



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 302 390**

51 Int. Cl.:
C07K 14/605 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61P 3/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **99960657 .7**
86 Fecha de presentación : **07.12.1999**
87 Número de publicación de la solicitud: **1137666**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **04.10.2001**

54 Título: **Análogos de GLP-1.**

30 Prioridad: **07.12.1998 US 206833**
07.12.1998 US 111186 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.07.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.07.2008

73 Titular/es: **SOCIÉTÉ DE CONSEILS DE
RECHERCHES ET D'APPLICATIONS
SCIENTIFIQUES S.A.S.**
51-53 rue du Docteur Blanche
75016 Paris, FR
**The Administrators of The Tulane Educational
Fund**

72 Inventor/es: **Dong, Zheng, Xin y**
Coy, David, H.

74 Agente: **Polo Flores, Carlos**

ES 2 302 390 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

ES 2 302 390 T3

A⁹ es Glu, N-Me-Glu, N-Me-Asp o Asp;

A¹⁰ es Gly, Acc, Ala, D-Ala, Phe o Aib;

5 A¹¹ es Thr o Ser;

A¹² es Phe, Acc, Aic, Aib, 3-Pal, 4-Pal, β -Nal, Cha, Trp o X¹-Phe;

10 A¹³ es Thr o Ser;

A¹⁴ es Ser, Thr, Ala o Aib;

A¹⁵ es Asp, Ala, D-Asp o Glu;

15 A¹⁶ es Val, D-Val, Acc, Aib, Leu, Ile, Tle, Nle, Abu, Ala, D-Ala, Tba o Cha;

A¹⁷ es Ser, Ala, D-Ala, Aib, Acc o Thr;

20 A¹⁸ es Ser, Ala, D-Ala, Aib, Acc o Thr;

A¹⁹ es Tyr, D-Tyr, Cha, Phe, 3-Pal, 4-Pal, Acc, β -Nal, Amp o X¹-Phe;

A²⁰ es Leu, Ala, Acc, Aib, Nle, Ile, Cha, Tle, Val, Phe o X¹-Phe;

25 A²¹ es Glu, Ala o Asp;

A²² es Gly, Acc, Ala, D-Ala, β -Ala o Aib;

30 A²³ es Gln, Asp, Ala, D-Ala, Aib, Acc, Asn o Glu;

A²⁴ es Ala, Aib, Val, Abu, Tle o Acc;

35 A²⁵ es Ala, Aib, Val, Abu, Tle, Acc, Lys, Arg, hArg, Om, HN-CH((CH₂)_m-NR¹⁰R¹¹)-C(O) o HN-CH((CH₂)_e-X³)-C(O);

A²⁶ es Lys, Ala, 3-Pal, 4-Pal, Arg, hArg, Om, Amp, HN-CH((CH₂)_n-NR¹⁰R¹¹)-C(O) o HN-CH((CH₂)_e-X³)-C(O);

A²⁷ es Glu, Ala, D-Ala o Asp;

40 A²⁸ es Phe, Ala, Pal, β -Nal, X¹-Phe, Aic, Acc, Aib, Cha o Trp;

A²⁸ es Ile, Acc, Aib, Leu, Nle, Cha, Tle, Val, Abu, Ala, Tba o Phe;

45 A³⁰ es Ala, Aib, Acc o suprimido;

A³¹ es Trp, Ala, β -Nal, 3-Pal, 4-Pal, Phe, Acc, Aib, Cha, Amp o suprimido;

A³² es Leu, Ala, Acc, Aib, Nle, Ile, Cha, Tle, Phe, X¹-Phe, Ala o suprimido;

50 A³³ es Val, Acc, Aib, Leu, Ile, Tle, Nle, Cha, Ala, Phe, Abu, X¹-Phe, Tba, Gaba o suprimido;

A³⁴ es Lys, Arg, hArg, Om, Amp, Gaba, HN-CH((CH₂)_n-NR¹⁰R¹¹)-C(O), HN-CH((CH₂)_e-X³)-C(O) o suprimido;

55 A³⁵ es Gly o suprimido;

A³⁶ es L- o D-Arg, D- o L-Lys, D- o L-hArg, D- o L-Om, Amp, HN-CH((CH₂)_n-NR¹⁰R¹¹)-C(O), HN-CH((CH₂)_e-X³)-C(O) o suprimido;

60 A³⁷ es Gly o suprimido;

X¹ para cada caso se selecciona independientemente de alquilo (C₁-C₆), OH y halógeno;

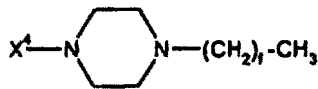
R¹ es OH, NH₂, alcoxi (C₁-C₁₂), o NH-X²-CH₂-Z^o, en el que X² es un resto hidrocarburo (C₁-C₁₂), y Z^o es H, OH, CO₂H o CONH₂;

65

ES 2 302 390 T3

X³ es

5



10 o -C(O)-NHR¹², en el que X⁴ para cada caso es independientemente -C(O)-, -NH-C(O)- o -CH₂-, y f para cada caso es independientemente un número entero de 1 a 29;

e para cada caso es independientemente un número entero de 1 a 4;

n para cada caso es independientemente un número entero de 1-5; y

15

R¹⁰ y R¹¹ para cada caso cada uno es independientemente H, alquilo (C₁-C₃₀), acilo (C₁-C₃₀), alquilsulfonilo (C₁-C₃₀), -C((NH)(NH₂)) o

20



25 con la condición de que cuando R¹⁰ es acilo (C₁-C₃₀), alquilsulfonilo (C₁-C₃₀), -C((NH)(NH₂)) o

30



R¹¹ es H o alquilo (C₁-C₃₀); y

35

R¹² es alquilo (C₁-C₃₀);

o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

40

Un compuesto preferido del compuesto inmediatamente anterior de fórmula (I) es cuando A¹¹ es Thr; A¹³ es Thr; A¹⁴ es Ser, Aib o Ala; A¹⁷ es Ser, Ala, Aib o D-Ala; A¹⁸ es Ser, Ala, Aib o D-Ala; A²¹ es Glu o Ala; A²³ es Gln, Glu, o Ala; y A²⁷ es Glu o Ala; o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

45

Un compuesto preferido del compuesto inmediatamente anterior de fórmula (I) es cuando A⁹ es Glu, N-Me-Glu o N-Me-Asp; A¹² es Phe, Acc o Aic; A¹⁶ es Val, D-Val, Acc, Aib, Ala, Tle o D-Ala; A¹⁹ es Tyr, 3-Pal, 4-Pal o D-Tyr; A²⁰ es Leu, Acc, Cha, Ala o Tle; A²⁴ es Ala, Aib o Acc; A²⁵ es Ala, Aib, Acc, Lys, Arg, hArg, Om, HN-CH(CH₂)_n-NH-R¹⁰-C(O); A²⁸ es Phe o Ala; A²⁹ es Ile, Acc o Tle; A³⁰ es Ala, Aib o suprimido; A³¹ es Trp, Ala, 3-Pal, 4-Pal o suprimido; A³² es Leu, Acc, Cha, Ala o suprimido; A³³ es Val, Acc, Ala, Gaba, Tle o suprimido; o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

50

Un compuesto preferido del compuesto inmediatamente anterior de fórmula (I) es cuando A⁸ es Ala, D-Ala, Aib, A6c, A5c, N-Me-Ala, N-Me-D-Ala o N-Me-Gly; A¹⁰ es Gly, Ala, D-Ala o Phe; A¹² es Phe, A6c o A5c; A¹⁶ es Val, Ala, Tle, A6c, A5c o D-Val; A²⁰ es Leu, A6c, A5c, Cha, Ala o Tle; A²² es Gly, Aib, β-Ala, L-Ala o D-Ala; A²⁴ es Ala o Aib; A²⁹ es Ile, A6c, A5c o Tle; A³² es Leu, A6c, A5c, Cha, Ala o suprimido; A³³ es Val, A6c, A5c, Ala, Gaba, Tle o suprimido; o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

55

Un compuesto preferido del compuesto inmediatamente anterior de fórmula (I) es en el que R¹ es OH o NH₂ o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

60

Un compuesto más preferido de fórmula (I) es en el que dicho compuesto es [Hppa⁷]hGLP-1(7-36)-NH₂, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Otro compuesto más preferido de fórmula (I) es en el que dicho compuesto es [Ura⁷]hGLP-1(7-36)-NH₂; [Paa⁷]hGLP-1(7-36)-NH₂; [Pta⁷]hGLP-1(7-36)NH₂; o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

65

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) como se define en lo que antecede o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

ES 2 302 390 T3

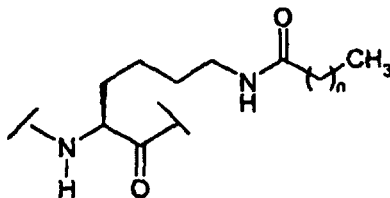
En otro aspecto más, la presente invención proporciona un uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en lo que antecede o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la preparación de un medicamento para provocar un efecto agonista en un receptor de GLP-1 en un sujeto que lo necesite.

5 En otro aspecto adicional más, esta invención proporciona un uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en lo que antecede o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en diabetes de tipo I, diabetes de tipo II, obesidad, glucagonomas, trastornos de secreción de las vías respiratorias, trastorno metabólico, artritis, osteoporosis, enfermedad del sistema nervioso central, reestenosis y enfermedad neurodegenerativa, insuficiencia renal, insuficiencia cardiaca congestiva, 10 síndrome nefrótico, cirrosis, edema pulmonar e hipertensión, en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz. De los usos anteriores se prefiere cuando la enfermedad es la diabetes de tipo I o diabetes de tipo II.

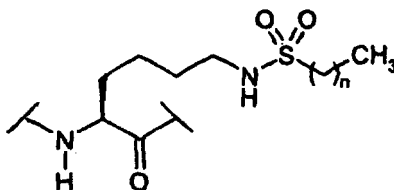
Salvo el aminoácido N-terminal, todas las abreviaturas (p. ej. Ala) de aminoácidos en esta descripción representan 15 la estructura -NH-CH(R)-CO- , en el que R es la cadena lateral de un aminoácido (p. ej., CH_3 para Ala). Para el aminoácido N-terminal, la abreviatura representa la estructura $(\text{R}^2\text{R}^3)\text{-N-CH(R)-CO-}$, en la que R es una cadena lateral de un aminoácido y R^2 y R^3 son como se han definido antes excepto en el caso en el que A^7 es Ura, Paa, Pta o Hppa, en cuyo caso R^2 y R^3 no están presentes, puesto que aquí Ura, Paa, Pta y Hppa se consideran aminoácidos desaminados. Las abreviaturas: β -Nal, Nle, Cha, Amp, 3-Pal, 4-Pal y Aib representan los siguientes α -aminoácidos: β -(2-naftil) 20 alanina, norleucina, ciclohexilalanina, 4-amino-fenilalanina, β -(3-piridinil)alanina, β -(4-piridinil)alanina y ácido α -aminoisobutírico, respectivamente. Otras definiciones de aminoácidos son: Ura es ácido urocánico; Pta es ácido (4-piridiltio)acético; Paa es ácido trans-3-(3-piridil)acrílico; Tma-His es N,N-tetrametilamidino-histidina; N-Me-Ala es N-metil-alanina; N-Me-Gly es N-metil-glicina; N-Me-Glu es ácido N-metil-glutámico; Tle es *terc*-butilglicina; Abu es ácido α -aminobutírico; Tba es *terc*-butilalanina; Orn es ornitina; Aib es ácido α -aminoisobutírico; β -Ala es β -alanina; 25 Gaba es ácido γ -aminobutírico; Ava es ácido 5-aminovalérico; y Aic es ácido 2-aminoindano-2-carboxílico.

Por Acc se entiende un aminoácido seleccionado del grupo de ácido 1-amino-1-ciclopropanocarboxílico (A3c); ácido 1-amino-1-ciclobutanocarboxílico (A4c); ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico (A5c); ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (A6c); ácido 1-amino-1-cicloheptanocarboxílico (A7c); ácido 1-amino-1-ciclooctanocarboxílico (A8c); y ácido 1-amino-1-ciclononanocarboxílico (A9c). En la fórmula anterior, hidroxialquilo, hidroxifenilalquilo e hidroxinaftilalquilo pueden contener 1-4 sustituyentes hidroxilo. COX^5 representa -C=OX^5 . Los ejemplos de -C=OX^5 incluyen, pero no se limitan a acetilo y fenilpropionilo.

Lo que se entiende por Lys(N^e-alcanoilo) se representa por la siguiente estructura:

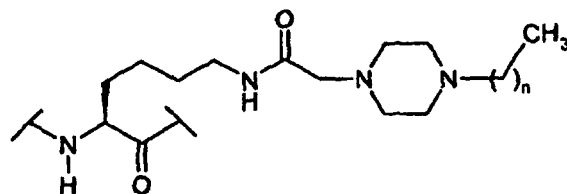


Lo que se entiende por Lys(N^e-alquilsulfonilo) se representa por la siguiente estructura:

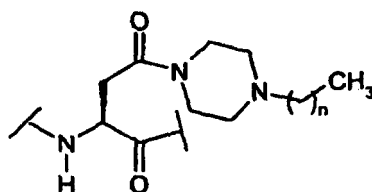


ES 2 302 390 T3

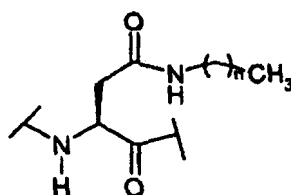
Lo que se entiende por Lys(N^ε-(2-(4-alkil-1-piperazina)-acetilo)) se representa por la siguiente estructura:



Lo que se entiende por Asp(1-(4-alkil-piperazina)) se representa por la siguiente estructura:



Lo que se entiende por Asp(1-alkilamino) se representa por la siguiente estructura:



La variable n en las estructuras anteriores es 1 a 30.

40 Los nombres completos de otras abreviaturas usadas en el presente documento son los siguientes: Boc para t-butiloxicarbonilo, HF para fluoruro de hidrógeno, Fm para formilo, Xan para xantilo, Bzl para bencilo, Tos para tosilato, DNP para 2,4-dinitrofenilo, DMF para dimetilformamida, DCM para diclorometano, HBTU para hexafluorofosfato de 2-(1H-Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronio, DIEA para diisopropiletilamina, HOAc para ácido acético, TFA para ácido trifluoroacético, 2ClZ para 2-clorobenciloxicarbonilo y OcHex para O-ciclohexilo.

45 Un péptido de esta invención también se indica en el presente documento mediante otro formato, p. ej., [A5c⁸] hGLP-1(7-36)NH₂, con los aminoácidos sustituidos de la secuencia natural puestos entre corchetes (p. ej., A5c⁸ para Ala⁸ en hGLP-1). La abreviatura GLP-1 significa péptido 1 similar al glucagón, y hGLP-1 significa péptido 1 similar al glucagón humano. Los números entre paréntesis se refieren al número de aminoácidos presentes en el péptido (p. ej., hGLP-1(7-36) son los aminoácidos de 7 a 36 de la secuencia peptídica para el GLP-1 humano). La secuencia de hGLP-1(7-37) se lista en Mojsov, S., *Int. J. Peptide Protein Res.*, 40, 1992, pág. 333-342. La designación "NH₂" en hGLP-1(7-36)NH₂ indica que el extremo C del péptido está amidado. hGLP-1(7-36) significa que el extremo C es el ácido libre.

55 Descripción detallada

Los péptidos de esta invención se pueden preparar por síntesis de péptidos en fase sólida estándar. Véase, por ejemplo, Stewart, J.M., y col., *Solid Phase Synthesis* (Pierce Chemical Co., 2d ed. 1984).

60 Cuando R¹ es NH-X²-CH₂-CONH₂ (es decir, Z^o=CONH₂), la síntesis del péptido empieza con BocHN-X²-CH₂-COOH que se acopla con la resina MBHA. Si R¹ es NH-X²-CH₂-COOH (es decir, Z^o=COOH) la síntesis del péptido empieza con Boc-HN-X²-CH₂-COOH que se acopla con la resina PAM.

65 A continuación se describe un procedimiento sintético para preparar un péptido de esta invención, dicho procedimiento es conocido para los expertos en la materia. Los expertos en la materia también conocen otros procedimientos.

La resina de bencidrilamina-poliestireno (Advanced ChemTech, Inc., Louisville, KY) (0,9 g, 0,3 mmoles) en la forma iónica de cloruro se pone en un recipiente de reacción de un sintetizador de péptidos Advanced ChemTech

ES 2 302 390 T3

modelo 200 programado para llevar a cabo el siguiente ciclo de reacciones: (a) cloruro de metileno; (b) ácido trifluoroacético al 33% en cloruro de metileno (2 veces durante 1 y 15 min cada una); (c) cloruro de metileno; (d) etanol; (e) cloruro de metileno; (f) diisopropiletilamina al 10% en cloruro de metileno.

5 La resina neutralizada se agita con el aminoácido protegido con Boc que va a ser el aminoácido C-terminal del péptido deseado que se va a sintetizar y diisopropilcarbodiimida (3 mmoles de cada uno) en cloruro de metileno durante 1 hora, y la resina con el aminoácido resultante se pasa por el ciclo a través de las etapas (a) a (f) del programa de lavado anterior. El resto de aminoácidos (3 mmol) del péptido deseado se acoplan después sucesivamente por el mismo procedimiento. El péptido acabado se escinde de la resina mezclándolo con anisol (5 ml), ditiotreitól (100 mg)
10 y fluoruro de hidrógeno anhidro (35 ml) a aproximadamente 0°C y agitándola durante aproximadamente 45 min. El exceso de fluoruro de hidrógeno se evapora rápidamente con una corriente de nitrógeno seco y se hace precipitar el péptido libre y se lava con éter. El péptido bruto después se disuelve en un volumen mínimo de ácido acético diluido y se eluye en una columna (2,5 x 25 cm) de sílice octadecilsilano VYDAC® (10 mM) y se eluye con un gradiente lineal de acetonitrilo al 20-60% a lo largo de aproximadamente 1 h en ácido trifluoroacético al 1% en agua. Las fracciones
15 se examinan por cromatografía en capa fina y cromatografía líquida de alto rendimiento analítica (40-70% de B a 1%/min, la solución B es acetonitrilo/agua al 80% que contiene TFA al 0,1%) y se combinan para dar la máxima pureza más que rendimiento. La liofilización repetida de la solución del agua da el producto en forma de un polvo esponjoso blanco.

20 El péptido producto se analiza por HPLC. El análisis de aminoácidos de un hidrolisato ácido del péptido producto puede confirmar la composición del péptido. Se usa la EM por desorción láser para determinar el peso molecular del péptido.

El aminoácido protegido, el ácido 1-[N-terc-butoxicarbonil-amino]-1-ciclohexanocarboxílico (Boc-A6c-OH) se sintetizó como sigue. Se disolvieron 19,1 g (0,133 mol) de ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (Acros Organics, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) en 200 ml de dioxano y 100 ml de agua. Se añadieron 67 ml de NaOH 2 N. La solución se enfrió en un baño de agua helada. Se añadieron a esta solución 32,0 g (0,147 mol) de dicarbonato de di-terc-butilo. La mezcla de reacción se agitó toda la noche a temperatura ambiente. Después el dioxano se separó a presión reducida. Se añadieron 200 ml de acetato de etilo al resto de la solución acuosa. La mezcla se enfrió en un
30 baño agua helada. El pH de la capa acuosa se ajustó a aproximadamente 3 por adición de HCl 4 N. Se separó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (1 x 100 ml). Se combinaron las dos capas orgánicas y se lavaron con agua (2 x 150 ml), se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a sequedad a presión reducida. El residuo se recrystalizó en acetato de etilo/hexanos. Se obtuvieron 9,2 g del producto puro. Rendimiento 29%.

35 Boc-A5c-OH se sintetizó de una forma análoga a la de Boc-A6c-OH. Un experto en la materia puede preparar otros aminoácidos Acc protegidos de forma análoga facilitado por las enseñanzas del presente documento.

En la síntesis de un péptido de esta invención que contiene A5c, A6c y/o Aib, el tiempo de acoplamiento es aproximadamente 2 h para estos restos y los restos que los siguen inmediatamente. Para la síntesis de [Tma-His⁷]hGLP-1 (7-36)NH₂ se usaron HBTU (2 mmol) y DIEA (1,0 ml) en 4 ml de DMF para hacer reaccionar con la amina libre N-terminal del péptido-resina en la última reacción de acoplamiento; el tiempo de acoplamiento es aproximadamente 2 horas.

45 Los nombres completos de las abreviaturas usadas antes son los siguientes: Boc para t-butiloxicarbonilo, HF para fluoruro de hidrógeno, Fm para formilo, Xan para xantilo, Bzl para bencilo, Tos para tosilo, DNP para 2,4-dinitrofenilo, DMF para dimetilformamida, DCM para diclorometano, HBTU para hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronio, DIEA para diisopropiletilamina, HOAc para ácido acético, TFA para ácido trifluoroacético, 2ClZ para 2-clorobenciloxicarbonilo, 2BrZ para 2-bromobenciloxicarbonilo y OcHex para O-ciclohexilo.

50 Se puede ensayar la actividad de un compuesto de la presente invención como compuesto de unión a GLP-1 de acuerdo con el siguiente procedimiento.

Cultivo celular

55 Se cultivaron células de insulinoma de rata RIN 5F (ATCC-n° CRL-2058, American Type Culture Collection, Manassas, VA), que expresaban el receptor de GLP-1, en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) que contenía suero de ternero fetal al 10%, y se mantuvo a aproximadamente 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5%/aire al 95%.

Unión del radioligando

60 Se prepararon las membranas para los estudios de unión del radioligando por homogeneización de las células RIN en 20 ml de Tris-HCl 50 mM enfriado con hielo en un Brinkman Polytron (Westbury, NY) (posición 6, 15 s). Los homogeneizados se lavaron dos veces por centrifugación (39.000 g/10 min), y los sedimentos finales se volvieron a suspender en Tris-HCl 50 mM que contenía MgCl₂ 2,5 mM, bacitracina 0,1 mg/ml (Sigma Chemical, St. Louis, MO), y BSA al 0,1%. Para el ensayo, se incubaron partes alícuotas (0,4 ml) con [¹²⁵I]GLP-1(7-36) 0,05 nM (~2200 Ci/mmol, New England Nuclear, Boston, MA), con y sin 0,05 ml de péptidos de ensayo de competición no marcados.

ES 2 302 390 T3

Después de una incubación de 100 min (25°C), se separó el [¹²⁵I]GLP-1(7-36) unido del libre por filtración rápida a través de filtros GF/C (Brandel, Gaithersburg, MD), que se habían sumergido previamente en polietileno al 0,5%. Después, los filtros se lavaron tres veces con partes alícuotas de 5 ml de Tris-HCl 50 mM enfriado con hielo, y se contó la radiactividad atrapada en los filtros mediante espectrometría gamma (Wallac LKB, Gaithersburg, MD). La unión específica se definió como el [¹²⁵I]GLP-1(7-36) unido total menos el unido en presencia de GLP1(7-36) 1000 nM (Bachem, Torrence, CA).

Los péptidos de esta invención se pueden proporcionar en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de dichas sales incluyen, pero no se limitan a las formadas con ácidos orgánicos (p. ej., ácido acético, láctico, maleico, cítrico, málico, ascórbico, succínico, benzoico, metanosulfónico, toluenosulfónico o pamoico), ácidos inorgánicos (p. ej., ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico), y ácidos poliméricos (p. ej., ácido tánico, carboximetilcelulosa, poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico) o copolímeros de poli(ácidos láctico-glicólico). Un procedimiento típico para preparar una sal de un péptido de la presente invención se conoce bien en la técnica, y se puede llevar a cabo por procedimientos estándar de intercambio de sales. Por consiguiente, la sal de TFA de un péptido de la presente invención (la sal de TFA resulta de la purificación del péptido usando HPLC preparativa, eluyendo con soluciones tampón que contienen TFA) se puede convertir en otra sal, tal como una sal de acetato, disolviendo el péptido en una pequeña cantidad de solución acuosa de ácido acético 0,25 N. La solución resultante se aplica a una columna de HPLC semipreparativa (Zorbax, 300 SB, C-8). La columna se eluye con (1) solución acuosa de acetato amónico 0,1 N durante 0,5 horas, (2) solución acuosa de ácido acético 0,25 N durante 0,5 h y (3) un gradiente lineal (de 20% a 100% de solución B a lo largo de 30 min) con un caudal de 4 ml/min (la solución A es una solución acuosa de ácido acético 0,25 N; la solución B es ácido acético 0,25 N en acetonitrilo/agua, 80:20). Las fracciones que contienen el péptido se recogen y se liofilizan a sequedad.

Como conocen bien los expertos en la técnica, los usos conocidos y potenciales del GLP-1 son variados y múltiples [Véase, Todd, J.F., y col., *Clinical Science*, 1998, 95, pág. 325-329; y Todd, J.F. y col., *European Journal of Clinical Investigation*. 1997, 27, pág.533-536]. Por lo tanto, la administración de los compuestos de esta invención para los propósitos de provocar un efecto agonista, puede tener los mismos efectos y usos que el propio GLP-1. Los usos variados de GLP-1 se pueden resumir como sigue, tratamiento de: diabetes de tipo I, diabetes de tipo II, obesidad, glucagonomas, trastornos de secreción de las vías respiratorias, trastorno metabólico, artritis, osteoporosis, enfermedades del sistema nervioso central, reestenosis y enfermedades neurodegenerativas. Los análogos de GLP-1 de la presente invención que provocan un efecto antagonista en un sujeto, se pueden usar para tratar lo siguiente: hipoglucemia y síndrome de malabsorción asociado con gastroectomía o resección del intestino delgado.

Por consiguiente, la presente invención incluye en su alcance composiciones farmacéuticas que comprenden, como un principio activo, al menos uno de los compuestos de fórmula (I) asociado con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

La dosificación del principio activo en las composiciones de esta invención puede variar; sin embargo, es necesario que la cantidad del principio activo sea tal que se obtenga una forma de dosificación adecuada. La dosificación seleccionada depende del efecto terapéutico deseado, de la vía de administración, y de la duración del tratamiento. En general, una dosificación eficaz para las actividades de esta invención está en el intervalo de 1×10^{-7} a 200 mg/kg/día, preferiblemente de 1×10^{-4} a 100 mg/kg/día, que se puede administrar como una dosis individual o dividida en múltiples dosis.

Los compuestos de esta invención se pueden administrar por las vías de administración oral, parenteral (p. ej., inyección intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o subcutánea, o implante), nasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica, y se pueden formular con vehículos farmacéuticamente aceptables para proporcionar formas de dosificación adecuadas para cada vía de administración.

Las formas de dosificación sólida para la administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas de dosificación sólida, el compuesto activo se mezcla con al menos un vehículo farmacéuticamente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Dichas formas de dosificación también pueden comprender, como es habitual en la práctica, sustancias adicionales distintas de dichos diluyentes inertes, p. ej., agentes lubricantes tales como estearato magnésico. En el caso de cápsulas, comprimidos o píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes de tamponamiento. Los comprimidos y las píldoras se pueden preparar además con recubrimientos entéricos.

Las formas de dosificación líquida para administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables, que contienen diluyentes inertes usados habitualmente en la técnica, tales como agua. Además de dichos diluyentes inertes, las composiciones también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, y edulcorantes, agentes de sabor y agentes aromatizantes.

Las preparaciones de acuerdo con esta invención para administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles. Los ejemplos de disolventes o vehículos no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva y aceite de maíz, gelatina y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Dichas formas de dosificación también pueden contener adyuvantes tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes y de dispersión. Se pueden esterilizar, por ejemplo, por filtración a través de un filtro que retiene bacterias, por incorporación de agentes esterilizantes en las composiciones, por irradiación de

ES 2 302 390 T3

las composiciones o por calentamiento de las composiciones. También se pueden preparar en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, u otro medio inyectable estéril, inmediatamente antes de usar.

5 Las composiciones para la administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que pueden contener, además de las sustancias activas, excipientes tales como manteca de cacao o una cera para supositorio.

Las composiciones para administración nasal o sublingual también se preparan con excipientes estándar conocidos en la técnica.

10 Además, un compuesto de esta invención se puede administrar en una composición de liberación sostenida tal como las descritas en las siguientes patentes y solicitudes de patente. La patente de EE.UU. n° 5.672.659 enseña composiciones de liberación sostenida que comprenden un agente bioactivo y un poliéster. La patente de EE.UU. n° 5.595.760 enseña composiciones de liberación sostenida que comprenden un agente bioactivo en una forma gelificable. La solicitud de EE.UU. n° 08/929.363 presentada el 9 de septiembre de 1997 enseña composiciones polímeras de liberación sostenida que comprenden un agente bioactivo y quitosán. La solicitud de EE.UU. n° 08/740.778 presentada el 1 de noviembre de 1996 enseña composiciones de liberación sostenida que comprenden un agente bioactivo y ciclodextrina. La solicitud de EE.UU. n° 09/015.394 presentada el 29 de enero de 1998 enseña composiciones absorbibles de liberación sostenida de un agente bioactivo. La solicitud de EE.UU. n° 09/121.653 presentada el 23 de julio de 1998 enseña un procedimiento para fabricar micropartículas que comprenden un agente terapéutico tal como un péptido en un procedimiento de aceite en agua. La solicitud de EE.UU. n° 09/131.472 presentada el 10 de agosto de 1998 enseña complejos que comprenden un agente terapéutico tal como un péptido y un polímero fosforilado. La solicitud de EE.UU. n° 09/184.413 presentada el 2 de noviembre de 1998, enseña complejos que comprenden un agente terapéutico tal como un péptido y un polímero que lleva una lactona no polimerizable.

25 Salvo que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen los mismos significados que entiende habitualmente un experto en la materia a la que pertenece esta invención.

Los siguientes ejemplos describen procedimientos sintéticos para preparar un péptido de esta invención, dichos procedimientos son conocidos para los expertos en la materia. Los expertos en la materia también conocen otros procedimientos. Los ejemplos se proporcionan con el propósito de ilustrar.

Ejemplo 1

[D-Ala⁸, Ala^{17,22,23,27}, 3-Pal^{19,31}, Gaba³⁴]-GLP-1(7-34)NH₂

35 Se puso resina de bencidrilamina-poliestireno (Advanced ChemTech, Inc. Louisville, KY) (0,9 g, 0,3 mmol) en la forma de ion cloruro, en un recipiente de reacción de un sintetizador de péptidos Advanced ChemTech modelo 200 programado para llevar a cabo el siguiente ciclo de reacciones: (a) cloruro de metileno; (b) ácido trifluoroacético al 33% en cloruro de metileno (2 veces durante 1 y 15 min cada una); (c) cloruro de metileno; (d) etanol; (e) cloruro de metileno; (f) diisopropiltilamina al 10% en cloruro de metileno.

45 La resina neutralizada se agitó con Boc-Gaba y diisopropilcarbodiimida (3 mmoles de cada uno) en cloruro de metileno durante 1 hora y la resina con aminoácido resultante se hizo pasar por el ciclo de etapas (a) a (f) del programa de lavado anterior. Después se acoplaron sucesivamente los siguientes aminoácidos (3 mmoles) por el mismo procedimiento: Boc-Val, Boc-Leu, Boc-3-Pal, Boc-Ala, Boc-Ile, Boc-Phe, Boc-Ala, Boc-Lys(2-Cl-Z), Boc-Ala, Boc-Ala, Boc-Ala, Boc-Ala, Boc-Glu(Bzl), Boc-Leu, Boc-3-Pal, Boc-Ser(Bzl), Boc-Ala, Boc-Val, Boc-Asp(Bzl), Boc-Ser(Bzl), Boc-Thr(Bzl), Boc-Phe, Boc-Thr(Bzl), Boc-Gly, Boc-Glu(Bzl), Boc-D-Ala, Boc-His(Bom).

50 La resina con la secuencia del péptido completada se mezcló con anisol (5 ml), ditiotretitol (100 mg) y fluoruro de hidrógeno anhidro (35 ml) a aproximadamente 0°C y se agitó durante aproximadamente 45 min. El exceso de fluoruro de hidrógeno se evaporó rápidamente con una corriente de nitrógeno seco y el péptido libre se hizo precipitar, y se lavó con éter. El péptido bruto a continuación se disolvió en un volumen mínimo de ácido acético diluido y se eluyó en una columna (2,5 x 25 cm) de sílice de octadecilsilano VYDAC[®] (10 mM) y se eluyó con un gradiente lineal de acetonitrilo al 20-60% a lo largo de aproximadamente 1 h en ácido trifluoroacético al 0,1% en agua. Las fracciones se examinaron por cromatografía en capa fina y cromatografía líquida de alto rendimiento analítica (40-70% de B a 1%/principal: t.r.: 14,1 min) y se juntaron para dar la pureza máxima más que rendimiento. La liofilización repetida de la solución del agua dio el producto (49,9 mg) en forma de un polvo blanco esponjoso.

60 Por HPLC y tlc se encontró que el producto era homogéneo. El análisis de aminoácidos de un hidrolisato ácido confirma la composición del péptido. La EM por desorción láser dio un PM de 2880 (Calc. M+H 2873).

Ejemplo 2

Síntesis de péptido-alkilamidas inferiores

65 Los péptidos se montaron en una resina de O-bencil-poliestireno (a menudo denominada resina de Merrifield) usando el protocolo de Boc-aminoácido descrito en el Ejemplo 1, excepto en que las cadenas laterales de carboxilo de los aminoácidos Asp y Glu están protegidas con un grupo Fm (éster de fluorenilmetilo). Los péptidos-resinas

ES 2 302 390 T3

completados se suspenden en soluciones de DMF diluidas de una alquilamina inferior adecuada (tal como etilamina, propilamina, feniletilamina, 1,2-diaminoetano, etc.) y se agitan a aproximadamente 60°C (durante aproximadamente 18 horas), y tras filtración, separación de los disolventes a presión reducida y trituración del aceite del péptido escindido con éter, dan un sólido, el péptido protegido con alquilamida. Después, este se somete a escisión con HF para eliminar los grupos protectores de la cadena lateral adicionales y se purifica por HPLC como se describe en el Ejemplo 1.

Ejemplo 11

El ejemplo 11 se hizo sustancialmente de acuerdo con el procedimiento descrito para el Ejemplo 1, pero usando el aminoácido protegido adecuado para dar el péptido indicado. La EM se obtuvo por EM de desorción láser (ND significa no disponible).

Ejemplo 11: [Hppa⁷]hGLP-1(7-36)-NH₂; EM = ND.

Ejemplo 12

[Aib⁸, A6c³²]hGLP-1(7-36)NH₂

El péptido del título se sintetizó en un sintetizador de péptidos Applied Biosystems (Foster City, CA) modelo 430A, que se modificó para realizar la síntesis de péptidos en fase sólida acelerada con la química de Boc. Véase, Schnolzer, y col., *Int. J. Peptide Protein Res.*, 40:180 (1992). Se usó la resina 4-metilbencidrilamina (MBHA) (Peninsula, Belmont, CA) con la sustitución de 0,91 mmol/g. Los Boc-aminoácidos (Bachem, CA, Torrance, CA; Nova Biochem., LaJolla, CA) se usaron con las siguientes protecciones de cadena lateral: Boc-Ala-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asp(OcHex)-OH, Boc-Tyr(2BrZ)-OH, Boc-His(DNP)-OH, Boc-Val-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gly-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-A6c-OH, Ser(Bzl)-OH, Boc-Phe-OH, Boc-Aib-OH, Boc-Glu(OcHex)-OH y Boc-Trp(Fm)-OH. La síntesis se llevó a cabo en una escala de 0,20 mmoles. Los grupos Boc se eliminaron por tratamiento con TFA al 100% durante 2 x 1 min. Los Boc-aminoácidos (2,5 mmol) se preactivaron con HBTU (2,0 mmol) y DIEA (1,0 ml) en 4 ml de DMF y se acoplaron con neutralización previa de la sal de TFA del péptido-resina. Los tiempos de acoplamiento eran aproximadamente 5 min excepto para los restos Boc-Aib-OH y Boc-A6c-OH y los siguientes restos Boc-Trp(Fm)-OH y Boc-His(DNP)-OH en los que los tiempos de acoplamiento fueron aproximadamente 2 horas.

Al final del montaje de la cadena de péptido, la resina se trató con una solución de mercaptoetanol al 20%/DIEA al 10% en DMF durante 2 x 30 min para separar el grupo DNP en la cadena lateral de His. Después, se eliminó el grupo Boc N-terminal por tratamiento con TFA al 100% durante 2 x 2 min. Después de neutralizar el péptido-resina con DIEA al 10% en DMF (1 x 1 min), se eliminó el grupo formilo en la cadena lateral de Trp por tratamiento con una solución de etanolamina al 15%/agua al 15%/DMF al 70% durante 2 x 30 min. El péptido-resina parcialmente desprotegido se lavó con DMF y DCM y se secó a presión reducida. La escisión final se hizo por agitación del péptido-resina en 10 ml de HF que contenía 1 ml de anisol y ditiotreitól (24 mg) a 0°C durante aproximadamente 75 min. El HF se separó con un flujo de nitrógeno. El residuo se lavó con éter (6 x 10 ml) y se extrajo con HOAc 4 N (6 x 10 ml).

La mezcla de péptidos en el extracto acuoso se purificó por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) preparativa, de fase inversa, usando una columna C₁₈ VYDAC[®] de fase inversa (Nest Group, Southborough, MA). La columna se eluyó con un gradiente lineal (de 20% a 50% de solución B a lo largo de 105 min) con un caudal de 10 ml/min (solución A = agua que contiene TFA al 0,1%; solución B = acetonitrilo que contiene 0,1% de TFA). Se recogieron las fracciones y se comprobaron en el HPLC analítico. Las que contenían producto puro se combinaron y se liofilizaron a sequedad. Se obtuvieron 92 mg de un sólido blanco. La pureza era >99% basado en los análisis de HPLC analítica. El análisis mediante espectrometría de masas de electropulverización dio el peso molecular a 3324,2 (el peso molecular calculado es 3323,7).

La síntesis del resto de compuestos de la presente invención se puede llevar a cabo de la misma forma descrita para la síntesis de [Aib⁸, A6c³²]hGLP-1(7-36)NH₂ en el Ejemplo 12 anterior, pero usando los aminoácidos protegidos adecuados dependiendo del péptido deseado.

El [(N^α-HEPES-His)⁷]hGLP-1(7-36)NH₂ {HEPES es (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico)} se puede sintetizar como sigue: después de montar la cadena larga de péptido en la resina de MBHA (0,20 mmol), el péptido-resina se trata con TFA al 100% (2 x 2 min) y se lava con DMF y DCM. Después, la resina se neutraliza con DIEA al 10% en DMF durante aproximadamente 2 min. Después de lavar con DMF y DCM, la resina se trata con 0,23 mmoles de cloruro de 2-cloro-1-etanosulfonilo y 0,7 mmoles de DIEA en DMF durante aproximadamente 1 hora. La resina se lava con DMF y DCM y se trata con 1,2 mmoles de 2-hidroxietilpiperazina durante aproximadamente 2 horas. La resina se lava con DMF y DCM y se trata con diferentes reactivos ((1) mercaptoetanol al 20%/DIEA al 10% en DMF y (2) etanolamina al 15%/agua al 15%/DMF al 70%) para separar el grupo DNP de la cadena lateral de His y el grupo formilo de la cadena lateral de Trp como se ha descrito anteriormente, antes de la escisión final con HF del péptido de la resina.

ES 2 302 390 T3

[(N^ε-HEPA-His)⁷]hGLP-1(7-36)NH₂, ([4-(2-hidroxietil)-1-piperazina-acetil]-His⁷]hGLP-1(7-36)NH₂), se puede hacer sustancialmente de acuerdo con el procedimiento descrito inmediatamente antes para hacer [(N^ε-HEPES-His)⁷]hGLP-1(7-36)NH₂ excepto en que se usa anhídrido 2-bromo-acético en lugar de cloruro de 2-cloro-1-etanosulfonilo.

5 Ejemplos 13-15

Los Ejemplos 13-15 se hicieron sustancialmente de acuerdo con el Ejemplo 12 pero usando el aminoácido protegido adecuado.

10 Ejemplo 13: [Ura⁷]hGLP-1(7-36)-NH₂; EM = 3279,5; PM calc. = 3280,7.

Ejemplo 14: [Paa⁷]hGLP-1(7-36)-NH₂; EM = 3290,9; PM calc. = 3291,8.

Ejemplo 15: [Pta⁷]hGLP-1(7-36)-NH₂; EM = 3311,2; PM calc. = 3311,8.

15

Ejemplo 16

[Aib⁸, A6c³², Lys³⁶(N^ε-tetradecanoil)]hGLP-1(7-36)NH₂

20 Los Boc-aminoácidos a usar son los mismos que los de la síntesis de [Aib⁸, A6c³²]hGLP-1(7-36)NH₂ (Ejemplo 12), excepto en que aquí se usa Fmoc-Lys(Boc)-OH para el resto de Lys³⁶(N^ε-tetradecanoilo). El primer resto de aminoácido se acopla a la resina de forma manual en un agitador. Se disuelven 2,5 mmol de Fmoc-Lys(Boc)-OH en 4 ml de HBTU 0,5 N en DMF. A la solución se añade 1 ml de DIEA. La mezcla se agita durante aproximadamente 2 min. Después, se añaden a la solución 0,2 mmol de resina MBHA (sustitución = 0,91 mmol/g). Después la mezcla se
25 agita durante aproximadamente 1 h. La resina se lava con DMF y se trata con TFA al 100% durante 2 x 2 min para separar el grupo protector Boc. La resina se lava con DMF. Se preactiva ácido mirístico (2,5 mmol) con HBTU (2,0 mmol) y DIEA (1,0 mmol) en 4 ml de DMF durante 2 min y se acopla a Fmoc-Lys-resina. El tiempo de acoplamiento es aproximadamente 1 h. La resina se lava con DMF y se trata con piperidina al 25% en DMF durante 2 x 2 min para eliminar el grupo protector Fmoc. La resina se lava con DMF y se transfiere al recipiente de reacción del sintetizador
30 de péptidos. El resto de los procedimientos de síntesis y purificación del péptido son los mismos que los de la síntesis de [Aib⁸, A6c³²]hGLP-1(7-36)NH₂.

La síntesis del resto de compuestos que contienen el resto Lys(N^ε-alcanoilo) se lleva a cabo de una forma análoga a la descrita para la síntesis de [Aib⁸, A6c³², Lys³⁶(N^ε-octanoil)]hGLP-1(7-36)NH₂. Se usa el aminoácido Fmoc-Lys
35 (Boc)-OH para el resto de Lys(N^ε-alcanoilo) en el péptido, mientras que se usa el aminoácido Boc-Lys(2ClZ)-OH para el resto de Lys. Si el resto de Lys(N^ε-alcanoilo) no está en el extremo C, el fragmento de péptido inmediatamente anterior al resto de Lys(N^ε-alcanoilo) se monta primero en la resina en el sintetizador de péptidos.

Ejemplo 17

40

[Aib⁸, Arg^{26,34}, A6c³², Lys³⁶(N^ε-tetradecanoil)]hGLP-1(7-36)-OH

Los Boc-aminoácidos que se van a usar son los mismos usados en la síntesis de [Aib⁸, A6c³², Lys³⁶(N^ε-tetradecanoil)]hGLP-1(7-36)NH₂ (Ejemplo 16). Fmoc-Lys(Boc)-OH (2,5 mmol) se preactiva con HBTU (2,0 mmol), HOBT
45 (2,0 mmol) y DIEA (2,5 ml) en DMF (4 ml) durante aproximadamente 2 min. Este aminoácido se acopla con 235 mg de resina PAM (Chem-Impex, Wood Dale, IL; sustitución = 0,85 mmol/g) de forma manual en un agitador. El tiempo de acoplamiento es aproximadamente 8 h. El resto de los procedimientos de síntesis y purificación para hacer el péptido son los mismos que los descritos en el Ejemplo 52.

50 Las síntesis del resto de análogos de hGLP-1(7-36)-OH y hGLP-1(7-37)-OH, que contienen el resto Lys(N^ε-alcanoilo) se lleva a cabo de una forma análoga a la descrita para la síntesis de [Aib⁸, Arg^{26,34}, A6c³², Lys³⁶(N^ε-tetradecanoil)]hGLP-1(7-36)-OH. Se usa el aminoácidos Fmoc-Lys(Boc)-OH para el resto de Lys(N^ε-alcanoilo) en el péptido, mientras que se usa el aminoácido Boc-Lys(2ClZ)-OH para el resto de Lys.

55

Referencias citadas en la descripción

*Esta lista de referencias citadas por el autor de la solicitud es sólo para la conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Aunque se ha tenido mucho cuidado al recopilar las referencias, no se pueden
60 excluir errores u omisiones y la EPO rechaza cualquier responsabilidad en este aspecto.*

Documentos de patente citados en la descripción

65

- WO 9111457 A
- US 01539498 A
- US 5672659 A
- US 12165398 A

ES 2 302 390 T3

- US 5595760 A
- US 13147298 A
- US 92936397 A
- US 18441398 A
- US 74077896 A

Bibliografía de no patentes citadas en la descripción

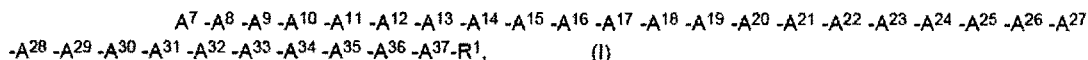
- VARNDELL, J.M. y col. *J. Histochem. Cytochem.*, 1985, vol. 33, 1080-6
- KREYMANN, B. y col. *Lancet*, 1987, vol. 2, 1300-4
- WETTERGREN A. y col. *Dig. Dis. Sci.*, 1993, vol. 38, 665-73
- D'ALESSIO, D.A. y col. *J. Clin. Invest.*, 1994, vol. 93, 2293-6
- GUTNIAK, M.K. y col. *Diabetes Care*, 1994, vol. 17, 1039-44
- WILLIAMS, B. y col. *J. Clin. Endo. Metab.*, 1996, vol. 81, 327-32
- HOLZ, G.G. 4 y col. *Nature*, 1993, vol. 361, 362-5
- ORSKOV, C. *Diabetologia*, 1992, vol. 35, 701-711
- Potential of GLP-1 in diabetes management. **HOLST, J.J.** y col. *Glucagon III, Handbook of Experimental Pharmacology. Springer Verlag*, 1996, 311-326
- KREYMANN, B. y col. *Lancet*, 1987, vol. ii, 1300-1304
- WEIR, G.C. y col. *Diabetes*, 1989, vol. 38, 338-342
- GUTNIAK, M. *N. Engl. J. Med.*, 1992, vol. 226, 1316-1322
- NATHAN, D.M. y col. *Diabetes Care*, 1992, vol. 15, 270-276
- NAUCK, M.A. y col. *Diabetologia*, 1993, vol. 36, 741-744
- CREUTZFELDT, W.O. y col. *Diabetes Care*, 1996, vol. 19, 580-586
- DEACON, C.F. y col. *Diabetes*, 1995, vol. 44, 1126-1131
- MOJISOV, S. *Int. J. Peptide Protein. Res.*, 1992, vol. 40, 333-342
- STEWART, J.M. y col. *Solid Phase Synthesis. Pierce Chemical Co*, 1984
- TODD, J.F. y col. *Clinical Science*, 1998, vol. 95, 325-329
- TODD, J.F. y col. *European Journal of Clinical investigation*, 1997, vol. 27, 533-536.

ES 2 302 390 T3

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)

5



10 en la que

A⁷ es ácido urocánico (Ura), ácido trans-3-(3-piridil)acrílico (Paa), ácido (4-piridiltio)acético (Pta) o ácido 3-(4-hidroxifenil)propiónico (Hppa);

15 A⁸ es Ala, D-Ala, Aib, Acc, N-Me-Ala, N-Me-D-Ala, Arg o N-Me-Gly;

A⁹ es Glu, N-Me-Glu, N-Me-Asp o Asp;

A¹⁰ es Gly, Acc, Ala, D-Ala, Phe o Aib;

20

A¹¹ es Thr o Ser;

A¹² es Phe, Acc, Aic, Aib, 3-Pal, 4-Pal, β -Nal, Cha, Trp o X¹-Phe;

25

A¹³ es Thr o Ser;

A¹⁴ es Ser, Thr, Ala o Aib;

A¹⁵ es Asp, Ala, D-Asp o Glu;

30

A¹⁶ es Val, D-Val, Acc, Aib, Leu, Ile, Tle, Nle, Abu, Ala, D-Ala, Tba o Cha;

A¹⁷ es Ser, Ala, D-Ala, Aib, Acc o Thr;

35

A¹⁸ es Ser, Ala, D-Ala, Aib, Acc o Thr;

A¹⁹ es Tyr, D-Tyr, Cha, Phe, 3-Pal, 4-Pal, Acc, β -Nal, Amp o X¹-Phe;

A²⁰ es Leu, Ala, Acc, Aib, Nle, Ile, Cha, Tle, Val, Phe o X¹-Phe;

40

A²¹ es Glu, Ala o Asp;

A²² es Gly, Acc, Ala, D-Ala, β -Ala o Aib;

45

A²³ es Gln, Asp, Ala, D-Ala, Aib, Acc, Asn o Glu;

A²⁴ es Ala, Aib, Val, Abu, Tle o Acc;

A²⁵ es Ala, Aib, Val, Abu, Tle, Acc, Lys, Arg, hArg, Om, HN-CH((CH₂)_m-NR¹⁰R¹¹)-C(O) o HN-CH((CH₂)_e-X³)C
50 (O);

A²⁶ es Lys, Ala, 3-Pal, 4-Pal, Arg, hArg, Om, Amp, HN-CH((CH₂)_n-NR¹⁰R¹¹)-C(O) o HN-CH((CH₂)_e-X³)-C(O);

A²⁷ es Glu, Ala, D-Ala o Asp;

55

A²⁸ es Phe, Ala, Pal, β -Nal, X¹-Phe, Aic, Acc, Aib, Cha o Trp;

A²⁹ es Ile, Acc, Aib, Leu, Nle, Cha, Tle, Val, Abu, Ala, Tba o Phe;

60

A³⁰ es Ala, Aib, Acc o suprimido;

A³¹ es Trp, Ala, β -Nal, 3-Pal, 4-Pal, Phe, Acc, Aib, Cha, Amp o suprimido;

A³² es Leu, Ala, Acc, Aib, Nle, Ile, Cha, Tle, Phe, X¹-Phe, Ala o suprimido;

65

A³³ es Val, Acc, Aib, Leu, Ile, Tle, Nle, Cha, Ala, Phe, Abu, X¹-Phe, Tba, Gaba o suprimido;

A³⁴ es Lys, Arg, hArg, Om, Amp, Gaba, HN-CH((CH₂)_m-NR¹⁰R¹¹)-C(O), HN-CH((CH₂)_e-X³)-C(O) o suprimido;

ES 2 302 390 T3

A³⁵ es Gly o suprimido;

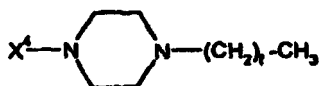
A³⁶ es L- o D-Arg, D- o L-Lys, D- o L-hArg, D- o L-Om, Amp, HN-CH((CH₂)_n-NR¹⁰R¹¹)-C(O), HN-CH((CH₂)-X³)-C(O) o suprimido;

A³⁷ es Gly o suprimido;

X¹ para cada caso se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo (C₁-C₆), OH y halógeno;

R¹ es OH, NH₂, alcoxi (C₁-C₁₂), o NH-X²-CH₂-Z^o, en el que X² es un resto hidrocarburo (C₁-C₁₂), y Z^o es H, OH, CO₂H o CONH₂;

X³ es



o -C(O)-NHR¹², en el que X⁴ para cada caso es independientemente -C(O)-, -NH-C(O)- o -CH₂-, y f para cada caso es independientemente un número entero de 1 a 29;

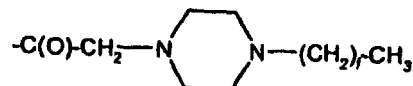
en para cada caso es independientemente un número entero de 1 a 4;

n para cada caso es independientemente un número entero de 1-5; y

R¹⁰ y R¹¹ para cada caso son independientemente H, alquilo (C₁-C₃₀), acilo (C₁-C₃₀), alquilsulfonilo (C₁-C₃₀), -C((NH)(NH₂)) o



con la condición de que cuando R¹⁰ es acilo (C₁-C₃₀), alquilsulfonilo (C₁-C₃₀), -C((NH)(NH₂)) o



R¹¹ es H o alquilo (C₁-C₃₀); y

R¹² es alquilo (C₁-C₃₀);

o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que A¹¹ es Thr; A¹³ es Thr; A¹⁴ es Ser, Aib o Ala; A¹⁷ es Ser, Ala, Aib o D-Ala; A¹⁸ es Ser, Ala, Aib o D-Ala; A²¹ es Glu o Ala; A²³ es Gln, Glu o Ala; y A²⁷ es Glu o Ala.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable en el que A⁹ es Glu, N-Me-Glu o N-Me-Asp; A¹² es Phe, Acc o Aic; A¹⁶ es Val, D-Val, Acc, Aib, Ala, Tle o D-Ala; A¹⁹ es Tyr, 3-Pal, 4-Pal o D-Tyr; A²⁰ es Leu, Acc, Cha, Ala o Tle; A²⁴ es Ala, Aib o Acc; A²⁵ es Ala, Aib, Acc, Lys, Arg, hArg, Om, HN-CH(CH₂)_n-NH-R¹⁰)-C(O); A²⁸ es Phe o Ala; A²⁹ es Ile, Acc o Tle; A³⁰ es Ala, Aib o suprimido; A³¹ es Trp, Ala, 3-Pal, 4-Pal o suprimido; A³² es Leu, Acc, Cha, Ala o suprimido; A³³ es Val, Acc, Ala, Gaba, Tle o suprimido.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que A⁸ es Ala, D-Ala, Aib, ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (A6c), ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico (A5c), N-Me-Ala, N-Me-D-Ala o N-Me-Gly; A¹⁰ es Gly, Ala, D-Ala o Phe; A¹² es Phe, ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (A6c) o ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico (A5c); A¹⁶ es Val, Ala, Tle, ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (A6c), ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico (A5c) o D-Val; A²⁰ es Leu, ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (A6c), ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico (A5c), Cha, Ala o Tle; A²² es Gly, Aib, β-Ala, L-Ala o D-Ala; A²⁴ es Ala o Aib; A²⁹ es Ile, ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (A6c), ácido 1-amino-1-

ES 2 302 390 T3

ciclopentanocarboxílico (A5c) o Tle; A³² es Leu, ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (A6c), ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico (A5c), Cha, Ala o está suprimido; A³³ es Val ácido, 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (A6c), ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico (A5c), Ala, Gaba, Tle o está suprimido.

5 5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 4, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que R¹ es OH o NH₂.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es [Hppa⁷]hGLP-1(7-36)-NH₂ (ID SEC N°: 87) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

10

7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es

[Ura⁷]hGLP-1(7-36)-NH₂; ID SEC N°: 125;

15

[Paa⁷]hGLP-1(7-36)-NH₂; ID SEC N°: 126; o

[Pta⁷]hGLP-1(7-36)-NH₂; ID SEC N°: 127, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

8. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

20

9. Uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la preparación de un medicamento para provocar un efecto agonista en un receptor de GLP-1 en un sujeto que lo necesite.

25

10. Uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en diabetes de tipo I, diabetes de tipo II, obesidad, glucagonomas, trastornos de secreción de las vías respiratorias, trastorno metabólico, artritis, osteoporosis, enfermedad del sistema nervioso central, reestenosis y enfermedad neurodegenerativa, insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca congestiva, síndrome nefrótico, cirrosis, edema pulmonar e hipertensión, en un sujeto que lo necesite.

30

11. Un uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que dicha enfermedad es la diabetes de tipo I o diabetes de tipo II.

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① N° de publicación : ES 2 302 390 T3

② Número de solicitud: E 99960657

MODIFICACIÓN DEL FOLLETO DE PATENTE

Debido a la publicación de corrección de errores de la Oficina Europea de Patentes, folleto B9, boletín de fecha 01.04.2009, el fascículo T3 se rectifica como sigue:

Página 3, línea 33:

A²⁵ es Ala, Aib, Val, Abu, Tle, Acc, Lys, Arg, hArg, Orn, HN-CH((CH₂)_m-NR¹⁰R¹¹)-C(O) o HN-CH((CH₂)_e-X³C

Página 3, línea 36:

A²⁶ es Lys, Ala, 3-Pal, 4-Pal, Arg, hArg, Orn, Amp, HN-CH((CH₂)_n-NR¹⁰R¹¹)-C(O) o HN-CH((CH₂)_e-X³-C(O));

Página 3, línea 52:

A³⁴ es Lys, Arg, hArg, Orn, Amp, Gaba, HN-CH((CH₂)_m-NR¹⁰R¹¹)-C(O), HN-CH((CH₂)_e-X³-C(O) o suprimido;

Página 3, línea 56:

A³⁶ es L- o D-Arg, D- o L-Lys, D- o L-hArg, D- o L-Orn, Amp, HN-CH((CH₂)_n-NR¹⁰R¹¹)-C(O), HN-CH((CH₂)_e-

Página 4, línea 44:

A²⁰ es Leu, Acc, Cha, Ala o Tle; A²⁴ es Ala, Aib o Acc; A²⁵ es Ala, Aib, Acc, Lys, Arg, hArg, Orn, HN-CH((CH₂)_n-

Página 13, línea 51:

A²⁵ es Ala, Aib, Val, Abu, Tle, Acc, Lys, Arg, hArg, Orn, HN-CH((CH₂)_m-NR¹⁰R¹¹)-C(O) o HN-CH((CH₂)_e-X³C

Página 13, línea 52:

A²⁶ es Lys, Ala, 3-Pal, 4-Pal, Arg, hArg, Orn, Amp, HN-CH((CH₂)_n-NR¹⁰R¹¹)-C(O) o HN-CH((CH₂)_e-X³-C(O));

Página 13, línea 68:

A³⁴ es Lys, Arg, hArg, Orn, Amp, Gaba, HN-CH((CH₂)_m-NR¹⁰R¹¹)-C(O), HN-CH((CH₂)_e-X³-C(O) o suprimido;

Página 14, línea 3:

A³⁶ es L- o D-Arg, D- o L-Lys, D- o L-hArg, D- o L-Orn, Amp, HN-CH((CH₂)_n-NR¹⁰R¹¹)-C(O), HN-CH((CH₂)_e-

Página 14, línea 58:

Orn, HN-CH((CH₂)_n-NH-R¹⁰)-C(O); A²⁸ es Phe o Ala; A²⁹ es Ile, Acc o Tle; A³⁰ es Ala, Aib o suprimido; A³¹ es Trp,