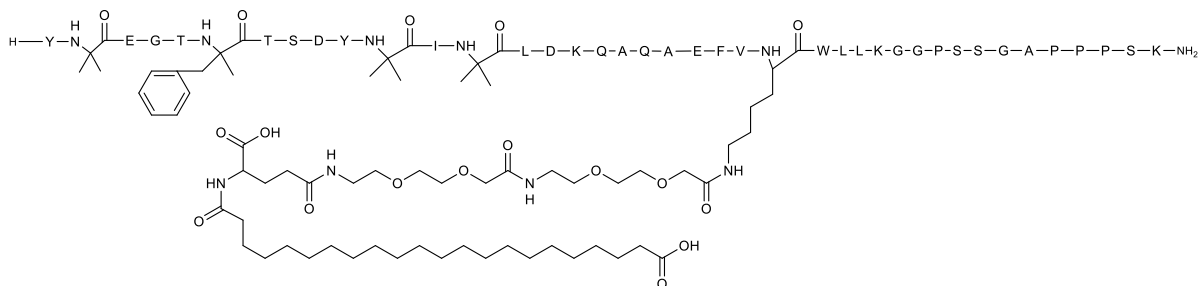
La estructura anterior contiene el código estándar de aminoácidos de una única letra con la excepción de los residuos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K24 en donde las estructuras de los residuos aminoácidos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K24 han sido expandidas.

De manera similar al método descrito en el Ejemplo 1 anterior, se utiliza el intermediario péptido-resina 1 para llevar a cabo las etapas de preparación para sintetizar el péptido de la SEQ ID NO: 13 de la presente invención (el peso molecular determinado por MS es 5025,2). La diferencia es que el proceso de modificación con la cadena modificadora es el acoplamiento secuencial de Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH y éster mono-terbutílico de ácido eicosanodioico en la resina. El producto resultante es desprotegido del grupo Fmoc y lavado con DCM para obtener el péptido-resina P0013. Las otras etapas son similares.

Ejemplo 5:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:14).



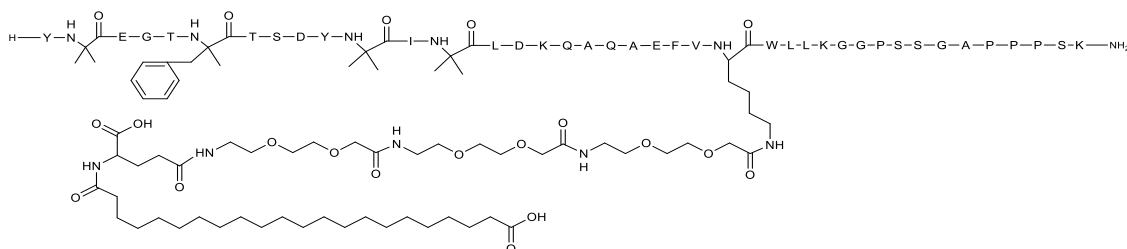
La estructura anterior contiene el código estándar de aminoácidos de una única letra con la excepción de los residuos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K24 en donde las estructuras de los residuos aminoácidos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K24 han sido expandidas.

De manera similar al método descrito en el Ejemplo 1 anterior, el intermediario péptido-resina 1 se utiliza para llevar a cabo las etapas de preparación para sintetizar el péptido de la SEQ ID NO: 14 de la presente invención (el peso molecular determinado mediante MS es 5052,4). La diferencia es que el proceso de modificación con la cadena modificadora es el acoplamiento secuencial de Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH y éster mono-terbutílico de ácido docosanodioico en la resina. El producto resultante es desprotegido del grupo Fmoc y lavado con DCM para obtener el péptido-resina P014. Las otras etapas son similares.

Ejemplo 6:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₃-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:16).



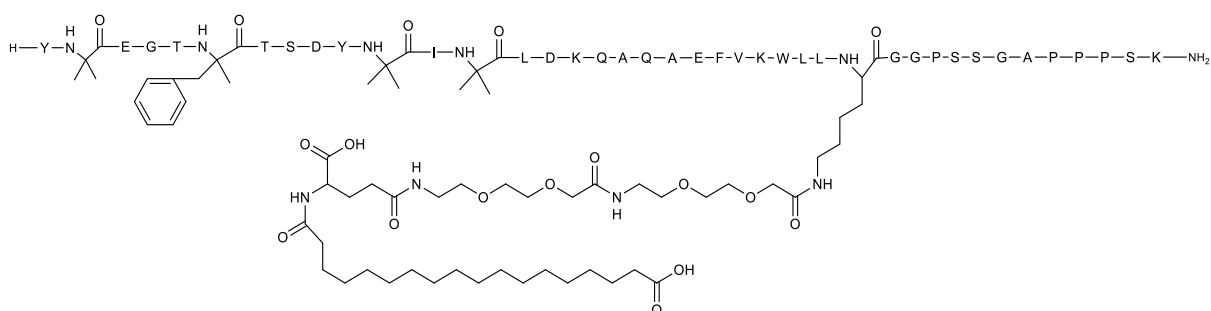
La estructura anterior contiene el código estándar de aminoácidos de una única letra con la excepción de los residuos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K24 en donde las estructuras de los residuos aminoácidos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K24 han sido expandidas.

De manera similar al método descrito en el Ejemplo 1 anterior, se utiliza el intermediario péptido-resina 1 para llevar a cabo las etapas de preparación para sintetizar el péptido de la SEQ ID NO: 16 de la presente invención (el peso molecular determinado por MS es 5198,0). La diferencia es que el proceso de modificación con la cadena modificadora es el acoplamiento secuencial de Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH y éster mono-terbutílico de ácido docosanodioico en la resina. El producto resultante es desprotegido del grupo Fmoc y lavado con DCM para obtener el péptido-resina P0016. Las otras etapas son similares.

Ejemplo 7:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:8).



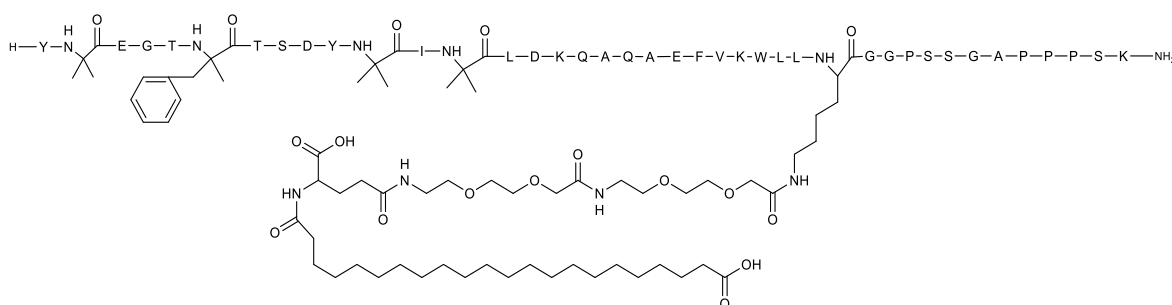
La estructura anterior contiene el código estándar de aminoácidos de una única letra con la excepción de los residuos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K28 en donde las estructuras de los residuos aminoácidos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K28 han sido expandidas.

De manera similar al método descrito en el Ejemplo 2 anterior, se utiliza el intermediario péptido-resina 2 para llevar a cabo las etapas de preparación para sintetizar el péptido de la SEQ ID NO: 8 de la presente invención (el peso molecular determinado por MS es 4996,8). La diferencia es que el proceso de modificación con la cadena modificadora es el acoplamiento secuencial de Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH y octadecanodioato de mono-terbutilo en la resina. El producto resultante es desprotegido del grupo Fmoc y lavado con DCM para obtener el péptido-resina P008. Las otras etapas son similares.

Ejemplo 8:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₁-CO-(CH₂)₂₀-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:17).



La estructura anterior contiene el código estándar de aminoácidos de una única letra con la excepción de los residuos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K28 en donde las estructuras de los residuos aminoácidos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K28 han sido expandidas.

De manera similar al método descrito en el Ejemplo 2 anterior, se utiliza el intermediario péptido-resina 2 para llevar a cabo las etapas de preparación para sintetizar el péptido de la SEQ ID NO: 17 de la presente invención (el peso molecular determinado por MS es 5052,8). La diferencia es que el proceso de modificación con la cadena modificadora es el acoplamiento secuencial de Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH y el éster mono-terbutílico del ácido docosanodioico en la resina. El producto resultante es desprotegido del grupo Fmoc y lavado con DCM para obtener el péptido-resina P0017. Las otras etapas son similares.

Ejemplo 9:

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

en donde X₁ es Aib; X₂ es α MePhe; X₃ es Aib; X₄ es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil)₂-(γ -Glu)₃-CO-(CH₂)₁₆-CO₂H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:18).

De manera similar al método descrito en el Ejemplo 2 anterior, se utiliza el intermediario péptido-resina 2 para llevar a cabo las etapas de preparación para sintetizar el péptido de la SEQ ID NO: 18 de la presente invención (el peso molecular determinado por MS es 5255,2). La diferencia es que el proceso de modificación con la cadena modificadora es el acoplamiento secuencial de Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH y octadecanodioato de mono-terbutilo en la resina. El producto resultante es desprotegido del grupo Fmoc y lavado con DCM para obtener el péptido-resina P0018. Las otras etapas son similares.

Y-X₁-E-G-T-X₂-T-S-D-Y-X₃-I-X₄-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

[illegible]

La estructura anterior contiene el código estándar de aminoácidos de una única letra con la excepción de los residuos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K28 en donde las estructuras de los residuos aminoácidos Aib2, α MePhe6, Aib11, Aib13 y K28 han sido expandidas.

De manera similar al método descrito en el Ejemplo 2 anterior, se utiliza el intermediario péptido-resina 2 para llevar a cabo las etapas de preparación para sintetizar el péptido de la SEQ ID NO: 20 de la presente invención (el peso molecular determinado por MS es 5198,4). La diferencia es que el proceso de modificación con la cadena modificadora es el acoplamiento secuencial de Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-AEEA-OH, Fmoc-Glu(α -OtBu)-OH y el éster mono-terbutílico del ácido docosanodioico en la resina. El producto resultante es desprotegido del grupo Fmoc y lavado con DCM para obtener el péptido-resina P0020. Las otras etapas son similares.

En algunas formas de realización de la presente invención, en cuanto a la preparación del intermediario péptido-resina 3 (un intermediario péptido-resina en donde la cadena modificadora está unida a la Lys en la posición 16), que es la Resina Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys(Boc)-Rink Linker-Nle-MBHA, se hace referencia al método de preparación del intermediario péptido-resina 1 en el Ejemplo 1.

En cuanto a la preparación del intermediario péptido-resina 4 (un intermediario péptido-resina en donde la cadena modificadora está unida a la Lys en la posición 40, que es la Resina Boc-Tyr(tBu)-Aib-Glu(OtBu)-Gly-Thr(tBu)- α MePhe-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Aib-Ile-Aib-Leu-Asp(OtBu)-Lys(Boc)-Gln(Trt)-Ala-Gln(Trt)-Ala-Glu(OtBu)-Phe-Val-Lys(Boc)-Trp(Boc)-Leu-Leu-Lys(Boc)-Gly-Gly-Pro-Ser(tBu)-Ser(tBu)-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser(tBu)-Lys-Rink Linker-Nle-MBHA, se hace referencia al método de preparación del intermediario péptido-resina 1 en el Ejemplo 1.

Otros compuestos agonistas duales en la presente invención pueden prepararse de acuerdo con los métodos descriptos anteriormente.

Ensayos Relacionados

Se proporcionan a continuación las condiciones y datos de diversos ensayos a modo de ejemplos.

I. FUNCIÓN *IN VITRO*

(I) Actividad de Unión *In Vitro* sobre los Receptores de GLP-1 y GIP Humanos

La potencia de unión *in vitro* de los compuestos de acuerdo con la presente invención a los receptores de GIP y GLP-1 humanos se evalúa midiendo las afinidades de unión K_i , utilizando membranas celulares crudas obtenidas de líneas celulares clonales que sobreexpresan ya sea el ADNc de GLP1R humano o bien el ADNc de GIP-R humano.

1) Actividad de Unión *In Vitro* sobre el Receptor de GLP-1 Humano

Se disuelven hGLP-1 y el compuesto de la presente invención en DMSO y se almacenan a -80°C . Se transfieren 89 μL de membrana disuelta en buffer de unión (50 mM Hepes, pH 7,4, MgCl_2 5 mM, EDTA 5 mM, TWEEN 0,005%, HSA 0,005%) a una placa de ensayo de 96 pocillos (5 μg /pocillo). Se diluye en forma seriada el compuesto en DMSO, y luego, se agrega 1 μL del compuesto diluido o DMSO 100% a la placa de ensayo que contiene la solución de la membrana. Se agregan además 10 μL de [^{125}I]GLP-1 (la concentración final en la reacción es 0,15 nM). Se deja la placa de ensayo a temperatura ambiente durante 90 minutos. Se cosechan los complejos de membrana en una placa GF/B prerrecubierta con PEI 0,5% utilizando un Cell Harvester, y se lavan 3 veces con 500 μL de buffer de elución preenfriado (Hepes 50 mM, pH 7,4, NaCl 500 mM) a 4°C . Después de secado a 37°C durante 2 horas, se agregan 50 μL de fluido de escintilación a cada pocillo. Se lee la placa con un contador de escintilación MicroBeta2 después de sellado y reposo durante al menos 1 hora para determinar el nivel de radioligando unido a la membrana.

La concentración IC_{50} absoluta del compuesto se deriva mediante una regresión no lineal del porcentaje de unión de [^{125}I]GLP-1 versus la concentración del compuesto agregado. La concentración IC_{50} es convertida en K_i (K_i es la constante de inhibición) utilizando la ecuación de Cheng-Prusoff.

2) Actividad de Unión *In Vitro* sobre el Receptor de GIP Humano

Se disuelven hGIP y el compuesto de la presente invención en DMSO y se almacenan a -80°C . Se transfieren 98 μL de membrana disuelta en buffer de unión (Hepes 50 mM pH 7,4, MgCl_2 5 mM, CaCl_2 1 mM, BSA 0,1%, Tween-20 0,005%) a una placa de ensayo de 96 pocillos (15 μg /pocillo). Se diluye en forma seriada el compuesto en DMSO, y luego, se agregan 2 μL de los compuestos diluidos o DMSO 100% a la placa de ensayo que contiene la solución de la membrana. Se agregan además 100 μL de [^{125}I]GIP (la concentración final en la reacción es 0,0315 nM). Se deja la placa de ensayo a temperatura ambiente durante 90 minutos. Se cosechan los complejos de membrana en una placa GF/B prerrecubierta con PEI 0,5% utilizando un Cell Harvester, y se lavan 3 veces con 500 μL de buffer de elución preenfriado (Tris-HCl 50 mM pH 7,4, NaCl 125 mM) a 4°C . Después de secado a 37°C durante 2 horas, se agregan 50 μL de fluido de escintilación a cada pocillo. Se lee la placa con un contador de escintilación MicroBeta2 después de sellado y reposo durante al menos 1 hora para determinar el nivel de radioligando unido a la membrana.

La concentración IC_{50} absoluta del compuesto se deriva mediante una regresión no lineal del porcentaje de unión de [^{125}I]GIP versus la concentración del compuesto agregado. La concentración IC_{50} es convertida en K_i (K_i es la constante de inhibición) utilizando la ecuación de Cheng-Prusoff.

Tabla 1. Afinidad de Unión a Receptores, Ratio de K_i

	GLP-1R	GIPR
Compuesto	Ratio de K_i	Ratio de K_i
GLP-1	1,00	NA
GIP	NA	1,00
P001	19,52	8,82
Tirzepatide	0,28	0,06
P007	0,47	NA
P008	1,09	0,16
P013	0,28	0,14
P014	0,37	0,08
P015	0,17	NA
P016	0,63	0,11
P017	0,56	0,04
P018	1,45	0,05
P019	0,93	0,09
P020	1,36	0,05

NA: no detectado

Ratio de K_i : la ratio del valor de K_i del ligando endógeno respecto del valor de K_i del compuesto de ensayo.

Las afinidades de unión de todos los compuestos a los receptores están expresadas mediante ratios de K_i , y una ratio mayor de K_i de los compuestos indica una afinidad de unión más fuerte. Comparando con P001, las afinidades de unión de los compuestos de acuerdo con la presente invención a ambos GLP-1R y GIPR humanos está disminuida en un cierto grado (ver Tabla 1).

Comparando con Tirzepatide, las afinidades de unión a GLP-1R humano de los otros 9 compuestos de acuerdo con la presente invención, excepto para P015, son levemente más fuertes que la de Tirzepatide. Además, las afinidades de unión a GIPR de los cinco compuestos, es decir, P008, P013, P014, P016 y P019, también son levemente más fuertes que la de Tirzepatide (ver Tabla 1).

Resumiendo, las afinidades de unión a GLP-1R y GIPR humanos de los compuestos con diferentes cadenas modificadoras de acuerdo con la presente invención son menores que las de P001 en algún grado, pero son levemente más fuertes que, o equivalentes a, la de Tirzepatide.

(II) Actividad Agonista sobre Hglp-1R y hGIPR

Para los compuestos de acuerdo con la presente invención, las actividades funcionales *in vitro* contra los receptores de GIP y GLP-1 humanos se determinan en líneas celulares clonales HEK-293 que expresan estos receptores.

1) Actividad Agonista sobre el Receptor de GLP-1 Humano (Ensayo de Gen Reportero con AMPc)

Las actividades agonistas de los compuestos de acuerdo con la presente invención contra GLP-1R humano se determinan mediante el ensayo de Gen Reportero con AMPc, y se utilizan como referencia P001, Tirzepatide y el GLP-1 ligando endógeno.

Se siembran células HEK293/CRE/GLP-1R en una placa de 96 pocillos a 50.000 células/pocillo (80 μ L/pocillo), y se incuban durante la noche en una incubadora a 37°C, CO₂ 5%. Se agregan 20 μ L/pocillo del medio de ensayo (DMEM conteniendo 0,1% de caseína) que contiene un compuesto (el compuesto de acuerdo con la presente invención, P001, Tirzepatide o GLP-1) a la placa de 96 pocillos, y se continúa incubando en una incubadora a 37°C, CO₂ 5% durante 6 horas y se equilibra a temperatura ambiente. Se elimina el sobrenadante. Se agregan 50 μ L/pocillo de reactivo Bright-Glo, se agita y se lisa a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se lee la luminiscencia utilizando un lector de microplacas Envision, y se mide la actividad de luciferasa.

El valor de respuesta a GLP-1 100 nM es establecido como el valor 100% de respuesta, y se utiliza GraphPad para realizar una regresión no lineal de acuerdo con el porcentaje de respuesta y la concentración del compuesto agregado para obtener el valor de EC₅₀ para cada compuesto.

2) Actividad Agonista contra el Receptor de GIP Humano (Ensayo LANCE Ultra cAMP)

Se determinan las actividades agonistas de los compuestos de acuerdo con la presente invención contra GIPR humano mediante el Kit LANCE Ultra cAMP, y se utilizan P001, Tirzepatide y GIP ligando endógeno como referencias.

Las actividades agonistas *in vitro* de los compuestos de acuerdo con la presente invención contra GIPR se determinan en células HEK293 que expresan de manera estable GIPR humano (células HEK293/GIPR). Se formulan células HEK293/GIPR en buffer HBSS (Caseína 0,1%, IBMX 500 μ M, HEPES 5 mM), y se siembran en una placa de cultivo celular de 384 pocillos a 1000 células/pocillo (5 μ L/pocillo). Se agregan 5 μ L de buffer HBSS que contiene 2 $\times$ compuestos a la anteriormente mencionada placa de cultivo celular de 384 pocillos. Después de sellarla, la placa es colocada en una incubadora a 37°C, CO₂ 5% durante aproximadamente 30 minutos. Después que la incubación está completa, se agregan secuencialmente 5 μ L de solución de trabajo AMPc-Eu y 5 μ L de solución de trabajo AMPc-Ulight, y se agita la placa para mezcla uniforme. Se realiza la incubación durante 1 hora a 25°C. Se leen los valores de la señal a 665 nm y 615 nm en un lector de microplacas Envision. Se calcula la ratio del valor de señal a 665 nm respecto del valor de señal a 615, y se convierte en una concentración de AMPc utilizando la curva estándar de AMPc. El valor de respuesta a GIP 1 μ M se establece como valor 100% de respuesta, y se utiliza GraphPad para realizar una regresión no lineal de acuerdo con el porcentaje de respuesta y la concentración del compuesto agregado para obtener el valor de EC₅₀ para cada compuesto.

Tabla 2. Valores de EC₅₀ de la Actividad Agonista sobre los Receptores de GLP-1 GIP Humanos

Compuesto	GLP-1R	GIPR
	Valor de EC ₅₀	Valor de EC ₅₀
GLP-1	1,00	NA
GIP	NA	1,00
P001	52,09	7,13
Tirzepatide	0,74	0,51
P007	5,84	1,15
P008	4,79	1,67
P013	2,41	0,86
P014	1,73	0,25
P015	2,44	0,17

P016	1,56	0,56
P017	1,35	0,16
P018	3,63	2,55
P019	4,95	1,68
P020	1,41	0,22

NA: no detectado

Valor de EC₅₀: la ratio del valor de EC₅₀ del ligando endógeno respecto del valor de EC₅₀ del compuesto de ensayo.

La actividad agonista de todos los compuestos contra los receptores de GLP-1 y GIP humanos se expresa como valor de EC₅₀ y cuanto mayor el valor de EC₅₀, más fuerte la actividad del compuesto. Comparando con P001, el compuesto de acuerdo con la presente invención muestra un cierto grado de disminución en la actividad agonista sobre GLP-1R y GIPR humanos (ver Tabla 2).

Comparando con Tirzepatide, todos los compuestos de acuerdo con la presente invención tienen actividad agonista más fuerte sobre GLP-1R humano. Además, la actividad agonista de los seis compuestos, es decir P007, P008, P013, P016, P018 y P019, sobre GIPR humano también es levemente más fuerte que la de Tirzepatide (ver Tabla 2).

Resumiendo, la actividad agonista sobre GLP-1R y GIPR humanos de los compuestos con diferentes cadenas modificadoras de acuerdo con la presente invención es menor que la de P001 en algún grado, pero 6 compuestos de acuerdo con la presente invención son más fuertes que Tirzepatide en términos de actividad agonista sobre GLP-1R y GIPR humanos.

Como se muestra en el ensayo de función *in vitro*, como los 10 compuestos de acuerdo con la presente invención no difieren significativamente en actividad, los compuestos son relevados adicionalmente utilizando un ensayo hipoglucémico de una única administración en ratones db/db.

II. Farmacocinética

(I) Farmacocinética Siguiendo a una Única Administración en Rata SD

Después de administración subcutánea o intravenosa a una rata SD, se recolecta plasma y se detecta la concentración de la droga en plasma para demostrar las propiedades farmacocinéticas *in vivo* del compuesto de acuerdo con la presente invención. Se disuelve el compuesto en un buffer fosfato, y se filtra a través de un filtro de membrana (PTFE, 0,45 µm) para obtener una solución 25 nmol/mL del compuesto. Se administra el

compuesto a ratas SD macho (230-268 g, n=3) a una dosis de 50,0 nmol/kg (s.c.) o 25,0 nmol/kg (i.v.). Se recolectan aproximadamente 150 μ L de sangre entera desde la vena yugular interna en un tubo anticoagulante EDTA-K₂ a predosis, 0,0833 (sólo para i.v.), 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72, 96 y 120 horas respectivamente. Se centrifugan las muestras de sangre a 1500 g durante 10 minutos para obtener un plasma, el cual se almacena a -90°C a -60°C para análisis y ensayo posterior.

Tratamiento de Muestras

(1) Método para Tratar las Muestras para Tirzepatide, P007, P008, P013 y P014

Se cargan 30,0 μ L de muestra de plasma descongelado. Se agregan 150 μ L de solución de acetonitrilo (conteniendo 5 ng·mL⁻¹ de Verapamil, 50 ng·mL⁻¹ de Glibenclamide, 200 ng·mL⁻¹ de Tolbutamide y 200 ng·mL⁻¹ de Diclofenac) para precipitar proteínas. La mezcla es sometida a vórtice durante 5 minutos y centrifugada a 3700 rpm durante 8 minutos. Se cargan 70,0 μ L del sobrenadante, a los cuales se agregan 70,0 μ L de solución acuosa 0,5% de ácido fórmico. La mezcla es sometida a vórtice durante 5 minutos. Se muestrean 15 μ L de la solución mezcla y se inyectan en un LC-MS/MS para determinar la concentración de droga en plasma.

(2) Método para Tratar las Muestras para P015, P016, P017 y P018

Se toman 20,0 μ L de muestra de plasma descongelado. Se agregan 60 μ L de solución de acetonitrilo (conteniendo 5 ng·mL⁻¹ de Verapamil, 50 ng·mL⁻¹ de Glibenclamide, 200 ng·mL⁻¹ de Tolbutamide y 200 ng·mL⁻¹ de Diclofenac) para precipitar proteínas. La mezcla es sometida a vórtice durante 1 minuto, y centrifugada a 13000 rpm durante 8 minutos. Se toman 60,0 μ L del sobrenadante, a los cuales se agregan 60,0 μ L de solución acuosa 0,5% de ácido fórmico. La mezcla es sometida a vórtice durante 10 minutos. Se muestrean 10,0 μ L de la solución mezcla y se inyectan en un LC-MS/MS para determinar la concentración de droga en plasma.

(3) Método para Tratar las Muestras para P019 y P020

Se toman 30,0 μ L de muestra de plasma descongelado. Se agregan 150 μ L de solución de acetonitrilo (conteniendo 5 ng·mL⁻¹ de Verapamil, 50 ng·mL⁻¹ de Glibenclamide, 200 ng·mL⁻¹ de Tolbutamide y 200 ng·mL⁻¹ de Diclofenac) para precipitar proteínas. La mezcla es sometida a vórtice durante 5 minutos, y centrifugada a 3700 rpm durante 8 minutos. Se toman 70,0 μ L del sobrenadante, a los cuales se agregan 70,0 μ L de solución acuosa 0,5% de ácido fórmico. La mezcla es sometida a vórtice durante 5 minutos. Se muestrean 10,0 μ L de la solución mezcla y se inyectan en un LC-MS/MS para determinar la concentración de droga en plasma.

En base a la concentración de droga en plasma de los compuestos en ratas SD, se calculan los parámetros farmacocinéticos aplicando el software Winnolin 8.2 en un modelo no compartimentado, y los resultados se muestran en la Tabla 3 y Tabla 4 a continuación.

Tabla 3 Parámetros Farmacocinéticos después de Inyección Subcutánea de Diferentes Compuestos Polipeptídicos a Ratras

Parámetro PK	Unidad	Tirzepatide	P007	P008	P013	P014
Dosificación	nmol/kg	50	50	50	50	50
T _{1/2}	h	11,4±1,79	15,0±2,89	18,7±4,82	15,0±0,737	14,8±0,503
T _{max}	h	7,33±1,15	7,33±1,15	13,3±9,24	24,0±0	24,0±0
C _{max}	nM	128±42,8	169±14,7	149±20,5	142±28,2	170±16,4
AUC _{0-t}	nM·h	3610±1200	6150±776	5400±1030	5740±1070	6230±651
AUC _{0-inf}	nM·h	3670±1190	6630±439	6680	6080±1180	6620±712
MRT _{0-t}	h	19,0±0,265	21,4±1,87	21,0±1,85	26,2±0,700	26,2±0,781
MRT _{0-inf}	h	20,3±0,755	25,7±1,69	25,4	29,9±1,33	30,0±1,01

Table 4 Parámetros Farmacocinéticos después de Inyección Subcutánea de Diferentes Compuestos Polipeptídicos a Ratras

Parámetro PK	Unidad	P015	P016	P017	P018	P019	P020
Dosificación	nmol/kg	50	50	50	50	50	50
T _{1/2}	h	16,1±1,21	14,1±0,153	18,7±2,69	18,3±6,77	10,9±1,92	17,9±0,57
T _{max}	h	24,0±0	24,0±0	24,0±0	24,0±0	13,3±9,24	24,0±0
C _{max}	nM	213±21,3	119±7,00	112±15,5	175±45,1	302±89,9	139±28,1
AUC _{0-t}	nM·h	8830±862	4840±270	4190±242	7490±1360	7910±545	5620±1690
AUC _{0-inf}	nM·h	9490±1090	5070±262	4530±28,28	7940±1230	8630±601	7070±28,3
MRT _{0-t}	h	26,8±0,557	28,1±1,12	27,9±2,99	28,5±4,45	17,1±2,55	29,5±4,68
MRT _{0-inf}	h	31,4±1,35	31,1±1,00	36,9±3,46	33,4±7,00	18,3±2,76	37,1±0,636

El estudio farmacocinético en ratas mediante la inyección subcutánea de los compuestos de acuerdo con la presente invención muestra que: las vidas medias de P007, P008, P013, P014, P015, P016, P017, P018 y P020 son mayores que las vidas medias de Tirzepatide (aumentadas en aproximadamente 23,7% a 64,0%). Comparando con Tirzepatide, un producto de doble diana disponible comercialmente, los compuestos de acuerdo con la

presente invención modificados mediante la cadena modificadora pueden proporcionar una vida media más prolongada en plasma. Además, comparando con P001, el compuesto de acuerdo con la presente invención tiene una vida media sustancialmente más prolongada. La vida media se prolonga en más de 15 veces, más de 20 veces o incluso más de 30 veces.

(II) Farmacocinética en ratones C57

Después de administración subcutánea o intravenosa a ratones C57, se recolecta plasma y se determina la concentración de droga en plasma para ilustrar las propiedades farmacocinéticas *in vivo* del compuesto de acuerdo con la presente invención. Se disuelve el compuesto en un buffer fosfato que contiene Tween 20 0,1%, y se filtra a través de un filtro de membrana (PTFE, 0,45 μm) para obtener una solución 15 nmol/mL del compuesto. Se administraron ratones C57 (18-22 g) con 30 nmol/kg subcutáneamente (s.c.) o 15,0 nmol/kg de manera intravenosa (i.v.). Se recolectan aproximadamente 100 μL de sangre entera de la vena de la órbita en tubo anticoagulante EDTA- K_2 a predosis, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 48 y 72 horas respectivamente. Se centrifugan las muestras de sangre a 1500 g durante 10 minutos para obtener un plasma, el cual es almacenado a -90°C a -60°C para posterior análisis y ensayo.

Tratamiento de las muestras

(1) Método para Tratar las Muestras para Tirzepatide, P014, P016 y P020

Se toman 20,0 μL de muestras de plasma descongelado. Se agregan secuencialmente 20 μL de solución acuosa 50% de metanol (conteniendo 100 ng mL^{-1} de estándar interno) y 60 μL de acetonitrilo para precipitar proteínas. La mezcla es sometida a vórtice durante 5 minutos, y centrifugada a 3700 rpm durante 8 minutos. Se toman 50,0 μL del sobrenadante, en el cual se agregan 50,0 μL de solución acuosa 0,5% de ácido fórmico. La mezcla es sometida a vórtice durante 5 minutos. Se muestrean 50 μL de la solución mezcla y se inyectan en el LC-MS/MS para determinar la concentración de droga en plasma.

En base a la concentración de droga en plasma de los compuestos en ratones C57, se calculan los parámetros farmacocinéticos aplicando el software Winnolin 8.2 en un modelo no compartimentado, y los resultados se muestran en la Tabla 5 y Tabla 6 a continuación.

Tabla 5. Parámetros Farmacocinéticos Promedio después de una Única Administración Subcutánea a Ratones

Parámetro PK	Unidad	Tirzepatide	P014	P016	P020
C _{max}	ng/mL	871	851,84	433,67	835,67
T _{max}	hr	6	6	8	4,25
t _{1/2}	hr	9,21	20,33	23,05	19,89
AUC _(0-t)	ng·hr/mL	19413,9	27316,4	15914,8	18950,56
AUC _(0-∞)	ng·hr/mL	19704,7	30150,5	18160,6	21093,26
MRT _(0-t)	hr	14,48	22,94	25,98	21,84
MRT _(0-∞)	hr	15,29	30,28	35,91	29,36

Tabla 6. Parámetros Farmacocinéticos Promedio después de una Única Administración Intravenosa a Ratones

Parámetro PK	Unidad	Tirzepatide	P014	P016	P020
C ₀	ng/mL	1901,94	1943,93	1147,89	1819,74
t _{1/2}	hr	10,47	17,20	20,15	16,66
AUC _(0-t)	ng·hr/mL	12723,1	17458,9	11082,1	16281,7
AUC _(0-∞)	ng·hr/mL	12822,1	18245,6	12083,3	17369,9
MRT _(0-t)	hr	11,39	15,72	19,92	16,80
MRT _(0-∞)	hr	12,00	19,215	26,64	21,77

El estudio farmacocinético en ratones mediante la inyección subcutánea de los compuestos de acuerdo con la presente invención muestra que: las vidas medias de P014, P016 y P020 son mayores que la vida media de Tirzepatide (aumentadas en 116,0% a 150,3%). Esto significa que las vidas medias de estos compuestos son significativamente mayores que la de Tirzepatide. Comparando con Tirzepatide, un producto de doble diana disponible comercialmente, los compuestos de acuerdo con la presente invención modificados mediante la cadena modificadora pueden proporcionar una vida media más prolongada en plasma.

(III) Farmacocinética en Monos Cynomolgus

Después de administración subcutánea o intravenosa a monos cynomolgus, se recolecta plasma y se determina la concentración de droga en plasma para ilustrar las propiedades farmacocinéticas *in vivo* del compuesto de acuerdo con la presente invención. Se disuelve el compuesto en PG 1,4% en buffer Na₂HPO₄ 8 mM (pH 7,39) y se filtra a través de un filtro de membrana (PTFE, 0,45 µm) para obtener una solución 25 y 12,5 nmol/mL

del compuesto, respectivamente. Se recolectan aproximadamente 500 μL de sangre entera de la vena cefálica u otras venas apropiadas en tubo anticoagulante EDTA- K_2 a predosis, 2 horas, 12 horas, 24 horas, 32 horas, 48 horas, 3 días (72 horas), 4 días (96 horas), 6 días (144 horas), 9 días (216 horas), 12 días (288 horas), 15 días (360 horas) y 18 días (432 horas) respectivamente. Se centrifugan las muestras de sangre a 2200 g durante 10 minutos para obtener un plasma, que es almacenado a -90°C a -60°C para posterior análisis y ensayo.

Tratamiento de Muestras

(1) Método para Tratar las Muestras para Tirzepatide, P014, P016, P017 y P020

Se toman 70,0 μL de muestras de plasma descongeladas. Se agregan 70 μL de acetonitrilo (conteniendo 1 ng/ml del estándar interno) para precipitar proteínas. La mezcla es sometida a vórtice durante 1 minuto, y centrifugada a 14000 rpm durante 10 minutos. Se toman 60,0 μL del sobrenadante, al cual se agregan 60,0 μL de solución acuosa 0,5% de ácido fórmico. La mezcla es sometida a vórtice durante 5 minutos. Se muestrean 10 μL de la solución mezcla y se inyectan en el LC-MS/MS para determinar la concentración de droga en plasma.

En base a la concentración de droga en plasma de los compuestos en los monos cynomolgus, se calculan los parámetros farmacocinéticos aplicando el software Winnolin 8.2 en un modelo no compartimentado, y los resultados se muestran en la Tabla 7 y Tabla 8 a continuación.

Tabla 7 Parámetros Farmacocinéticos Promedio después de una Única Administración Subcutánea a Monos Cynomolgus

Parámetro PK	Unidad	Tirzepatide	P014	P016	P017	P020
$T_{\max}$	hr	22,67 $\pm$ 10,10	16,00 $\pm$ 6,93	40,00 $\pm$ 13,90	48,00 $\pm$ 24,00	22,70 $\pm$ 10,10
$C_{\max}$	ng/mL	1297,45 $\pm$ 300,00	951,00 $\pm$ 283	2997,00 $\pm$ 481,00	1655,00 $\pm$ 295,00	1349,00 $\pm$ 77,00
$T_{1/2}$	hr	62,54 $\pm$ 6,07	52,70 $\pm$ 6,45	60,40 $\pm$ 12,80	44,30 $\pm$ 4,80	67,40 $\pm$ 9,47
$\text{AUC}_{(0-t)}$	hr*ng/mL	148063,24 $\pm$ 38207,00	87690,00 $\pm$ 24556,00	319272,00 $\pm$ 41475,00	153476,00 $\pm$ 28919,00	161575,00 $\pm$ 10637,00
$\text{AUC}_{(0-\infty)}$	hr*ng/mL	150081,26 $\pm$ 39104,00	88432,00 $\pm$ 24213,00	322800,00 $\pm$ 44567,00	154121,00 $\pm$ 28747,00	163878,00 $\pm$ 12089,00

MRT _(0-t)	hr	99,62±6,26	74,20±13,83	96,50±15,90	76,40±12,70	97,50±9,67
MRT _(0-∞)	hr	104,89±7,58	77,40±13,46	101,00±19,2	77,80±12,20	103,00±13,10

Tabla 8 Parámetros Farmacocinéticos Promedio después de una Única Administración Intravenosa a Monos Cynomolgus

Parámetro PK	Unidad	Tirzepatide	P016
C0	ng/mL	1167,70±159,90	1699,50±334,94
T1/2	hr	59,53±5,22	59,81±8,95
AUC _(0-t)	hr*ng/mL	57554,64±11825,48	78169,25±20321,82
AUC _(0-∞)	hr*ng/mL	58529,59±11927,99	80032,34±21063,24
MRT _(0-t)	hr	68,34±8,61	65,29±8,85
MRT _(0-∞)	hr	74,27±8,76	72,94±10,91

El estudio farmacocinético en monos cynomolgus mediante la inyección subcutánea de los compuestos de acuerdo con la presente invención muestra que: las vidas medias de P014, P016 y P020 son equivalentes a la de Tirzepatide, y los Tmax de P016 y P017 están demorados comparando con la de Tirzepatide. Comparando con Tirzepatide, un producto de doble diana disponible comercialmente, los compuestos de acuerdo con la presente invención modificados mediante la cadena modificadora pueden proporcionar una vida media en plasma comparable y los Tmax de P016 y P017 son 2 veces el de Tirzepatide. El tiempo para la concentración pico de droga es significativamente más tarde comparando con Tirzepatide, lo cual puede dar por resultado menor/poca respuesta gastrointestinal o tiempo de titulación más breve.

III. Efectos Farmacodinámicos

(I) Los efectos farmacodinámicos en ratones db/db están destinados estudiar los efectos de los compuestos de acuerdo con la presente invención en glucosa en sangre en un modelo diabético en ratón (ratones db/db).

En este estudio, se administran ratones db/db con única dosis subcutánea y se miden los cambios en la glucosa en sangre, la ingesta de alimento y el peso corporal, para ilustrar los efectos hipoglucémicos de los compuestos de acuerdo con la presente invención así como la duración del efecto de la droga, y se compara con aquellos de los controles positivos de Tirzepatide y P001. En este estudio se utilizan ratones db/db machos de 8-9 semanas de edad. Se colocan los ratones db/db en una instalación de jaulas ventiladas individuales

(IVC, por sus siglas en inglés) con una temperatura (20-26°C) y humedad (40-70%) controladas y un ciclo de luz-oscuridad 12 h:12 h controlado. Los ratones reciben alimento y agua *ad libitum*. Se muestrea sangre de la punta de la cola y se mide la glucosa en sangre en ayunas mediante un medidor de glucosa en sangre de Roche. Se dividen aleatoriamente los ratones en grupos de acuerdo con la glucosa en sangre inicial y el peso corporal inicial (n=6/grupo) y cada grupo tiene peso corporal y glucosa en sangre similares.

Se disuelven el compuesto de acuerdo con la presente invención (10 nmol/kg) o los controles positivos de Tirzepatide (10 nmol/kg) y P001 (10 nmol/kg) en un vehículo (PBS conteniendo Tween 20 0,1%, pH 7,2-7,4). Después de una única administración subcutánea, las glucosas en sangre aleatorias se registran en el punto de tiempo establecido (0 a 120 horas, se detiene el registro de la glucosa en sangre aleatoria hasta que no hay diferencia entre la glucosa en sangre aleatoria del compuesto y la del grupo vehículo), y también se registran diariamente el peso corporal e ingesta de alimento. Se analizan estadísticamente los datos de resultados utilizando GraphPad Prism8, y las diferencias estadísticas entre los grupos se analizan siguiendo una Prueba T. Se identifican diferencias significativas a $p < 0,05$.

Duración Hipoglucémica: el mayor tiempo durante el cual la glucosa en sangre aleatoria del compuesto tiene una diferencia significativa ($P < 0,05$) vs. el grupo vehículo.

Tabla 9. Duración Hipoglucémica de los Compuestos

Grupo	Compuesto	Duración Hipoglucémica (h)
Grupo 1	P001	32
	Tirzepatide	56
	P007	56
	P008	72
	P014	104
	P019	56
Grupo 2	Tirzepatide	48
	P013	72
	P015	32
	P016	104

	P017	72
	P018	48
	P020	104

Comparando con P001, la duración hipoglucémica de los compuestos de acuerdo con la presente invención es de más de 24 horas (P007, P008, P014, P019), incluso más de 40 horas (P008, P014) y más de 72 horas (P014) (ver Tabla 9, Figura 1A y Figura 1B) más prolongada que la de Tirzepatide.

Comparando con Tirzepatide, la duración hipoglucémica de los compuestos de acuerdo con la presente invención es equivalente o más prolongada (P007, P008, P013, P014, P016, P017, P018, P019, y P020), incluso mayor de 16 horas (P008, P013, P014, P016, P017, P020), más de 24 horas (P013, P014, P016, P017, P020), más de 48 horas (P014, P016, P020), más de 56 horas (P016, P020) más prolongada que la de P001 (ver Tabla 9).

Comparando con P001, en base a los experimentos de acuerdo con el método descrito anteriormente, durante el período de ensayo, los efectos hipoglucémicos de P008 ($p < 0,01$), P014 ($p < 0,001$) y P019 ($p < 0,05$) son significativamente mejores que el de P001 (AUC de glucosa en sangre, $P < 0,05$, como se muestra en la Figura 2A). El AUC de inhibición de glucosa en sangre es 2,3, 2,6 y 2,2 veces de la de P001 respectivamente; la duración del efecto de hipoglucemia es 40 horas, 72 horas y 24 horas más prolongada que la de P001 respectivamente (Tabla 9). El efecto hipoglucémico de P007 es comparable al de P001, pero la duración hipoglucémica es 24 horas más prolongada que la de P001 (como se muestra en la Figura 2A, y Tabla 9).

Comparando con Tirzepatide: los efectos hipoglucémicos de P014 ($p < 0,05$, Figura 2B), P016 ($p < 0,05$, Figura 2C) y P020 ($p < 0,05$, Figura 2C) son más fuertes que el de Tirzepatide (AUC de glucosa en sangre, $p < 0,05$). Las AUC de inhibición de glucosa en sangre son 1,7, 2,2 y 2,0 veces las de Tirzepatide respectivamente. Más aún, ellas muestran también una duración significativamente más prolongada de los efectos de la droga (48 horas, 56 horas y 56 horas más prolongada que la de Tirzepatide respectivamente, Tabla 9). Los efectos hipoglucémicos de P013 y P017 son comparables con el de Tirzepatide (Figura 2C), pero la duración de los efectos de la droga es 24 horas mayor que la de Tirzepatide (Tabla 9).

Sorprendentemente, comparando con P001, los agonistas de GLP-1/GIP acilados de la presente invención mejoran significativamente el efecto hipoglucémico mientras mantienen el efecto de larga duración. Los compuestos de acuerdo con la presente invención con cadenas modificadoras de diferentes formas pueden lograr efectos hipoglucémicos más fuertes y de mayor larga duración que P001. Más aún, algunos

compuestos de acuerdo con la presente invención exhiben efectos hipoglucémicos más fuertes y de mayor larga duración que Tirzepatide.

Adicionalmente, en conjunción con el desempeño de la unión y efecto agonista de los compuestos de acuerdo con la presente invención para los receptores de GLP-1 y GIP humanos diana, se halló sorprendentemente que, aunque los compuestos de acuerdo con la presente invención muestran una unión y actividad agonista significativamente reducidas para ambos el receptor de GLP-1 humano diana y el receptor de GIP humano diana comparando con P001, los efectos hipoglucémicos de los compuestos de acuerdo con la presente invención son significativamente mejores que los de P001.

(II) Experimento de Administración Múltiple en Ratones db/db

En este estudio, se administran ratones db/db subcutáneamente múltiples veces, y se determinan los cambios en la glucosa en sangre en los ratones para ilustrar adicionalmente los efectos hipoglucémicos de los compuestos de acuerdo con la presente invención, y se los compara con los del control positivo Tirzepatide. En este estudio, se utilizan ratones macho db/db de 7-8 semanas de edad. Se colocan los ratones db/db en una instalación con jaulas ventiladas individuales (IVC) con una temperatura (20-26°C) y humedad (40-70%) controladas y un ciclo de luz-oscuridad 12 h:12 h controlado. Los ratones reciben alimento y agua *ad libitum*. Se muestrea sangre de la punta de la cola y se mide la glucosa en sangre en ayunas mediante un medidor de glucosa en sangre de Roche. Se dividen aleatoriamente los ratones en grupos de acuerdo con la glucosa en sangre inicial y el peso corporal inicial (n=6/grupo) y cada grupo tiene peso corporal y glucosa en sangre similares.

Se disuelven los compuestos de la presente invención (3, 10, 30 nmol/kg) o el control positivo Tirzepatide (3, 10, 30 nmol/kg) en un vehículo (PBS conteniendo Tween 20 0,1%, pH 7,2-7,4). Se administra subcutáneamente a los ratones cada 3 días durante 4 semanas. La administración subcutánea se realiza en los días 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22 y 25. Se registra la glucosa en sangre aleatoria cada 3 días a lo largo del estudio. En el día 28, se mide la glucosa en sangre en ayunas. Entonces se recolecta sangre mediante muestreo orbital. Después del muestreo orbital, se sacrifican los animales y se toma y se pesa el hígado. Después de 1 a 2 horas, se centrifuga la sangre recolectada a 3000 rpm durante 10 min para separar el suero. Se determinan indicadores bioquímicos tales como triglicéridos (TG), alanina aminotransferasa (ALT) y bilirrubina total (BILT) con un analizador bioquímico. Los datos de resultados se analizan estadísticamente utilizando GraphPad Prism8, y se analizan las diferencias significativas entre los grupos siguiendo la Prueba T. Se identifican las diferencias significativas a $p < 0,05$.

En el experimento desarrollado como se describe en el método anterior, los compuestos de acuerdo con la presente invención, tales como P014, P016, P017 y P020, todos muestran mejor inhibición de la glucosa en sangre comparando con Tirzepatide a una dosis de 3 nmol/kg. A una dosis de 30 nmol/kg, la eficacia de la droga de P016 es superior a la de Tirzepatide (ver Figuras 3A-3D, y Tabla 10). P016, P017 y P020 redujeron significativamente el peso del hígado en los ratones db/db a varias dosis, mientras que Tirzepatide no redujo el peso del hígado a las tres dosis ensayadas. Los compuestos de acuerdo con la presente invención, tales como P014, P016, P017, P020 y Tirzepatide, pueden eficazmente reducir GT en el suero de los ratones db/db (excepto para los grupos P017 y Tirzepatide a 3 nmol/kg), y los grupos P016 y P020 a algunas dosis muestran mejor eficacia de la droga que Tirzepatide (ver Tabla 11). Además, P014 y P016 también pueden reducir BILT y/o ALT en suero.

Tabla 10. Glucosa en Sangre en Ayunas y AUC de Glucosa en Sangre de Ratones db/db

Grupo	Glucosa en Sangre en Ayunas al D28 (mmol/L)	AUC 4-25 días Glu (mmol/L·día)
Vehículo	18,34±3,45	493,71±40,3
P014 3 nmol/kg	10,22±1,58 ^{***}	294±40,43 ^{***}
P014 10 nmol/kg	10,72±1,75	214,4±33,73 ^{***#}
P014 30 nmol/kg	13,38±3,38	190,62±26,47 ^{***}
P016 3 nmol/kg	10,42±1,46 ^{***}	256,38±22 ^{***###}
P016 10 nmol/kg	12,5±2,19	249,25±41,42 ^{**}
P016 30 nmol/kg	6,05±0,41 ^{***}	163,98±11,57 ^{***#}
P017 3 nmol/kg	11,68±1,7 [#]	303,78±33,24 ^{***}
P017 10 nmol/kg	11,95±2,51	249,65±47,65 ^{**}
P017 30 nmol/kg	10,08±0,79 [*]	294,96±11,96 ^{**}
P020 3 nmol/kg	9,6±1,32 ^{***}	268,28±24,64 ^{***#}
P020 10 nmol/kg	10,7±1,62	290,78±27,25 ^{**}
P020 30 nmol/kg	8,22±1,07 [*]	184,18±22,44 ^{***}
TZP 3 nmol/kg	17,35±1,21	419,85±26,42
TZP 10 nmol/kg	13,82±1,99	355,68±30,8 [*]

TZP 30 nmol/kg	10,88±1,2	252,7±32,81**
----------------	-----------	---------------

Prueba T, *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, ****p<0,0001 vs. grupo vehículo; #p<0,05, ##p<0,01, ###p<0,001 vs. grupo Tirzepatide (TZP) a la misma dosis. Se expresan los resultados como Media±SEM para 6 ratones.

Tabla 11. Peso del Hígado y GT en Suero en Ratones db/db

Grupo	Peso del Hígado (g)	GT en Suero (mmol/L)
Vehículo	2,61±0,19	1,87±0,13
P014 3 nmol/kg	2,26±0,18	1,39±0,07*
P014 10 nmol/kg	2,1±0,14	1,29±0,03**
P014 30 nmol/kg	1,89±0,31	1,14±0,18*
P016 3 nmol/kg	2,24±0,1 [#]	1,21±0,04**** [#]
P016 10 nmol/kg	1,98±0,12*	1,22±0,24*
P016 30 nmol/kg	1,78±0,08**	1,2±0,05***
P017 3 nmol/kg	2,14±0,08*** [#]	1,58±0,17
P017 10 nmol/kg	2,11±0,09*	1,19±0,05***
P017 30 nmol/kg	2,35±0,09	1,09±0,06***
P020 3 nmol/kg	2,03±0,09*** [#]	1,37±0,12*
P020 10 nmol/kg	2,09±0,1*	1,07±0,03**** [#]
P020 30 nmol/kg	1,83±0,16*	1,2±0,07**
TZP 3 nmol/kg	2,49±0,05	1,52±0,11
TZP 10 nmol/kg	2,31±0,17	1,21±0,04**
TZP 30 nmol/kg	2,07±0,15	1,18±0,12**

Prueba T, *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 vs. grupo vehículo; #p<0,05, ##p<0,01 vs. grupo Tirzepatide (TZP) a la misma dosis. Se expresan los resultados como Media±SEM para 6 ratones.

Tabla 12. ALT y BILT en Suero en Ratones db/db

Grupo	ALT en Suero (U/L)	BILT en Suero ($\mu\text{mol/L}$)
Vehículo	189,55 $\pm$ 40,92	1,43 $\pm$ 0,3
P014 3 nmol/kg	111,24 $\pm$ 13,23	0,58 $\pm$ 0,11 ^{***}
P014 10 nmol/kg	89,9 $\pm$ 8,66 [*]	0,58 $\pm$ 0,15 [*]
P014 30 nmol/kg	106,47 $\pm$ 14,3	0,36 $\pm$ 0,15 ^{***}
P016 3 nmol/kg	137,93 $\pm$ 34,59	0,82 $\pm$ 0,13
P016 10 nmol/kg	128,94 $\pm$ 16,93	1,22 $\pm$ 0,28
P016 30 nmol/kg	97,7 $\pm$ 12,36 [*]	0,73 $\pm$ 0,16
P017 3 nmol/kg	105,16 $\pm$ 7,1	0,88 $\pm$ 0,26
P017 10 nmol/kg	141,65 $\pm$ 12,72	1,59 $\pm$ 0,07
P017 30 nmol/kg	176,48 $\pm$ 51,6	1,11 $\pm$ 0,1
P020 3 nmol/kg	214,56 $\pm$ 43,83	1,54 $\pm$ 0,25
P020 10 nmol/kg	113,48 $\pm$ 24,18	0,91 $\pm$ 0,05
P020 30 nmol/kg	112,47 $\pm$ 16,69	0,95 $\pm$ 0,28
TZP 3 nmol/kg	146,03 $\pm$ 19,67	1,54 $\pm$ 0,17
TZP 10 nmol/kg	138,66 $\pm$ 31,26	1,2 $\pm$ 0,3
TZP 30 nmol/kg	112,48 $\pm$ 14,55	0,91 $\pm$ 0,04

Prueba T, * $p < 0,05$ vs. grupo vehículo; # $p < 0,05$, *** $p < 0,01$ vs. grupo Tirzepatide (TZP) a la misma dosis. Se expresan los resultados como Media $\pm$ SEM para 6 ratones.

Resumiendo, en este sistema experimental, los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden reducir eficazmente la glucosa en sangre en ratones db/db mediante inyección subcutánea durante 4 semanas. La dosis eficaz mínima (≤ 3 nmol/kg) para los compuestos de acuerdo con la presente invención es un tercio de la dosis eficaz para Tirzepatide (10 nmol/kg), y la eficacia de droga máxima (30 nmol/kg) de algunos compuestos de acuerdo con la presente invención, tal como P016 es superior a la de Tirzepatide. Además, algunos compuestos de acuerdo con la presente invención exhiben reducidos peso del hígado y efectos protectores de los hígados en ratones db/db, mientras que Tirzepatide no tiene un efecto similar.

(III) Administración Repetida en Ratas Macho durante 2 Semanas

1. Cronograma Experimental

Se seleccionan 77 ratas SD macho (grado SPF) y se dividen aleatoriamente en 10 grupos en base al peso corporal. El Grupo 1 es el grupo de control vehículo, que incluye 5 animales. Los Grupo 2 a Grupo 4 son los grupos de control administrados con Tirzepatide disponible comercialmente, donde cada grupo incluye 8 animales, en donde 5 animales son para ensayo primario y 3 animales para ensayo toxicocinético, y la dosis de administración es 1, 3 y 10 mg/kg, respectivamente. Los Grupo 5 a Grupo 7 son los grupos administrados con la sustancia 1 de ensayo; y los Grupo 8 a Grupo 10 son los grupos administrados con la sustancia 2 de ensayo, en donde cada grupo incluye 8 animales, en donde 5 animales son para ensayo primario y 3 animales para ensayo toxicocinético, y la dosis de administración es 1, 3 y 10 mg/kg, respectivamente. Cada uno de los grupos anteriores es administrado de manera continua dos veces a la semana durante 2 semanas (administración al Día 1, Día 5, Día 8, Día 12 y Día 15).

Durante el experimento se realizan en todos los grupos de animales el monitoreo de las condiciones de la jaula, observaciones clínicas detalladas, determinación del consumo de alimento, determinación del peso corporal, medición del indicador bioquímico de la sangre y de hematología, investigación de la anatomía macroscópica, pesado de los órganos, estudio de toxicocinética.

2. Datos Estadísticos

Las tablas a continuación ilustran las combinaciones utilizadas para la comparación estadística en detalle. Las tablas son como sigue:

Método para Análisis Estadístico

Grupo como Control	Grupos utilizados para comparación
1	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10

Se tabulan los datos originales durante cada período de tiempo. Los valores promedios y desviaciones estándar y/o cambio del grupo se calculan para cada punto final del ensayo en base al grupo y sexo. Para cada punto final, el grupo de administración es comparado con el grupo control en el siguiente aspecto. Se realiza una conversión logarítmica para los datos de punto final como se desea antes del comienzo de los análisis específicos.

Análisis Estadístico

Ítem	Método Analítico
Consumo de Alimento	Comparación entre grupos
Peso	
Hematología (excluyendo conteo de glóbulos blancos)	
Coagulación	
Bioquímica del Suero	
Peso de Órganos	
Peso absoluto	Conversión logarítmica/comparación grupo-grupo
Coeficientes de los órganos relativos al peso corporal y cerebro	
Conteo de Glóbulos Blancos	
Glóbulos Blancos Totales	
Conteo Diferencial de Glóbulos Blancos	

3. Resultados Experimentales

Peso Corporal/Ganancia de Peso: Después de la primera administración, se observa la disminución del peso corporal en cada uno de los siguientes grupos: Tirzepatide a una dosis ≥ 3 mg/kg; P014 y P016 a una dosis ≥ 1 mg/kg. Continuando la administración, se recupera el peso corporal y al final de la administración, todos los grupos tienen un aumento positivo en peso corporal, pero la ganancia de peso era menor que la del grupo control, mostrando una obvia relación dependiente de la dosis.

Ingesta de Alimento: A lo largo del procedimiento de ensayo, se observa una disminución dependiente de la dosis en la ingesta de alimento en cada grupo de administración (Tirzepatide, P014 y P016). **Química de la Sangre:** Disminución de los niveles de amilasa y triglicéridos. **Hematología:** El nivel de reticulocitos desciende levemente. **Anatomía**

Macroscópica: No se hallan anormalidades en cada grupo de administración (Tirzepatide, P014 y P016). Peso de Órganos: Disminuye el peso del corazón, hígado y bazo y lo similar en cada grupo de administración (Tirzepatide, P014 y P016), el cual no es significativamente diferente de aquél en el grupo de control vehículo. Esto puede asociarse a la pérdida de peso causada por efectos farmacológicos. Toxicocinética: C_{max} y AUC en cada grupo de administración (Tirzepatide, P014 y P016) aumentan casi proporcionalmente a la dosis. Los grupos de administración (Tirzepatide, P014 y P016) no muestran acumulación sustancial cuando se administra continuamente dos veces a la semana durante 2 semanas.

Cada grupo de administración (Tirzepatide, P014 y P016) tiene una $MTD \geq 10$ mg/kg cuando se administran continuamente dos veces a la semana durante 2 semanas. C_{max} , AUC_{ultima} después de la última dosis y la ventana de seguridad del ensayo son como sigue:

Tabla 13. Ventana de Seguridad para Cada Grupo de Administración

Artículo de Ensayo	Tirzepatide	P014	P016
MTD	2077 nmol/kg (MTD durante 2 semanas)	1980 nmol/kg (MTD durante 2 semanas)	1924 nmol/kg (MTD durante 2 semanas)
Dosis Eficaz	10 nmol/kg	3 nmol/kg	3 nmol/kg
Ventana de Seguridad (en base a dosificación)	416	1319	1282
Ventana de Seguridad (en base a AUC_{ultima} de exposición)	130	596	920

Resumiendo, P016 y P014 tienen similares propiedades de toxicidad a las de Tirzepatide, pero tienen una mayor ventana de seguridad (en base a la exposición, la ventana de seguridad de P014 es más de 4 veces la de Tirzepatide, y la ventana de seguridad de P016 es más de 7 veces de la de Tirzepatide).

Además, las ventanas de seguridad de los compuestos de acuerdo con la presente invención, en particular P014 y P016, es 10 veces más grande, o 20 veces más grande, o 30 veces más grande, o 40 veces más grande, o 50 veces más grande, o 60 veces más grande, o 70 veces más grande, u 80 veces más grande, o 90 veces más grande que la de P001.

Mientras tanto, con la misma exposición, los compuestos de acuerdo con la presente invención tienen un menor impacto en la frecuencia cardíaca (FC) que Tirzepatide. El

aumento en la FC para P016 es menor que para Tirzepatide. No se observa un aumento sostenido en la FC que exceda el 30%. Con la misma exposición, la recuperación de la frecuencia cardíaca para P016 es más rápida que para TZP (el tiempo de recuperación para P016 es entre 72 y 120 horas, y el tiempo de recuperación para TZP >120 horas).

Los compuestos peptídicos proporcionados por la presente invención y el uso de los mismos se han presentado en detalle arriba.

Se han aplicado en la presente ejemplos específicos para ilustrar el principio y formas de realización de la presente invención. La ilustración de los ejemplos anteriores se utiliza meramente para ayudar la comprensión del método y de la idea central de la presente invención. Debe notarse que aquellos expertos en el arte pueden realizar diversas mejoras y modificaciones a la presente invención sin apartarse de los principios de la presente invención, y estas mejoras y modificaciones también caen dentro del alcance de protección de las reivindicaciones de la presente invención.

Secuencias de aminoácidos:

Nombre	N°	Secuencia
P001	SEQ ID NO:1	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; en donde X ₁ es Aib; X ₂ es α MePhe; X ₃ es Aib; X ₄ es Aib; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:1)
P007	SEQ ID NO:7	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; en donde X ₁ es Aib; X ₂ es α MePhe; X ₃ es Aib; X ₄ es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil) ₂ -(γ -Glu) ₁ -CO-(CH ₂) ₁₆ -CO ₂ H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:7).
P008	SEQ ID NO:8	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; en donde X ₁ es Aib; X ₂ es α MePhe; X ₃ es Aib; X ₄ es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ -amino de la cadena lateral de la K con ([2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-acetil) ₂ -(γ -Glu) ₁ -CO-(CH ₂) ₁₆ -CO ₂ H; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:8).
P013	SEQ ID NO:13	Y-X ₁ -E-G-T-X ₂ -T-S-D-Y-X ₃ -I-X ₄ -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K;

		en donde X_1 es Aib; X_2 es αMePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ-amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_2(\gamma\text{-Glu})_1\text{-CO-(CH}_2\text{)}_{18}\text{-CO}_2\text{H}$; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:13).
P014	SEQ ID NO:14	Y-X_1-E-G-T-X_2-T-S-D-Y-X_3-I-X_4-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; en donde X_1 es Aib; X_2 es αMePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ-amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_2(\gamma\text{-Glu})_1\text{-CO-(CH}_2\text{)}_{20}\text{-CO}_2\text{H}$; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:14).
P015	SEQ ID NO:15	Y-X_1-E-G-T-X_2-T-S-D-Y-X_3-I-X_4-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; en donde X_1 es Aib; X_2 es αMePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ-amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_2(\gamma\text{-Glu})_3\text{-CO-(CH}_2\text{)}_{16}\text{-CO}_2\text{H}$; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:15).
P016	SEQ ID NO:16	Y-X_1-E-G-T-X_2-T-S-D-Y-X_3-I-X_4-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; en donde X_1 es Aib; X_2 es αMePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 24 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ-amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_3(\gamma\text{-Glu})_1\text{-CO-(CH}_2\text{)}_{20}\text{-CO}_2\text{H}$; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:16).
P017	SEQ ID NO:17	Y-X_1-E-G-T-X_2-T-S-D-Y-X_3-I-X_4-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; en donde X_1 es Aib; X_2 es αMePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ-amino de la cadena lateral de la K con $[(2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi})\text{-acetil}]_2(\gamma\text{-Glu})_1\text{-CO-(CH}_2\text{)}_{20}\text{-CO}_2\text{H}$; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:17).
P018	SEQ ID	Y- X_1 -E-G-T- X_2 -T-S-D-Y- X_3 -I- X_4 -L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S

	NO:18	-S-G-A-P-P-P-S-K; en donde X_1 es Aib; X_2 es αMePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ-amino de la cadena lateral de la K con $([2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_2-(\gamma\text{-Glu})_3\text{-CO}-(\text{CH}_2)_{16}\text{-CO}_2\text{H}$; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:18).
P019	SEQ ID NO:19	Y-X_1-E-G-T-X_2-T-S-D-Y-X_3-I-X_4-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; en donde X_1 es Aib; X_2 es αMePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ-amino de la cadena lateral de la K con $([2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_3-(\gamma\text{-Glu})_1\text{-CO}-(\text{CH}_2)_{16}\text{-CO}_2\text{H}$; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:19).
P020	SEQ ID NO:20	Y-X_1-E-G-T-X_2-T-S-D-Y-X_3-I-X_4-L-D-K-Q-A-Q-A-E-F-V-K-W-L-L-K-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-S-K; en donde X_1 es Aib; X_2 es αMePhe; X_3 es Aib; X_4 es Aib; la K en la posición 28 está químicamente modificada mediante conjugación del ϵ-amino de la cadena lateral de la K con $([2-(2\text{-amino-etoxi})\text{-etoxi}]\text{-acetil})_3-(\gamma\text{-Glu})_1\text{-CO}-(\text{CH}_2)_{20}\text{-CO}_2\text{H}$; y el aminoácido C-terminal está amidado como una amida primaria C-terminal (SEQ ID NO:20).