



MD/EP 3532486 T2 2022.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3532486 (13) T2

(51) Int. Cl: C07K 14/47 (2006.01.01)

A61K 38/04 (2006.01.01)

A61K 38/17 (2006.01.01)

A61K 38/22 (2006.01.01)

A61K 45/06 (2006.01.01)

A61K 47/68 (2017.01.01)

A61P 3/00 (2006.01.01)

A61P 3/04 (2006.01.01)

A61P 3/06 (2006.01.01)

A61P 3/08 (2006.01.01)

A61P 3/10 (2006.01.01)

C07K 14/575 (2006.01.01)

C07K 16/24 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2019 0989 (22) Data de depozit: 2017.10.26 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 17864112.2, 2017.10.26 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3532486, 2019.09.04 (31) Numărul cererii prioritare: 201662413586 P; 201662413613 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2016.10.27; 2016.10.27 (33) Țara cererii prioritare: US; US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 01/2022, 2022.01.31 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 38/2021, 2021.09.22 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 10/2019, 2019.10.31
(71) Solicitant: JANSSEN PHARMACEUTICA NV, BE (72) Inventatori: MACIELAG Mark, US; MACIELAG Mark, US; PATCH Raymond J., US; ZHANG Rui, US; CASE Martin A., US; RANGWALA Shamina M., US; LEONARD James N., US; CAMACHO Raul C., US; HUNTER Michael J., US; D'AQUINO Katharine E., US; EDWARDS Wilson, US; SWANSON Ronald V., US; JIAN Wenying, US; ZHANG Yue-Mei, US; WALL Mark, US; CHI Ellen, US (73) Titular: JANSSEN PHARMACEUTICA NV, BE (74) Mandatar autorizat: PARASCA Dumitru	

(54) Compuși de tirozină-tirozină peptidică ciclică cuplați la anticorp ca modulatori de receptori Y ai neuropeptidei

MD/EP 3532486 T2 2022.01.31

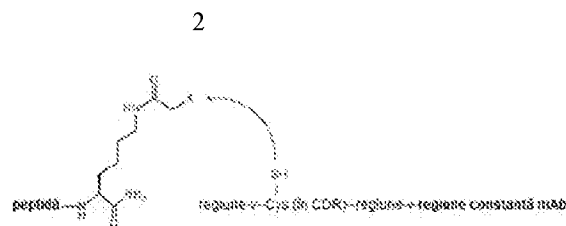
(57) Rezumat:

1
Prezenta invenție cuprinde conjugați care cuprind un anticorp monoclonal conjugat la o peptidă PYY ciclică. Invenția se referă de asemenea la compoziții farmaceutice și metode de utilizare a acestora. Noii conjugați sunt utili pentru prevenirea, tratarea sau ameliorarea bolilor și tulburărilor divulgate aici.

Secvențe: 156

Revendicări: 20

Figuri: 12



(54) Antibody-coupled cyclic peptide tyrosine tyrosine compounds as modulators of neuropeptide y receptors

(57) Abstract:

1
The present invention comprises conjugates comprising a monoclonal antibody conjugated to a cyclic PYY peptide. The invention also relates to pharmaceutical compositions and methods for use thereof. The novel conjugates are useful for preventing, treating or ameliorating diseases and disorders

2
disclosed herein.

Sequences: 156

Claims: 20

Fig.: 12

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)****DOMENIUL INVENȚIEI**

Prezenta invenție este direcționată în general la noi conjugați de tirozină tirozină peptidică ciclică cuplați la anticorp (PYY), care sunt modulatori ai receptorului Y2 al neuropeptidei. Invenția se referă de asemenea la compoziții farmaceutice și metode pentru utilizare a acestora. Noii compuși cuplați la anticorp sunt utili pentru prevenirea, tratarea sau ameliorarea bolilor și tulburărilor, cum ar fi obezitate, diabet de tip 2, sindrom metabolic, rezistență la insulină, și dislipidemie, printre altele.

REFERINȚĂ ÎNCRUCIȘATĂ LA APLICAȚII ÎNRUDITE

Această aplicație revendică prioritatea la cererea de brevet provizorie S.U.A. nr. 62/413.613, depusă pe 27 octombrie 2016, și la cererea de brevet provizorie S.U.A. nr. 62/413.586 depusă pe 27 octombrie 2016.

REFERINȚĂ LA LISTA DE SECVENȚE DEPUȘĂ ELECTRONIC

Această aplicație conține o listă de secvențe, care este depusă electronic prin EFS-Web ca o listă de secvențe formatată ASCII cu un nume de fișier „Listă de secvențe PRD3436” și o dată de creare la 23 octombrie 2017, și având o dimensiune de 135kb. Lista de secvențe depusă prin EFS-Web este parte a descrierii și este încorporată aici prin referință în întregime. În eventualitatea oricărei inconsecvențe cu referire la structurile pentru SEQ ID NO: 1-156 între informația descrisă aici și lista de secvențe depusă electronic prin EFS-Web cu un nume de fișier „Listă de secvențe PRD3436”, va prevala informația din acest document.

BAZELE INVENȚIEI

Receptorii Y ai neuropeptidelor (NPY) sunt activați de un grup strâns înrudit de agoniști peptidici denumiți „familia NPY” care au diferite afinități pentru fiecare subtip de receptor. NPY, tirozina-tirozina peptidică (PYY) și polipeptida pancreatică (PP), toate de 36 aminoacizi în lungime, sunt agoniști pentru familia NPY de receptori. NPY este un neurotransmițător, sintetizat, codepozitat și eliberat cu norepinefrină și epinefrină. NPY este una dintre peptidele cele mai abundente și pe larg distribuite din sistemul nervos central (CNS) al oamenilor și rozătoarelor și este exprimată în zonele creierului asociate alimentației și stresului. În sistemul nervos periferic, neuronii care conțin NPY sunt predominant simpatici. PYY este sintetizată predominant și eliberată de celulele endocrine intestinale. Clivarea NPY și PYY de către serineproteazele endoteliale, peptidaza IV di-peptidil (DPP-IV), generează NPY₃₋₃₆ și PYY₃₋₃₆ care sunt liganzi selectivi pentru subtipurile Y2 și Y5 ale familiei de receptori NPY. PP este în principal găsită în celulele insuliței pancreatice, distincte de cele care depozitează insulină, glucagon sau somatostatina.

Au fost identificați până în prezent cinci receptori NPY distincți, dintre care patru sunt înțeleși ca relevanți pentru fiziologia umană. Receptorii Y1, Y2 și Y5 se leagă preferențial la NPY și PYY, în timp ce receptorul Y4 se leagă preferențial la PP. Receptorii Y2 și Y5 sunt de asemenea puternic activați de NPY₃₋₃₆ și PYY₃₋₃₆. În general, familia NPY de liganzi posedă selectivitate variabilă pentru fiecare din izoformele receptorilor NPY, cu PYY₃₋₃₆ raportat anterior ca având selectivitate modestă până la robustă pentru izoforma Y2. Fiecare din acești receptori este cuplat la inhibarea ciclazei adenilate prin Gai sensibil la toxina pertussis.

PYY este secretată din celulele L endocrine ca răspuns la alimente, și în particular după ingerarea grăsimii. PYY₁₋₃₆ predomină în starea de repaus alimentar, cu PYY₃₋₃₆ fiind forma majoră găsită post-prandial la oameni, cu concentrații de plasmă corelate negativ cu numărul de calorii consumate. S-a demonstrat că PYY₃₋₃₆ reduce ingerarea alimentelor la oameni, maimuțe, șobolani, iepuri, și șoareci (Batterham RL și colab. Nature 8 august 2002; 418(6898):650-4; Batterham RL și colab. N Engl J Med 4 septembrie 2003; 349(10):941-8; Challis BG și colab., Biochem Biophys Res Commun 28 noiembrie 2003;311(4):915-9). Se crede că efectele anorexigenice ale PYY₃₋₃₆ sunt mediate de Y2, pe baza legării preferențiale la acest receptor și pierderii eficienței de alimentare la șoarecii cu deficit de Y2 (Batterham RL, și colab. Nature 8 august 2002; 418(6898):650-4). Injectarea intra-arcuată de PYY₃₋₃₆ reduce ingerarea alimentelor la șobolani și șoareci (Batterham și colab. Nature 8 august 2002; 418(6898):650-4), sugerând că angajarea receptorilor Y2 hipotalamici poate media aceste efecte. S-a arătat de asemenea că efectele acute asupra alimentației translatează la efectele dependente de doză asupra greutatei corporale la șoarecii *ob/ob*, șoarecii DIO și șoarecii Zucker *falfa* (Pittner RA și colab. IntJObes relat Metab Disord august 2004; 28(8):963-71). În plus, s-a arătat de asemenea că PYY₃₋₃₆ îmbunătățește eliberarea glucozei mediate de insulină și sensibilitatea la insulină la rozătoarele DIO (Vrang N și colab., Am JPhysiol RegulIntegr Comp Physiol Aug; 291(2):R367-75). Chirurgia bariatrică conduce la creșterea imunoactivității PYY în circulație (le Roux CW și colab., Ann Surg 2006 Jan; 243(1); 108-14), care pare să joace un rol în pierderea postoperatorie în greutate.

Dat fiind rolul său în controlarea apetitului și ingerarea alimentelor precum și a efectelor sale antisecretoare și proabsorbitive în tractul gastrointestinal la mamifere, PYY₃₋₃₆ poate fi eficient în tratarea obezității și afecțiunilor asociate precum și într-un număr de tulburări gastrointestinale. Totuși, utilitatea terapeutică a PYY₃₋₃₆ însuși ca agent de tratare este limitată de metabolismul său rapid și a perioadei de înjumătățire rezultate scurtă în circulație (Torang și colab., Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 310:R866-R874 (2016)). WO2015/197735 divulgă complecși ai anticorpului PYY și perioada de înjumătățire crescută a peptidei.

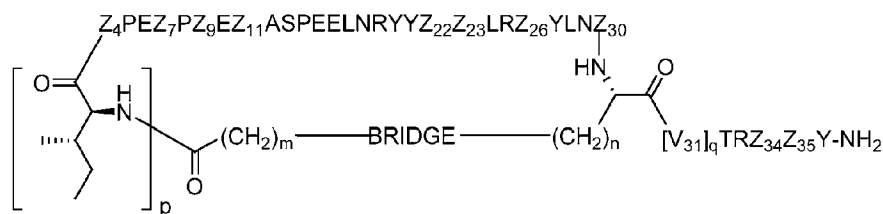
Astfel, este de dorit să se obțină un analog PYY sau derivat al acestuia cu o stabilitate metabolică și profil farmacocinetic îmbunătățite față de PYY₃₋₃₆. Astfel de derivați, cu o perioadă de înjumătățire prelungită in vivo, ar furniza modularea receptorului Y2 cu o durată mai mare de acțiune, care îi fac adecvați ca agenți terapeutici pentru subiecții care au nevoie de o astfel de modulare.

Discuția anterioară este prezentată numai pentru a furniza o înțelegere mai bună a naturii problemelor cu care se confruntă domeniul și nu trebuie să fie interpretate în nici un fel ca o admitere cu privire la stadiul anterior al tehnicii și nici citarea oricărei referințe de aici să fie interpretată ca o admitere că o astfel de referință constituie „stadiul anterior al tehnicii” la prezenta cerere.

REZUMATUL INVENȚIEI

Într-un aspect general, invenția se referă la noi compuși tirozină tirozină peptidică ciclică cuplați la anticorp (PYY), care sunt modulatori ai receptorului Y2 al neuropeptidei.

Sunt furnizați aici conjugați cuprinzând un anticorp monoclonal sau un fragment cu legare la antigen al acestora cuplat la o peptidă PYY ciclică, în care peptida PYY ciclică este reprezentată prin Formula I sau un derivat sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia:



Formula I

în care

p este 0 sau 1;

m este 0, 1, 2, 3, 4, sau 5;

n este 1, 2, 3, sau 4;

q este 0 sau 1; cu condiția că q este 1 numai când Z₃₀ este absent;

BRIDGE este -Ph-CH₂-S-, -triazolil-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)-, sau -CH₂S-;

Z₄ este K, A, E, S, sau R;

Z₇ este A sau K;

Z₉ este G sau K;

Z₁₁ este D sau K;

Z₂₂ este A sau K;

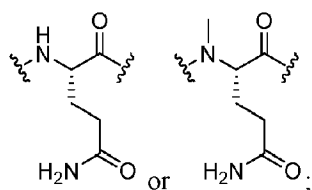
Z₂₃ este S sau K;

Z₂₆ este A sau H;

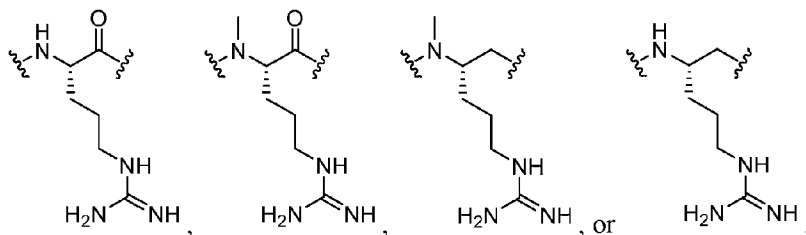
Z₃₀ este L, W, absent, sau K;

cu condiția că Z₃₀ este absent numai când q este 1;

Z₃₄ este



Z₃₅ este



în care derivatul este compusul cu Formula I care este modificat prin unul sau mai multe procedee selectate din grupul constând din amidare, glicozilare, carbamilare, sulfatare, fosforilare, ciclizare, lipidare, și PEGilare. În anumite realizări, peptida PYY ciclică este un compus cu Formula I sau un derivat al peptidei PYY ciclice cu Formula I care este modificat prin unul sau mai multe procedee selectate din grupul constând din amidare, lipidare, și PEGilare, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

În anumite realizări, peptida PYY ciclică este reprezentată prin Formula I sau derivatul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acesteia, în care:

p este 0 sau 1;

m este 0, 1, 2, 3, 4, sau 5;

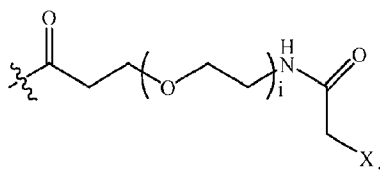
n este 1, 2, 3, sau 4;

q este 0 sau 1; cu condiția că q este 1 numai când Z_{30} este absent;

BRIDGE este -Ph-CH₂-S-, -triazolil-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH₂-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)-, sau -CH₂S-;

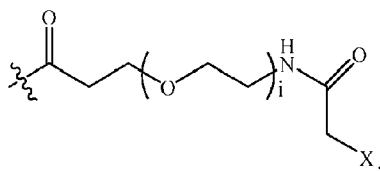
Z_4 este K, A, E, S, sau R;

Z_7 este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



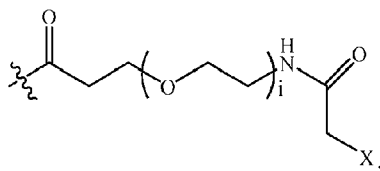
în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și X = Br, I sau Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, sau -C(O)CH₂Cl;

Z_9 este G sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



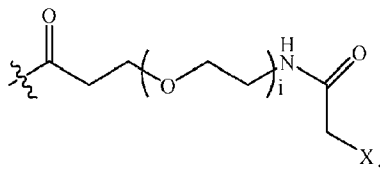
în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și X = Br, I sau Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, sau -C(O)CH₂Cl;

Z_{11} este D sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu

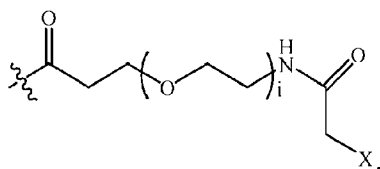


în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și X = Br, I sau Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, sau -C(O)CH₂Cl;

Z_{22} este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



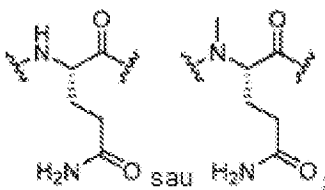
- 5 în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și $X = \text{Br}, \text{I}$ sau $\text{Cl}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I}$, sau $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$;
 Z_{23} este S sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



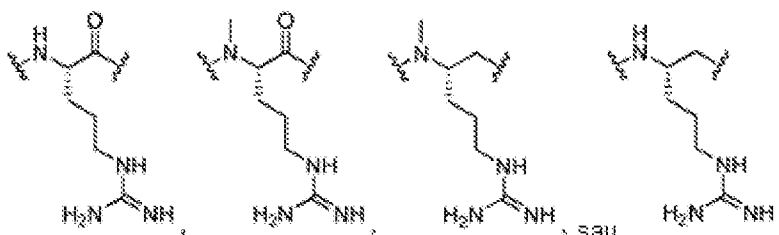
- 10 în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și $X = \text{Br}, \text{I}$ sau $\text{Cl}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}, -\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I}$, sau $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$;
 Z_{26} este A sau H;
 Z_{30} este L sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu



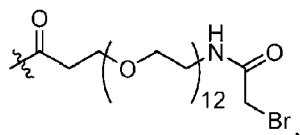
- 15 Z_{34} este



- 20 și
 Z_{35} este



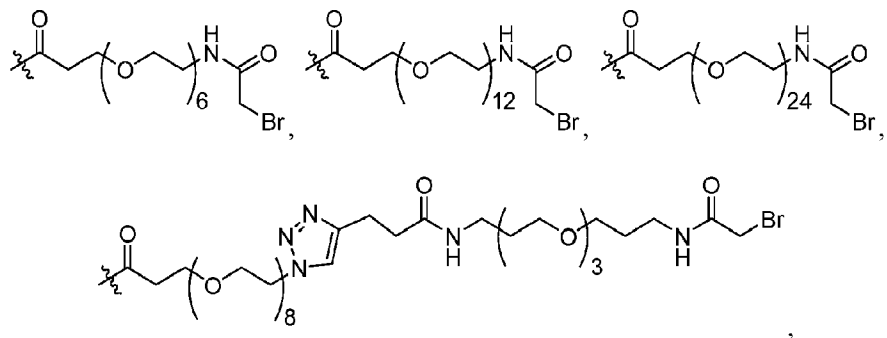
- 25 În anumite realizări, peptida PYY ciclică este reprezentată prin Formula I sau derivatul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acesteia, în care:
 p este 0 sau 1;
 m este 0, 1, 2, 3, sau 5;
 n este 1, 2, sau 4;
 q este 0 sau 1; cu condiția că q poate fi 1 numai când Z_{30} este absent;
 30 BRIDGE este $-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{S}-$, $-\text{triazolil}-$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{S}-$, $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{NHC}(\text{O})-$, sau $-\text{CH}_2\text{S}-$;
 Z_4 este K, A, E, S, sau R;
 Z_7 este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu



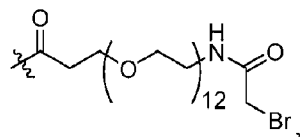
Z₉ este G sau K,

Z₁₁ este D sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu

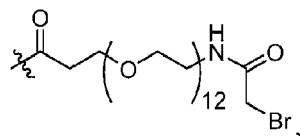
5



10 -C(O)CH₂Br, Z₂₂ este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu



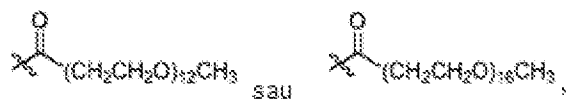
Z₂₃ este S sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu



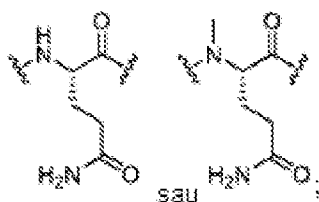
15

Z₂₆ este A sau H,

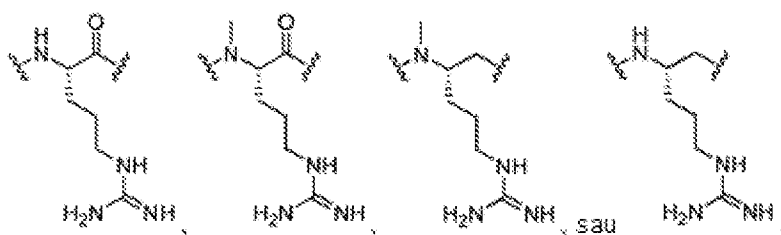
Z₃₀ este L sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu



20 Z₃₄ este



Z₃₅ este



25

În anumite realizări, peptida PYY ciclică este selectată din grupul constând din SEQ ID NO:1, 73-100, și 147-156, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora.

În anumite realizări, anticorpul monoclonal sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia este legat covalent la peptida PYY ciclică la un rest lizină al peptidei PYY ciclice printr-un liant. Liantul poate, de exemplu, cuprinde un liant selectat din grupul constând din polietilen glicol (PEG)8-triazolil-CH₂CH₂CO-PEG4, o catenă PEG de 2-24 unități PEG, o catenă alchil conținând 2-10 atomi de carbon, (Gly₄Ser)_j în care j = 1-4, (AlaPro)_u în care u = 1-10, și o legătură.

În anumite realizări, numai una din Z₇, Z₉, Z₁₁, Z₂₂ și Z₂₃ din Formula I este lizină, și lizina este legată covalent la un rest de cisteină modificată genetic a anticorpului monoclonal sau fragmentului cu legare la antigen al acestuia prin liant.

Sunt de asemenea furnizați conjugați cuprinzând un anticorp monoclonal sau un fragment cu legare la antigen al acestuia cuplat la o peptidă PYY ciclică, în care conjugatul cuprinde o secvență selectată din grupul constând din SEQ ID NO: 102-127 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care mAb reprezintă anticorpul monoclonal sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia, și J₂ reprezintă că 1 sau 2 din peptidele PYY ciclice sunt conjugate covalent la mAb.

În anumite realizări, anticorpul monoclonal sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia cuprinde o regiune 1 determinantă de complementaritate a lanțului greu (HCDR1), HCDR2, HCDR3, și o regiune 1 determinantă de complementaritate a lanțului ușor (LCDR1), LCDR2, și LCDR3, având secvențele de polipeptide din SEQ ID NO: 141, 142, 143, 144, 145, și respectiv 146. În anumite realizări, anticorpul monoclonal izolat cuprinde un domeniu variabil al lanțului greu (VH) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO: 137, și un domeniu variabil al lanțului ușor (VL) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO: 139. În anumite realizări, anticorpul monoclonal izolat cuprinde în plus o porțiune Fc. În anumite realizări, anticorpul monoclonal izolat cuprinde un lanț greu (HC) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO:138 și un lanț ușor (LC) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO: 140.

Sunt de asemenea furnizați conjugați cuprinzând un anticorp monoclonal sau un fragment cu legare la antigen al acestuia cuplat la o peptidă PYY ciclică, în care anticorpul monoclonal sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia cuprinde o regiune 1 determinantă de complementaritate a lanțului greu (HCDR1), HCDR2, HCDR3, și o regiune 1 determinantă de complementaritate a lanțului ușor (LCDR1), LCDR2, și LCDR3, având secvențele de polipeptide din SEQ ID NO: 141, 142, 143, 144, 145, și respectiv 146, preferabil anticorpul monoclonal sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia cuprinde un domeniu variabil al lanțului greu (VH) având secvența de polipeptide din SEQ ID NO: 137, și un domeniu variabil al lanțului ușor (VL) având secvența de polipeptide din SEQ ID NO:139, și mai preferabil, anticorpul monoclonal cuprinde un lanț greu (HC) având secvența de polipeptide din SEQ ID NO:138 și un lanț ușor (LC) având secvența de polipeptide din SEQ ID NO:140; peptida PYY ciclică cuprinde o secvență de polipeptidă selectată din grupul constând din SEQ ID NO: 1, 73-100, și 147-156, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia; și anticorpul monoclonal sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia este conjugat la peptida PYY ciclică la resturile 7, 9, 11, 22 sau 23 ale peptidei PYY ciclice, preferabil la restul 11 de lizină al peptidei PYY ciclice, direct sau printr-un liant.

De asemenea sunt furnizate metode de producere a conjugaților invenției. Metodele cuprind punerea în reacție a unui electrofil, preferabil bromoacetamidă sau maleimidă, introdus pe o catenă laterală a peptidei PYY ciclice, preferabil pe o catenă laterală a unui rest de lizină al peptidei PYY ciclice, cu gruparea sulfhidril a restului de cisteină din SEQ ID NO:143 al anticorpului monoclonal sau fragmentului care se leagă la antigen al acestuia, creând astfel o legătură covalentă între peptida PYY ciclică și anticorpul monoclonal sau fragmentul care se leagă la antigen al acestuia.

Sunt furnizate de asemenea compoziții farmaceutice cuprinzând conjugații invenției și un purtător acceptabil farmaceutic.

Sunt de asemenea furnizate metode pentru tratarea sau prevenirea unei boli sau tulburări la un subiect care are nevoie de aceasta, în care boala sau tulburarea menționată este selectată din grupul constând din obezitate, diabet de tip I sau tip II, sindrom metabolic, rezistență la insulină, toleranță scăzută la glucoză, hiperglicemie, hiperinsulinemie, hipertrigliceridemie, hipoglicemie din cauza hiperinsulinismului congenital (CHI), dislipidemie, ateroscleroză, nefropatie diabetică, și alți factori de risc cardiovascular cum ar fi hipertensiunea și factori de risc cardiovascular asociați cu negestionarea colesterolului și/sau nivelurilor de lipide, osteoporoză, inflamație, boală nealcoolică a ficatului gras (NAFLD), steatohepatită nealcoolică (NASH), boală renală, și eczemă. Metodele cuprind administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a compozițiilor farmaceutice ale invenției.

Sunt de asemenea furnizate metode de reducere a ingerării de alimente la un subiect care are nevoie de aceasta. Metodele cuprind administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a compoziției farmaceutice a invenției.

Sunt de asemenea furnizate metode de modulare a activității receptorului Y2 la un subiect care are nevoie de aceasta. Metodele cuprind administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a compoziției farmaceutice a invenției.

În anumite realizări, compoziția farmaceutică este administrată printr-o injecție. În anumite realizări, compoziția farmaceutică este administrată într-o combinație cu cel puțin un agent antidiabetic. Agentul antidiabetic poate fi, de exemplu, un modulator al receptorului peptidă-1 de tip glucagon. În anumite realizări, compoziția farmaceutică este administrată în combinație cu liraglutidă.

Sunt de asemenea furnizate truse cuprinzând conjugatii invenției, preferabil cuprinzând în plus o liraglutidă și un dispozitiv pentru injecție.

Sunt de asemenea furnizate metode de producere a compozițiilor farmaceutice ale invenției. Metodele cuprind combinarea conjugatului cu un purtător acceptabil farmaceutic pentru a obține compoziția farmaceutică.

Alte aspecte, caracteristici și avantaje din prezenta invenție vor fi mai bine apreciate după citirea următoarei descrieri detaliate a invenției și revendicărilor.

SCURTĂ DESCRIERE A DESENELOR

Rezumatul anterior, precum și următoarea descriere detaliată a realizărilor preferate ale prezentei cereri de brevet, vor fi mai bine înțelese când sunt citite în conjuncție cu desenele anexate. Ar trebui să se înțeleagă, totuși, că cererea nu este limitată la realizările precise prezentate în desene.

Fig. 1: Prezintă o strategie generală de conjugare peptidă-mAb în conformitate cu o realizare a invenției. X reprezintă un electrofil introdus pe o catenă laterală a unei peptide terapeutice, cum ar fi bromoacetamidă sau maleimidă, care reacționează specific situsului cu gruparea sulfhidril a restului Cys modificat genetic într-o CDR a unui mAb cu perioadă de înjumătățire extinsă, creând o legătură covalentă între peptidă și mAb.

Fig. 2: Rezumatul resturilor CDR selectate pentru substituție în PH9H5_VH (SEQ ID NO: 129) și în PH9L3_VL (SEQ ID NO: 128). Resturile substituite cu Cys sunt bolduite și subliniate.

Fig. 3: Farmacocineticele compusului 1 la șoarecii obezi cu dietă indusă (DIO).

Fig. 4: Farmacocineticele compusului 1 la maimuța cynomolgus.

Fig. 5: Ingerarea alimentelor la șoarecii DIO tratați cu compusul 1: dozare acută.

Fig. 6: Pierderea în greutate la șoarecii DIO tratați cu compusul 1: dozare acută.

Fig. 7: Ingerarea alimentelor la șoarecii DIO tratați cu compusul 1: dozare cronică.

Fig. 8: Pierderea în greutate la șoarecii DIO tratați cu compusul 1: dozare cronică.

Fig. 9: Pierderea în greutate la șoarecii DIO tratați cu compusul 1 în combinație cu liraglutidă: dozare cronică.

Fig. 10: Prezintă un grafic demonstrând ingerarea medie săptămânală a alimentelor timp de 3 săptămâni înainte de începerea liraglutidelor, 1 săptămână de tratament cu liraglutide, și 2 săptămâni după administrarea liraglutidelor. Este indicată reducerea procentuală a ingerării medii săptămânale a alimentelor a tratamentului versus cele 3 săptămâni ale mediei liniei de bază.

Figurile. 11A-11D: Prezintă grafice care demonstrează efectul compusului 1 cu adaosul de liraglutide asupra glucozei, insulinei, și trigliceridelor la macacii rhesus obezi. Fig. 11A prezintă un grafic care demonstrează efectul monoterapiei cu compusul 1 (PYY) și comboterapiei cu liraglutide (PYY+Lira) asupra nivelului de glucoză. Fig. 11B prezintă un grafic care demonstrează efectul monoterapiei cu compusul 1 (PYY) și comboterapiei cu liraglutide (PYY+Lira) asupra nivelurilor de insulină. Fig. 11C prezintă un grafic care demonstrează efectul monoterapiei cu compusul 1 (PYY) și comboterapiei cu liraglutide (PYY+Lira) asupra HOMA-IR. Fig. 11D prezintă un grafic care demonstrează efectul monoterapiei cu compusul 1 (PYY) și comboterapiei cu liraglutide (PYY+Lira) asupra nivelurilor de trigliceride.

Figurile. 12A-12D: Prezintă grafice ale efectului compusului 1 cu adaos de liraglutide asupra colesterolului și enzimelor ficatului la macacii rhesus obezi. Fig. 12A prezintă un grafic care demonstrează efectul monoterapiei cu compusul 1 (PYY) și comboterapiei cu liraglutide (PYY+Lira) asupra nivelurilor de colesterol. Fig. 12B prezintă un grafic care demonstrează efectul monoterapiei cu compusul 1 (PYY) și comboterapiei cu liraglutide (PYY+Lira) asupra nivelurilor HDL. Fig. 12C prezintă un grafic care demonstrează efectul monoterapiei cu compusul 1 (PYY) și comboterapiei cu liraglutide (PYY+Lira) asupra nivelurilor ALT. Fig. 12D prezintă un grafic care demonstrează efectul monoterapiei cu compusul 1 (PYY) și comboterapiei cu liraglutide (PYY+Lira) asupra nivelurilor AST.

DESCRIERE DETALIATĂ A INVENȚIEI

Invenția este definită prin revendicări. Orice subiect care se încadrează în afara domeniului de aplicare al revendicărilor este prevăzut numai în scopuri informaționale. Orice referiri în descrierea metodelor de tratament se referă la compuşii, compozițiile farmaceutice și medicamentele din prezenta invenție pentru utilizare într-o metodă pentru tratamentul corpului uman sau animal prin terapie.

În afară de cazul când s-a definit altfel, toți termenii tehnici și științifici utilizați aici au același sens care ar fi înțeles în mod obișnuit de către cineva având calificare obișnuită în domeniul la care se referă această invenție. Altfel, anumiți termeni utilizați aici au înțelesurile cum s-a stabilit în specificație.

Trebuie să se noteze că, așa cum s-a utilizat în acest document și în revendicările anexate, formele la singular „o”, „un”, și formele articulate includ referința plurală în afară de cazul când contextul dictează clar altfel.

Dacă nu se afirmă altfel, orice valori numerice, cum ar fi o concentrație sau un interval de concentrație descrise aici, trebuie să fie înțelese ca fiind modificate în toate cazurile de termenul „aproximativ”. Astfel, o valoare numerică include de obicei $\pm 10\%$ din valoarea enumerată. De exemplu, o concentrație de 1 mg/mL include 0,9 mg/mL până la 1,1 mg/mL. În mod asemănător, un interval de concentrație de 1% până la 10% (m/v) include 0,9% (m/v) până la 11% (m/v). Așa cum s-a utilizat în acest document, utilizarea unui interval numeric, include în mod special toate subintervalele posibile, toate valorile numerice individuale din acel interval, incluzând întregii din astfel de intervale și fracții ale valorilor în afară de cazul când contextul indică clar altfel.

Dacă nu se indică altfel, termenul „cel puțin” precedând o serie de elemente trebuie să fie înțeles că se referă la fiecare element din serie. Cei calificați în domeniu vor recunoaște, sau vor fi capabili să constate utilizând nu mai mult decât experimentarea de rutină, mulți echivalenți ai realizărilor specifice ale invenției descrise aici. Astfel de echivalenți sunt intenționați să fie cuprinși în invenție.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenii „cuprinde”, „cuprinzând”, „include”, „incluzând”, „are”, „având”, „conține” sau „conținând”, sau orice altă variație a acestora, vor fi înțeleși că implică includerea unui întreg sau grup de întregi declarați dar nu excluderea oricărui alt întreg sau grup de întregi și sunt intenționați să fie neexclusivi sau deschiși. De exemplu, o compoziție, un amestec, un procedeu, o metodă, un articol, sau un aparat care cuprinde o listă de elemente nu este în mod necesar limitat numai la acele elemente dar poate include alte elemente nelistate în mod special sau inerente unei astfel de compoziție, amestec, procedeu, metodă, articol, sau aparat. În plus, în afară de cazul când se declară în mod special contrariul, „sau” se referă la un sau inclusiv și nu la un sau exclusiv. De exemplu, o afecțiune A sau B este satisfăcută de oricare dintre următoarele: A este adevărată (sau prezentă) și B este falsă (sau neprezentă), A este falsă (sau neprezentă) și B este adevărată (sau prezentă), și ambele A și B sunt adevărate (sau prezente).

Ar trebui de asemenea să se înțeleagă că termenii „în jur de”, „aproximativ”, „în general”, „substanțial” și termeni asemănători, utilizați aici când se face referire la o dimensiune sau caracteristică a unei componente a invenției preferate, au indicat că dimensiunea/caracteristica descrisă nu este o limită sau parametru strict și nu exclude variații minore ale acestora care sunt funcțional aceleași sau similare, cum ar fi înțeles de către o persoană având calificare obișnuită în domeniu. La un minim, astfel de referiri care includ un parametru numeric ar include variații care, utilizând principii matematice și industriale acceptate în domeniu (de exemplu, rotunjirea, măsurarea sau alte erori sistematice, toleranța de fabricare, etc.), nu ar varia, cel puțin la digitul semnificativ.

Termenii „identic” sau „identitate” procentuală, în contextul a două sau mai multe secvențe de acizi nucleici sau de polipeptidă (de exemplu, secvența de polipeptide PYY₃₋₃₆ ciclică, secvențele lanțului ușor sau lanțului greu ale anticorpului), se referă la două sau mai multe secvențe sau subsecvențe care sunt aceleași sau au un procentaj specificat de resturi de aminoacid sau nucleotide care sunt același, când sunt comparate și aliniate pentru corespondență maximă, după cum s-a măsurat utilizând unul dintre următorii algoritmi de comparație ai secvenței sau prin inspecție vizuală utilizând metodele cunoscute în domeniu în lumina prezentei divulgări.

Pentru comparația secvenței, de obicei o secvență acționează ca secvență de referință, la care sunt comparate secvențele de testat. Când se utilizează un algoritm de compararea secvenței, secvențele de test și de referință sunt introduse într-un calculator, sunt stabilite coordonatele subsecvenței, dacă este necesar, și sunt stabiliți parametrii programului algoritmului de secvență. Apoi, algoritmul de compararea secvenței calculează identitatea procentuală de secvență pentru secvența (secvențele) de test față de secvența de referință, pe baza parametrilor stabiliți ai programului.

Alinierea optimă a secvențelor pentru comparație poate fi efectuată, de exemplu, cu algoritmul de omologie locală al lui Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981), cu algoritmul de aliniere de omologie al lui Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970), cu căutarea metodei de similaritate a lui Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. SUA 85:2444 (1988), cu implementările computerizate ale acestor algoritmi (GOL, BESTFIT, FASTA, și TFASTA în pachetul software Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), sau prin inspecție vizuală (vezi în general, Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel și colab., eds., Current Protocols, a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc. și John Wiley & Sons, Inc., (1995 Supplement) (Ausubel)).

Exemple de algoritmi care sunt adecvați pentru determinarea identității procentuale de secvență și similarității secvenței sunt algoritmii BLAST și BLAST 2.0, care sunt descriși în Altschul și colab.

(1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410 și Altschul și colab. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402, respectiv. Software-ul pentru efectuarea analizelor BLAST este disponibil public prin Centrul Național pentru Biotehnologia Informației.

O indicație suplimentară că două secvențe de acid nucleic sau polipeptide sunt substanțial identice este că polipeptida codificată de primul acid nucleic este reticulată imunologic cu polipeptida codificată de al doilea acid nucleic, cum s-a descris mai jos. Astfel, o polipeptidă este de obicei substanțial identică cu o a doua polipeptidă, de exemplu, unde cele două peptide diferă numai prin substituții conservative. Altă indicație că două secvențe de acid nucleic sunt substanțial identice este că cele două molecule hibridizează una cu cealaltă în condiții stringente, cum s-a descris mai jos.

Așa cum s-a utilizat în acest document, „subiect” înseamnă orice animal, preferabil un mamifer, cel mai preferabil un om. Termenul „mamifer” așa cum s-a utilizat în acest document, cuprinde orice mamifer. Exemple de mamifere includ, dar nu sunt limitate la, vaci, cai, oi, porci, pisici, câini, șoareci, șobolani, iepuri, cobai, maimuțe, oameni, etc., mai preferabil un om.

Termenul „administrare” față de metodele invenției, înseamnă o metodă pentru prevenirea terapeutică sau profilactică, tratarea sau ameliorarea unui sindrom, tulburări sau boli cum s-a descris aici prin utilizarea unui conjugat al invenției sau a unei forme, compoziții sau medicament al acestuia. Astfel de metode includ administrarea unei cantități eficiente din respectivul conjugat, formă, compoziție sau medicament al acestuia în diferite momente în decursul unei terapii sau concomitent într-o formă de combinație. Metodele invenției trebuie să fie înțelese ca cuprinzând toate regimurile cunoscute de tratament terapeutic.

Termenul „cantitate eficientă” înseamnă cantitatea de conjugat activ sau agent farmaceutic care declanșează răspuns biologic sau medicinal într-un sistem tisular, animal sau uman, care este urmărit de un cercetător, veterinar, medic, sau alt clinician, care include prevenirea, tratarea sau ameliorarea unui sindrom, tulburări, sau boli care este tratată, sau simptomele unui sindrom, tulburări sau boli care este tratată.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „compoziție” este intenționat să cuprindă un produs cuprinzând ingredientele specificate în cantitățile specificate, precum și orice produs care rezultă, direct sau indirect, din combinațiile ingredientelor specificate în cantitățile specificate.

Așa cum s-a utilizat în acest document termenul „cuplat” se referă la unirea sau conexiunea a două sau mai multe obiecte împreună. Când se face referire la compușii chimici sau biologici, cuplat se poate referi la o conexiune covalentă între cei doi sau mai mulți compuși chimici sau biologici. Pe calea unui exemplu nelimitativ, un anticorp conform invenției poate fi cuplat cu o peptidă de interes pentru a forma o peptidă cuplată la anticorp. O peptidă cuplată la anticorp poate fi formată prin reacții chimice specifice concepute pentru a conjuga anticorpul la peptidă. În anumite realizări, un anticorp conform invenției poate fi cuplat covalent cu o peptidă a invenției printr-un liant. Liantul poate fi, de exemplu, primul conectat covalent la anticorp sau peptidă, apoi conectat covalent la peptidă sau anticorp.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „liant” se referă la un modul chimic cuprinzând o catenă covalentă sau atomică care atașează covalent un anticorp la peptidă. Liantul poate include, de exemplu, dar nu este limitat la, un liant peptidic, un liant hidrocarbură, un liant polietilen glicol (PEG), un liant polipropilen glicol (PPG), un liant polizaharidă, un liant poliester, un liant hibrid constând din PEG și un heterociclu înglobat, și o catenă de hidrocarbură.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „conjugat” se referă la un anticorp sau un fragment al acestuia cuplat covalent la un radical activ farmaceutic. Termenul „conjugat la” se referă la un anticorp sau un fragment al acestuia al invenției legat covalent la, sau conectat covalent la, un radical activ farmaceutic, preferabil o peptidă terapeutică, direct sau indirect printr-un liant. Pe calea unui exemplu nelimitativ, anticorpul poate fi un anticorp monoclonal al invenției și radicalul activ farmaceutic poate fi o peptidă terapeutică, cum ar fi o peptidă PYY ciclică de interes.

Secvențele de peptide descrise aici sunt scrise în conformitate cu convenția uzuală în care regiunea N-terminală a peptidei este pe stânga și regiunea C-terminală este pe dreapta. Deși formele izomerice ale aminoacizilor sunt cunoscute, forma L a aminoacidului este cea reprezentată, în afară de cazul când se indică în mod special altfel.

Anticorpi

Într-un aspect general, invenția se referă la un nou anticorp, care a fost modificat genetic pentru a fi neîntînit și pentru a conține un rest de cisteină capabil să fie utilizat pentru a conjuga chimic (adică, cupla) un radical activ farmaceutic, cum ar fi o peptidă terapeutică (de exemplu, o peptidă PYY ciclică), într-o manieră specifică situsului, astfel încât peptida cuplată la anticorp are o perioadă de înjumătățire extinsă/crescută în comparație cu peptida singură. Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „neîntînit” în contextul unui anticorp se referă la un anticorp care nu se leagă specific la orice țintă *in vivo*. Așa cum s-a utilizat în acest document, un anticorp care „se leagă specific la o țintă” se referă la un anticorp care se leagă la un antigen țintă, cu o K_d de 1×10^{-8} M sau mai puțină, preferabil 5×10^{-9} M sau mai puțină, 1×10^{-9} M sau mai puțină, 5×10^{-10} M sau mai puțină, sau 1×10^{-10} M sau mai puțină. Termenul

„KD“ se referă la constanta de disociere, care este obținută din raportul K_d la K_a (adică, K_d/K_a) și este exprimat ca concentrație molară (M). Valorile KD pentru anticorpi pot fi determinate utilizând metodele din domeniu în lumina prezentei divulgări. De exemplu, KD a unui anticorp poate fi determinată prin utilizarea rezonanței plasmonice de suprafață, cum ar fi prin utilizarea unui sistem biosenzor, de exemplu, un sistem Biacore®, sau prin utilizarea tehnologiei de interferometrie bio-strat, cum ar fi un sistem Octet RED96. Cu cât este mai mică valoarea KD a unui anticorp, cu atât mai ridicată este afinitatea ca anticorpul să se lege la un antigen țintă.

Anticorpii monoclonali, compleți sau un fragment al acestora, pot fi utilizați ca radicali de extensie ai perioadei de înjumătățire. Anticorpii monoclonali sunt proteine bine studiate care au fost utilizați și caracterizați pentru utilizare *in vivo*, și ca atare, mecanismele care permit prelungirea perioadei lor de înjumătățire *in vivo* și mecanismele pentru eliminarea lor *in vivo* sunt bine înțelese. Suplimentar, separarea spațială și prezentarea celor două „brațe“ ale anticorpului monoclonal pot fi avantajoase pentru prezentarea bivalentă eficientă a unui radical terapeutic (adică, o peptidă terapeutică). Au fost dezvoltate terapeutici în care toxinele sau alte medicamente cu micromolecule sunt legate chimic la un anticorp monoclonal dar de obicei utilizează un anticorp monoclonal care se leagă la un antigen specific și țintește conjugatul anticorp-medicament la un țesut/celulă de interes, care exprimă preferențial antigenul, și de obicei medicamentul/micromolecula este atașată la anticorp într-o manieră care nu impactează legarea la antigen a anticorpului.

Pentru conjugatii terapeutici peptidă-mAb, legarea specifică la antigen prin extinderea perioadei de înjumătățire a anticorpului monoclonal nu este dorită. Din această cauză, o pereche de domenii variabile (V) ale lanțului greu (HC) și lanțului ușor (LC) neașteptate să se lege specific la orice țintă este utilizată pentru prepararea unui anticorp monoclonal nețintit al invenției cu permiterea cuplării. Pentru a obține un anticorp monoclonal nețintit cu permiterea cuplării, un rest cisteină este modificat genetic în una dintre regiunile determinante de complementaritate (regiunile CDR) ale unui anticorp nețintit selectat. Radicalul activ farmaceutic (de exemplu, peptida/compusul terapeutic) poate conține radicalul chimic adecvat pentru a permite conjugarea radicalului activ farmaceutic la restul de cisteină modificat genetic al anticorpului monoclonal nețintit. O strategie generală de conjugare a peptidei-anticorpului monoclonal în conformitate cu o realizare a invenției este prezentată în Figura 1.

Termenul „anticorpi“ așa cum s-a utilizat în acest document se înțelege într-un sens larg și include anticorpi monoclonali neumani (de exemplu, murini, de șobolan), umani, adaptați umani, umanizați și anticorpi himerici monoclonali, fragmente de anticorpi, anticorpi bispecifici sau multispecifici, anticorpi dimerici, tetramerici sau multimerici, și anticorpi monocatenari.

Lanțurile ușoare ale anticorpului oricăror specii de vertebrate pot fi atribuite unuia din cele două tipuri distincte clare, și anume kappa (κ) și lambda (λ), pe baza secvențelor de aminoacizi ale domeniilor lor constante. Corespunzător, anticorpii invenției pot conține un domeniu constant al lanțului ușor kappa sau lambda. În conformitate cu realizări particulare, anticorpii invenției includ regiuni constante ale lanțului greu și/sau ușor de la anticorpi de șoarece sau umani. În plus față de domeniile constante grele și ușoare, anticorpii conțin o regiune de legare la antigen care este făcută dintr-o regiune variabilă a lanțului ușor și o regiune variabilă a lanțului greu, din care fiecare conține trei domenii (adică, regiunile determinante de complementaritate 1-3; (CDR1, CDR2, și CDR3)). Domeniile regiunii variabile a lanțului ușor sunt referite alternativ ca LCDR1, LCDR2, și LCDR3, și domeniile regiunii variabile a lanțului greu sunt referite alternativ ca HCDR1, HCDR2, și HCDR3.

Imunoglobulinele pot fi atribuite la cinci clase majore, și anume IgA, IgD, IgE, IgG și IgM, depinzând de secvența de aminoacizi a domeniului constant al lanțului greu. IgG este cea mai stabilă din cele cinci tipuri de imunoglobuline, având o perioadă de înjumătățire în ser la oameni de aproximativ 23 zile. IgA și IgG sunt subclasificate în continuare ca izotipurile IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 și IgG4. Fiecare din cele patru subclase de IgG are diferite funcții biologice cunoscute ca funcții efectoare. Aceste funcții efectoare sunt în general mediate prin interacțiunea cu receptorul Fc (FcγR) sau prin legare la C1q și fixarea complementului. Legarea la FcγR poate conduce la citolize mediate de celula dependentă de anticorp, în timp ce legarea la factorii complementari poate conduce la lizarea celulei mediate de complement. Un anticorp conform invenției utilizat pentru abilitatea sa de a extinde perioada de înjumătățire a unei peptide terapeutice nu are nici o, sau o minimă funcție efectoare, dar reține abilitatea sa de a se lega la FcRn, a cărui legare poate fi un mijloc primar prin care anticorpii au o perioadă de înjumătățire extinsă *in vivo*.

Într-o realizare, invenția se referă la un anticorp izolat sau fragment cu legare la antigen al acestuia cuprinzând o regiune variabilă a lanțului ușor având secvențele complete ale genei V a liniei germinale Ig umane, și o regiune variabilă a lanțului greu având secvențele complete ale genei V a liniei germinale Ig umane cu excepția HCDR3 având secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 143, în care anticorpul sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia nu se leagă specific la nici un antigen uman *in vivo*. În anumite realizări, invenția se referă la un conjugat cuprinzând un anticorp izolat sau fragment cu legare la antigen al acestuia cuprinzând o regiune variabilă a lanțului ușor având secvențele complete ale

genei V a liniei germinale Ig umane, și o regiune variabilă a lanțului greu având secvențele complete ale genei V a liniei germinale Ig umane cu excepția HCDR3 având secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 143 și un radical activ farmaceutic (de exemplu, o peptidă PYY ciclică a invenției) conjugat la acesta, în care anticorpul sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia nu se leagă specific la nici un antigen uman *in vivo*. În prezenta divulgare, față de un anticorp sau fragment cu legare la antigen al acestuia în conformitate cu o realizare a invenției, exprimarea „un conjugat cuprinzând un anticorp sau fragment cu legare la antigen al acestuia și un radical activ farmaceutic conjugat la aceasta” este utilizată interschimbabil cu exprimarea „un anticorp sau fragment cu legare la antigen al acestuia conjugat la un radical activ farmaceutic”.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „fragment care se leagă la antigen” se referă la un fragment de anticorp cum ar fi, de exemplu, un diacorp, un Fab, un Fab', un F(ab')₂, un fragment Fv, un fragment Fv stabilizat cu disulfură (dsFv), un (dsFv)₂, un dsFv bispecific (dsFv-dsFv'), un diacorp stabilizat cu disulfură (diacorp ds), o moleculă de anticorp monocatenar (scFv), un anticorp monodomeniu (sdab) un dimer scFv (diacorp bivalent), un anticorp multispecific format dintr-o porțiune a unui anticorp cuprinzând una sau mai multe regiuni CDR, un anticorp monodomeniu camelizat, un nanocorp, un anticorp de domeniu, un anticorp de domeniu bivalent, sau orice alte fragmente de anticorp care se leagă la un antigen dar nu cuprind o structură completă de anticorp. Un fragment care se leagă la antigen este capabil de legare la același antigen la care se leagă anticorpul părinte sau fragmentul de anticorp părinte. În conformitate cu realizări particulare, fragmentul de legare la antigen cuprinde o regiune variabilă a lanțului ușor, o regiune constantă a lanțului ușor, și un segment Fd (adică, porțiune al lanțului greu care este inclusă în fragmentul Fab). În conformitate cu alte realizări particulare, fragmentul de legare la antigen cuprinde Fab și F(ab').

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „anticorp monocatenar” se referă la un anticorp monocatenar convențional în domeniu, care cuprinde o regiune variabilă a lanțului greu și o regiune variabilă a lanțului ușor conectate printr-o peptidă scurtă de aproximativ 15 până la aproximativ 20 aminoacizi. Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „anticorp monodomeniu” se referă la un anticorp monodomeniu convențional în domeniu, care cuprinde o regiune variabilă a lanțului greu și o regiune constantă a lanțului greu sau care cuprinde numai o regiune variabilă a lanțului greu.

Exprimarea „anticorp izolat sau fragment de anticorp” se referă la un anticorp sau fragment de anticorp care este substanțial fără alți anticorpi având diferite specificități antigenice (de exemplu, un anticorp izolat care se leagă specific la un antigen țintă este substanțial fără anticorpi nu se leagă specific la antigenul țintă). Mai mult, un anticorp izolat sau fragment de anticorp pot fi substanțial fără alte materiale celulare și/sau substanțe chimice.

O regiune variabilă a anticorpului constă dintr-o regiune „cadru” întreruptă de trei „situsuri de legare la antigen”. Situsurile de legare la antigen sunt definite utilizând diferiți termeni: (i) regiuni determinate de complementaritate (regiuni CDR), trei în VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3), și trei în VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), se bazează pe variabilitatea secvenței (Wu și Kabat J Exp Med 132:211-50, 1970; Kabat și colab Sequences of Proteins of Immunological Interest, ed. a 5-a Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991). (ii) „regiuni hipervariabile”, „HVR”, sau „HV”, trei în VH (H1, H2, H3) și trei în VL (L1, L2, L3), se referă la regiunile unui domeniu variabil al anticorpului care sunt hipervariabile în structură cum s-a definit de către Chotia și Lesk (Chotia și Lesk Mol Biol 196:901-17, 1987). Alți termeni includ „regiuni CDR IMGT” (Lefranc și colab., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003) și „Specificity Determining Residue Usage” (SDRU) (Almagro Mol Recognit 17:132-43, 2004). Baza de date internațională ImunoGeneTics (IMGT) (http://www_mgt_org) furnizează o numărătoare și definiție standardizată ale situsurilor de legare la antigen. Corespondența între regiunile CDR, HV-uri și delimitările IMGT este descrisă în Lefranc și colab., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003.

„Cadru” sau „secvențe cadru” sunt secvențele rămase ale unei regiuni variabile alta decât cea definită ca fiind situs de legare la antigen. Deoarece situsurile de legare la antigen pot fi definite prin diferiți termeni cum s-a descris mai sus, secvența exactă de aminoacizi a unui cadru depinde de cum a fost definit situsul de legare la antigen.

Într-o realizare a invenției, un anticorp izolat sau fragment cu legare la antigen al acestuia cuprinde o regiune variabilă a lanțului ușor având LCDR1, LCDR2 și LCDR3 ale secvenței de aminoacizi din SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145 și respectiv SEQ ID NO: 146, și o regiune variabilă a lanțului greu având HCDR1, HCDR2 și HCDR3 ale secvențelor de aminoacizi din SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 142 și respectiv SEQ ID NO: 143.

Într-o altă realizare, anticorpul izolat cuprinde în plus o regiune Fc derivată din regiunea Fc IgG4 umană. Regiunea Fc IgG4 umană are abilitate redusă de a se lega la FcγR și factorii complementari în comparație cu alte subtipuri IgG. Preferabil, regiunea Fc conține regiunea Fc IgG4 umană având substituții care elimină funcțiile efectoare. Astfel, un anticorp izolat cuprinde în plus o regiune Fc având o regiune Fc Ig4 umană modificată conținând una sau mai multe din următoarele substituții: substituția de

prolină cu glutamat la restul 233, alanină sau valină cu fenilalanină la restul 234 și alanină sau glutamat cu leucină la restul 235 (numărătoarea EU, Kabat, E. A. și colab. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Ed. a 5-a U.S. Dept. of Health and Human Services, Bethesda, Md., NIH Publication no. 91-3242). Îndepărtarea situsului de glicozilare N-legat în regiunea Fc IgG4 substituind Ala cu Asn la restul 297 (numărătoarea EU) este o altă cale pentru a asigura că activitatea efectoare reziduală este eliminată.

Preferabil, un anticorp conform invenției există ca dimeri îmbinați împreună prin legături disulfură și diferite interacțiuni necovalente. Astfel, porțiunea Fc utilă pentru anticorpii invenției poate fi regiunea Fc IgG4 umană conținând o substituție, cum ar fi serină cu prolină la poziția 228 (numărătoarea EU), care a stabilizat formarea dimerului lanțului greu și previne formarea lanțurilor Fc semi-IgG4.

Într-o altă realizare, restul Lys C-terminal din lanțul greu este îndepărtat, cum se vede în mod obișnuit la anticorpii monoclonali produși recombinant.

„Anticorp uman” se referă la un anticorp având regiunile variabile ale lanțului greu și ale lanțului ușor în care ambele, cadrul și situsurile de legare la antigen sunt derivate din secvențe de origine umană. Dacă anticorpii conține o regiune constantă, regiunea constantă este de asemenea derivată din secvențe de origine umană.

Anticorpii umani cuprind regiuni variabile ale lanțului greu sau ușor care sunt „derivate din” secvențe de origine umană dacă regiunile variabile ale anticorpului sunt obținute dintr-un sistem care utilizează imunoglobulina liniei germinale umane sau gene de imunoglobulină rearanjate. Astfel de sisteme includ biblioteci de gene de imunoglobulină umană afișate pe bacteriofagi, și animale neumane transgenice cum ar fi șoarecii care poartă loci de imunoglobulină umană cum s-a descris aici. „Anticorpii umani” poate conține diferențe de aminoacizi când este comparat cu secvențele de imunoglobulină ale liniei germinale umane sau rearanjate din cauza de exemplu, mutațiilor somatice care apar natural sau introducerii intenționate de substituții în cadrul sau situsurile de legare la antigen. De obicei, „anticorpii umani” este cel puțin aproximativ 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% sau 100% identic în secvența de aminoacizi cu o secvență de aminoacizi codificată de o genă de imunoglobulină a liniei germinale umane sau rearanjate. În unele cazuri, „anticorpii umani” poate conține secvențe cadru consens derivate din analiza secvențelor cadru umane, de exemplu cum s-a descris în Knappik și colab., J Mol Biol 296:57-86, 2000), sau HCDR3 sintetică încorporată în bibliotecile de gene de imunoglobulină umană afișate pe bacteriofagi, de exemplu cum s-a descris în Shi și colab., J Mol Biol 397:385-96, 2010 și Intl. Pat. Publ. nr. WO2009/085462). Anticorpii la care situsurile de legare la antigen sunt derivate dintr-o specie neumană nu sunt incluși în definiția de „anticorpii umani”.

Anticorpii umani izolați pot fi sintetici. Anticorpii umani, în timp ce sunt derivați din secvențe de imunoglobulină umană, pot fi generați utilizând sisteme cum ar fi afișarea pe bacteriofagi care încorporează regiunile CDR sintetice și/sau cadrele sintetice, sau pot fi supuși la mutageneză in vitro pentru a îmbunătăți proprietățile anticorpului, conducând la anticorpii care nu există natural în repertoriul liniei germinale de anticorpii umani in vivo.

Termenul „anticorpii recombinanți” așa cum s-a utilizat în acest document, include toți anticorpii care sunt preparați, exprimați, creați sau izolați prin mijloace recombinante, cum ar fi anticorpii izolați dintr-un animal (de exemplu, un șoarece) care este transgenic sau transcromozomial pentru genele de imunoglobulină umană sau un hibridom preparat din acesta, anticorpii izolați dintr-o celulă gazdă transformată pentru a exprima anticorpii, anticorpii izolați dintr-o bibliotecă de anticorpii recombinanți, combinatoriali, și anticorpii preparați, exprimați, creați sau izolați prin orice alte mijloace care implică îmbinarea secvențelor genetice de imunoglobulină umană cu alte secvențe ADN, sau anticorpii care sunt generați in vitro utilizând modificarea brațului Fab.

Termenul „anticorpii monoclonali” așa cum s-a utilizat în acest document se referă la o preparare de molecule de anticorpii cu o singură compoziție moleculară. Anticorpii monoclonali ai invenției pot fi făcuți prin metoda hibridoamelor, tehnologia de afișare pe bacteriofagi, tehnologia de clonare a genelor limfocite singure, sau prin metode de ADN recombinant. De exemplu, anticorpii monoclonali pot fi produși printr-un hibridom care include o celulă B obținută de la un animal neuman transgenic, cum ar fi un șoarece transgenic sau șobolan, având un genom cuprinzând o transgenă a lanțului greu uman și o transgenă a lanțului ușor.

În anumite realizări, termenul „mAb” se referă la un anticorpii monoclonal având o secvență a lanțului greu variabil (VH) cuprinzând SEQ ID NO: 137 și o secvență a lanțului ușor variabil (VL) cuprinzând SEQ ID NO: 139. În anumite realizări mAb este un anticorpii monoclonal uman complet având o secvență a lanțului greu (HC) cuprinzând SEQ ID NO:138 și o secvență a lanțului ușor (LC) cuprinzând SEQ ID NO:140. În anumite realizări, restul de lizină la poziția 446 din SEQ ID NO: 138 lipsește opțional.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „anticorpii himerici” se referă la un anticorpii în care secvența de aminoacizi a moleculei de imunoglobulină este derivată din două sau mai multe specii.

Regiunea variabilă a ambelor lanțuri ușoare și grele corespunde adesea cu regiunea variabilă a unui anticorp derivat dintr-o specie de mamifer (de exemplu, șoarece, șobolan, iepure, etc.) având specificitatea, afinitatea, și capacitatea dorite, în timp ce regiunile constante corespund secvențelor unui anticorp derivat dintr-o altă specie de mamifer (de exemplu, om) pentru a evita provocarea unui răspuns imun în acea specie.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „anticorp multispecific” se referă la un anticorp care cuprinde o multitudine de secvențe ale domeniului variabil de imunoglobulină, în care o primă secvență a domeniului variabil de imunoglobulină a multitudinii are specificitate de legare pentru un prim epitop sau cuprinde secvențe ale liniei germinale care nu au nici o specificitate de legare cunoscută și o a doua secvență a domeniului variabil de imunoglobulină a multitudinii are specificitate de legare pentru un al doilea epitop sau cuprinde secvențe ale liniei germinale care nu au nici o specificitate de legare cunoscută, și în care primul și/sau al doilea domeniu variabil de imunoglobulină includ opțional un radical conjugat activ farmaceutic (de exemplu, o peptidă terapeutică). Într-o realizare, primul și al doilea epitop sunt pe același antigen, *de exemplu*, aceeași proteină (sau subunitate a unei proteine multimerice). Într-o realizare, primul și al doilea epitop se suprapun sau se suprapun substanțial. Într-o realizare, primul și al doilea epitop nu se suprapun sau nu se suprapun substanțial. Într-o realizare, primul și al doilea epitop sunt pe antigeni diferiți, *de exemplu*, proteine diferite (sau subunități diferite ale unei proteine multimerice). Într-o realizare, primul și al doilea domeniu variabil de imunoglobulină includ același radical conjugat activ farmaceutic. Într-o realizare, primul și al doilea domeniu variabil de imunoglobulină includ diferiți radicali activi farmaceutici. Într-o realizare, numai primul domeniu variabil de imunoglobulină include un radical conjugat activ farmaceutic. Într-o realizare, numai al doilea domeniu variabil de imunoglobulină include un radical conjugat activ farmaceutic. Într-o realizare, un anticorp multispecific cuprinde un al treilea, al patrulea, sau al cincelea domeniu variabil de imunoglobulină. Într-o realizare, un anticorp multispecific este o moleculă de anticorp bispecific, de anticorp trispecific, sau o moleculă de anticorp tetraspecific.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „anticorp bispecific” se referă la un anticorp multispecific care se leagă la nu mai mult de doi epitopi sau doi antigeni și/sau cuprinde doi radicali conjugați activi farmaceutici (de exemplu, același sau un radical activ farmaceutic diferit). Un anticorp bispecific este caracterizat printr-o primă secvență a domeniului variabil de imunoglobulină care are specificitate de legare pentru un prim epitop sau cuprinde secvențe ale liniei germinale care nu au nici o specificitate de legare cunoscută și o a doua secvență a domeniului variabil de imunoglobulină care are specificitate de legare pentru un al doilea epitop sau cuprinde secvențe ale liniei germinale care nu au nici o specificitate de legare cunoscută, și în care primul și/sau al doilea domeniu variabil de imunoglobulină includ opțional un radical conjugat activ farmaceutic. Într-o realizare, primul și al doilea epitop sunt pe același antigen, *de exemplu*, aceeași proteină (sau subunitate a unei proteine multimerice). Într-o realizare, primul și al doilea epitop se suprapun sau se suprapun substanțial. Într-o realizare primul și al doilea epitop sunt pe antigeni diferiți, *de exemplu*, proteine diferite (sau subunități diferite ale unei proteine multimerice). Într-o realizare, primul și al doilea domeniu variabil de imunoglobulină includ același radical conjugat activ farmaceutic. Într-o realizare, primul și al doilea domeniu variabil de imunoglobulină includ diferiți radicali activi farmaceutici. Într-o realizare, numai primul domeniu variabil de imunoglobulină include un radical conjugat activ farmaceutic. Într-o realizare, numai al doilea domeniu variabil de imunoglobulină include un radical conjugat activ farmaceutic. Într-o realizare un anticorp bispecific cuprinde o primă secvență a domeniului variabil al lanțului greu și o secvență a domeniului variabil al lanțului ușor care au specificitate de legare pentru un prim epitop sau cuprind secvențe ale liniei germinale care nu au nici o specificitate de legare cunoscută și o a doua secvență a domeniului variabil al lanțului greu și o secvență a domeniului variabil al lanțului ușor care au specificitate de legare pentru un al doilea epitop sau cuprind secvențe ale liniei germinale care nu au nici o specificitate de legare cunoscută, și în care primul și/sau al doilea domeniu variabil al lanțului greu includ opțional un radical conjugat activ farmaceutic. Într-o realizare, primul și al doilea domeniu variabil al lanțului greu includ același radical conjugat activ farmaceutic. Într-o realizare, primul și al doilea domeniu variabil al lanțului greu includ diferiți radicali conjugați activi farmaceutici. Într-o realizare, numai primul domeniu variabil al lanțului greu include un radical conjugat activ farmaceutic. Într-o realizare, numai al doilea domeniu variabil al lanțului greu include un radical conjugat activ farmaceutic.

„Anticorpus cu lungime completă” așa cum s-a utilizat în acest document se referă la un anticorp având două lanțuri grele ale anticorpusului cu lungime completă și două lanțuri ușoare ale anticorpusului cu lungime completă. Un lanț greu al anticorpusului cu lungime completă (HC) constă din bine cunoscutele domenii variabile și constante ale lanțului greu VH, CHI, CH2, și CH3. Un lanț ușor al anticorpusului cu lungime completă (LC) constă din bine cunoscutele domenii variabile și constante ale lanțului ușor VL și CL. Anticorpusului cu lungime completă îi poate lipsi lizina C-terminală (K) în oricare din, sau ambele lanțuri grele.

Termenul „braț Fab“ sau „semi moleculă“ se referă la o pereche lanț greu-lanț ușor care se leagă specific la un antigen.

Anticorpii bispecifici cu lungime completă pot fi generați de exemplu utilizând modificarea brațului Fab (sau modificarea semi moleculei) între doi anticorpi bivalenți monospecifici prin introducerea substituțiilor la interfața lanțului greu CH3 în fiecare semi moleculă pentru a favoriza formarea de heterodimer al două semi molecule de anticorp având specificitate distinctă fie *in vitro* în mediu fără celule sau fie utilizând coexpresia. Reacția de modificare a brațului Fab este rezultatul unei reacții de izomerizare a legăturii disulfură și disocierii-asocierii domeniilor CH3. Legăturile disulfură ale lanțului greu din regiunile balama ale anticorpilor monospecifici părinte sunt reduse. Cisteinele libere rezultate din unul din anticorpii monospecifici părinte formează o interlegătură disulfură a lanțului greu cu resturile de cisteină ale unei a doua molecule de anticorp monospecific părinte și eliberează simultan domeniile CH3 ale anticorpului părinte și le reformează prin disociere-asociere. Domeniile CH3 ale brațelor Fab pot fi modificate genetic pentru a favoriza heterodimerizarea față de homodimerizare. Produsul rezultat este un anticorp bispecific având două brațe Fab sau semi molecule care se pot lega fiecare la un epitop distinct.

„Homodimerizarea“ așa cum s-a utilizat în acest document, față de anticorpi, se referă la o interacțiune a două lanțuri grele având secvențe CH3 identice de aminoacizi. „Homodimer“ așa cum s-a utilizat în acest document, față de anticorpi, se referă la un anticorp având două lanțuri grele cu secvențe CH3 identice de aminoacizi.

„Heterodimerizarea“ așa cum s-a utilizat în acest document, față de anticorpi, se referă la o interacțiune a două lanțuri grele având secvențe CH3 neidentice de aminoacizi. „Heterodimer“ așa cum s-a utilizat în acest document, față de anticorpi, se referă la un anticorp având două lanțuri grele cu secvențe CH3 neidentice de aminoacizi.

Strategia „nod-în-gaură“ (vezi, de exemplu, PCT Intl. Publ. nr. WO 2006/028936) poate fi utilizată pentru a genera anticorpi bispecifici cu lungime completă. Pe scurt, aminoacizii selectați care formează interfața domeniilor CH3 în IgG umană pot fi mutați în poziții care afectează interacțiunile domeniului CH3 pentru a promova formarea de heterodimer. Un aminoacid cu o mică catenă laterală (gaură) este introdus într-un lanț greu al unui anticorp care se leagă specific la un prim antigen și un aminoacid cu o catenă laterală mare (nod) este introdus într-un lanț greu al unui anticorp care se leagă specific la un al doilea antigen. După coexpresia celor doi anticorpi, se formează un heterodimer ca rezultat al interacțiunii preferențiale a lanțului greu cu o „gaură“ decât a lanțului greu cu un „nod“. Exemplare de perechi de substituții CH3 care formează un nod și o gaură sunt (exprimate ca poziție modificată în primul domeniu CH3 al poziției primului lanț greu/modificate în al doilea domeniu CH3 al celui de al doilea lanț greu): T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S și T366W/T366S_L368A_Y407V.

Pot fi utilizate și alte strategii cum ar fi promovarea heterodimerizării lanțului greu utilizând interacțiuni electrostatice prin substituirea resturilor încărcate pozitiv la o suprafață CH3 și a resturilor încărcate negativ la o a doua suprafață CH3, cum s-a descris în US Pat. Publ. nr. US2010/0015133; US Pat. Publ. nr. US2009/0182127; US Pat. Publ. nr. US2010/028637 sau US Pat. Publ. nr. US2011/0123532. În alte strategii, heterodimerizarea poate fi promovată prin următoarele substituții (exprimate ca poziție modificată în primul domeniu CH3 al poziției primului lanț greu/modificată în al doilea domeniu CH3 al celui de al doilea lanț greu): L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V_K409F, Y407A/T366A_K409F, sau T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W cum s-a descris în U.S. Pat. Publ. nr. US2012/0149876 sau U.S. Pat. Publ. nr. US2013/0195849.

În plus față de metodele descrise mai sus, anticorpii bispecifici pot fi generați *in vitro* într-un mediu fără celule prin introducerea mutațiilor asimetrice în regiunile CH3 a doi anticorpi homodimerici monospecifici și formarea anticorpului heterodimeric bispecific din doi anticorpi homodimerici monospecifici părinte în condiții reducătoare pentru a permite izomerizarea legăturii disulfură în conformitate cu metodele descrise în Intl. Pat. Publ. nr. WO2011/131746. În metode, primul anticorp bivalent monospecific și al doilea anticorp bivalent monospecific sunt modificați genetic pentru a avea anumite substituții la domeniul CH3 care inițiază stabilitatea heterodimerului; anticorpii sunt incubati împreună în condiții reducătoare suficiente pentru a permite cisteinelor din regiunea balama să sufere izomerizarea legăturii disulfură; generând prin urmare anticorpul bispecific prin modificarea brațului Fab. Condițiile de incubare pot fi refăcute optim la nereducătoare. Exemple de agenți de reducere care pot fi utilizați sunt 2-mercaptoetilamină (2-MEA), ditiotreit (DTT), ditiocitritol (DTE), glutatoin, tris(2-carboxietil)fosfină (TCEP), L-cisteină și beta-mercaptoetanol, preferabil un agent reducător selectat din grupul constând din: 2-mercaptoetilamină, ditiotreit și tris(2-carboxietil)fosfină. De exemplu, poate fi utilizată incubarea timp de cel puțin 90 min la o temperatură de cel puțin 20°C în prezența a cel puțin 25

mM 2-MEA sau în prezența a cel puțin 0,5 mM ditiotreitoli la un pH de de la 5-8, de exemplu la pH de 7,0 sau la pH de 7,4.

Numărarea resturilor de aminoacizi din regiunea constantă a anticorpului pe parcursul specificației este efectuată în conformitate cu indicele EU cum s-a descris în Kabat și colab., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Ed. a 5-a Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991), în afară de cazul când se declară explicit altfel.

Conjugați

Într-un alt aspect general, invenția se referă la un conjugat cuprinzând un anticorp conform invenției conjugat covalent la un radical activ farmaceutic, cum ar fi o peptidă terapeutică sintetică (de exemplu, o peptidă PYY ciclică), într-o manieră apecifică situsului, astfel încât peptida cuplată la anticorp are o perioadă de înjumătățire extinsă/ crescută în comparație cu peptida singură. Invenția se referă de asemenea la compoziții farmaceutice și metode pentru utilizarea acestora. Conjugații sunt utili pentru prevenirea, tratarea, sau ameliorarea bolilor sau tulburărilor, cum ar fi obezitate, diabet de tip 2, sindrom metabolic (adică, Sindrom X), rezistență la insulină, toleranță scăzută la glucoză (de exemplu, intoleranță la glucoză), hiperglicemie, hiperinsulinemie, hipertrigliceridemie, hipoglicemie din cauza hiperinsulinismului congenital (CHI), dislipidemie, ateroscleroză, nefropatie diabetică, și alți factori de risc cardiovascular cum ar fi hipertensiunea și factori de risc cardiovascular asociați cu negestionarea colesterolului și/sau nivelurilor de lipide, osteoporoză, inflamație, boală a ficatului gras nealcoolic (NAFLD), steatohepatită nealcoolică (NASH), boală renală, și eczemă, printre altele.

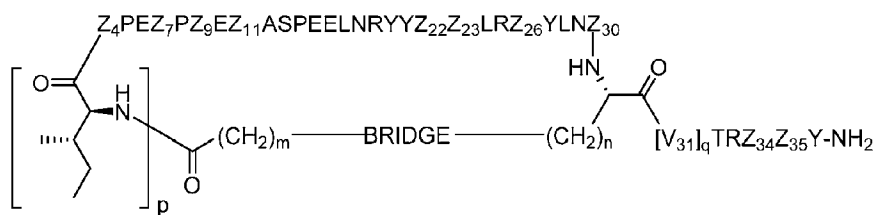
În anumite realizări, anticorpul invenției este modificat să cuprindă cel puțin o substituție a restului de cisteină care este capabilă să fie conjugată la radicalul activ farmaceutic pentru a extinde/crescere perioada de înjumătățire a radicalului activ farmaceutic. În anumite realizări, cea cel puțin o substituție a unui rest de cisteină este cuprinsă într-o regiune determinantă de complementaritate a anticorpului. În anumite realizări, cea cel puțin o substituție a restului de cisteină este în regiunea determinantă de complementaritate a lanțului greu (HCDR). În anumite realizări, cea cel puțin o substituție a restului de cisteină este într-o HCDR3, în care HCDR3 cuprinde o secvență de aminoacizi din SEQ ID NO:143. În anumite realizări, anticorpul care cuprinde o HCDR3 cuprinzând o secvență de aminoacizi din SEQ ID NO: 143 are cel puțin o substituție suplimentară de cisteină care este capabilă să fie conjugată la un radical activ farmaceutic.

În anumite realizări radicalul activ farmaceutic poate cuprinde un liant. Liantul poate fi modificat chimic pentru a permite conjugarea anticorpului la radicalul activ farmaceutic. Liantul poate include de exemplu, dar nu este limitat la, un liant peptidic, un liant hidrocarbură, un liant polietilen glicol (PEG), un liant polipropilen glicol (PPG), un liant polizaharidă, un liant poliester, un liant hibrid constând din PEG și un heterociclu înglobat, sau o catenă de hidrocarbură. Lianții PEG pot cuprinde, de exemplu, 2-24 unități PEG.

În anumite realizări, un anticorp monoclonal al invenției este conjugat la unul, doi, trei, patru, cinci, sau șase radicali activi farmaceutici (de exemplu, peptida (peptidele) terapeutică) de interes. În realizările preferate, anticorpul monoclonal neșintit este conjugat la doi radicali activi farmaceutici de interes. În anumite realizări unde anticorpul monoclonal este conjugat la cel puțin doi radicali activi farmaceutici de interes, radicalii activi farmaceutici de interes pot fi aceiași radicali activi farmaceutici sau pot fi radicali activi farmaceutici diferiți.

Metodele de conjugare a anticorpilor invenției cu radicalii activi farmaceutici ai invenției sunt cunoscute în domeniu. Pe scurt, anticorpii invenției pot fi reduși cu un agent reducător (de exemplu, TCEP (tris(2-carboxietil)fosfină), purificat (de exemplu, prin adsorbție de proteină A sau filtrare pe gel), și conjugați cu radicalul activ farmaceutic (de exemplu, prin furnizarea unei peptide liofilizate la anticorpul redus în condiții care permit conjugarea). După reacția de conjugare, conjugatul poate fi purificat prin cromatografie cu schimb de ioni sau prin cromatografie cu interacțiune hidrofobă (HIC) cu o etapă finală de purificare a adsorbției de proteină A. În anumite realizări, anticorpii invenției pot fi purificați înainte de a fi reduși utilizând metode HIC. Pentru descrierea mai detaliată a metodelor de conjugare, vezi, de exemplu, Exemplul 103 și Dennler și colab., Antibodies 4:197-224 (2015).

Sunt furnizați aici conjugați cuprinzând un anticorp monoclonal sau un fragment cu legare la antigen al acestuia cuplat la o peptidă PYY ciclică, în care peptida PYY ciclică este reprezentată prin Formula I sau un derivat sau o sare acceptabilă farmaceutică a acesteia:



Formula I

în care

p este 0 sau 1;

m este 0, 1, 2, 3, 4, sau 5;

n este 1, 2, 3, sau 4;

q este 0 sau 1; cu condiția că q este 1 numai când Z₃₀ este absent;

BRIDGE este -Ph-CH₂-S-, -triazolil-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S, -

NHC(O)-, sau -CH₂S-;

Z₄ este K, A, E, S, sau R;

Z₇ este A sau K;

Z₉ este G sau K;

Z₁₁ este D sau K;

Z₂₂ este A sau K;

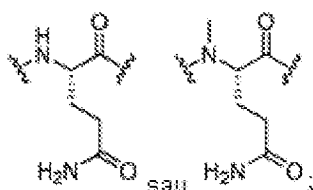
Z₂₃ este S sau K;

Z₂₆ este A sau H;

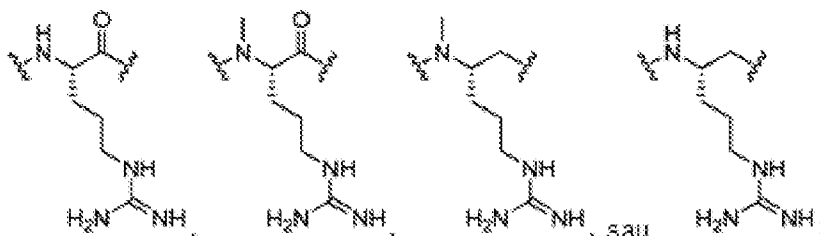
Z₃₀ este L, W, absent, sau K;

cu condiția că Z₃₀ este absent numai când q este 1;

Z₃₄ este



Z₃₅ este



în care derivatul este compusul cu Formula I care este modificat prin unul sau mai multe procese selectate din grupul constând din amidare, glicozilare, carbamilare, sulfatare, fosforilare, ciclizare, lipidare, și PEGilare.

În anumite realizări, peptida PYY ciclică este un derivat al peptidei PYY ciclice cu Formula I care este modificată prin unul sau mai multe procese selectate din grupul constând din amidare, lipidare, și PEGilare, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia.

În anumite realizări, peptida PYY ciclică este reprezentată prin Formula I sau derivatul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

p este 0 sau 1;

m este 0, 1, 2, 3, 4, sau 5;

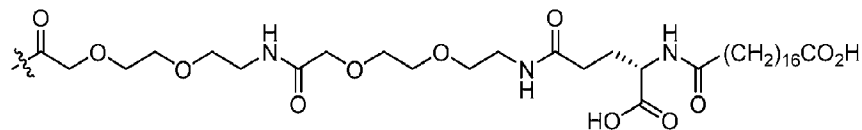
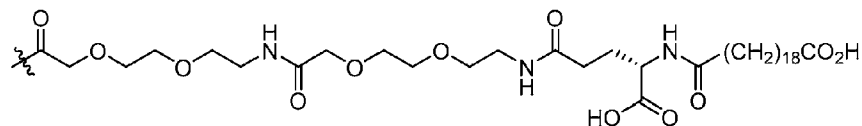
n este 1, 2, 3, sau 4;

q este 0 sau 1; cu condiția că q este 1 numai când Z₃₀ este absent;

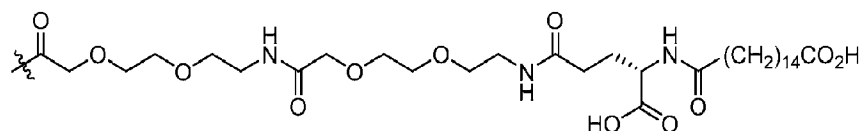
BRIDGE este -Ph-CH₂-S-, -triazolil-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S, -NHC(O)-, sau -CH₂S-;

Z₄ este K, A, E, S, sau R;

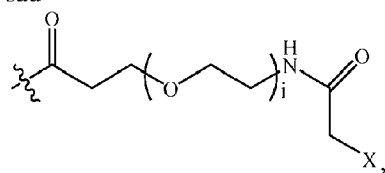
Z₇ este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



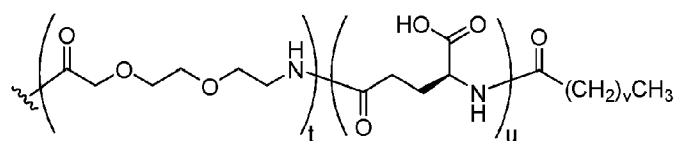
5



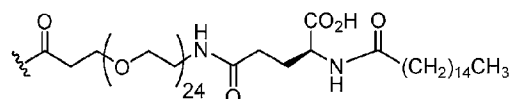
sau



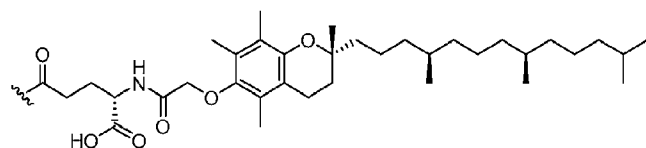
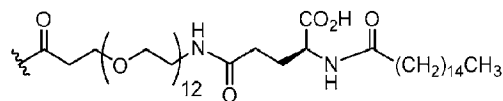
- 10 în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și $X = \text{Br}$, I sau Cl , $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I}$, sau $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$; Z_9 este G sau K , în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



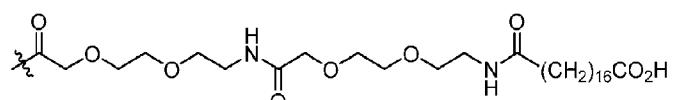
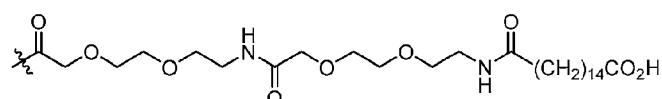
- 15 în care t este 0, 1, sau 2;
 u este 0 sau 1; și
 v este 14, 16, sau 18;



20



25





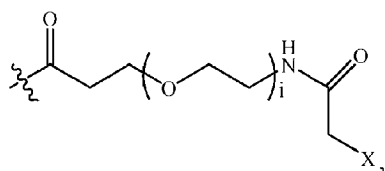
Z₁₁ este D sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



y este 14, 16, sau 18;

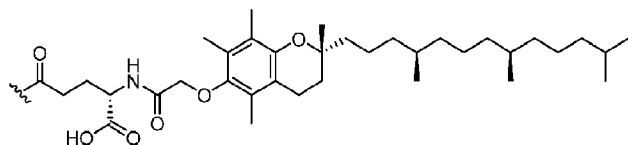
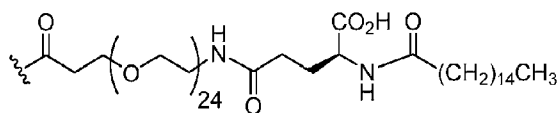


25

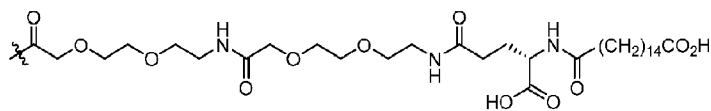
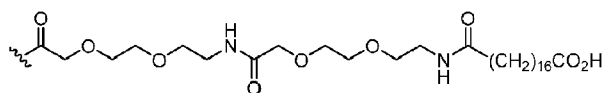


în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și $X = \text{Br, I sau Cl}$,

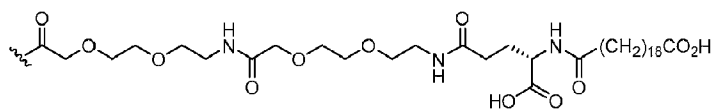
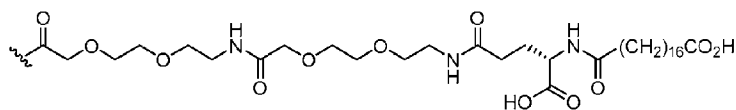
5



10

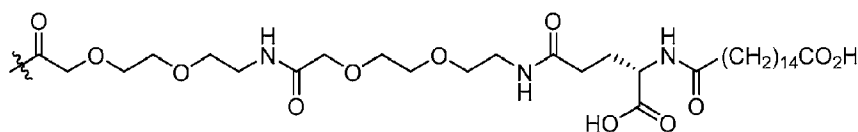


15

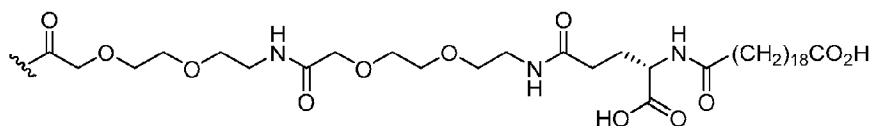
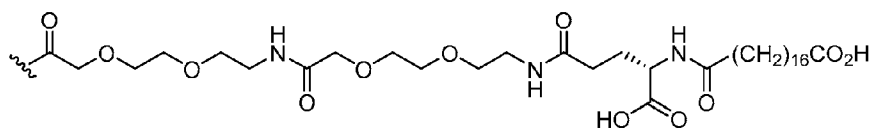


$-\text{C(O)CH}_2\text{I}$, $-\text{C(O)CH}_2\text{Cl}$ sau $-\text{C(O)CH}_2\text{Br}$;

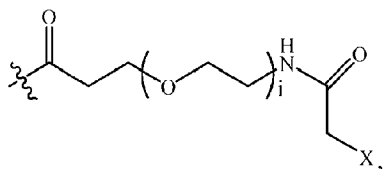
Z_{22} este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



20

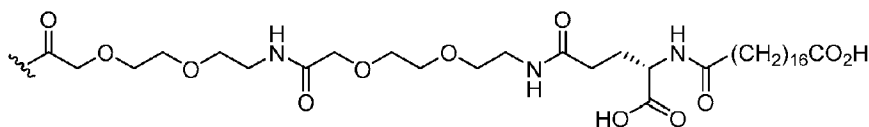
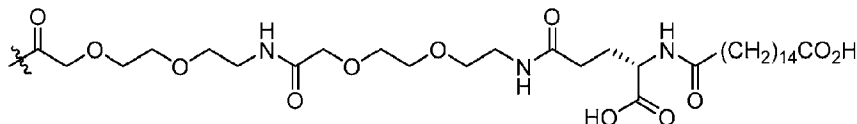


sau

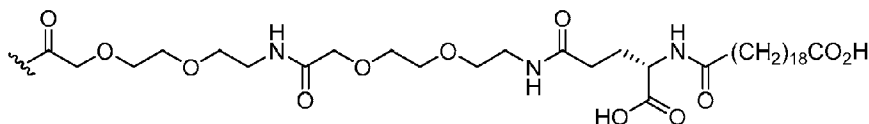


în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și $X = \text{Br}$, I sau Cl , $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I}$, sau $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$;

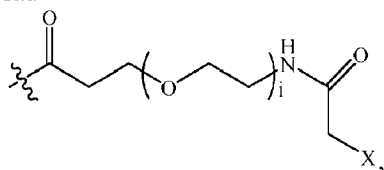
5 Z_{23} este S sau K; în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



10



sau

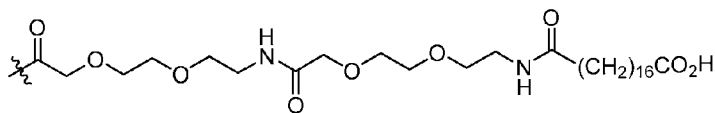
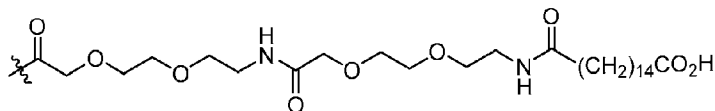
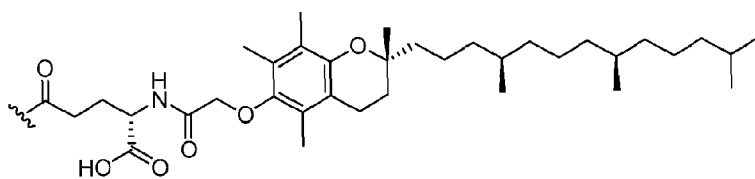


15 în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și $X = \text{Br}$, I sau Cl , $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I}$, sau $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$;

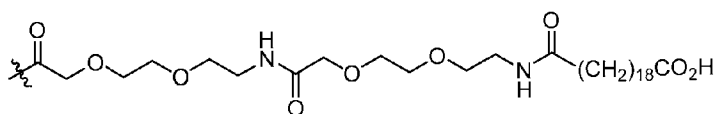
Z_{26} este A sau H;

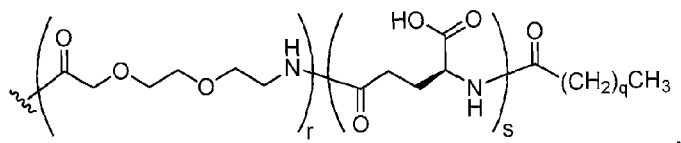
Z_{30} este L, W, absent, sau K, cu condiția că Z_{30} este absent numai când q este 1, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu

20

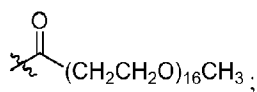
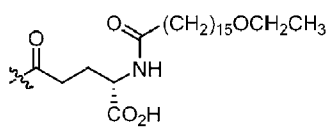
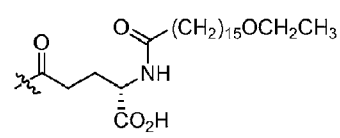
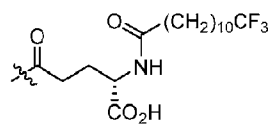
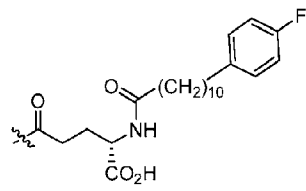


25

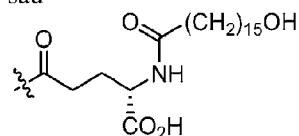




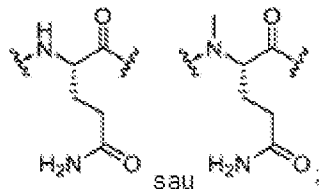
10 s este 0 sau 1; și
q este 14, 16, sau 18; sau



sau

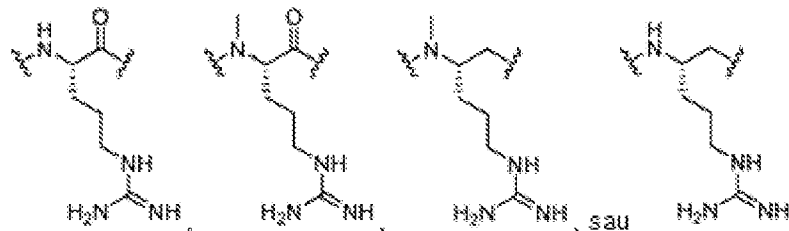


Z34 este



5

Z35 este



În anumite realizări, peptida PYY ciclică este reprezentată prin Formula I sau derivatul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

10

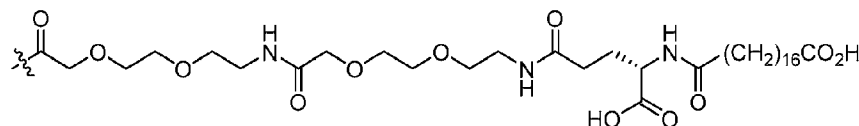
p este 0 sau 1;

m este 0, 1, 2, 3, sau 5;

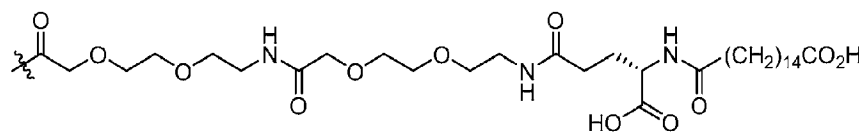
n este 1, 2, sau 4;

q este 0 sau 1; cu condiția că q este 1 numai când Z₃₀ este absent;

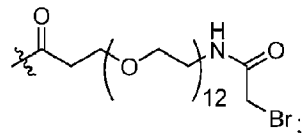
15

BRIDGE este -Ph-CH₂-S-, -triazolil-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH-, -(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)-, sau -CH₂S-;Z₄ este K, A, E, S, sau R;Z₇ este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu

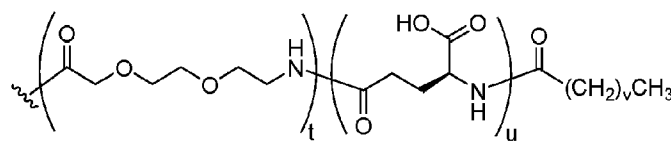
20



sau



25

Z₉ este G sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu

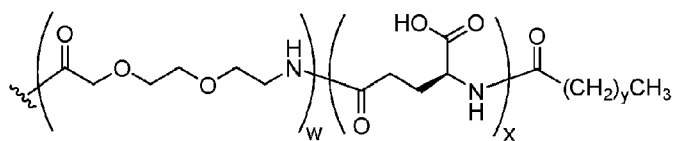
în care t este 0;

30

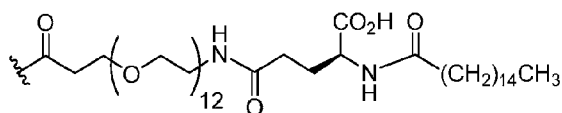
u este 1; și

v este 14;

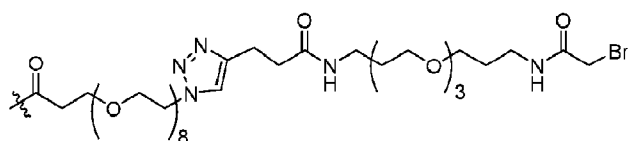
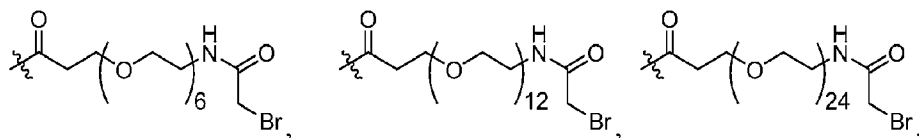
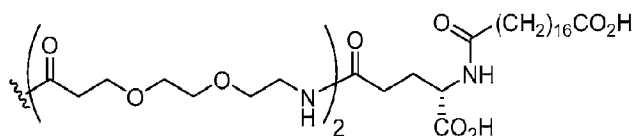
Z₁₁ este D sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



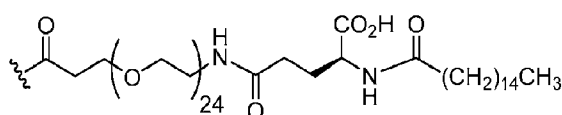
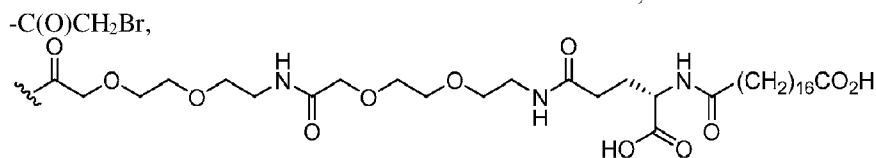
- 5 în care w este 0, sau 4;
x este 1; și
y este 14;



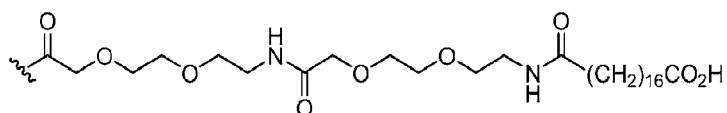
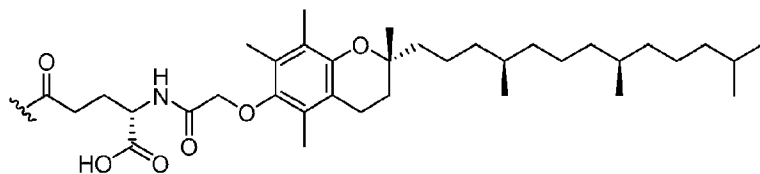
10



15

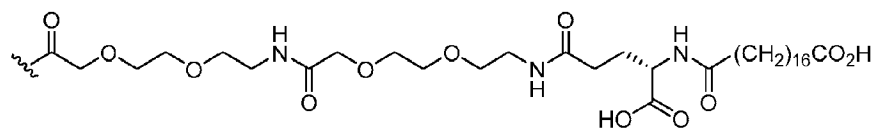
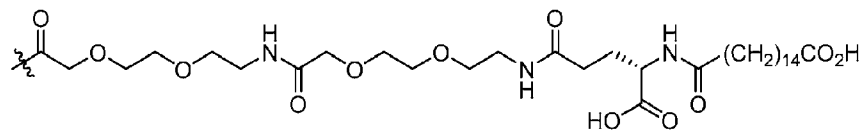


20

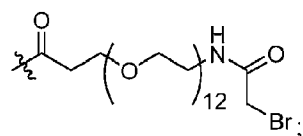


sau

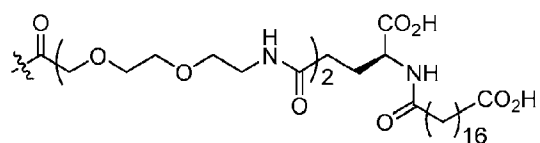
- 25 Z₂₂ este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu



5

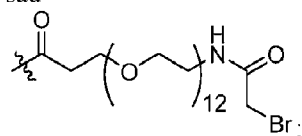


Z₂₃ este S sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu



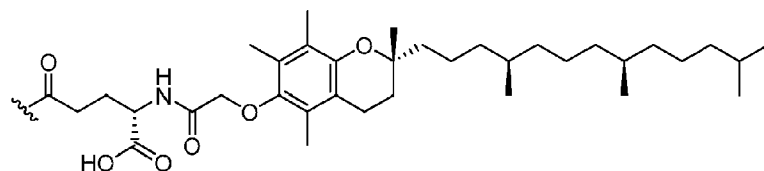
10

sau

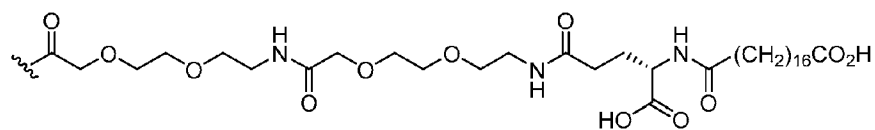
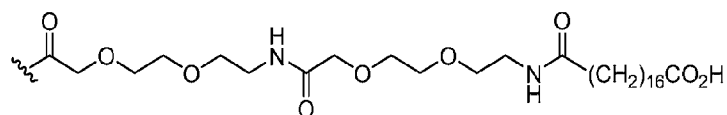


Z₂₆ este A sau H;

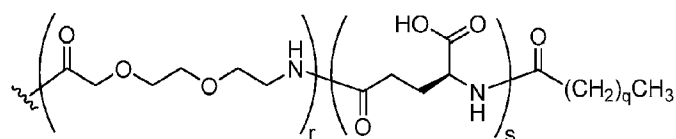
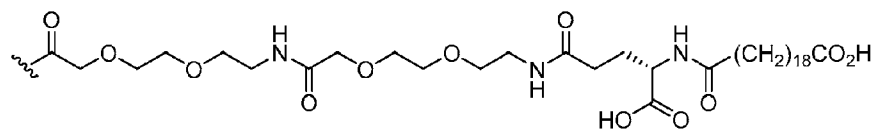
Z₃₀ este L sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu



15



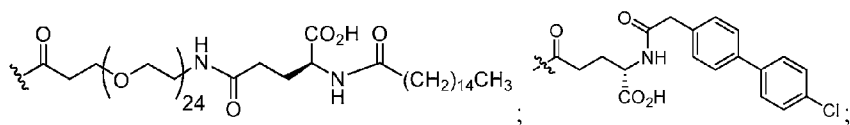
20



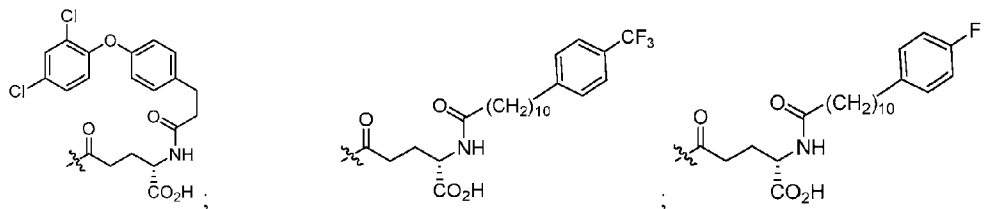
25

în care r este 0, sau 2;

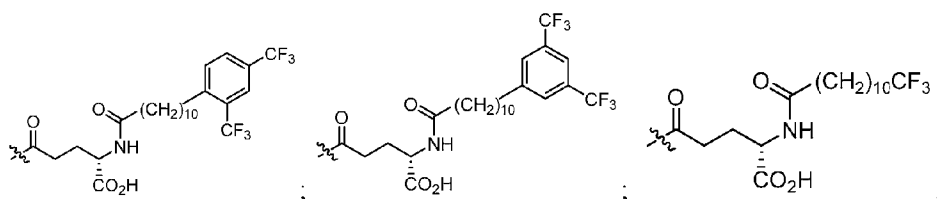
s este 1; și
q este 14, 16, sau 18; sau



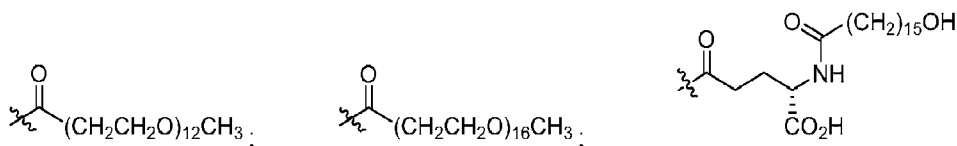
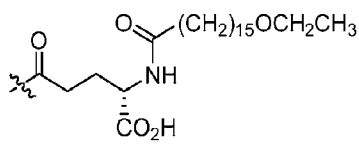
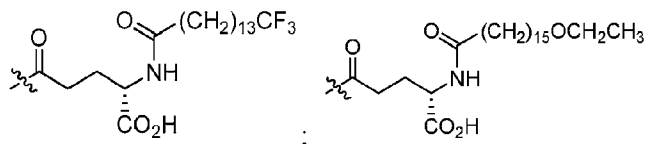
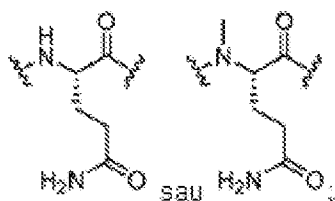
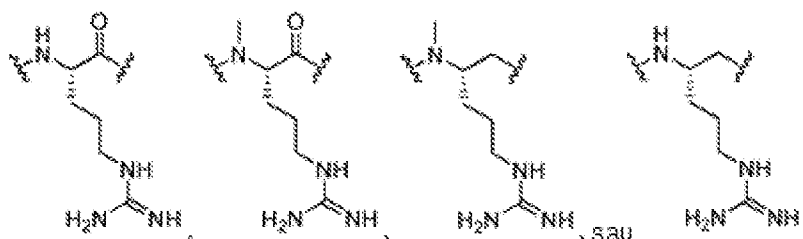
5



10



15

Z₃₄ esteZ₃₅ este

20

În anumite realizări, un conjugat cuprinde un anticorp monoclonal sau un fragment al acestuia conjugat la o peptidă PYY ciclică, în care peptida PYY ciclică este selectată din grupul constând din SEQ ID NO: 1-100 și SEQ ID NOa: 147-156. Într-o realizare preferată, conjugatul cuprinde un anticorp

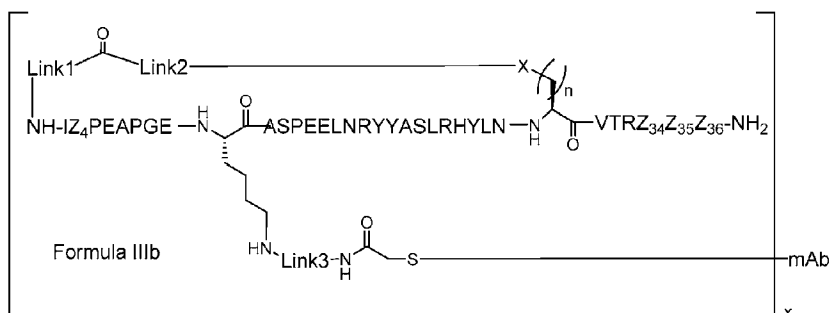
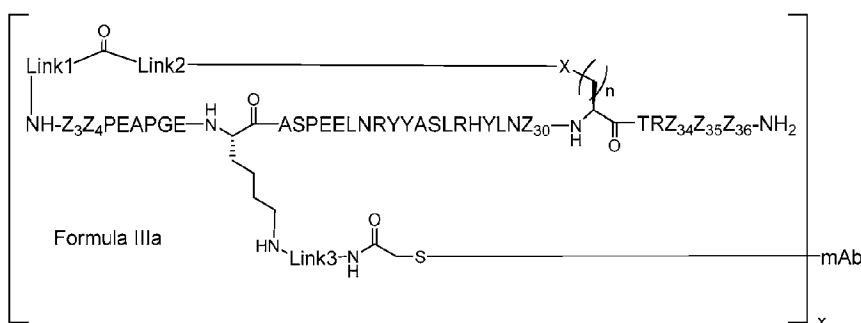
monoclonal sau un fragment al acestuia conjugat la o peptidă PYY ciclică, în care peptida PYY ciclică este selectată din grupul constând din SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 73-100, și SEQ ID NO: 147-156.

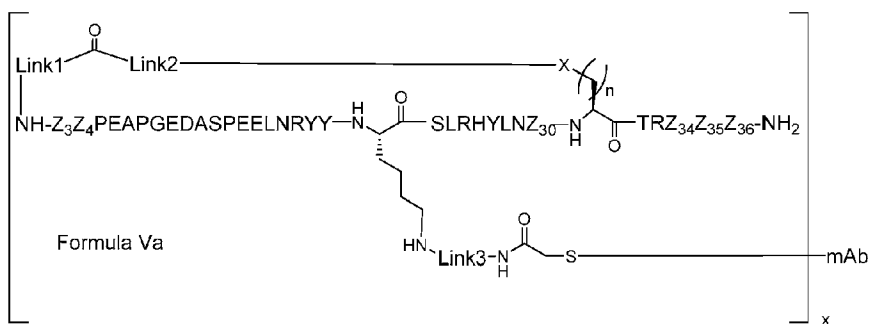
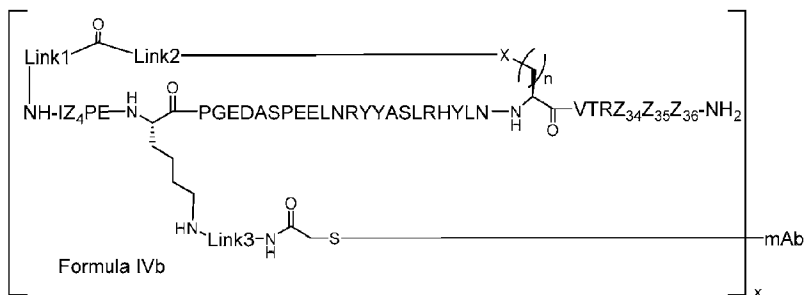
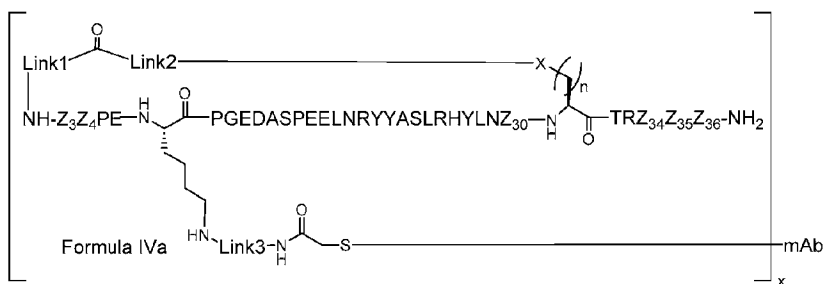
În anumite realizări, un anticorp monoclonal sau fragment cu legare la antigen al acestuia este legat covalent la peptida PYY ciclică la un rest lizină al peptidei PYY ciclice printr-un liant. Liantul poate cuprinde de exemplu, un liant selectat din grupul constând din polietilen glicol (PEG)8-triazolil-CH₂CH₂CO-PEG4, o catenă PEG de 2-24 unități PEG, o catenă alchil conținând 2-10 atomi de carbon, (Gly₄Ser)_j în care j = 1-4, (AlaPro)_u în care u = 1-10, sau o legătură.

Un anticorp monoclonal sau fragment cu legare la antigen al acestuia în conformitate cu o realizare a invenției poate fi conjugat la o peptidă PYY ciclică la una sau mai multe poziții de aminoacizi ale PYY ciclice, cum ar fi resturile de aminoacizi 4, 7, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 30, sau 31 ale PYY utilizând metode cunoscute în domeniu. Numerotarea resturilor de aminoacizi o urmează pe cea a hPYY₃₋₃₆. În anumite realizări, numai unul dintre Z₇, Z₉, Z₁₁, Z₂₂ și Z₂₃ din Formula I este lizină, și lizina este legată covalent la un rest de cisteină modificată genetic a anticorpului monoclonal sau fragmentului cu legare la antigen al acestuia prin liant. Într-o realizare preferată, un anticorp monoclonal sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia în conformitate cu o realizare a invenției este conjugat la o peptidă PYY ciclică la restul 11 al PYY ciclice. Într-o altă realizare preferată, un electofil, cum ar fi bromoacetamida sau maleimida, este introdus pe o catenă laterală a unei PYY ciclice, cum ar fi catena laterală amino a unei lizine la restul 11 al PYY ciclice, și electofilul reacționează specific situsului cu gruparea sulfhidril a restului Cys modificat genetic într-o CDR, preferabil HCDR3, a anticorpului monoclonal sau fragmentului acestuia, creând prin urmare o legătură covalentă între peptida PYY ciclică și anticorpul monoclonal sau fragmentul acestuia. Mai preferabil, peptida PYY ciclică este selectată din grupul constând din SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 73-100, și SEQ ID NO: 147-156. Într-o realizare, electofilul este introdus pe catena laterală a unei PYY ciclice direct. Într-o altă realizare, electofilul este introdus pe catena laterală a unei PYY ciclice indirect printr-un liant.

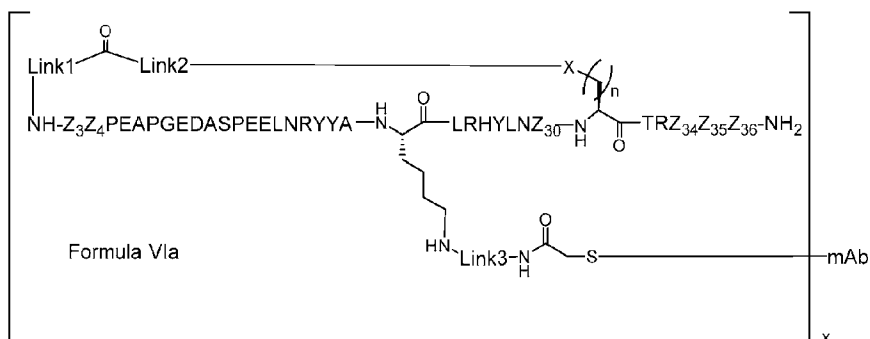
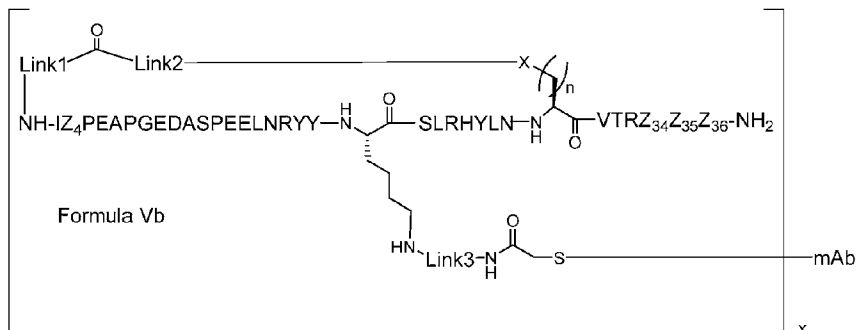
Sunt de asemenea furnizate compoziții farmaceutice cuprinzând conjugată invenției și cuprinzând în plus un purtător acceptabil farmaceutic.

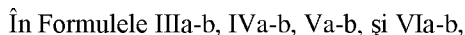
Sunt de asemenea furnizați conjugăți cuprinzând un anticorp monoclonal sau un fragment cu legare la antigen al acestuia cuplat la o peptidă PYY ciclică, în care conjugății sunt reprezentați prin Formula IIIa-b, IVa-b, Va-b, și/sau respectiv VIa-b.



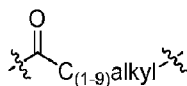


5

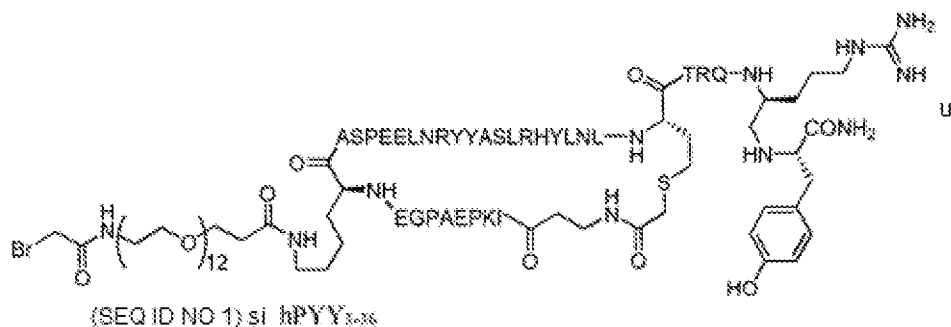


*C(=O)CCOC(CCN1C=NN=C1CCC(=O)NCCOCCOCC*)
$$\text{---} \text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{---}[\text{OCH}_2\text{CH}_2]_n\text{---} \quad (2-24)$$

30



40 Sunt de asemenea furnizați aici analogi ciclici N-terminali la catena laterală a PYY care prezintă cel puțin 70%, 75% 80%, 85%, 90%, 95%, sau 99% identitate de secvență cu PYY₃₋₃₆ (hPYY₃₋₃₆) umană. Ca un exemplu al metodei pentru determinarea identității de secvență între doi analogi, cele două peptide



sunt aliniate. Identitatea de secvență a analogului față de hPYY₍₃₋₃₆₎ este dată de numărul total de resturi aliniate minus numărul de resturi diferite (adică numărul de resturi identice aliniate) împărțit la numărul total de resturi din hPYY₃₋₃₆. În acest exemplu resturile diferite sunt D11 care a fost modificat pentru un K11 substituit, urmat de V31 care a fost modificat pentru hC31, și în final R35 a fost decarbonilat. Corespunzător, în respectivul exemplu identitatea de secvență este (34-3)/34 X 100.

Peptidă PYY ciclică

PYY₃₋₃₆ este un hormon endogen secretat de celulele L în intestinul distal care acționează ca un agonist al receptorului Y2 pentru a inhiba ingerarea alimentelor. Dat fiind rolul său în controlarea apetitului și ingerarea alimentelor precum și efectelor sale antisecretoare și proabsorbitive în tractul gastrointestinal la mamifere, PYY₃₋₃₆ poate fi eficient în tratarea obezității și afecțiunilor asociate precum și într-un număr de tulburări gastrointestinale. Totuși, utilitatea terapeutică a PYY₃₋₃₆ însuși ca agent de tratare este limitată de metabolismul său rapid și scurtei perioade de înjumătățire în circulație. Astfel, prezenta invenție este direcționată în general spre conjugați PYY₃₋₃₆ modificați, care extind perioada de înjumătățire a peptidei PYY₃₋₃₆ și reduc metabolismul peptidei *in vivo*.

În anumite realizări ale invenției, peptidele PYY₃₋₃₆ modificate sunt peptide PYY ciclice. Termenii „peptidă PYY ciclică”, „analog PYY₃₋₃₆ ciclic”, și „analog de peptidă PYY₃₋₃₆ ciclică” pot fi utilizați interschimbabil. Exemple de peptide PYY ciclice care pot fi utilizate în conjugați sunt descrise în cererea de brevet S.U.A. nr. 62/413.613, depusă pe 27 octombrie 2016, și cererea de brevet S.U.A. intitulată „Cyclic peptide tyrosine tyrosine compounds as modulators of neuropeptide receptors”, depusă în aceeași zi ca această cerere cu numărul de dosar juridic PRD3411.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „NTSC-PYY” este intenționat să descrie analogi ciclici N-terminali-la-catena laterală a PYY.

Secvențele de peptidă descrise aici sunt scrise în conformitate cu convenția uzuală în care regiunea N-terminală a peptidei este pe stânga și regiunea C-terminală este pe dreapta. Deși formele izomerice ale aminoacizilor sunt cunoscute, forma L a aminoacidului este cea care este reprezentată în afară de cazul când nu se indică în mod special altfel. Pentru conveniență, în descrierea moleculelor acestei invenții, sunt utilizate abrevierile convenționale și neconvenționale pentru diferiți aminoacizi (atât coduri singure cât și din trei litere) și radicalii funcționali. Aceste abrevieri sunt familiare celor calificați în domeniu, dar pentru claritate sunt listate după cum urmează: A = Ala = alanină; R = Arg = arginină; N = Asn = asparagină; D = Asp = acid aspartic; βA = βAla = beta-alanină; C = Cys = cisteină; hC = hCys = homocisteină; E = Glu = acid glutamic; Q = Gln = glutamină; G = Gly = glicină; H = His = histidină; I = Ile = izoleucină; L = Leu = leucină; K = Lys = lizină; Nle = norleucină; F = Phe = fenilalanină; P = Pro = prolină; S = Ser = serină; T = Thr = treonină; W = Trp = triptofan; Y = Tyr = tirozină și V = Val = valină.

Pentru conveniență, convenția de numerotare a resturilor de aminoacizi utilizată în denumirea peptidelor NTSC-PYY din prezenta invenție o urmează pe cea a hPYY₃₋₃₆. Înlocuirile specifice de aminoacizi care au fost introduse în peptidele NTSC-PYY, față de resturile native la pozițiile corespunzătoare din hPYY₃₋₃₆, sunt indicate prin codul aminoacidului adecvat, urmate de poziția substituției. Astfel, „S4” în peptida NTSC-PYY se referă la o peptidă în care serina a înlocuit restul lys4 nativ corespunzător al hPYY₃₋₃₆. În mod similar, „hC31” în peptida NTSC-PYY se referă la o peptidă în care homocisteina a înlocuit restul val31 nativ corespunzător al hPYY₃₋₃₆. Înlocuirea aminoacizilor

suplimentari care apar în peptidele NTSC-PYY sunt descrise în conformitate cu această convenție și va fi recunoscută ca atare de către o persoană calificată în domeniu.

De asemenea pentru conveniență, convenția de denumire utilizată pentru peptidele NTSC-PYY din prezenta invenție încorporează resturile amino implicate în ciclu împreună cu grupările liant dintre ele într-o direcție de la stânga la dreapta, începând de la restul N-terminal implicat în ciclu. În toate cazurile, restul aminoacid N-terminal al ciclului se leagă prin intermediul funcționalității sale α -amino la gruparea de legătură, care în schimb se conectează la restul catenei laterale a aminoacidului la poziția 31 a peptidei NTSC-PYY. Astfel, „ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31)” este utilizat pentru a descrie ciclul unei peptide NTSC-PYY în care funcționalitatea α -amino a Ile3 este acilată cu un rest de acid *meta-toluic*, a cărui grupare metil este legată suplimentar prin intermediul unei legături tioeter la catena laterală a unui rest hCys31. În mod similar, „ciclo-(K4-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31)” este utilizat pentru a descrie ciclul unei peptide NTSC-PYY, în care restul Ile3 nativ a fost șters și a cărei funcționalitate α -amino (acum N-terminal) a lys4 este acilată de o grupare 3-acetamidopropanoil, al cărei acetamido metilen carbon este conectat la catena laterală a unui rest hCys31 prin intermediul unei legături tioeter.

Resturile de lizină pot fi încorporate la diferite poziții ale secvenței hPYY₃₋₃₆ pentru a furniza o gestiune funcțională convenabilă a derivatizării suplimentare. Resturile de lizină pot fi modificate pentru a fi cuplate la anticorpul monoclonal fie direct sau fie indirect. Într-o cuplare indirectă la anticorpul monoclonal, restul de lizină poate fi modificat pentru a cuprinde un liant care va permite peptidei PYY ciclice să fie cuplată la anticorpul monoclonal. O persoană calificată în domeniu va recunoaște că ortologii înrudiți ar putea fi de asemenea utilizați eficient ca atare și sunt avuți în vedere aici.

Termenul „K(y-Glu)” care apare în secvența peptidei, reprezintă un rest lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de gruparea γ -carboxil a acidului glutamic.

Termenul „K(y-Glu-Pal (palmitoil))” reprezintă un rest lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de gruparea γ -carboxil a acidului N-hexadecan-1-oilglutamic.

Termenul „K(y-Glu-Stear (stearoil))” reprezintă un rest lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de gruparea γ -carboxil a acidului N-octadecan-1-oilglutamic.

Termenul „K(y-Glu-Arach (arachidoil))” reprezintă un rest lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de gruparea γ -carboxil a acidului N-dodecan-1-oilglutamic.

Termenul „K(OEG) (8-amino-3,6-dioxaoctanoil)” reprezintă un rest de lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul 8-amino-3,6-dioxaoctanoic.

Termenul „(OEG)₂” reprezintă două unități OEG legate împreună într-o succesiune printr-o legătură amidă (adică, acid 17-amino-10-oxo-3,6,12,15-tetraoxa-9-azaheptadecanoic).

Termenul „K(OEG)₂” reprezintă un rest de lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul 17-amino-10-oxo-3,6,12,15-tetraoxa-9-azaheptadecanoic.

Termenul „K((OEG)₂- γ -Glu)” reprezintă un rest de lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul (22*S*)-22-amino-10,19-dioxo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazatricosanedioic prin funcționalitatea sa a 1-acidului carboxilic.

Termenul „K((OEG)₂- γ -Glu-Stear)” reprezintă un rest de lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul (22*S*)-10,19-dioxo-22-stearamido-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazatricosanedioic prin funcționalitatea sa a 1-acidului carboxilic.

Termenul „K((OEG)₂- γ -Glu-COC₁₆CO₂H)” reprezintă un rest lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul (21*S*)-9,18,23-trioxo-2,5,11,14-tetraoxa-8,17,22-triazanonatriacontane-1,21,39-tricarboxilic prin funcționalitatea sa a 1-acidului carboxilic.

În mod similar, termenul „K((OEG)₂- γ -Glu-COC₁₈CO₂H)” reprezintă un rest lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul (21*S*)-9,18,23-trioxo-2,5,11,14-tetraoxa-8,17,22-triazahentetracontan-1,21,41-tricarboxilic prin funcționalitatea sa a 1-acidului carboxilic.

Termenul „K((OEG)₂-COC₁₆CO₂H)” reprezintă un rest lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul 10,19-dioxo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazahexatriacontanedioic prin funcționalitatea sa a 1-acidului carboxilic.

Termenul „K(PEG24-AcBr)” reprezintă un rest lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul N-bromoacetil-75-amino-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46,49,52,55,58,61,64,67,70,73-tetracosaxapentaheptacontanoic prin funcționalitatea sa a 1-acidului carboxilic.

Termenul „K(PEG12-AcBr)” reprezintă un rest lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul N-bromoacetil-39-amino-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37-dodecaoxanonatriacontanoic prin funcționalitatea sa a 1-acidului carboxilic.

Termenul „K(PEG6-AcBr)” reprezintă un rest lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul N-bromoacetil-3-[(17-amino-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadec-1-il)oxi]-propanoic prin funcționalitatea sa a 1-acidului carboxilic.

Termenul „K(PEG8-triazolil-CH₂CH₂CO-PEG4-AcBr)” reprezintă un rest lizinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul 27-[4-[2-[3-[2-[2-[3-(N-

bromoacetilamino)propoxi]etoxi]etoxi]propilaminocarbonil]etil]tetrazol-1-il]-4,7,10, 13,16,19,22,25-octaoxaheptacosanoic prin funcționalitatea sa a 1-acidului carboxilic.

Termenul „K(mPEG16) reprezintă un rest lysinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul 4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34, 37,40,43,46,49-hexadecaoxapentacontanoic prin funcționalitatea sa a 1-acidului carboxilic.

Termenul „K(mPEG12)“ reprezintă un rest lysinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul 4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37-dodecaoxaoctatriacontanoic prin funcționalitatea sa a 1-acidului carboxilic.

Termenul „VitE“ reprezintă o unitate α -tocoferolil în moleculă.

Termenul „AcVitE“ reprezintă o unitate α -tocoferolil a cărei grupare fenolică poartă o funcționalitate metilenilcarboxi legată la eter.

Termenul „K- γ -Glu-AcVitE“ reprezintă un rest lysinil a cărui grupare ϵ -amino a catenei laterale a fost acilată de acidul (2-(((2R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il)oxi)acetil)-L-glutamic prin funcționalitatea sa a acidului γ -carboxili.

Mulți din compușii/conjugații prezentei invenții încorporează o legătură amidă redusă între restul C-terminal al secvenței, Y36, și restul său adiacent, R35. Această legătură amidă redusă este reprezentată de termenul „*psi*-(R35,Y36)“.

Diferite resturi de aminoacizi cuprinzând anumite secvențe din prezenta invenție conțin grupări α -amino care au fost metilate. Astfel, termenii „N-Me-Q34“ sau „N-Me-R35“ reprezintă glutamina α -N-metilată la poziția 34 a unei secvențe, și arginina α -N-metilată la poziția 35 a unei secvențe, respectiv.

Termenul „N-Me-Q34, *psi*-(R35,Y36)“ într-o descriere a secvenței se referă la o secvență care conține atât un rest de glutamină α -metil la poziția 34, precum și o legătură amidă redusă între resturile R35 și Y36.

În mod similar, termenul „N-Me-R35, *psi*-(R35,Y36)“ într-o descriere a secvenței se referă la o secvență conținând atât un rest de arginină α -metil la poziția 35, precum și o legătură amidă redusă între acest reziduu și Y36.

Radicali care extind perioada de înjumătățire

În plus față de anticorpusul prezentei invenții sau al fragmentului cu legare la antigen al acestuia, conjugații invenției pot încorpora unul sau mai mulți alți radicali pentru extinderea perioadei de înjumătățire a radicalului activ farmaceutic (de exemplu, peptida PYY ciclică), de exemplu prin interacțiune covalentă. Exemple de alți radicali care extind perioada de înjumătățire includ, dar nu se limitează la, albumină, variante de albumină, proteine și/sau domenii de legare la albumină, transferină și fragmente și analogi ai acestora. Radicalii care extind suplimentar perioada de înjumătățire care pot fi încorporați în conjugații invenției includ, de exemplu, molecule de polietilen glicol (PEG), cum ar fi PEG5000 sau PEG20.000, acizi grași și esteri de acizi grași de diferite lungimi catenare, de exemplu laurat, miristat, stearat, arachidat, behenat, oleat, arachidonat, acid octanedioic, acid tetradecanedioic, acid octadecanedioic, acid docosanedioic, și altele asemenea, polilizină, octan, carbohidrați (dextran, celuloză, oligo sau polizaharide) pentru proprietățile dorite. Acești radicali pot fi fuziuni directe cu eșafodajul de proteină care codifică secvențele și pot fi generați prin tehnici de clonare și expresie standard. Alternativ, metodele de cuplare chimică bine cunoscute pot fi utilizate pentru a atașa radicalii la conjugații invenției produși recombinant și chimic.

Un radical pegyl poate fi, de exemplu, adăugat la moleculele peptidei invenției prin încorporarea unui rest de cisteină la C-terminalul moleculei și atașarea unei grupări pegyl la cisteină utilizând metode bine cunoscute.

Moleculele peptidei invenției care încorporează radicali suplimentari pot fi comparate pentru funcționalitate prin câteva teste bine cunoscute. De exemplu, activitățile biologice sau farmacocinetice ale unei peptide terapeutice de interes, singură sau într-un conjugat conform invenției, pot fi testate utilizând testele cunoscute in vitro sau in vivo și comparându-le.

Compoziții farmaceutice

Într-un alt aspect general, invenția se referă la o compoziție farmaceutică, care cuprinde conjugați și compuși ai invenției și un purtător acceptabil farmaceutic. Termenul „compoziție farmaceutică“ așa cum s-a utilizat în acest document înseamnă un produs cuprinzând un conjugat al invenției împreună cu un purtător acceptabil farmaceutic. Conjugații și compușii invenției și compozițiile care-i cuprind sunt de asemenea utili în fabricarea unui medicament pentru aplicațiile terapeutice menționate aici.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „purtător“ se referă la orice excipient, diluant, material de umplutură, sare, tampon, stabilizator, solubilizator, ulei, lipidă, lipidă conținând veziculă, microsferă, încapsulare lipozomală, sau alt material bine cunoscut în domeniu pentru utilizare în formulările farmaceutice. Se va înțelege că, caracteristicile purtătorului, excipientului sau diluantului vor depinde de calea de administrare pentru o aplicație particulară. Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „purtător acceptabil farmaceutic“ se referă la un material netoxic care nu interferează cu

eficacitatea unei compoziții conform invenției sau cu activitatea biologică a unei compoziții conform invenției. În conformitate cu realizările particulare, în lumina prezentei divulgări, orice purtător acceptabil farmaceutic adecvat pentru utilizare într-o compoziție farmaceutică a anticorpului poate fi utilizat în invenție.

Sărurile acidice/anionice acceptabile farmaceutic pentru utilizare în invenție includ, și nu sunt limitate la, acetat, benzensulfonat, benzoat, bicarbonat, bitartrat, bromură, edetat de calciu, camsilat, carbonat, clorură, citrat, diclorhidrat, edetat, edisilat, estolat, esilat, fumarat, gliceptat, gluconat, glutamat, glicolilarsanilat, hexilresorcinat, hidrabamină, bromhidrat, clorhidrat, hidroxinaftoat, iodură, isetionat, lactat, lactobionat, maleat, maleat, mandelat, mesilat, bromură de metil, nitrat de metil, sulfat de metil, mucat, napsilat, nitrat, pamoat, pantotenat, fosfat/difosfat, poligalacturonat, salicilat, stearat, subacetat, succinat, sulfat, tanat, tartrat, teoclat, tosilat și trietiodidă. Acizii organici sau anorganici includ de asemenea, și nu se limitează la, acid iodhidric, percloric, sulfuric, fosforic, propionic, glicolic, metansulfonic, hidroxietansulfonic, oxalic, 2-naftalinsulfonic, p-toluensulfonic, ciclohexansulfamic, zaharinic sau trifluoroacetic.

Sărurile bazice/cationice acceptabile farmaceutic includ, și nu sunt limitate la, aluminiu, 2-amino-2-hidroximetil-propan-1,3-diol (cunoscut de asemenea ca tris(hidroximetil)aminometan, trometan sau „TRIS”), amoniac, benzatină, t-butilamină, calciu, cloroprocaină, colină, ciclohexilamină, dietanolamină, etilendiamină, litiu, L-lizină, magneziu, meglumină, N-metil-D-glucamină, piperidină, potasiu, procaină, chinină, sodiu, trietanolamină, sau zinc.

În unele realizări ale invenției, formulările farmaceutice sunt furnizate cuprinzând conjugatii invenției într-o cantitate de la aproximativ 0,001 mg/ml până la aproximativ 100 mg/ml, de la aproximativ 0,01 mg/ml până la aproximativ 50 mg/ml, sau de la aproximativ 0,1 mg/ml până la aproximativ 25 mg/ml. Formularea farmaceutică poate avea un pH de la aproximativ 3,0 până la aproximativ 10, de exemplu de la aproximativ 3 până la aproximativ 7, sau de la aproximativ 5 până la aproximativ 9. Formularea poate cuprinde suplimentar cel puțin un ingredient selectat din grupul constând dintr-un sistem de tampon, conservant, agent de tonicitate, agent chelator, stabilizator și surfactant.

Formularea ingredientelor active farmaceutic cu purtători acceptabili farmaceutic este cunoscută în domeniu, de exemplu, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (de exemplu ediția a 21-a (2005), și orice ediție ulterioară). Exemple nelimitative de ingrediente suplimentare includ: tampon, diluanți, solvenți, agenți de reglarea tonicității, conservanți, stabilizatori, și agenți chelatori. Unul sau mai mulți purtători acceptabili farmaceutic pot fi utilizați în formularea compozițiilor farmaceutice ale invenției.

Într-o realizare a invenției, compoziția farmaceutică este o formulare lichidă. Un exemplu preferat al formulării lichide este o formulare apoasă, adică, o formulare cuprinzând apă. Formularea lichidă poate cuprinde o soluție, o suspensie, o emulsie, o microemulsie, un gel, și altele asemenea. O formulare apoasă cuprinde de obicei cel puțin 50% g/g apă, sau cel puțin 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, sau cel puțin 95% g/g de apă.

Într-o realizare, compoziția farmaceutică poate fi formulată ca un injectabil care poate fi injectat, de exemplu, printr-un dispozitiv de injectare (de exemplu, o seringă sau o pompă de perfuzie). Injecția poate fi livrată subcutanat, intramuscular, intraperitoneal, sau intravenos, de exemplu.

Într-o altă realizare, compoziția farmaceutică este o formulare solidă, de exemplu, o compoziție criodesicată sau pulverizată uscat, care poate fi utilizată așa cum este, sau la care medicul sau pacientul adaugă solvenți, și/sau diluanți înainte de utilizare. Formele de dozare solide pot include tablete, cum ar fi tabletele comprimate, și/sau tabletele acoperite, și capsule (de exemplu, capsule tari sau moi de gelatină). Compoziția farmaceutică poate fi de asemenea în formă de pliculețe, drajeuri, pulberi, granule, pastile, sau pulberi pentru reconstituire, de exemplu.

Formele de dozare pot fi eliberate imediat, caz în care ele pot cuprinde un purtător solubil în apă sau dispersabil, sau ele pot fi cu eliberare întârziată, eliberare susținută, sau eliberare modificată, caz în care ele pot cuprinde polimeri insolubili în apă care reglează rata de dizolvare a formei de dozare în tractul gastrointestinal.

În alte realizări, compoziția farmaceutică poate fi livrată intranazal, intrabucal, sau sublingual.

PH-ul într-o formulare apoasă poate fi între pH 3 și pH 10. Într-o realizare a invenției, pH-ul formulării este de la aproximativ 7,0 până la aproximativ 9,5. Într-o altă realizare a invenției, pH-ul formulării este de la aproximativ 3,0 până la aproximativ 7,0.

Într-o altă realizare a invenției, compoziția farmaceutică cuprinde un tampon. Exemple nelimitative de tamponare includ: arginină, acid aspartic, bicină, citrat, fosfat de hidrogen disodic, acid fumaric, glicină, glicilglicină, histidină, lizină, acid maleic, acid malic, acetat de sodiu, carbonat de sodiu, fosfat dihidrogenat de sodiu, fosfat de sodiu, succinat, acid tartric, tricină, și tris(hidroximetil)-aminometan, și amestecuri ale acestora. Tamponul poate fi prezent individual sau în agregat, într-o concentrație de la aproximativ 0,01 mg/ml până la aproximativ 50 mg/ml, de exemplu de la aproximativ

0,1 mg/ml până la aproximativ 20 mg/ml. Compozițiile farmaceutice cuprinzând fiecare din acesteampoane specifice constituie realizări alternative ale invenției.

Într-o altă realizare a invenției, compoziția farmaceutică cuprinde un conservant. Exemple nelimitative deampoane includ: clorură de benetoniu, acid benzoic, alcool benzilic, bronopol, butil 4-hidroxibenzoat, clorobutanol, clorocresol, clorohexidină, clorfenesin, o-cresol, m-cresol, p-cresol, etil 4-hidroxibenzoat, imiduree, metil 4-hidroxibenzoat, fenol, 2-fenoxietanol, 2-feniletanol, propil 4-hidroxibenzoat, dehidroacetat de sodiu, tiomerosal, și amestecuri ale acestora. Conservantul poate fi prezent individual sau în agregat, într-o concentrație de la aproximativ 0,01 mg/ml până la aproximativ 50 mg/ml, de exemplu de la aproximativ 0,1 mg/ml până la aproximativ 20 mg/ml. Compozițiile farmaceutice cuprinzând fiecare din acești conservanți specifice constituie realizări alternative ale invenției.

Într-o altă realizare a invenției, compoziția farmaceutică cuprinde un agent izotonic. Exemple nelimitative de realizări includ o sare (cum ar fi clorura de sodiu), un aminoacid (cum ar fi glicină, histidină, arginină, lizină, izoleucină, acid aspartic, triptofan, și treonină), un alditol (cum ar fi glicerol, 1,2-propandiol propileneglicol), 1,3-propandiol, și 1,3-butanediol), polietilenglicol (de exemplu PEG400), și amestecuri ale acestora. Un alt exemplu al unui agent izotonic include un zahăr. Exemple nelimitative de zaharuri pot fi mono, di, sau polizaharide, sau glucani solubili în apă, incluzând de exemplu fructoză, glucoză, manoză, sorboză, xiloză, maltoză, lactoză, zaharoză, trehaloză, dextran, pululan, dextrină, ciclodextrină, alfa și beta HPCD, amidon solubil, amidon hidroxietil, și carboximetilceluloză de sodiu. Un alt exemplu al unui agent izotonic este un alcool din zahăr, în care termenul „alcool din zahăr” este definit ca o hidrocarbură C(4-8) având cel puțin o grupare -OH. Exemple nelimitative de alcooli din zahăr includ manitol, sorbitol, inozitol, galactitol, dulcitol, xilitol, și arabitol. Compozițiile farmaceutice cuprinzând fiecare agent izotonic listat în acest paragraf constituie realizări alternative ale invenției. Agentul izotonic poate fi prezent individual sau în agregat, într-o concentrație de la aproximativ 0,01 mg/ml până la aproximativ 50 mg/ml, de exemplu de la aproximativ 0,1 mg/ml până la aproximativ 20 mg/ml. Compozițiile farmaceutice cuprinzând fiecare din acești agenți izotonici specifice constituie realizări alternative ale invenției.

Într-o altă realizare a invenției, compoziția farmaceutică cuprinde un agent chelator. Exemple nelimitative de agenți chelatori include acid citric, acid aspartic, săruri de acid etilendiaminetetraacetic (EDTA), și amestecuri ale acestora. Agentul chelator poate fi prezent individual sau în agregat, într-o concentrație de la aproximativ 0,01 mg/ml până la aproximativ 50 mg/ml, de exemplu de la aproximativ 0,1 mg/ml până la aproximativ 20 mg/ml. Compozițiile farmaceutice cuprinzând fiecare unul din acești agenți chelatori specifice constituie realizări alternative ale invenției.

Într-o altă realizare a invenției, compoziția farmaceutică cuprinde un stabilizator. Exemple nelimitative de stabilizatori includ unul sau mai mulți inhibitori de agregare, unul sau mai mulți inhibitori de oxidare, unul sau mai mulți surfactanți, și/sau unul sau mai mulți inhibitori de protează.

Într-o altă realizare a invenției, compoziția farmaceutică cuprinde un stabilizator, în care respectivul stabilizator este carboxi-/hidroxiceluloză și derivați ai acestuia (cum ar fi HPC, HPC-SL, HPC-L și HPMC), ciclodextrină, 2-metiltioetanol, polietilen glicol (cum ar fi PEG 3350), alcool polivinilic (PVA), polivinil pirolidonă, săruri (cum ar fi clorură de sodiu), substanțe care conțin sulf cum ar fi monotioglicerol), sau tioacid glicolic. Stabilizatorul poate fi prezent individual sau în agregat, într-o concentrație de la aproximativ 0,01 mg/ml până la aproximativ 50 mg/ml, de exemplu de la aproximativ 0,1 mg/ml până la aproximativ 20 mg/ml. Compozițiile farmaceutice cuprinzând fiecare unul din acești stabilizatori specifice constituie realizări alternative ale invenției.

În alte realizări ale invenției, compoziția farmaceutică cuprinde unul sau mai mulți surfactanți, preferabil un surfactant, cel puțin un surfactant, sau doi surfactanți diferiți. Termenul „surfactant” se referă la orice molecule sau ioni care sunt cuprinși într-o parte solubilă în apă (hidrofilă), și o parte solubilă în grăsimi (lipofilă). Surfactantul poate fi, de exemplu, selectat din grupul constând din surfactanți anionici, surfactanți cationici, surfactanți neionici, și/sau surfactanți amfionici. Surfactantul poate fi prezent individual sau în agregat, într-o concentrație de la aproximativ 0,1 mg/ml până la aproximativ 20 mg/ml. Compozițiile farmaceutice cuprinzând fiecare unul din acești surfactanți specifice constituie realizări alternative ale invenției.

Într-o realizare suplimentară a invenției, compoziția farmaceutică cuprinde unul sau mai mulți inhibitori de protează, cum ar fi, de exemplu, EDTA, și/sau acid clorhidric benzamidină (HCl). Inhibitorul de protează poate fi prezent individual sau în agregat, într-o concentrație de la aproximativ 0,1 mg/ml până la aproximativ 20 mg/ml. Compozițiile farmaceutice cuprinzând fiecare unul din acești inhibitori specifice de protează constituie realizări alternative ale invenției.

Compoziția farmaceutică a invenției poate cuprinde o cantitate dintr-o aminoacid bazic suficientă pentru a scădea formarea agregatului polipeptidei în timpul depozitării compoziției. Termenul „aminoacid bazic” se referă la unul sau mai mulți aminoacizi (cum ar fi metionină, histidină, imidazol, arginină, lizină, izoleucină, acid aspartic, triptofan, treonină), sau analogi ai acestora. Orice aminoacid

poate fi prezent fie în forma sa fără bază sau fie în forma sa de sare. Poate fi prezent orice stereoizomer (adică, L, D, sau un amestec al acestora) al aminoacidului bazic. Aminoacidul bazic poate fi prezent individual sau în combinație cu alt aminoacid bazic, într-o concentrație de la aproximativ 0,01 mg/ml până la aproximativ 50 mg/ml, de exemplu de la aproximativ 0,1 mg/ml până la aproximativ 20 mg/ml.

5 Compozițiile farmaceutice cuprinzând fiecare unul din acești aminoacizi bazici specifici constituie realizări alternative ale invenției.

Este de asemenea evident unei persoane calificate în domeniu că doza eficientă terapeutic pentru conjugății din prezenta invenție sau o compoziție farmaceutică a acestora va varia în conformitate cu efectul dorit. Prin urmare, dozajele optime pentru a fi administrate pot fi cu ușurință determinate de către o persoană calificată în domeniu și vor varia cu conjugatul particular utilizat, modul de administrare, rezistența preparării, și avansarea afecțiunii bolii. În plus, factorii asociați cu subiectul particular care este tratat, incluzând vârsta subiectului, greutatea, dieta și timpul de administrare, vor conduce la necesitatea ajustării dozei la un nivel terapeutic adecvat.

Pentru toate afecțiunile, conjugății invenției sunt preferabil administrați periferic la o doză de la aproximativ 1 μg până la aproximativ 5 mg pe zi în doze singure sau divizate (de exemplu, o singură doză poate fi divizată în 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, sau 10 subdoze), sau de la aproximativ 0,01 μg/kg până la aproximativ 500 μg/kg pe doză, mai preferabil de la aproximativ 0,05 μg/kg până la aproximativ 250 μg/kg, cel mai preferabil sub aproximativ 50 μg/kg. Dozajele din aceste intervale vor varia cu potența fiecărui agonist, desigur, și sunt cu ușurință determinate de către o persoană calificată în domeniu.

20 Dozajele de mai sus sunt astfel exemple ale mediei de caz. Pot exista desigur, cazuri individuale unde intervale de dozare mai ridicate sau mai scăzute sunt practicate, și astfel de intervale sunt în domeniul acestei invenții.

În anumite realizări, conjugății invenției sunt administrați la o doză de la aproximativ 1 μg până la aproximativ 5 mg, sau la o doză de la aproximativ 0,01 μg/kg până la aproximativ 500 μg/kg, mai preferabil la o doză de la aproximativ 0,05 μg/kg până la aproximativ 250 μg/kg, cel mai preferabil la o doză sub aproximativ 50 μg/kg cu o doză a unui al doilea agent terapeutic (de exemplu, liraglutidă) la o doză de la aproximativ 1 μg până la aproximativ 5 mg, sau la o doză de la aproximativ 0,01 μg/kg până la aproximativ 500 μg/kg, mai preferabil la o doză de la aproximativ 0,05 μg/kg până la aproximativ 250 μg/kg, cel mai preferabil la o doză sub aproximativ 50 μg/kg.

Sărurile acceptabile farmaceutic ale conjugăților invenției include sărurile netoxice convenționale sau sărurile cuaternare de amoniu care sunt formate din acizi sau baze anorganice sau organice. Exemple de astfel de săruri de adăție cu acid includ acetat, adipat, benzoat, benzensulfonat, citrat, camforat, dodecilsulfat, clorhidrat, bromhidrat, lactat, maleat, metansulfonat, nitrat, oxalat, pivalat, propionat, succinat, sulfat și tartrat. Sărurile bazice include săruri de amoniu, săruri de metale alcaline cum ar fi săruri de sodiu și potasiu, săruri de metale alcaline pământoase cum ar fi săruri de calciu și magneziu, săruri cu baze organice cum ar fi sărurile diciclohexilamino și săruri cu aminoacizi cum ar fi arginina. De asemenea, grupările care conțin azot bazic pot fi cuaternizate cu, de exemplu, halide alchil.

Compozițiile farmaceutice ale invenției pot fi administrate prin orice mijloace care realizează scopul intenționat al acestora. Exemplele includ administrarea pe cale parenterală, subcutanată, intravenoasă, intramusculară, intraperitoneală, transdermală, bucală sau oculară. Administrarea poate fi pe cale orală. Formulările adecvate pentru administrarea parenterală includ soluții apoase de conjugăți activi în formă solubilă în apă, de exemplu, săruri solubile în apă, soluții acidice, soluții alcaline, soluții dextroză-apă, soluții carbohidrat izotonice și complecși de includere a ciclodextrinei.

Prezenta invenție cuprinde de asemenea o metodă de realizare a unei compoziții farmaceutice cuprinzând amestecarea unui purtător acceptabil farmaceutic cu oricare din conjugății prezentei invenții. Suplimentar, prezenta invenție include compoziții farmaceutice realizate prin amestecarea unuia sau mai multor purtători acceptabili farmaceutic cu oricare din conjugății prezentei invenții.

Mai mult, conjugății prezentei invenții pot avea una sau mai multe forme cristaline polimorfe sau amorfe și ca atare sunt intenționate să fie incluse în domeniul invenției. În plus, conjugății pot forma solvați, de exemplu cu apă (adică, hidrați) sau solvenți organici comuni. Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „solvat” înseamnă o asociere fizică a conjugăților din prezenta invenție cu una sau mai multe molecule de solvent. Această asociere fizică implică grade variabile de legături ionice și covalente, incluzând legătura la hidrogen. În anumite cazuri solvatul va fi capabil de izolare, de exemplu când una sau mai multe molecule de solvent sunt încorporate în structura cristalină a solidului cristalin.

55 Termenul „solvat” este intenționat să cuprindă ambii solvați soluție-fază și izolabil. Exemple nelimitative de solvați adecvați includ etanolați, metanolați, și altele asemenea.

Se intenționează ca prezenta invenție să includă în domeniul său polimorfe și solvați ai conjugăților prezentei invenții. Astfel, în metodele de tratament, termenul „administrare” va cuprinde mijloacele pentru tratarea, ameliorarea sau prevenirea unui sindrom, tulburare sau boală descrise aici cu conjugății din prezenta invenție sau cu o polimorfă sau solvat al acestora.

Într-o altă realizare, invenția se referă la conjugății invenției pentru utilizare ca medicament.

În general, promedicamentele vor fi derivați funcționali ai conjugărilor care sunt cu ușurință convertibili *in vivo* în conjugății necesari. Astfel, în metodele de tratament, termenul „administrare” va cuprinde tratamentul diferitelor tulburări descrise cu conjugatul specific divulgat sau cu un conjugat care poate fi nespecific divulgat, dar care se transformă în conjugat specificat *in vivo* după administrarea la

pacient. Procedurile convenționale pentru selecția și prepararea de derivați promedicament adecvați sunt descrise, de exemplu, în „Design of Prodrugs”, Ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

Mai mult, se intenționează ca, în domeniul prezentei invenții, orice element, în particular când este menționat în relație cu conjugății invenției, va cuprinde toți izotopii și amestecurile izotopice ale elementului menționat, indiferent dacă apare natural sau este produs sintetic, indiferent de forma de

abundență naturală sau îmbogățită izotopic. De exemplu, o referință la hidrogen include în domeniul său ^1H , ^2H (D), și ^3H (T). În mod similar, referirile la carbon și oxigen includ în domeniul lor respectiv ^{12}C , ^{13}C și ^{14}C și ^{16}O și ^{18}O . Izotopii pot fi radioactivi sau neradioactivi. Conjugății radiomarcați ai invenției pot cuprinde un izotop radioactiv selectat din grupul de ^3H , ^{11}C , ^{18}F , ^{122}I , ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br și ^{82}Br . Preferabil, izotopul radioactiv este selectat din grupul de ^3H , ^{11}C și ^{18}F .

Unii conjugăți din prezenta invenție pot exista ca atropizomeri. Atropizomerii sunt stereoizomeri care rezultă din împiedicarea rotației în jurul legăturilor singure unde bariera tulpinii sterice la rotație este destul de ridicată pentru a permite izolarea conformerilor. Trebuie să se înțeleagă că toate astfel de conformeri și amestecuri ale acestora sunt cuprinse în domeniul prezentei invenții.

Unde conjugății în conformitate cu această invenție au cel puțin un centru stereo, ei pot exista corespunzător ca enantiomeri sau diastereomeri. Trebuie să se înțeleagă că toți astfel de izomeri și amestecuri ale acestora sunt cuprinse în domeniul prezentei invenții.

Unde procedeele pentru prepararea conjugărilor conform invenției dau naștere unui amestec de stereoizomeri, acești izomeri pot fi separați prin tehnicile convenționale cum ar fi cromatografia preparativă. Conjugății pot fi preparați în formă racemică, sau enantiomerii individuali pot fi preparați fie prin sinteză enantiospecifică sau prin rezoluție. Conjugății pot fi, de exemplu, rezolvați în componenta lor enantiomeri prin tehnici standard, cum ar fi formarea de perechi diastereomerice prin formarea de sare cu un acid activ optic, cum ar fi (-)-di-p-toluoil-D-acid tartric și/sau (+)-di-p-toluoil-L-acid tartric urmată de cristalizare fracțională și regenerare a bazei libere. Conjugății pot fi de asemenea rezolvați prin formarea de esteri sau amide diastereomerice, urmată de separare cromatografică și îndepărtarea auxiliarului chiral. Alternativ, conjugății pot fi rezolvați utilizând o coloană chirală prin cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC) sau SFC. În unele cazuri rotamerii conjugărilor pot exista care sunt observabili prin IH RMN conducând la multiplete complexe și integrarea maximelor în spectrul IH RMN.

În timpul oricăruia din procedeele pentru prepararea conjugărilor din prezenta invenție, poate fi necesar și/sau de dorit să se protejeze grupările sensibile sau reactive pe oricare din moleculele avute în vedere. Acest lucru poate fi obținut prin intermediul grupărilor de protecție convenționale, cum ar fi cele descrise în Protective Groups in Organic Chemistry, ed. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; și T.W. Greene & P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, 1991. Grupurile de protecție pot fi îndepărtate la o etapă convenabilă ulterioară utilizând metodele cunoscute din domeniu.

Metode de utilizare

Prezenta invenție este direcționată spre o metodă pentru prevenirea, tratarea sau ameliorarea unui sindrom, tulburări sau boli mediate de receptorul Y2 la un subiect care are nevoie de aceasta cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a unui conjugat, compus, sau compoziție farmaceutică a invenției.

Prezenta invenție furnizează de asemenea o metodă pentru prevenirea, tratarea, întârzierea debutului, sau ameliorarea unei tulburări, boli, sau afecțiuni sau a oricăruia unul sau mai multor simptome ale respectivei tulburări, boli, sau afecțiuni la un subiect care are nevoie de aceasta, cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente dintr-un conjugat, compus, sau compoziție farmaceutică a invenției.

În conformitate cu realizări particulare, boala, tulburarea, sau afecțiunea este selectată din grupul constând din obezitate, diabet de tip I sau II, sindrom metabolic (adică, Sindrom X), rezistență la insulină, toleranță scăzută la glucoză (de exemplu, intoleranță la glucoză), hiperglicemie, hiperinsulinemie, hipertrigliceridemie, hipoglicemie din cauza hiperinsulinismului congenital (CHI), dislipidemie, ateroscleroză, nefropatie diabetică, și alți factori de risc cardiovascular cum ar fi hipertensiunea și factori de risc cardiovascular asociați cu negestionarea colesterolului și/sau nivelurilor de lipide, osteoporoză, inflamație, boala ficatului gras nealcoolic (NAFLD), steatohepatită nealcoolică (NASH), boală renală, și/sau eczemă.

În conformitate cu realizări particulare, o cantitate eficientă terapeutic se referă la cantitatea terapeutică care este suficientă pentru a obține unul, două, trei, patru, sau mai multe din următoarele efecte: (i) reducerea sau ameliorarea severității bolii, tulburării, sau afecțiunii care este tratată sau a unui simptom asociat cu acestea; (ii) reducerea duratei bolii, tulburării sau afecțiunii care este tratată, sau a

unui simptom asociat cu acestea; (iii) prevenirea progresului bolii, tulburării sau afecțiunii care este tratată, sau a unui simptom asociat cu acestea; (iv) cauzarea regresiei bolii, tulburării sau afecțiunii care este tratată, sau a unui simptom asociat cu acestea; (v) prevenirea dezvoltării sau debutului bolii, tulburării sau afecțiunii care este tratată, sau a unui simptom asociat cu acestea; (vi) prevenirea recurenței bolii, tulburării sau afecțiunii care este tratată, sau a unui simptom asociat cu acestea; (vii) reducerea spitalizării unui subiect având boala, tulburarea sau afecțiunea care este tratată, sau un simptom asociat cu acestea; (viii) reducerea duratei de spitalizare a unui subiect având boala, tulburarea sau afecțiunea care este tratată, sau un simptom asociat cu acestea; (ix) creșterea supraviețuirii unui subiect cu boala, tulburarea sau afecțiunea care este tratată, sau cu un simptom asociat cu acestea; (xi) inhibarea sau reducerea bolii, tulburării sau afecțiunii care este tratată, sau a unui simptom asociat cu acestea la un subiect; și/sau (xii) sporirea sau îmbunătățirea efectului profilactic sau terapeutic al altei terapii.

Cantitatea eficientă terapeutic sau dozajul pot varia în conformitate cu diferiți factori, cum ar fi boala, tulburarea sau afecțiunea care este tratată, mijloacele de administrare, locul țintă, starea fiziologică a subiectului (incluzând, de exemplu, vârsta, greutatea corporală, sănătatea), dacă subiectul este un om sau un animal, alte medicații administrate, și dacă tratamentul este profilactic sau terapeutic. Dozajele de tratament sunt titrate optim pentru a optimiza siguranța și eficacitatea.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenii „tratează”, „tratarea”, și „tratament” sunt toți intenționați să se refere la o ameliorare sau inversare a cel puțin unui parametru fizic măsurabil asociat cu boala, tulburarea, sau afecțiunea, care nu este în mod necesar perceptibil la subiect, dar poate fi perceptibil la subiect. Termenii „tratează”, „tratarea”, și „tratament”, se pot referi de asemenea la determinarea regresiei, prevenirii progresului, sau cel puțin încetinirea progresului bolii, tulburării, sau afecțiunii. Într-o realizare particulară, „tratează”, „tratarea”, și „tratament” se referă la o ameliorare, prevenire a dezvoltării sau debutului, sau reducerii duratei unuia sau mai multor simptome asociate cu boala, tulburarea, sau afecțiunea. Într-o realizare particulară, „tratează”, „tratarea”, și „tratament” se referă la prevenirea recurenței bolii, tulburării, sau afecțiunii. Într-o realizare particulară, „tratează”, „tratarea”, și „tratament” se referă la o creștere a supraviețuirii unui subiect având boala, tulburarea, sau afecțiunea. Într-o realizare particulară, „tratează”, „tratarea”, și „tratament” se referă la eliminarea bolii, tulburării, sau afecțiunii la subiect.

Într-o realizare, invenția furnizează o metodă pentru prevenirea, tratarea, întârzierea debutului, sau ameliorarea obezității, sau a oricăruia din unul sau mai multe simptome de obezitate la un subiect care are nevoie de aceasta, metoda cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a unui conjugat, compus, sau compoziție farmaceutică a invenției. În unele realizări, greutatea corporală a unui subiect este redusă, de exemplu, cu între aproximativ 0,01% până la aproximativ 0,1%, între aproximativ 0,1% până la aproximativ 0,5%, între aproximativ 0,5% până la aproximativ 1%, între aproximativ 1% până la aproximativ 5%, între aproximativ 2% până la aproximativ 3%, între aproximativ 5% până la aproximativ 10%, între aproximativ 10% până la aproximativ 15%, între aproximativ 15% până la aproximativ 20%, între aproximativ 20% până la aproximativ 25%, între aproximativ 25% până la aproximativ 30%, între aproximativ 30% până la aproximativ 35%, între aproximativ 35% până la aproximativ 40%, între aproximativ 40% până la aproximativ 45%, sau între aproximativ 45% până la aproximativ 50%, față de greutatea corporală a unui subiect înainte de administrarea oricăruia din conjugată, compuși, compozițiile farmaceutice, formele, sau medicamentele invenției descrise aici, sau în comparație cu subiecții de control care nu au primit nici una din conjugății, compozițiile, formele, medicamentele, sau combinațiile invenției descrise aici.

În unele realizări, reducerea greutății corporale este menținută timp de aproximativ 1 săptămână, timp de aproximativ 2 săptămâni, timp de aproximativ 3 săptămâni, timp de aproximativ 1 lună, timp de aproximativ 2 luni, timp de aproximativ 3 luni, timp de aproximativ 4 luni, timp de aproximativ 5 luni, timp de aproximativ 6 luni, timp de aproximativ 7 luni, timp de aproximativ 8 luni, timp de aproximativ 9 luni, timp de aproximativ 10 luni, timp de aproximativ 11 luni, timp de aproximativ 1 an, timp de aproximativ 1,5 ani, timp de aproximativ 2 ani, timp de aproximativ 2,5 ani, timp de aproximativ 3 ani, timp de aproximativ 3,5 ani, timp de aproximativ 4 ani, timp de aproximativ 4,5 ani, timp de aproximativ 5 ani, timp de aproximativ 6 ani, timp de aproximativ 7 ani, timp de aproximativ 8 ani, timp de aproximativ 9 ani, timp de aproximativ 10 ani, timp de aproximativ 15 ani, sau timp de aproximativ 20 ani, de exemplu.

Prezența invenției furnizează o metodă de prevenire, tratare, întârziere a debutului, sau ameliorare a unui sindrom, tulburări sau boli, sau a oricăruia din unul sau mai multe simptome ale respectivului sindrom, tulburări, sau boli la un subiect care are nevoie de aceasta, în care respectivul sindrom, tulburare sau boală este selectat din grupul constând din obezitate, diabet de tip I sau tip II, sindrom metabolic (adică, Sindrom X), rezistență la insulină, toleranță scăzută la glucoză (de exemplu, intoleranță la glucoză), hiperglicemie, hiperinsulinemie, hipertrigliceridemie, hipoglicemie din cauza hiperinsulinismului congenital (CHI), dislipidemie, ateroscleroză, nefropatie diabetică, și alți factori de risc cardiovascular cum ar fi hipertensiunea și factori de risc cardiovascular asociați cu negestionarea colesterolului și/sau

nivelurilor de lipide, osteoporoză, inflamație, boala ficatului gras nealcoolice (NAFLD), steatohepatită nealcoolice (NASH), boala renală, și eczemă, cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a unui conjugat, compus, sau compoziție farmaceutică a invenției.

Așa cum s-a utilizat în acest document, sindromul metabolic se referă la un subiect având oricare sau mai multe din următoarele: zahăr ridicat în sânge (de exemplu, zahăr ridicat în sânge în repaus alimentar), presiune sanguină ridicată, niveluri anormale de colesterol (de exemplu, niveluri HDL scăzute), niveluri anormale de trigliceride (de exemplu, trigliceride crescute), o talie mare (adică, circumferința taliei), grăsime crescută în zona abdominală, rezistență la insulină, intoleranță la glucoză, niveluri ridicate de proteină C-reactivă (adică, o stare proinflamatorie), și niveluri crescute ale inhibitorului-1 și fibrinogenului activatori de plasminogen în plasmă (adică, o stare protrombotică).

Prezenta invenție furnizează o metodă de reducere a ingerării de alimente la un subiect care are nevoie de aceasta, metoda cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a unui conjugat, compus, sau compoziție farmaceutică a invenției. În unele realizări, ingerarea alimentelor de către un subiect este redusă, de exemplu, cu între aproximativ 0,01% până la aproximativ 0,1%, între aproximativ 0,1% până la aproximativ 0,5%, între aproximativ 0,5% până la aproximativ 1%, între aproximativ 1% până la aproximativ 5%, între aproximativ 2% până la aproximativ 3%, între aproximativ 5% până la aproximativ 10%, între aproximativ 10% până la aproximativ 15%, între aproximativ 15% până la aproximativ 20%, între aproximativ 20% până la aproximativ 25%, între aproximativ 25% până la aproximativ 30%, între aproximativ 30% până la aproximativ 35%, între aproximativ 35% până la aproximativ 40%, între aproximativ 40% până la aproximativ 45%, sau între aproximativ 45% până la aproximativ 50%, față de ingerarea alimentelor de către un subiect înainte de administrarea oricăror din conjugatii, compușii, compozițiile, formele, medicamentele, sau combinațiile invenției descrise aici, sau în comparație cu subiecții de control care nu au primit nici unul dintre conjugatii, compușii, compozițiile, formele, medicamentele, sau combinațiile invenției descrise aici.

În unele realizări, reducerea în ingerarea alimentelor este menținută timp de aproximativ 1 săptămână, timp de aproximativ 2 săptămâni, timp de aproximativ 3 săptămâni, timp de aproximativ 1 lună, timp de aproximativ 2 luni, timp de aproximativ 3 luni, timp de aproximativ 4 luni, timp de aproximativ 5 luni, timp de aproximativ 6 luni, timp de aproximativ 7 luni, timp de aproximativ 8 luni, timp de aproximativ 9 luni, timp de aproximativ 10 luni, timp de aproximativ 11 luni, timp de aproximativ 1 an, timp de aproximativ 1,5 ani, timp de aproximativ 2 ani, timp de aproximativ 2,5 ani, timp de aproximativ 3 ani, timp de aproximativ 3,5 ani, timp de aproximativ 4 ani, timp de aproximativ 4,5 ani, timp de aproximativ 5 ani, timp de aproximativ 6 ani, timp de aproximativ 7 ani, timp de aproximativ 8 ani, timp de aproximativ 9 ani, timp de aproximativ 10 ani, timp de aproximativ 15 ani, sau timp de aproximativ 20 ani, de exemplu.

Prezenta invenție furnizează o metodă de reducere a hemoglobinei glicate (A1C) la un subiect care are nevoie de aceasta, metoda cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente dintr-un conjugat, compus, sau compoziție farmaceutică a invenției. În unele realizări, A1C a unui subiect este redusă, de exemplu, cu între aproximativ 0,001% și aproximativ 0,01%, între aproximativ 0,01% și aproximativ 0,1%, între aproximativ 0,1% și aproximativ 0,2%, între aproximativ 0,2% și aproximativ 0,3%, între aproximativ 0,3% și aproximativ 0,4%, între aproximativ 0,4% și aproximativ 0,5%, între aproximativ 0,5% și aproximativ 1%, între aproximativ 1% și aproximativ 1,5%, între aproximativ 1,5% și aproximativ 2%, între aproximativ 2% și aproximativ 2,5%, între aproximativ 2,5% și aproximativ 3%, între aproximativ 3% și aproximativ 4%, între aproximativ 4% și aproximativ 5%, între aproximativ 5% și aproximativ 6%, între aproximativ 6% și aproximativ 7%, între aproximativ 7% și aproximativ 8%, între aproximativ 8% și aproximativ 9%, sau între aproximativ 9% și aproximativ 10% față de A1C a unui subiect înainte de administrare oricăruia din conjugatii, compușii, compozițiile, formele, medicamentele, sau combinațiile invenției descrise aici, sau în comparație cu subiecții de control care nu au primit nici unul dintre conjugatii, compușii, compozițiile, formele, medicamentele, sau combinațiile invenției descrise aici.

În alte realizări, sunt furnizate metode pentru reducerea nivelurilor de glucoză din sânge în repaus alimentar la un subiect care are nevoie de aceasta, metodele cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a unui conjugat, compus, sau compoziție farmaceutică a invenției. Nivelurile de glucoză din sânge în repaus alimentar pot fi reduse până la mai puțin de aproximativ 140 până la aproximativ 150 mg/dL, mai puțin de aproximativ 140 până la aproximativ 130 mg/dL, mai puțin de aproximativ 130 până la aproximativ 120 mg/dL, mai puțin de aproximativ 120 până la aproximativ 110 mg/dL, mai puțin de aproximativ 110 până la aproximativ 100 mg/dL, mai puțin de aproximativ 100 până la aproximativ 90 mg/dL, sau mai puțin de aproximativ 90 până la aproximativ 80 mg/dL, față de nivelurile de glucoză din sânge în repaus alimentar ale unui subiect înainte de administrarea oricăror din conjugatii, compușii, compozițiile, formele, medicamentele, sau combinațiile invenției descrise aici, sau în comparație cu subiecții de control care nu au primit nici unul

dintre conjugatii, compuşii, compozițiile, formele, medicamentele, sau combinațiile invenției descrise aici.

Prezenta invenție furnizează o metodă de modulare a activității receptorului Y2 la un subiect care are nevoie de aceasta, metoda cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a unui conjugat, compus, sau compoziție farmaceutică a invenției. Așa cum s-a utilizat în acest document, „modulare” se referă la creșterea sau scăderea activității receptorului.

În unele realizări, o cantitate eficientă a unui conjugat sau compus al invenției sau o formă, compoziție sau medicament al acestuia este administrată unui subiect care are nevoie de aceasta o dată zilnic, de două ori zilnic, de trei ori zilnic, de patru ori zilnic, de cinci ori zilnic, de șase ori zilnic, de șapte ori zilnic, sau de opt ori zilnic. În alte realizări, o cantitate eficientă a unui conjugat sau compus al invenției sau o formă, compoziție sau medicament al acestuia este administrată unui subiect care are nevoie de aceasta o dată la fiecare altă zi, o dată pe săptămână, de două ori pe săptămână, de trei ori pe săptămână, de patru ori pe săptămână, de cinci ori pe săptămână, de șase ori pe săptămână, de două ori pe lună, de trei ori pe lună, sau de patru ori pe lună.

O altă realizare a invenției cuprinde o metodă de prevenire, tratare, întârziere a debutului, sau ameliorării unei boli, tulburări sau sindrom, sau a unuia sau mai multor simptome ale oricăror din respectivele boli, tulburări, sau sindroame la un subiect care are nevoie de aceasta, metoda cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a unui conjugat, compus, sau compoziție farmaceutică a invenției într-o terapie de combinație. În anumite realizări, terapia de combinație este un al doilea agent terapeutic. În anumite realizări, terapia de combinație este o terapie chirurgicală.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „în combinație”, în contextul administrării a două sau mai multe terapii la un subiect, se referă la utilizarea de mai mult de o terapie.

Așa cum s-a utilizat în acest document, terapia de combinație se referă la administrarea la un subiect care are nevoie de aceasta a unuia sau mai multor agenți terapeutici suplimentari, sau a uneia sau mai multor terapii chirurgicale, concomitent cu o cantitate eficientă a unui conjugat sau compus al invenției sau o formă, compoziție sau medicament al acestuia. În unele realizări, unul sau mai mulți agenți terapeutici suplimentari sau terapii chirurgicale pot fi administrate în aceeași zi ca o cantitate eficientă a unui conjugat al invenției, și în alte realizări, unul sau mai mulți agenți terapeutici suplimentari sau terapii chirurgicale pot fi administrate în aceeași săptămână sau aceeași lună ca o cantitate eficientă a unui conjugat sau compus al invenției.

În anumite realizări, în care boala sau tulburarea este selectată din grupul constând din obezitate, diabet de tip II, sindrom metabolic, rezistență la insulină și dislipidemie, al doilea agent terapeutic poate fi un agent antidiabetic. În anumite realizări, agentul antidiabetic poate fi un modulator al receptorului de peptidă-1 de tip glucagon (GLP-1).

Prezenta invenție are în vedere de asemenea prevenirea, tratarea, întârzierea debutului, sau ameliorarea oricăror dintre bolile, tulburările, sindroamele, sau simptomele descrise aici la un subiect care are nevoie de aceasta cu o terapie de combinație care cuprinde administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a unui conjugat, compus, sau compoziție farmaceutică a invenției, în combinație cu oricare unul sau mai mulți dintre următorii agenți terapeutici: un inhibitor de dipeptidil peptidază-4 (DPP-4) (de exemplu, sitagliptin, saxagliptin, linagliptin, alogliptin, etc.); un agonist al receptorului GLP-1 (de exemplu, agoniști ai receptorului GLP-1 care acționează scurt, cum ar fi exenatidă și lixisenatidă; agoniști ai receptorului GLP-1 care acționează intermediar, cum ar fi liraglutidă; agoniști ai receptorului GLP-1 care acționează lung, cum ar fi exenatidă cu eliberare extinsă, albiglutidă, dulaglutidă); un inhibitor al cotransportatorului-2 de sodiu-glucoză (SGLT-2) (de exemplu, canaglifozin, dapaglifozin, empaglifozin, etc.); secheștranti ai acidului biliar (de exemplu, colestevlam, etc.); agoniști ai receptorului de dopamină (de exemplu, bromocriptină cu eliberare rapidă); biguanidă (de exemplu, metformin, etc.); insulină; oxintomodulin; sulfoniluree (de exemplu, clorpropamidă, glimepiridă, glipizidă, gliburidă, glibenclamidă, glibornuridă, glisoxepidă, gliclopiramidă, tolazamidă, tolbutamidă, acetohexamidă, carbutamidă, etc.); și tiazolidinedione (de exemplu, pioglitazonă, rosiglitazonă, lobeglitazonă, ciglitazonă, darglitazonă, englitazonă, netoglitazonă, rivoglitazonă, troglitazonă, etc.). În unele realizări, doza de agent terapeutic suplimentar este redusă când este dată în combinație cu un conjugat sau compus al invenției. În unele realizări, când s-a utilizat în combinație cu un conjugat sau compus al invenției, agentul terapeutic suplimentar poate fi utilizat în doze mai scăzute decât atunci când fiecare este utilizat singur.

În anumite realizări, în care boala sau tulburarea este selectată din grupul constând din obezitate, diabet de tip I sau de tip II, sindrom metabolic (adică, Sindrom X), rezistență la insulină, toleranță scăzută la glucoză (de exemplu, intoleranță la glucoză), hiperglicemie, hiperinsulinemie, hipertrigliceridemie, hipoglicemie din cauza hiperinsulinismului congenital (CHI), dislipidemie, ateroscleroză, nefropatie diabetică, și alți factori de risc cardiovascular cum ar fi hipertensiunea și factori de risc cardiovascular asociați cu negestionarea colesterolului și/sau nivelurilor de lipide, osteoporoză, inflamație, boala

ficatului gras nealcoolice (NAFLD), steatohepatită nealcoolică (NASH), boală renală, și eczemă, al doilea agent terapeutic poate fi liraglutidă.

Prezenta invenție are în vedere prevenirea, tratarea, întârzierea debutului, sau ameliorarea oricăreia dintre bolile, tulburările, sindroamele, sau simptomele descrise aici la un subiect care are nevoie de aceasta, cu o terapie de combinație care cuprinde administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a unui conjugat, compus, sau compoziții farmaceutice a invenției în combinație cu o terapie chirurgicală. În anumite realizări, terapia chirurgicală poate fi chirurgie bariatrică (de exemplu, chirurgie bypass gastrică, cum ar fi chirurgia bypass gastrică Roux-en-Y; manșon gastrectomic; chirurgie ajustabilă a benzii gastrice; deviere biliopancreatică cu comutare duodenală; balon intragastric; ondulare gastrică; și combinații ale acestora).

În realizările în care unul sau mai mulți agenți terapeutici suplimentari sau terapii chirurgicale sunt administrate în aceeași zi ca o cantitate eficientă a unui conjugat sau compus al invenției, conjugatul sau compusul invenției poate fi administrat înainte de, după, sau simultan cu agentul terapeutic suplimentar sau terapia chirurgicală. Utilizarea termenului „în combinație” nu restricționează ordinea în care terapiile sunt administrate unui subiect. De exemplu, o primă terapie (de exemplu, o compoziție descrisă aici) poate fi administrată înainte de (de exemplu, cu 5 minute, 15 minute, 30 minute, 45 minute, 1 oră, 2 ore, 4 ore, 6 ore, 12 ore, 16 ore, 24 ore, 48 ore, 72 ore, 96 ore, 1 săptămână, 2 săptămâni, 3 săptămâni, 4 săptămâni, 5 săptămâni, 6 săptămâni, 8 săptămâni, sau 12 săptămâni înainte), concomitent cu, sau ulterior la (de exemplu, după 5 minute, 15 minute, 30 minute, 45 minute, 1 oră, 2 ore, 4 ore, 6 ore, 12 ore, 16 ore, 24 ore, 48 ore, 72 ore, 96 ore, 1 săptămână, 2 săptămâni, 3 săptămâni, 4 săptămâni, 5 săptămâni, 6 săptămâni, 8 săptămâni, sau 12 săptămâni) administrarea unei a doua terapii la un subiect.

EXEMPLE SINTEZĂ

Compușii sau conjugatii din prezenta invenție pot fi sintetizați în conformitate cu metodele sintetice generale cunoscute de cei care sunt calificați în domeniu. Următoarea descriere de sinteză este în scopuri exemplificative și nu este în nici un fel intenționată să limiteze invenția.

Analogii (NTSC-PYY) PYY ciclici NTSC sau derivații acestei invenții pot fi sintetizați printr-o varietate de proceduri cunoscute, convenționale pentru formarea de legături peptidice succesive între aminoacizi, și sunt preferențial efectuați prin sinteza peptidei în fază solidă (SPPS), cum s-a descris în general de către Merrifield (J. Am. Chem. Soc., 1963, 85, 2149-2154), utilizând un sintetizator automat de peptidă, o sinteză tradițională de bancă, sau o combinație a ambelor abordări. Procedurile convenționale pentru sinteza peptidei implică condensarea între gruparea amino liberă a unui rest de aminoacid, ale cărui alte funcționalități reactive au fost protejate adecvat, și grupările carboxil libere ale unui alt aminoacid, ale cărui funcționalități reactive au fost de asemenea protejate adecvat. Exemple de agenți de condensare utilizați de obicei pentru formarea legăturii peptidice includ diizopropilcarbodiimida (DIC) cu sau fără 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) sau etil ciano(hidroxiimino)acetat (Oxima Pure), hexafluorofosfat de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilaminu (HBTU), hexafluorofosfat de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilaminu (HATU), hexafluorofosfat de 2-(6-cloro-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilaminu (HCTU), hexafluorofosfat de 1-ciano-2-etoxi-2-oxoetilideneaminoxi-tris-pirolidino-fosfoniu (PyOxim), tetrafluoroborat de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilaminu (TBTU) hexafluorofosfat de bromo-tris-pirolidino-fosfoniu (PyBroP), și altele asemenea.

Metodologia automată de sinteză a peptidei poate fi efectuată la temperatura camerei (rt), sau la temperaturi ridicate, preferabil prin aplicarea încălzirii cu microunde, cum s-a descris de către Yu (J. Org. Chem., 1992, 57, 4781-4784) și cum s-a rafinat mai recent de către Palasek (J. Pept. Sci., 2007, 13, 143-148).

Compușii prezentei invenții (amidele C-terminale) pot fi preparați convenabil utilizând metodologia cu aminoacid protejat N- α -Fmoc (9-fluorenilmetiloxycarbonil), în care terminalul carboxi al unui aminoacid protejat N- α -Fmoc protejat adecvat este cuplat pe o rășină a fazei solide convenționale utilizând un agent de cuplare adecvat. Rășinile de fază solidă adecvate convenționale, disponibile comercial includ rășina MBHA de amidă Rink, rășina AM de amidă Rink, rășina RAM de Tentagel S, rășina PS de Fmoc-PAL-PEG, rășina de amidă Rink Spheri Tide, rășina Rink ChemMatrice, rășina de amidă Sieber, rășina Sieber TG și altele asemenea. Aminoacidul Fmoc legat la rășină poate fi apoi deprotejat prin expunere până la 20% piperidină fie în N,N-dimetilformamidă (DMF) sau fie în 1-metil-2-pirolidonă (NMP), tratament care servește pentru a îndepărta selectiv gruparea de protecție Fmoc. Suplimentar, aminoacizii protejați Fmoc sunt apoi ulterior cuplați și deprotejați secvențial, generând prin urmare legarea dorită a peptidei protejate la rășină. În anumite cazuri, poate fi necesară utilizarea unei grupări de protecție reactive ortogonale pentru o altă amină în secvența peptidei care ar suporta condițiile de deprotecare Fmoc. Grupările de protecție cum ar fi 4-metiltritol (Mtt) sau 4-metoxitritol (Mmt), ambele îndepărtabile cu tratamente cu 1% acid trifluoroacetic (TFA)/diclorometan (DCM), sau preferabil aliloxycarbonil (alloc; îndepărtabil cu tratament cu Pd(PPh₃)₄ (tetrakis(trifenilfosfin)paladiu(0))

PhSiH₃ (fenilsilan)), 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohex-1-iliden)etil (Dde; îndepărtabil prin tratament cu 2-3 % hidrazină/DMF) și 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohex-1-iliden)-3-metilbutil (ivDde; îndepărtabil prin tratament cu 2-3 % hidrazină/DMF) pot fi utilizate eficient în astfel de cazuri.

În metodologiile convenționale de sinteză a peptidei, catenele laterale reactive ale alfa aminoacizilor sunt în general protejate prin sinteză cu grupări de protecție adecvate care le fac inerte la protocoalele de cuplare și deprotecare. În timp ce multiple grupări de protecție ale catenelor laterale ale aminoacidului sunt cunoscute în domeniu, aici sunt cele mai preferate următoarele grupări de protecție: terț-butil (t-Bu) pentru serină, treonină, acid glutamic, acid aspartic și tirozină; tritil (Trt) pentru asparagină, glutamină, cisteină, homocisteină și histidină; terț-butiloxycarbonil (Boc) pentru triptofan și gruparea ε-amino de lizină; și 2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonil (Pbf) pentru arginină. Aceste grupări de protecție sunt îndepărtate după tratamentul puternic cu acid, cum ar fi cu concentrații ridicate de acid trifluoroacetic (TFA).

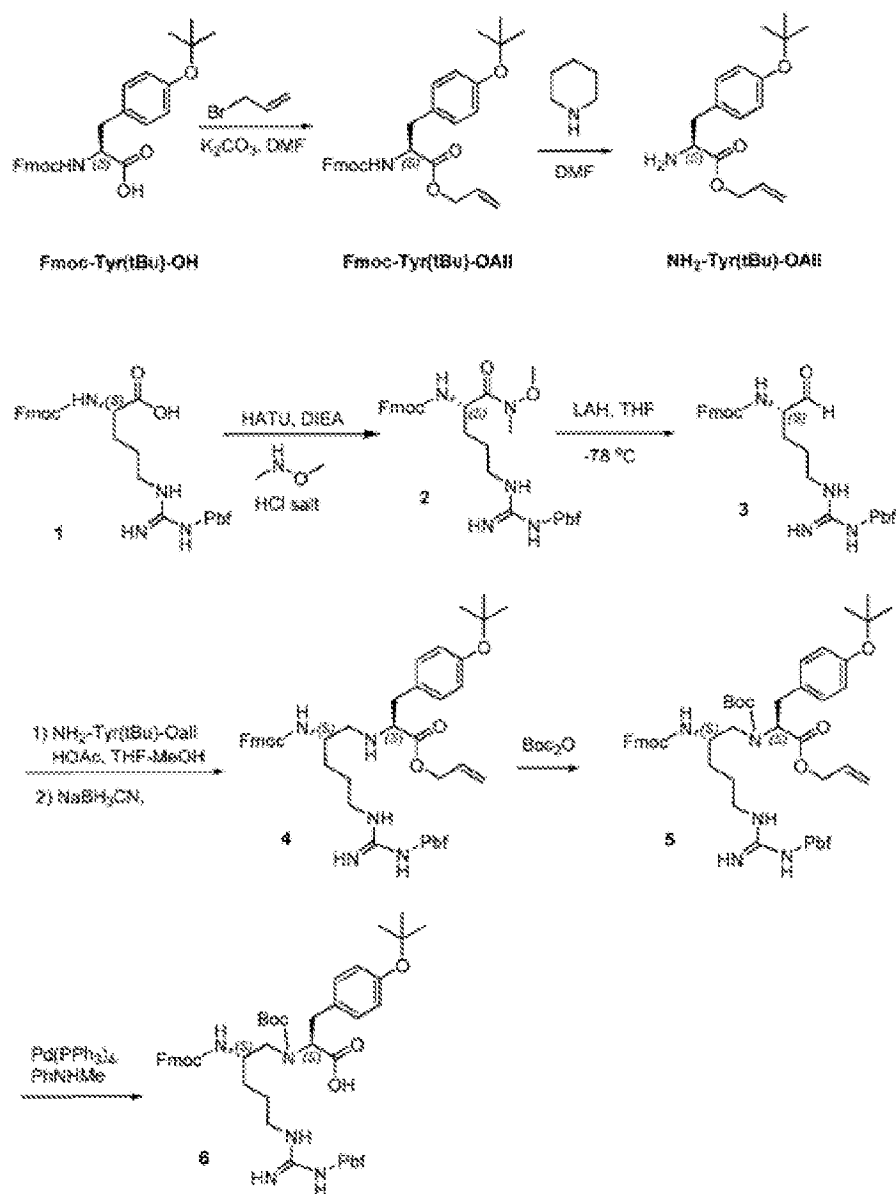
După terminarea SPPS, peptida cu catenă laterală protejată legată la rășină este deprotejată și clivată concomitent din rășină utilizând un cocktail de clivare care constă predominant din (TFA) împreună cu diferite combinații de captatori de carbocationi, cum ar fi triizopropilsilan (TIPS), apă, fenol și anisol. Peptida solidă brută este apoi izolată prin precipitarea peptidei/cocktailului filtrate cu eter rece. În cazul special al peptidei protejate legate la rășină Sieber, clivarea peptidei protejate din rășină poate fi efectuată în mod avantajos după tratamentul repetat cu 1-2% TFA în DCM fără să cauzeze deproteizarea catenei laterale. Odată izolată, manipulările suplimentare ale peptidei protejate pot fi efectuate în reacții în fază de soluție. În final, peptida protejată poate fi deprotejată global utilizând un tratament separat cu cocktail de clivare și precipitată cum s-a descris mai sus. Peptida brută astfel obținută este apoi dizolvată la concentrație scăzută (ca., < 4 mg/mL) într-un sistem solvent apos (aq) pe larg conținând un cosolvent organic cum ar fi acetonitril sau etanol. După creșterea pH-ului soluției la unul > 5, peptida suferă apoi o reacție de ciclizare intramoleculară pentru a forma analogul PYY NTSC brut corespunzător din prezenta invenție. Analogii PYY NTSC astfel formați pot fi purificați utilizând tehnici de purificare cunoscute în general în domeniu. O metodă preferabilă de purificare a peptidei utilizată aici este cromatografia de lichide de înaltă performanță cu fază inversă (HPLC). Peptidele purificate sunt apoi caracterizate prin cromatografie de lichide/spectrometrie de masă (LC/MS).

Se înțelege că următoarele exemple și realizări descrise aici sunt numai în scopuri ilustrative și că diferitele modificări sau schimbări în lumina acestora vor fi sugestive persoanelor calificate în domeniu și trebuie să fie incluse în spiritul și domeniul de competență al acestei cereri și în domeniul revendicărilor anexate. Toate publicațiile, brevetele, și cererile de brevete citate aici sunt încorporate aici prin referință în întregimea lor pentru toate scopurile.

SCHEME GENERALE

O procedură de sinteză generală pentru sinteza peptidelor NTSC-PYY amidice C-terminale este descrisă în cererea de brevet provizorie S.U.A. nr. 62/413.613, depusă pe 27 octombrie 2016 și cerere de brevet S.U.A. nr. _____, intitulată „Cyclic peptide tyrosine tyrosine compounds as modulators of neuropeptide receptors“, depusă în aceeași zi ca această cerere cu nr. de dosar juridic PRD3411. Conținuturile ambelor aplicații sunt încorporate aici prin referință în întregimea lor.

Exemplul 1: Sinteza de analog PYY ciclic SEQ ID NO:1

Schema 14. Sinteză de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-(N-Boc)Tyr(tBu)]-OH**1. Sinteză de Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-(N-Boc)Tyr(tBu)]-OH****A. Sinteză de H₂N-Tyr(tBu)-OAll**

5 La o soluție răcită cu gheață de Fmoc-Tyr(tBu)-O (69 g, 150,15 mmol) și K₂CO₃ (62 g, 445,36 mmol) în DMF (500 mL) s-a adăugat alilbromidă (72 g, 595,16 mmol), și amestecul rezultat a fost agitat timp de 3 ore. S-a adăugat apoi gheață/apă (1 L) și amestecul a fost extras cu EtOAc. Extractele organice combinate au fost uscate (Na₂SO₄) și concentrate sub presiune redusă pentru a da Fmoc-Tyr(tBu)-OAll ca ulei galben. La o soluție răcită cu gheață de Fmoc-Tyr(tBu)-OAll (70 g, 140,1 mmol) în DMF (600 mL)

10 s-a adăugat piperidină (150 mL) în maniera în picătură într-o perioadă de 20 min. După 3 ore, soluția de reacție a fost turnată în apă/gheață (1 L), și extrasă cu EtOAc (2 x 2L). Extractele organice combinate au fost uscate (Na₂SO₄) și concentrate sub presiune redusă. Reziduul astfel obținut a fost purificat prin cromatografie pe gel de siliciu, eluând cu EtOAc/eter de petrol (10:1) pentru a da 34 g de H₂N-Tyr(tBu)-OAll ca ulei galben. B. Sinteză de Sinteză F de Fmoc-Arg(Pbf)-N(Me)OMe (2).

15 La un amestec răcit cu gheață de Fmoc-Arg(Pbf)-OH (1) (64,8 g, 99,88 mmol), clorhidrat de *N,O*-dimetilhidroxilamină (20 g, 206,2 mmol) și HATU (57 g, 149,91 mmol) în DCM (500 mL) s-a adăugat DIEA (52 g, 402,2 mmol) în maniera în picătură într-o perioadă de 10 min, și amestecul rezultat a fost lăsat să se agite la temperatura camerei peste noapte. Reacția a fost apoi turnată în apă/gheață (1 L) și extrasă cu DCM (1 L). Extractele organice au fost uscate (Na₂SO₄) și concentrate sub presiune redusă

20 pentru a da 70 g de Fmoc-Arg(Pbf)-N(Me)OMe brut (2) ca solid galben, care a fost utilizat fără purificare suplimentară.

C. Sinteză de Fmoc-Arg(Pbf)-CHO (3)

La o soluție răcită (-78°C) de LAH în THF (1M, 107 mL, 0,107 mmol) sub o atmosferă inertă de azot s-a adăugat printr-o canulă răcită (-50°C) soluție de Fmoc-Arg(Pbf)-N(Me)OMe (2) (50 g, 72,3 mmol) în THF (100 mL) într-o manieră în picătură într-o perioadă de 1 oră. După agitare la -78°C timp de 5 ore, amestecul a fost turnat în soluție HCl 1N (300 mL), și s-a adăugat suplimentar HCl 1N după cum a fost necesar pentru a ajusta pH-ul la 4, și apoi s-a extras cu EtOAc (2 x 2L). Extractele organice combinate au fost uscate (Na₂SO₄) și concentrate sub presiune redusă pentru a da 45 g de Fmoc-Arg(Pbf)-CHO brut (3) ca solid galben, care a fost utilizat fără purificare suplimentară.

D. Sinteză de Fmoc-psi-[Arg(Pbf)-Tyr(tBu)]-OAll (4)

La o soluție răcită cu gheață de Fmoc-Arg(Pbf)-CHO (3) din etapa C (45 g, 71,12 mmol) și H₂N-Tyr(tBu)-OAll din etapa A (32 g, 115,37 mmol) în THF (200 mL), MeOH (200 mL) și HOAc (15 mL) s-a adăugat cianoborohidru de sodiu (18,0 g, 286,4 mmol) în porții într-o perioadă de 30 min, și soluția rezultată a fost agitată la temperatura camerei peste noapte. Reacția a fost stinsă prin adăugarea de soluție de NaHCO₃ apoasă saturată (500 mL) și amestecul a fost extras cu EtOAc (2 x 2L). Extractele organice combinate au fost uscate (Na₂SO₄) și concentrate sub presiune redusă. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe gel de siliciu eluând cu EtOAc/eter de petrol (10:1) pentru a da 40 g de Fmoc-psi-[Arg(Pbf)-Tyr(tBu)]-OAll (4) ca solid galben. E. Sinteză de Fmoc-psi-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OAll (5)

La o soluție de Fmoc-psi-[Arg(Pbf)-Tyr(tBu)-OAll] (4) (53 g, 59,28 mmol) în MeCN (240 mL) s-a adăugat dicarbonat de di-*terț-butil* (20 g, 91,3 mmol), și soluția rezultată a fost agitată la 50°C peste noapte. Amestecul a fost apoi concentrat sub presiune redusă și reziduul a fost purificat prin cromatografie pe gel de siliciu eluând cu EtOAc/eter de petrol (1:1) pentru a da 32 g de Fmoc-psi-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OAll (5) ca solid galben.

F. Sinteză de Fmoc-psi-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH (6)

La o soluție răcită (-30°C) de Fmoc-psi-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OAll (5) (32 g, 32 mmol) în DCM (600 mL) sub o atmosferă inertă de azot, s-a adăugat Pd(PPh₃)₄ (3,0 g, 4,33 mmol), urmat de adăugarea în picătură de N-metilanilină (10 g, 93 mmol) într-o perioadă de 30 min. Amestecul rezultat a fost agitat la temperatura camerei timp de 2 ore, și apoi concentrat sub presiune redusă. Reziduul a fost purificat prin cromatografie pe gel de siliciu eluând cu EtOAc/eter de petrol (1:1) pentru a da 26,8 g de Fmoc-psi-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH (6) ca solid gălbui. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,75-7,77 (2H, m), 7,59-7,60 (2H, m), 7,32-7,33 (4H, m), 7,09-7,11 (2H, m), 6,87-7,00 (2H, m), 4,27-4,50 (3H, m), 3,30-3,50 (4H, m), 3,02-3,23 (3H, m), 2,75-2,98 (3H, m), 2,57 (3H, s), 2,48 (3H, s), 2,00 (3H, s), 1,31-1,41 (28H, m). LC/MS (ES, m/z): masă calc. pentru C₅₂H₆₇N₅O₁₀S: 953,46, găsit: 954,55 [M+H]⁺.

2. Încărcare dipeptidei Fmoc-psi-(R35-N(Boc)-Y36) pe rășină Sieber

Într-un vas de reacție fript cu microunde (furnizat de CEM Corporation), rășina Sieber NovaSyn TG (furnizată de Novabiochem) (0,2 mmol) a fost tratată cu 20% piperidină în DMF (10 mL) și încălzită la 50°C timp de 2,5 min într-un reactor CEM cu microunde. Reacția a fost drenată și rășina a fost spălată cu DMF și tratată din nou cu 20% piperidină în DMF la 50°C timp de 5 min într-un reactor CEM cu microunde. După drenarea și spălarea rășinei cu DMF, tratamentul de deprotezare a fost repetat încă o dată. Rășina a fost apoi tratată cu o soluție de Fmoc-psi-[Arg(Pbf)-(N-Boc)Tyr(tBu)]-OH obținută mai sus (3-5 echiv.), HATU (2,75 - 4,8 echiv.) și DIEA (6 - 10 echiv.) în DMF (4 mL) și amestecată la rt timp de 6 până la 24 ore. Amestecul a fost drenat și rășina a fost spălată extensiv cu DMF, și apoi acoperită prin tratament cu 20 % Ac₂O în DMF (5 mL) sub condiții de microunde la 50°C timp de 5 min. Reacția a fost drenată și rășina a fost spălată extensiv cu DMF și DCM.

3. Sinteză de rășină Fmoc-βA-IKPEAPGEK(Alloc)ASPEELNRYYYASLRHYLNL(hC) TRQ(ψ-R35Y36)-Sieber

Extensiile de aminoacid pe rășina preîncărcată (ψ-R35, Y36)-Sieber (0,2 mmol) au fost efectuate pe un sintetizator de peptidă cu microunde albastru CEM Liberty. Aminoacizii protejați standard cu α-Fmoc au fost dublu cuplați în exces de 3,8 ori față de încărcarea inițială de rășină la 50°C timp de 15 min utilizând HBTU/DIEA ca agenți de cuplare. Fmoc-Arg(Pbf)-OH a fost dublu cuplat utilizând un protocol în două etape: 25 min la rt urmate de 15 min la 50°C, și Fmoc-His(Trt)-OH a fost dublu cuplat utilizând un protocol în două etape: 4 min la rt urmate de 8 min la 50°C.

4. Sinteză de rășină Fmoc-βA-IKPEAPGEK(NH₂)ASPEELNRYYYASLRHYLNL(hC) TRQ(ψ-R35Y36)-Sieber: deprotezare alloc

Rășina rezultată de mai sus a fost tratată cu o soluție de fenilsilan (25 echiv.) în DCM dezoxigenat (10 mL). După agitare timp de ~ 2 min, s-a adăugat o soluție de Pd(PPh₃)₄ (0,5 echiv.) în DCM (10 mL) și amestecul de rășină a fost agitat timp de 30 min sub argon. Reacția a fost drenată și rășina a fost spălată cu DCM dezoxigenat. Deproteizarea a fost repetată cu reactivi proaspeți, după care reacția a fost drenată și rășina a fost spălat extensiv cu DCM și DMF.

5. Sinteză de rășină Fmoc-βA-IKPEAPGEK(NH-dPEG₁₂-NHfmoc)ASPEELNRYYYASLRHYLNL(hC)TRQ(ψ-R35Y36)-Sieber: cuplarea acizilor carboxilici N-Fmoc dPEG₁₂ pe 11K

Rășina Sieber a peptidei deprotejate alloc de mai sus a fost tratată cu o soluție de acid carboxilic N-Fmoc-dPEG12 (5 echiv.), HBTU (4,8 echiv.) și DIEA (10 echiv.) în DMF (7 mL) într-un reactor CEM cu microunde la 50°C timp de 15 min, în care timp reacția a prezentat un test Kaiser negativ. Reacția a fost drenată și rășina a fost spălată extensiv cu DMF și DCM.

6. Sinteză de rășină BrCH₂COHN-βA-IKPEAPGEK(NH-dPEG₁₂-NHCOCH₂Br)ASPEEL NRYYASLRHYLNL(hC)TRQ(psi-R35Y36)-Sieber: bis-bromoacetilare la βA și dPEG₁₂

Rășina de mai sus a fost supusă la deprotejare Fmoc utilizând piperidină proaspătă 20% în DMF la 50°C timp de 5 min într-un reactor CEM cu microunde. Deprotejarea a fost repetată de două ori. Rășina peptidei deprotejate Fmoc astfel obținută a fost tratată cu o soluție de bromoanhidridă acetică (20 echiv.) în DMF (5 mL) într-un reactor CEM cu microunde la 50°C timp de 10 min, în care timp reacția a prezentat un test Kaiser negativ. Reacția a fost drenată, și rășina a fost spălată extensiv cu DMF și DCM, și apoi uscată.

7. Sinteză de BrCH₂COHN-βA-IKPEAPGEK(NH-dPEG₁₂-NHCOCH₂Br)ASPEEL NRYYASLRHYLNL(hC)TRQ(psi-R35Y36)-CONH₂: clivarea din rășină și deprotejarea globală

Rășina uscată a fost tratată cu o soluție de 1,5 % TFA în DCM (10 mL) și amestecată timp de 5 până la 10 min, apoi filtrată. Acest tratament a fost repetat de încă 9 ori utilizând cocktail proaspăt pentru fiecare tratament. Filtratele combinate au fost apoi combinate și concentrate pentru a da peptida protejată brută ca spumă galbenă. Această spumă a fost tratată cu 20 mL de cocktail de clivare (TFA/fenol/H₂O/TIPS = 88/5/5/2) la temperatura camerei timp de 2,5 ore și apoi concentrată sub un curent de azot până la un volum de ~ 2,5 mL, și s-a adăugat apoi eter rece (40mL) pentru a precipita peptida. Amestecul a fost centrifugat (5 min; 5000 rpm) și decantat. Acest procedeu a fost repetat de încă 2 ori pentru a da peptida brută ca o pulbere albicioasă.

Alternativ, rășina a fost tratată cu cocktail de clivare fără tratarea anterioară cu cu 1 -2 % TFA în DCM pentru a da peptida deprotejată complet.

8. Analog PYY ciclic SEQ ID NO: 1: procedura A de ciclizare și purificare

Peptida brută de mai sus a fost dizolvată în 50% MeCN/apă dezoxigenată (5-10 mg/mL), și s-a adăugat opțional EDTA (1 mM). PH-ul soluției de reacție a fost apoi crescut până la aproximativ 8 prin adăugarea de soluție 7,5 m/v% NaHCO₃. Soluția rezultată a fost agitată la rt timp de 0,5 până la 2,5 ore, și apoi acidulată la pH < 1 prin adăugarea de TFA. Soluția a fost apoi concentrată sub presiune redusă la rt până la aproximativ jumătate din volumul original (~24 mL). Soluția rezultantă a fost purificată prin HPLC preparativă cu fază inversă. Purificările au fost efectuate pe un sistem de purificare personal Gilson HPLC 2020 utilizând o coloană Varian Pursuit XR_s C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm). Faza mobilă a constat din eluarea gradientului de Tampon A (0,1% TFA în apă) și Tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 20% B la concentrația finală de 50% B după 36 min. Detecția UV a fost monitorizată la 220 și 254 nm. Frațiunile conținând produsul au fost analizate prin HPLC analitică pe un sistem HPLC Agilent 1100 utilizând același tip de coloană ca mai sus (4,6 x 250 mm, 5 μm). Frațiunile pure au fost combinate, și apoi liofilizate pentru a da produsul ca solid asemănător bumbacului. LCMS: 1225,5 (M+4H)/4, 1633,4 (M+3H)/3 și 2450,0 (M+2H)/2 pentru maximul produsului la 12,27 min (LC: coloană Atlantis T3 C18, 5 μm, 4,6 x 250 mm, 1,0 mL/min, gradient 15-60%)

Exemplul 2: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO:2

1. Sinteză de rășină H₂N-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-PEG

Rășina peptidil protejată a fost sintetizată utilizând strategia Fmoc cum s-a descris mai sus pe un stabilizator de peptidă cu microunde albastru CEM Liberty utilizând încărcarea scăzută de rășini amidice Rink, preferabil, rășină PS Fmoc-PAL-PEG (ca., 0,16 - 0,2 mehv/g, furnizată de Applied Biosystems) pe un cântar de 0,1 mmol, cum s-a reprezentat în Schema 1. Aminoacizii standard protejați Fmoc au fost cuplați în exces de 5 ori față de încărcarea rășinei utilizând DIC/Oxima ca agenți de cuplare și o temperatură de reacție de ca., 90°C timp de 4 min. Fmoc-Arg(Pbf)-OH a fost dublu cuplat la 90°C timp de 4 min fiecare și Fmoc-His(Trt)-OH a fost cuplat utilizând un protocol în două etape: 4 min la rt urmate de 8 min la 50°C. Deprotejările Fmoc singure au fost efectuate utilizând 20% piperidină în DMF (soluție de deprotejare) la 90°C timp de 1,5 min.

2. Sinteză de rășină m-BrCH₂PhCOHN-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNL (hC) TRQRY-PAL-PEG

Rășina peptidei deprotejate Fmoc (0,1 mmol) de mai sus a fost tratată cu o soluție de acid m-bromometilbenzoic (20 echiv.) și DIC (10 echiv.) în DMF (4 mL) într-un reactor cu microunde la 75°C timp de 15 min, în care timp reacția a fost în general determinată a fi completă, conform unui test Kaiser cu ninhidrină (Kaiser, și colab., Anal. Biochem., 1970, 34, 595-598). În cazurile în care cuplarea a fost determinată a fi incompletă, cuplarea a fost repetată cu reactivi proaspeți. Reacția a fost drenată, și rășina a fost spălată extensiv cu DMF și DCM.

3. Sinteză de *m*-BrCH₂PhCOHN-*IKPEAPGEDASPEELNRY*YASLRHYLNL(hC) *TRQRY-CONH₂*: deprotejarea și clivarea de rășină

Rășina de mai sus a fost apoi tratată cu un cocktail de clivare (10 mL / 0,1 mmol scale) constând din TFA/apă/fenol/TIPS (88:5:5:2) și încălzită într-un reactor cu microunde la 38°C timp de 40 min, apoi filtrată. Rășina a fost spălată cu TFA și filtratele combinate au fost concentrate sub un curent de azot până la un volum de ca. 2,5 mL și peptida a fost precipitată prin adăugarea de dietil eter rece (40 mL). Suspensia de peptidă/eter a fost centrifugată și stratul de eter a fost decantat. Peletul peptidei a fost resuspendat în eter, centrifugat și decantat, și acest procedeu a fost repetat a treia oară. Peptida brută astfel obținută a fost uscată sub un flux ușor de azot.

4. Analog PYY ciclic SEQ ID NO:2: procedura A de ciclizare și purificare

Peptida brută de mai sus a fost dizolvată în MeCN/apă dezoxigenată (60% MeCN) la o concentrație de ≤ 4 mg/mL. PH-ul soluției peptidice a fost apoi crescut la ca. 7 - 9 prin adăugarea de NH₄OAc apos (200 mM, pH 8,4) și soluția rezultată a fost agitată la rt până când ciclizarea a fost completă, ca la LCMS (de obicei, 3-4 ore). Amestecul de reacție ciclizat a fost acidulat la pH 1,5 - 3 prin adăugarea de TFA, și soluția a fost concentrată pentru a îndepărta majoritatea cosolventului organic la un punct unde a avut loc o ușoară tulburare. O cantitate minimă de MeCN a fost adăugată înapoi dacă a fost necesar pentru a face amestecul omogen și soluția rezultantă a fost apoi purificată direct prin HPLC preparativă în multiple injecții utilizând o coloană C18 Varian Pursuit XRs C18 (21x250 mm, 100Å, 5 μm). Faza mobilă a constat din eluările de gradient ale tamponului A (0,1% TFA în apă) și tamponului B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 20% B la o concentrație finală de 40% B după 45 min. Detecția UV a fost monitorizată la 220 și 254 nm. Frațiunile care conțin produsul au fost analizate prin HPLC analitică pe un sistem HPLC Agilent 1100 utilizând o coloană adecvată. Frațiunile pure au fost combinate, concentrate pentru a îndepărta majoritatea fazei organice, și apoi liofilizate.

Exemplul 3: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 3

1. Sinteză de rășină (H₂N)-*IKPEAPGEDASPEELNRY*YASLRHYLNL-(azido-norLeu)-*TRQRYPAL-PEG*

Peptida legată la rășină a fost preparată pe o scară de 0,1 mmol în conformitate cu metoda descrisă în **Exemplul 2**, etapa 1, substituind Fmoc-azidonorLeu-OH în locul Fmoc-hCys(trt)-OH la poziția 31.

2. Sinteză de rășină (HCCH(CH₂)₂CONH)-*IKPEAPGEDASPEELNRY*YASLRHYLNL -(azido-norLeu)-*TRQRYPAL-PEG*

Acidul 4-pentinoic a fost cuplat pe rășina de mai sus sub condiții de microunde utilizând un protocol DIC/HOBT (75°C, 10 min). Reacția a fost drenată și rășina a fost spălată extensiv cu DMF și DCM.

3. Sinteză de (HCCH(CH₂)₂CONH)-*IKPEAPGEDASPEELNRY*YASLRHYLNL-(azido-norLeu)-*TRQRYPAL-CONH₂*

Rășina de mai sus a fost tratată cu 10 mL cocktail de clivare constând din TFA/DODT/H₂O/TIS (92,5:2,5:2,5:2,5) sub condiții de microunde (38°C, 40 min). Reacția a fost drenată și rășina a fost spălată cu TFA (10 mL). Filtratele combinate au fost apoi concentrate sub un curent de azot până la un volum de ~ 2,5 mL. S-a adăugat apoi eter rece (40 mL) pentru a precipita peptida și amestecul a fost centrifugat (5 min; 5000 rpm) și decantat. Acest procedeu a fost repetat încă de 2 ori pentru a da peptida brută ca o pulbere albicioasă.

4. Analog PYY ciclic SEQ ID NO: 3

Prepararea a 7 mg de CuSO₄ în 2 mL de H₂O dezoxigenată. Prepararea a 30 mg de TBTA în 5,4 mL de EtOH și 0,6 mL de MeCN. Se preamestecă 0,94 mL de soluție de CuSO₄ și 4,8 mL de soluție de TBTA. Se prepară 30 mg de ascorbat de Na în 3 mL de H₂O dezoxigenată.

La o soluție de peptidă care conține azido brut din etapa 3 (100 mg) în 20 mL de apă dezoxigenată s-a adăugat soluție preamestecată de CuSO₄/TBTA urmată de 2,4 mL de soluție de ascorbat de Na (soluție care a devenit imediat lăptoasă). Amestecul a fost încălzit la 40°C și agitat timp de 1,5 ore, în care timp analiza LCMS a indicat o reacție completă. Amestecul a fost diluat la ~ 40 mL cu apă (0,1% TFA); amestecul a fost centrifugat, și supernatantul a fost purificat prin HPLC preparativă cu fază inversă. Purificările au fost efectuate utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la 35°C. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 10% B la o concentrație intermediară de 18% B (21 mpm) și apoi la o concentrație finală de 33% B (10,5 mpm) după 35 min. Detecția UV a fost monitorizată la 220 și 254 nm. Frațiunile care conțin produsul au fost analizate prin HPLC analitică pe un sistem HPLC Agilent 1100 utilizând același tip de coloană ca mai sus (4,6 x 250 mm, 5 μm). Frațiunile pure au fost combinate, și apoi liofilizate pentru a da produsul ca un solid asemănător bumbacului.

Exemplul 4: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 4

1. Sinteză de rășină (Dde)K(NH₂)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-PEG

Peptida legată la rășină a fost preparată utilizând metoda descrisă în **Exemplul 2**, etapa 1.

2. Sinteză de rășină (Dde)K(NH-Glu-(OtBu)NH₂)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-PEG

Fmoc-Glu-OtBu (5 echiv.) a fost cuplat pe rășina de mai sus sub condiții de microunde utilizând metode de cuplare DIC/Oxima (90°C, 6 min; dc). Rășina a fost drenată și spălată cu DMF. Deprotejarea Fmoc a fost apoi efectuată utilizând 20% piperidină în DMF utilizând un protocol în 3 etape (75°C timp de 0,5 min; 75°C timp de 3 min; 75°C timp de 3 min) cu spălări DMF la fiecare etapă.

3. Sinteză de rășină (Dde)K(NH-Glu-(OtBu)NH-Pal)ASPEELNRYYASLRHYLNL (hC) TRQRY-PAL-PEG

Acidul palmitic (5 echiv.) a fost cuplat pe rășina de mai sus sub condiții de microunde utilizând metode de cuplare DIC/Oxima (90°C, 5 min). Rășina a fost drenată și spălată extensiv cu DMF și DCM.

4. Sinteză de rășină (H₂N)K(NH-Glu-(OtBu)NH-Pal)ASPEELNRYYASLRHYLNL (hC) TRQRY-PAL-PEG

După spălarea rășinei de mai sus cu DMF, ea a fost tratată cu o soluție de 2% hidrazină în DMF (rășină 6 mL/0,1 mmol) la rt timp de 5 min, apoi drenată și spălată cu DMF. Tratamentul a fost repetat de încă 5 ori

5. Sinteză de rășină (H₂N)IKPEAPGEK(NH-Glu-(OtBu)NH-Pal)ASPEELNRYYASLRHYLNL(hC) TRQRY-PAL-PEG

Cuplajele de aminoacizi rămase au fost efectuate utilizând metoda descrisă în **Exemplul 2**, etapa 1.

6. Analog PYY ciclic SEQ ID NO: 4

Restul sintezei a fost efectuată utilizând metodele descrise în **Exemplul 2**, etapele 2-4. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRS C18 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat dintr-o eluare de gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 23% B la o concentrație intermediară de 33% B (21 mpm) după 5 min, și apoi la o concentrație finală de 48% B (10,5 mpm) peste 55 min.

Exemplul 5: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 5

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** substituind acidul α-tocoferiloxiacetic (AcVitE) (**8**) în locul acidului palmitic în etapa 3. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 35% B la o concentrație intermediară de 45% B (21 mpm) după 5 min, și apoi la o concentrație finală de 60% B (10,5 mpm) peste 60 min.

Exemplul 6: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 6**1. Sinteză de rășină (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(Dde)-(azido-norLeu)-TRQRY-PAL-PEG**

Peptida legată la rășină a fost preparată cum s-a descris în **Exemplul 3**, etapa 1, substituind Fmoc-Lys(Dde)-OH în locul Fmoc-Leu-OH la poziția 30 și incorporând acidul 4-pentinoic (dublu cuplat) în această etapă la poziția 2, după Fmoc-Ile-OH la poziția 3.

2. Sinteză de rășină (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(NH₂)-(azido-norLeu)-TRQRY-PAL-PEG

Rășina de mai sus a fost tratată cu 3% hidrazină în DMF (scară 8 mL/0,1 mmol) timp de 5 min la rt și apoi amestecul a fost drenat și spălat cu DMF. Această procedură a fost repetat ca. 5x, după care rășina a fost spălată extensiv cu DMF și apoi DCM.

3. Sinteză de rășină (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(NH-γ-Glu-AcVitE)-(azido-norLeu)-TRQRY-PAL-PEG

Fmoc-Glu-OtBu a fost cuplat pe rășina de mai sus utilizând protocolul de cuplare descris în **Exemplul 2**, etapa 1 cu un timp de cuplare de 5 min. Rășina a fost deprotejată prin tratament cu 20% piperidină în DMF utilizând un protocol la microunde în 3 etape (75°C, 0,5 min; 75°C, 3 min; 75°C, 3 min), după care rășina a fost spălată extensiv cu DMF și DCM. Acidul α-tocoferiloxiacetic (AcVitE) (**8**) a fost apoi cuplat pe rășină utilizând aceeași procedură utilizată ca pentru cuplarea Fmoc-Glu-OtBu.

4. Sinteză de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYASLRHYLNK(NH-γ-Glu-AcVitE)-(azido-norLeu)-TRQRY-CONH₂

Clivarea și precipitarea peptidei din rășina de mai sus au fost efectuate utilizând procedura descrisă în **Exemplul 3**, etapa 3.

5. Analog PYY ciclic SEQ ID NO: 6

Compusul din titlu a fost preparat utilizând procedura descrisă în **Exemplul 3**, etapa 4. Purificarea produsului a fost efectuată pe o coloană Varian Pursuit XRS C8 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la 35°C. Faza mobilă a constat dintr-o eluare de gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B

(0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 35% B la o concentrație intermediară de 48% B (21 mpm) după 5 min, și apoi la o concentrație finală de 63% B (10,5 mpm) peste 40 min.

Exemplul 7: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 7

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** cu restul K(NH- γ -Glu-Pal) instalat la poziția 9 în loc de poziția 11. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) la rt. Faza mobilă a constat dintr-o eluare de gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 23% B la o concentrație intermediară de 43% B (21 mpm) și apoi la o concentrație finală de 43% B (10,5 mpm) după 40 min. Frațiunile care conțin produs impur au fost repurificate pe o coloană Waters T3 C18 (250 x 19 mm, 100Å, 5 μ m) la rt utilizând un gradient dintr-o concentrație inițială de 25% B la o concentrație intermediară de 35% B (21 mpm) și apoi la o concentrație finală de 45% B (10,5 mpm) peste 80 min.

Exemplul 8: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 8

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** cu restul K(NH- γ -Glu-Pal) instalat la poziția 30 în loc de poziția 11. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) la 35°C. Faza mobilă a constat într-o eluare de gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 21% B la o concentrație intermediară de 31% B (21 mpm) și apoi la o concentrație finală de 41% B (10,5 mpm) după 40 min. Frațiunile care conțin produs impur au fost repurificate pe o coloană Waters T3 C18 (250 x 19 mm, 100Å, 5 μ m) la rt utilizând un gradient dintr-o concentrație inițială de 21% B la o concentrație intermediară de 31% B (21 mpm) și apoi la o concentrație finală de 40% B (10,5 mpm) peste 80 min.

Exemplul 9: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO 9

1. Sinteză de rășină H₂N-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNL(hC) TRQ(ψi-R35Y36)-Sieber

Extensiile de aminoacizi pe rășina (ψi-R35, Y36)-Sieber preîncărcată din **Exemplul 1**, etapa 2 (0,1 mmol) au fost efectuate cum s-a descris în **Exemplul 1**, etapa 3 cu modificarea utilizării unui exces de 5 ori a aminoacizilor protejați.

2. Sinteză de rășină m-BrCH₂PhCOHN-IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNL (hC) TRQ(ψi-R35Y36)-Sieber

Acidul m-bromometilbenzoic a fost cuplat pe rășina de mai sus în conformitate cu procedura descrisă în **Exemplul 1**, etapa, cu modificarea că cuplarea a fost efectuată la 50°C în loc de 75°C.

3. Analog PYY ciclic SEQ ID NO: 9

Compusul din titlu a fost preparat din rășina de mai sus după procedurile descrise în **Exemplul 1**, etapele 7 și 8. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) la 35°C. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 10% B la o concentrație intermediară de 18% B (21 mpm) după 10 min, și apoi la o concentrație finală de 33% B (10,5 mpm) peste 35 min.

Exemplul 10: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO 10

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** substituind Dde-Lys(Fmoc)-OH în locul Fmoc-Leu-OH la poziția 30 și acidul α -Tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în locul acidului palmitic în etapa 3. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Agilent 300SB C8 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 30% B la o concentrație intermediară de 40% B (21 mpm) după 10 min, și apoi la o concentrație finală de 55 % B (21 mpm) după 35 min. Frațiunile care conțin produs impur au fost repurificate utilizând un gradient modificat dintr-o concentrație inițială de 35% B la o concentrație intermediară de 43% B (21 mpm) după 5 min, și apoi la o concentrație finală de 58% B (10,5 mpm) peste 40 min.

Exemplul 11: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 11

1. Sinteză de rășină (Alloc)K(NH₂)-(hC)-TRQ(ψi-R35Y36)-Sieber

Rășina de mai sus a fost preparată urmând procedura descrisă în **Exemplul 9**, etapa 1 utilizând Alloc-Lys(Fmoc)-OH în locul Fmoc-Leu-OH la poziția 30.

2. Sinteză de rășină (Alloc)K(NH- γ -Glu-AcVitE)-(hC)-TRQ(ψi-R35Y36)-Sieber

Fmoc-Glu-OtBu și acidul α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) (5 echiv. fiecare) au fost cuplate secvențial pe rășina de mai sus utilizând cuplările mediate de HBTU/DIEA sub condiții de microunde la 50°C timp de 15 - 20 min.

3. Sinteză de rășină H₂N-K(NH- γ -Glu-AcVitE)-(hC)-TRQ(ψi-R35Y36)-Sieber

Gruparea de protecție alloc a fost îndepărtată urmând procedura descrisă în **Exemplul 1**, etapa 4.

4. Analog PYY ciclic SEQ ID NO: 11

Compusul din titlu a fost preparat din rășina de mai sus urmând procedurile descrise în **Exemplul 9**, etapele 1-3, cu modificarea că un tampon 1M TRIS/HCl, pH 7,5 a fost utilizat în loc de tamponul NH₄OAc pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (21 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la 35°C. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 10% B la o concentrație intermediară de 18% B (21 mpm) după 10 min, și apoi la o concentrație finală de 33% B (10,5 mpm) peste 35 min.

Exemplul 12: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 12

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 2** substituind Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH în locul Fmoc-Arg(pbf)-OH la poziția 35 în etapa 1 și cu modificarea că un tampon 1M NaHCO₃ a fost utilizat în locul tamponului NH₄OAc pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 10 - 60% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 13: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 13

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 11**, utilizând acid palmitic în locul acidului α-tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și cu modificările că 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în loc de tamponul NH₄OAc pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 15% B la o concentrație intermediară de 20% B (100 mpm) după 5 min, și apoi la o concentrație finală de 35% B (100 mpm) peste 40 min.

Exemplul 14: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 14

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** cu restul Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalat la poziția 30 în loc de poziția 11 și cu Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH în locul Fmoc-Arg(pbf)-OH la poziția 35 în etapa 1 și cu modificarea că un tampon 1M NaHCO₃ a fost utilizat în locul tamponului NH₄OAc în etapa 6, pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 20 - 70% B (30 mpm) după 36 min. Frațiunile impure au fost repurificate pe o coloană difenil Varian Pursuit XRs (30 x 100 mm, 100Å, 5 μm) la rt utilizând un gradient de 30 - 50% B (30 mpm) peste 25 min.

Exemplul 15: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 15

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** cu restul Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalat la poziția 30 în loc de poziția 11, substituind Fmoc-βAla-OH în locul cuplării Fmoc-Ile-OH la poziția 3, și cu modificările că un tampon 1M NaHCO₃ a fost utilizat în locul tamponului NH₄OAc pentru a efectua ciclizarea, și cuplarea cu bromoanhidrida acetică a fost utilizată în loc de acidul *m*-bromometilbenzoic în etapa 6 (etapa 2 din **Exemplul 2**) utilizând următoarea procedură: rășina peptidei deprotejate Fmoc (0,1 mmol) a fost tratată cu o soluție de bromoanhidridă acetică (10 echiv.) în DMF (5 mL) într-un reactor cu microunde la 50°C timp de 5-10 min, în care timp reacția a fost în general determinată ca fiind completă conform unui test Kaiser cu ninhidrină. În cazurile în care cuplarea a fost determinată ca fiind incompletă, cuplarea a fost repetată cu reactivi proaspeți. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 20 - 60% B (30 mpm) peste 36 min. Frațiunile impure au fost repurificate pe o coloană difenil Varian Pursuit XRs (30 x 100 mm, 100Å, 5 μm) la rt utilizând un gradient de 30 - 50% B (30 mpm) peste 25 min.

Exemplul 16: Sinteză de analog PYYciclic SEQ ID NO: 16

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** cu restul Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalat la poziția 30 în loc de poziția 11, omițând cuplarea Fmoc-Ile-OH la poziția 3, și utilizând acidul *p*-bromometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 6 (etapa 2 din **Exemplul 2**). Suplimentar, un tampon 1M NaHCO₃ a fost utilizat în locul tamponului NH₄OAc, pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min. Frațiunile impure au fost repurificate pe o coloană difenil Varian Pursuit XRs (30 x 100 mm, 100Å, 5 μm) la rt utilizând un gradient de 30 - 50% B (30 mpm) peste 25 min.

Exemplul 17: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 17

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** cu restul Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalat la poziția 30 în loc de poziția 11 și Fmoc-Ala-OH utilizat în locul

Fmoc-Lys(Boc)-OH la poziția 4 în etapa 1. Tamponul TRIS/HCl (1M, pH 7,5) a fost utilizat în locul tamponului NH₄OAc în etapa 6 pentru a efectua ciclizare. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 20% B la o concentrație intermediară de 35% B (40 mpm) peste 5 min, și apoi la o concentrație finală de 45% B (40 mpm) peste 40 min.

Exemplul 18: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 18

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** cu restul Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalat la poziția 30 în loc de poziția 11 și Fmoc-Glu(OtBu)-OH utilizat în locul Fmoc-Lys(Boc)-OH la poziția 4 în etapa 1. Tamponul TRIS/HCl (1M, pH 7,5) a fost utilizat în locul tamponului NH₄OAc în etapa 6 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 20% B la o concentrație intermediară de 35% B (40 mpm) peste 5 min, și apoi la o concentrație finală de 45% B (40 mpm) peste 40 min.

Exemplul 19: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 19

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** cu restul Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalat la poziția 30 în loc de poziția 11, Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH în locul Fmoc-Arg(pbf)-OH la poziția 35 în etapa 1, Fmoc-Cys(trt)-OH în locul Fmoc-hCys(trt)-OH, și utilizând acidul *p*-bromometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 6 (etapa 2 din Exemplul 2).

Următoarea modificare a fost făcută în etapa 6 (etapele 3 și 4 din Exemplul 2): Peptida brută obținută înainte de ciclizare a fost purificată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min. Frațiunile care conțin produsul au fost combinate și tratate cu NaHCO₃ solid pentru a crește pH-ul la ~ 7-8; soluția rezultată a fost agitată la rt timp de 4 ore, apoi acidulată la pH 4 cu TFA. Soluția a fost concentrată până la un volum de 5 -10 mL și s-a adăugat MeCN pentru a solubiliza orice precipitat. Purificarea produsului a fost efectuată ca mai sus, cu un gradient de 20 - 60% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 20: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 20

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** cu restul Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalat la poziția 30 în loc de poziția 11, Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH în locul Fmoc-Arg(pbf)-OH la poziția 35 în etapa 1 și Fmoc-Cys(trt)-OH în locul Fmoc-hCys(trt)-OH. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 60% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 21: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 21

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** cu restul Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalat la poziția 30 în loc de poziția 11, Fmoc-Ala-OH utilizat în locul Fmoc-His(trt)-OH la poziția 26 și Fmoc-Ala-OH utilizat în locul Fmoc-Lys(Boc)-OH la poziția 4 în etapa 1. Tamponul TRIS/HCl, (1M, pH 7,5) a fost utilizat în locul tamponului NH₄OAc în etapa 6 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 20% B la o concentrație intermediară de 35% B (40 mpm) peste 5 min, și apoi la o concentrație finală de 45% B (40 mpm) peste 40 min.

Exemplul 22: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 22

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în **Exemplul 4** cu restul Lys(NH-γ-Glu-Pal) instalat la poziția 30 în loc de poziția 11, Fmoc-Ala-OH utilizat în locul Fmoc-His(trt)-OH la poziția 26 și Fmoc-Glu(OtBu)-OH utilizat în locul Fmoc-Lys(Boc)-OH la poziția 4 în etapa 1. Tamponul TRIS/HCl, (1M, pH 7,5) a fost utilizat în locul tamponului NH₄OAc în etapa 6 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 20% B la o concentrație intermediară de 33% B (40 mpm) peste 5 min, și apoi la o concentrație finală de 43% B (40 mpm) peste 40 min.

Exemplul 23: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 23

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 11**, utilizând acid octadecanedioic, mono-terț-butil ester (disponibil de la AstaTech, Inc.) în loc de acid α-tocoferylloxiacetic (AcVitE) (8), un protocol de cuplare utilizând HATU/DIEA la 50°C timp de 30 min și NMP ca solvent în loc de DMF în etapa 2, și cuplarea a două unități de Fmoc-OEG-OH în tandem înainte

de cuplarea Fmoc-Glu-OtBu, în etapa 2. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 60% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 24: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 24

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 23**, utilizând acid 20-(terț-butoxi)-20-oxoicosanoic (disponibil de la Key Organics, Inc.) în loc de acidul octadecanedioic, mono-terț-butil ester. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 60% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 60% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 25: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 25

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 11**, utilizând acid stearic în locul acidului α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8), un protocol de cuplare utilizând HATU/DIEA la 50°C timp de 30 min și NMP ca solvent în loc de DMF în etapa 2. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 80% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 80% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 26: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 26

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 11**, utilizând acid arahidic în locul acidului α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8), un protocol de cuplare utilizând HATU/DIEA la 50°C timp de 30 min și NMP ca solvent în loc de DMF în etapa 2. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 90% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 90% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 27: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 27

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 23**, dar omițând cuplarea Fmoc-Glu-OtBu după tandemul cuplărilor Fmoc-OEG-OH. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 60% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 60% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 28: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 28

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 11**, utilizând acid palmitic în locul acidului α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8), omițând cuplarea Fmoc-Ile-OH la poziția 3, și utilizând acidul *p*-bromometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 60% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 60% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 29: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 29

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 11**, utilizând acid palmitic în locul acidului α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8), substituind Fmoc- β Ala-OH în locul Fmoc-Ile-OH la poziția 3, și cuplare bromoanhidridă acetică în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2), utilizând modificarea descrisă în **Exemplul 15**. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 60% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 60% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 30: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 30

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 11**, utilizând acid palmitic în locul acidului α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8), substituind Fmoc-A β -OH în locul Fmoc-Ile-OH la poziția 3, și cuplarea bromoanhidridă acetică în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2), utilizând modificarea descrisă în **Exemplul 15**. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 60% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 60% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 31: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 31

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 23**, utilizând acid stearic în locul acidului octadecanedioic, mono-terț-butil ester. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 60% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 60% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 32: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 32

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 11**, utilizând acid palmitic în locul acidului α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, Fmoc-Ala-OH

utilizat în locul Fmoc-His(trt)-OH la poziția 26 și Fmoc-Ala-OH utilizat în locul Fmoc-Lys(Boc)-OH la poziția 4 în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 1). Tamponul TRIS/HCl, (1M, pH 7,5) a fost utilizat în locul tamponului NH₄OAc în etapa 6 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 20% B la o concentrație intermediară de 35% B (40 mpm) peste 5 min, și apoi la o concentrație finală de 45% B (40 mpm) peste 40 min.

Exemplul 33: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 33

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 11**, utilizând acid palmitic în locul acidului α-tocoferiloxiacetic (AcVitE) (**8**) în etapa 2 și Fmoc-N(Me)-Gln(trt)-OH în locul Fmoc-Gln(trt)-OH la poziția 34 în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 1). În acest caz, cuplările au fost efectuate la rt utilizând NMP ca solvent și un protocol HATU/DIEA (1 oră, o singură cuplare); Fmoc-N(Me)-Gln(trt)-OH și Fmoc-Arg(pbf)-OH au fost dublu cuplate. Un protocol de deprotejare Fmoc în două etape a fost utilizat pe parcurs (20% piperidină în DMF; rt; 10 min, 15 min). Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 70% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 34: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 34

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 11**, utilizând acid palmitic în locul acidului α-tocoferiloxiacetic (AcVitE) (**8**), substituind Fmoc-Cys(trt)-OH în locul Fmoc-hCys(trt)-OH la poziția 31, acidul 6-Fmoc-aminohexanoic în locul Fmoc-Ile-OH la poziția 3, și cuplarea bromoanhidridă acetică în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2), utilizând modificarea descrisă în **Exemplul 15**. NaHCO₃ (2N) apos a fost utilizat în locul tamponului NH₄OAc pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 35: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 35

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 9**, cu următoarele modificări: Fmoc-*psi*-[N-Me-Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH, preparat din Fmoc-N-Me-Arg(pbf)-OH în locul Fmoc-Arg(Pbf)-OH, în conformitate cu procedura descrisă în **Exemplul 1**, etapa 1, a fost utilizat în locul Fmoc-*psi*-[Arg(Pbf)-N(Boc)Tyr(tBu)]-OH (**6**) pentru a prepara rășina Sieber încărcată utilizată aici; Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (din peptidă activă) a fost utilizat în loc de Leu la poziția 30; acidul *m*-clorometilbenzoic a fost utilizat în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 2; cuplările au fost efectuate la rt utilizând NMP ca solvent și a fost utilizat un protocol HATU/DIEA (1 oră, o singură cuplare); Fmoc-Arg(pbf)-OH a fost dublu cuplat. A fost utilizat un protocol de deprotejare Fmoc în două etape prin (20% piperidină în DMF; rt; 10 min, 15 min). Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 70% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 36: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 36

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 35**, substituind Fmoc-βAla-OH în locul Fmoc-Ile-OH la poziția 3, și cuplarea bromoanhidridă acetică în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2), utilizând modificarea descrisă în **Exemplul 15**. Prelucrarea modificată din exemplul 19 a fost omisă. Fmoc-βAla-OH a fost cuplat sub condiții de microunde la 50°C timp de 20 min. NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în locul tamponului NH₄OAc pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 37: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 37

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 9**, substituind Fmoc-Cys(trt)-OH în locul Fmoc-hCys(trt)-OH la poziția 31 și Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (din peptidă activă) în locul Fmoc-Leu-OH la poziția 30. În plus, Fmoc-Abu-OH a fost apendat pe secvență la poziția 2, în etapa 1, și a fost utilizată cuplarea cu bromoanhidridă acetică în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 2, utilizând modificarea descrisă în **Exemplul 15**. NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în loc de tamponul NH₄OAc în etapa 3 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 38: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 38

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 35**, cu următoarele modificări: Fmoc-βAla-OH a fost apendat pe secvență la poziția 2, urmând etapa 1 utilizând condiții de microunde la 50°C timp de 20 min, și a fost utilizată cuplarea cu bromoanhidridă acetică în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 2, utilizând modificarea descrisă în **Exemplul 15**. NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în locul tamponului NH₄OAc pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 20 - 80% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 39: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 39

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 11**, utilizând acid arachidic în locul acidului α-tocoferylxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2. Fmoc-Ser(tBu)-OH a fost utilizat în locul Fmoc-Lys(Boc)-OH la poziția 4 în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 1) și acidul *m*-clorometilbenzoic a fost utilizat în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în loc de tamponul NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 20% B la o concentrație intermediară de 25% B (100 mpm) peste 5 min, și apoi la o concentrație finală de 40% B (100 mpm) peste 40 min.

Exemplul 40: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 40

1. Sinteză de rășină (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNK(Dde)-(azido-norLeu)-TRQ(ψi-R35Y36)-Sieber

Extensiile de aminoacizi pe rășina (ψi-R35, Y36)-Sieber preîncărcată din Exemplul 1, etapa 2 (0,1 mmol) au fost efectuate la rt utilizând NMP ca solvent, un exces de 5 ori de aminoacizi protejați și un protocol HATU/DIEA (1 oră, cuplare singură); Fmoc-Arg(pbf)-OH și Fmoc-His(trt)-OH au fost dublu cuplate. A fost utilizat un protocol de deprotejare Fmoc în două etape prin (20% piperidină în DMF; rt; 10 min, 15 min).

2. Sinteză de rășină (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNK(NH₂)-(azido-norLeu)-TRQ(ψi-R35Y36)-Sieber

Rășina de mai sus a fost tratată cu 2% hidrazină în DMF (scară 12 mL/0,2 mmol) timp de 2 min la rt și apoi amestecul a fost drenat. Această procedură a fost repetată ca. 4x, după care rășina a fost spălată extensiv cu DMF și apoi DCM.

3. Sinteză de rășină (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNK((OEG)₂-γ-Glu-Pal)-(azido-norLeu)-TRQ(ψi-R35Y36)-Sieber

Rășina de mai sus a fost cuplată cu acidul (S)-10,19-dioxo-22-palmitamido-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazatricosanedioic acid (5 echiv.) [preparat în conformitate cu procedura descrisă pentru sinteza intermediarului 3, substituind acidul palmitic în locul acidului 18-terț-butoxi-18-oxooctadecanoic în etapa G], utilizând un protocol HBTU/DIEA la rt timp de 1,5 ore. Rășina a fost drenată și spălată extensiv cu DMF și DCM.

4. Sinteză de (HCCH(CH₂)₂CONH)-IKPEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNK ((OEG)₂-γ-Glu-Pal)-(azido-norLeu)-TRQ(ψi-R35Y36)-CONH₂

Rășina uscată a fost tratată cu o soluție de 2 % TFA în DCM (20 mL) și amestecată timp de 20 min, apoi filtrată. Acest tratament a fost repetat de încă 2 ori utilizând cocktail proaspăt pentru fiecare tratament. Filtratele combinate au fost apoi combinate și concentrate pentru a da peptida protejată brută ca spumă galbenă. Această spumă a fost tratată cu 20 mL de cocktail de clivare (TFA/H₂O/TIPS = 95/2,5/2,5) la rt timp de 2,5 ore și apoi concentrată sub un curent de azot până la un volum de aproximativ 2,5 mL. S-a adăugat apoi eter rece (40 mL) pentru a precipita peptida și amestecul a fost centrifugat (5 min; 5000 rpm) și decantat. Acest procedeu a fost repetat de încă 2 ori pentru a da peptida brută ca o pulbere albicioasă.

Alternativ, rășina a fost tratată cu cocktail de clivare fără tratament anterior cu 1 -2 % TFA în DCM, pentru a da direct peptida deprotejată complet. Peptida brută a fost purificată prin HPLC preparativă cu fază inversă utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 μm). Faza mobilă a constat din eluarea gradientului de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 20 - 70% B peste 36 min. Detecția UV a fost monitorizată la 220 și 254 nm. Frațiunile care conțin produsul au fost analizate prin HPLC analitică pe un sistem HPLC Agilent 1100 utilizând același tip de coloană ca mai sus (4,6 x 250 mm, 5 μm). Frațiunile pure au fost combinate, și apoi liofilizate pentru a da produsul ca solid asemănător bumbacului. LCMS: 1211,8 (M+4H)/4, 1615,4 (M+3H)/3 și 2422,9 (M+2H)/2 pentru maximul produsului la 16,87 min (LC: coloană Atlantis T3 C18, 5 μm, 4,6 X 250 mm, 1,0 mL/min, gradient 30-60%).

5. Analog PYY ciclic SEQ ID NO: 40

Se prepară 5,1 mg de CuSO₄ în 1 mL H₂O. Se prepară 10,4 mg de TBTA în 3 mL de EtOH. Se preamestecă 400 µL de soluție CuSO₄ și 3 mL soluție TBTA. Se prepară 13 mg de ascorbat de Na în 2 mL de H₂O.

La o soluție de peptidă purificată care conține azido din etapa 4 (37mg) în 4 mL de HEPES (0,1M, pH 7,4) s-au adăugat 1,7 mL de soluție CuSO₄/TBTA preamestecată urmată de 1 mL de soluție de ascorbat de Na. Se ajustează raportul EtOH/H₂O până când soluția de reacție a devenit clară. Amestecul a fost agitat la rt și monitorizat prin HPLC. După 30 min, reacția a fost completă. Amestecul a fost ajustat la pH 4 și purificat prin HPLC preparativă cu fază inversă. Purificările au fost efectuate utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100Å, 5 µm). Faza mobilă a constat din eluarea gradientului de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 20 - 60% B peste 36 min. Detectia UV a fost monitorizată la 220 și 254 nm. Frațiunile care conțin produsul au fost analizate prin HPLC analitică pe un sistem HPLC Agilent 1100 utilizând același tip de coloană ca mai sus (4,6 x 250 mm, 5 µm). Frațiunile pure au fost combinate, și apoi liofilizate pentru a da produsul ca solid asemănător bumbacului.

Exemplul 41: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 41

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura descrisă în Exemplul 40, substituind acidul L-glutamic, N-(1-oxohexadecil)-, 1-(1,1-dimetiletil) ester în locul acidului (S)-10,19-dioxo-22-palmitamido-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazatricosanedioic, în etapa 3.

Exemplul 42: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 42

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura descrisă în Exemplul 40, substituind acidul (S)-22-(terț-butoxicarbonil)-43,43-dimetil-10,19,24,41-tetraoxo-3,6,12,15,42-pentaoxa-9,18,23-triazatetratetracontan-1-oic (16) (intermediar 2) în locul acidului (S)-10,19-dioxo-22-palmitamido-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazatricosanedioic, în etapa 3.

Exemplul 43 Sinteză analog PYY ciclic SEQ ID NO: 43

1. Sinteză de rășină (Alloc)Lys((OEG)₂-γ-Glu-NH₂)-(hC)-TRQ(ψi-R35Y36)-Sieber

Extensiile de aminoacizi pe rășina (ψi-R35, Y36)-Sieber preîncărcată din Exemplul 1, etapa 2 (0,1 mmol) au fost efectuate la rt utilizând NMP ca solvent, un exces de 5 ori de aminoacizi protejați și un protocol HATU/DIEA (1 oră, cuplare singură); Fmoc-Arg(pbf)-OH a fost dublu cuplat. A fost utilizat un protocol de deprotezare Fmoc în două etape prin (20 % piperidină în DMF; rt; 10 min, 15 min).

2. Sinteză de rășină (Alloc)Lys((OEG)₂-γ-Glu-Pal)-(hC)-TRQ(ψi-R35Y36)-Sieber

Acidul palmitic a fost cuplat pe rășina din etapa 1, utilizând condiții de microunde utilizând HATU/DIEA la 50°C timp de 20 - 30 min și NMP ca solvent.

3. Sinteză de rășină (H₂N)Lys((OEG)₂-γ-Glu-Pal)-(hC)-TRQ(ψi-R35Y36)-Sieber

Gruparea de protecție alloc a rășinei de mai sus a fost îndepărtată urmând procedura descrisă în Exemplul 1, etapa 4.

4. Analog PYY ciclic SEQ ID NO: 43

Compusul din titlu a fost preparat din rășina de mai sus urmând procedurile descrise în Exemplul 9, etapele 1-3, utilizând acidul m-clorometilbenzoic în locul acidului m-bromometilbenzoic în etapa 2. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în Exemplul 19, utilizând un gradient de 20 - 60% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 60% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 44 Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 44

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în Exemplul 43, modificate astfel încât unitățile Fmoc-OEG-OH tandem și unitatea Fmoc-Glu-OtBu au fost încorporate în etapa 2 în loc de etapa 1. A fost utilizat acidul octadecanedioic, mono-terț-butil ester (AstaTech, Inc.) în locul acidului palmitic în etapa 2 și secvența liant-lipidă a fost instalată la poziția 11 în loc de poziția 30. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în Exemplul 19, utilizând un gradient de 20 - 70% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 45 Sinteză analog PYY ciclic SEQ ID NO: 45

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în Exemplul 43, modificate astfel încât Fmoc-dPEG24-acid carboxilic a fost utilizat în locul unităților Fmoc-OEG-OH tandem și a fost, împreună cu acidul palmitic, încorporat în etapa 2. Secvența liant-lipidă a fost instalată la poziția 11 în loc de poziția 30. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în Exemplul 19, utilizând un gradient de 20 - 90% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 90% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 46 Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 46

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în Exemplul 9, utilizând Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (din peptidă activă) în loc de Leu la poziția 30. În plus, Fmoc-βAla-OH a fost apendat pe secvență la poziția 2, după etapa 1 utilizând condiții de microunde la 50°C timp de 20 min, și a fost utilizată cuplarea cu bromoanhidridă acetică în locul acidului m-

bromometilbenzoic în etapa 2, utilizând modificarea descrisă în **Exemplul 15**. Peptida liniară brută solidă a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 70% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

5 **Exemplul 47 Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 47**

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 44**, instalând secvența liant-lipidă la poziția 7 în loc de poziția 11. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Varian Pursuit XRs C18 (30 x 250 mm, 100 Å, 5 μm) la rt. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 60% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 60% B (30 mpm) peste 36 min.

10 **Exemplul 48 Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 48**

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 43**, utilizând acid octadecanedioic, mono-terț-butil ester (AstaTech, Inc.) în loc de acid palmitic în etapa 2 cu un timp de cuplare de 30 min, și instalând secvența liant-lipidă la poziția 22 în loc de poziția 30. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 70% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

15 **Exemplul 49 Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 49**

Compusul din titlu a fost preparat urmând procedurile descrise în **Exemplul 11**, substituind acidul 16-tetrahidropiran-2-iloxipalmitic în locul acidului α-tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și utilizând acid *m*-clorometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în locul tamponului NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 20% B la o concentrație intermediară de 10% B (100 mpm) peste 5 min, și apoi la o concentrație finală de 30% B (100 mpm) peste 40 min.

20 **Exemplul 50 Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 50**

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 48**, și instalând secvența liant-lipidă la poziția 23 în loc de poziția 30.

25 **Exemplul 51 Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 51**

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 9**, utilizând Fmoc-Lys(Pal-Glu-OtBu)-OH (din peptida activă) în loc de Fmoc-Leu-OH la poziția 30 și Fmoc-Ser(tBu)-OH în loc de Fmoc-Lys(Boc)-OH la poziția 4, în etapa 1. 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în loc de tamponul NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 10% B la o concentrație intermediară de 20% B (100 mpm) peste 5 min, și apoi la o concentrație finală de 30% B (100 mpm) peste 40 min. Frațiunile impure au fost recromatografiate utilizând un gradient format dintr-o concentrație inițială de 10% B la o concentrație intermediară de 20% B (100 mpm) peste 5 min, și apoi la o concentrație finală de 30% B (100 mpm) peste 60 min.

30 **Exemplul 52 Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 52**

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 43**, utilizând Fmoc-dPEG12-acid carboxilic în locul unităților Fmoc-OEG-OH tandem și încorporându-l împreună cu Fmoc-Glu-OtBu și acidul palmitic în etapa 2. Secvența liant-lipidă a fost instalată la poziția 11 în loc de poziția 30. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 70% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

35 **Exemplul 53 Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 53**

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 52**, utilizând patru unități de Fmoc-OEG-OH în tandem în loc de Fmoc-dPEG12-acid carboxilic.

40 **Exemplul 54 Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 54**

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 53**, instalând două unități de Fmoc-OEG-OH în tandem în loc de două.

45 **Exemplul 55 Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 55**

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 43**, instalând secvența liant-lipidă la poziția 23 în loc de poziția 30. Peptida liniară brută a fost purificată

și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 70% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 56: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 56

Compusul din titlu a fost preparat utilizând metodele descrise în **Exemplul 11**, substituind acidul (4'-clorobifenil-4-il)-acetic în locul acidului α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și utilizând acid *m*-clorometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în loc de tamponul NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μ m) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la 10 - 28% B (100 mpm) peste 40 min.

Exemplul 57: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 57

Compusul din titlu a fost preparat urmând procedurile descrise în **Exemplul 11**, substituind acidul 3-[(2,4-diclorofenoxi)fen-4-il]propionic în locul acidului α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și utilizând acid *m*-clorometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în locul tamponului NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μ m) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la 10 - 30% B (80 mpm) peste 40 min. Frațiunile care conțin produsul au fost combinate, acidulate cu TFA, concentrate și recromatografiate pe o coloană Agilent Polaris C18-A (30 x 250 mm, 100Å, 5 μ m) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la o concentrație inițială de 20% B la o concentrație intermediară de 15 %B (40 mpm) la o concentrație finală de 45% B (40 mpm) peste 45 min.

Exemplul 58: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 58

Compusul din titlu a fost preparat urmând procedurile descrise în **Exemplul 11**, substituind acidul 11-(4-fluorofenil)undecanoic în locul acidului α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și utilizând acid *m*-clorometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în locul tamponului NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μ m) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la 15 - 35% B (100 mpm) peste 40 min.

Exemplul 59: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 59

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 43**, omițând etapa 2 și încorporând cuplarea acidului palmitic în etapa 1. Secvența liant-lipidă a fost instalată la poziția 22 în loc de poziția 11. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 70% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 70% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 60: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 60

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 53**, încorporând două unități FMOC-OEG-OH în tandem în loc de patru și instalând secvența liant-lipidă la poziția 7 în loc de poziția 11. Peptida liniară brută a fost purificată și ciclizată în conformitate cu modificarea descrisă în **Exemplul 19**, utilizând un gradient de 20 - 80% B. Purificarea produsului final a fost efectuată utilizând un gradient de 20 - 80% B (30 mpm) peste 36 min.

Exemplul 61: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 61

Compusul din titlu a fost preparat urmând procedurile descrise în **Exemplul 11**, substituind acidul 11-[(4-trifluorometil)fenil]undecanoic în locul acidului α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și utilizând acid *m*-clorometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în loc de tamponul NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 μ m) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la 15 - 35% B (100 mpm) peste 40 min.

Exemplul 62: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 62

Compusul din titlu a fost preparat urmând procedurile descrise în **Exemplul 11**, substituind acidul 11,11,11-trifluoroundecanoic în locul acidului α -tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și utilizând acid *m*-clorometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în locul tamponului NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost

efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la 10 - 28% B (100 mpm) peste 40 min.

Exemplul 63: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 63

Compusul din titlu a fost preparat urmând procedurile descrise în **Exemplul 11**, substituind acidul 15,15,15-trifluoropentadecanoic în locul acidului α-tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și utilizând acid *m*-clorometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în locul tamponului NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la 15 - 30% B (100 mpm) peste 40 min.

Exemplul 64: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 64

Compusul din titlu a fost preparat urmând procedurile descrise în **Exemplul 11**, substituind acidul 16-etoxipalmitic în locul acidului α-tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și utilizând acid *m*-clorometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în locul tamponului NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la 15 - 30% B (100 mpm) peste 40 min.

Exemplul 65: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 65

Compusul din titlu a fost preparat urmând procedurile descrise în **Exemplul 11**, substituind acidul 13,13,14,14,15,15,16,16,16-D₉-palmitic (izotopi Cambridge) în locul acidului α-tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și utilizând acid *m*-clorometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în locul tamponului NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la 15 - 20% B (100 mpm) peste 5 min, și apoi până la 35% B (100 mpm) peste 40 min.

Exemplul 66: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 66

Compusul din titlu a fost preparat urmând procedurile descrise în **Exemplul 11**, substituind acidul 11-[(2,4-bis(trifluorometil)fenil]undecanoic în locul acidului α-tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și utilizând acid *m*-clorometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ saturată apoasă a fost utilizată în locul tamponului NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloană Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază de la 15 - 35% B (100 mpm) peste 40 min.

Exemplul 67: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 67

Compusul din titlu a fost preparat urmând procedurile descrise în **Exemplul 11**, substituind acidul 11-[(3,5-bis(trifluorometil)fenil]undecanoic în locul acidului α-tocoferiloxiacetic (AcVitE) (8) în etapa 2, și utilizând acid *m*-clorometilbenzoic în locul acidului *m*-bromometilbenzoic în etapa 4 (**Exemplul 9**, etapa 2). 60% EtOH/H₂O a fost utilizat ca solvent în loc de MeCN/H₂O și NaHCO₃ apoasă saturată a fost utilizată în locul tamponului NH₄OAc în etapa 4 pentru a efectua ciclizarea. Purificarea produsului a fost efectuată utilizând o coloana Waters XBridge C18 OBD (50 x 250 mm, 5 µm) la rt. Faza mobilă a constat din eluarea unui gradient de tampon A (10 mM NH₄OH în apă, pH ~ 9) și tampon B (MeCN) care variază 15 - 35% B (100 mpm) peste 40 min.

Exemplul 68: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 68

1. Sinteză de rășină (Fmoc)-βA-IKPEAPGEK(Alloc)ASPEELNRYYY ASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Extensiile de aminoacizi pe rășina (*psi*-R35, Y36)-Sieber preîncărcată din Exemplul 1, etapa 2 (0,1 mmol) au fost efectuate la rt utilizând DMF ca solvent, un exces de 6 ori de aminoacizi protejați și un protocol HATU/DIEA (10 min, dublă cuplare). A fost utilizat un protocol de deprotejare Fmoc în doua etape prin (20 % piperidină în DMF; rt; 10 min, 15 min).

2. Sinteză de rășină (Fmoc)-βA-IKPEAPGEK((OEG)₂-γ-Glu-NHCO(CH₂)₁₆CO₂tBu)-ASPEELNRYYYASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Deprotejarea rășinei de mai sus a fost efectuată urmând metoda descrisă în **Exemplul 1**, etapa 4, utilizând timpi de reacție modificați de 10 min pentru fiecare tratament. Rășina a fost apoi cuplată cu intermediarul 2 (**15**) (5 echiv.), utilizând un protocol HATU/DIEA în DMF (1 oră, rt).

3. Sinteză de rășină (BrAc)-βA-IKPEAPGEK**((OEG)₂-γ-Glu-NHCO(CH₂)₁₆CO₂tBu)-ASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber**

După deprotejarea Fmoc (20 % piperidină/DMF), rășina de mai sus a fost tratată cu bromoanhidridă acetică (10 eq.; rt, 30 min) pentru a furniza rășina bromoacetilată.

4. Sinteză de (BrAc)-βA-IKPEAPGEK**((OEG)₂-γ-Glu-NHCO(CH₂)₁₆CO₂tBu)-ASPEELNRYYASLRHYLNCVTRQ(*psi*-R35Y36)-CONH₂**

Rășina de mai sus a fost tratată cu un cocktail de clivare constând din TFA/H₂O/TIPS (95:2,5:2,5) timp de 1,5 ore la rt. Peptida brută a fost precipitată cu eter urmând procedura descrisă în **Exemplul 1**, etapa 7.

5. Analog PYY ciclic SEQ ID NO: 68

Peptida brută obținută mai sus a fost dizolvată la o concentrație de 10 mg/mL în 10 % MeCN/H₂O, și s-a adăugat TEA pentru a crește pH-ul soluției până la 8-9. După agitare la rt timp de ~ 20 min, s-a adăugat TFA pentru a scade pH-ul până la 2, și soluția a fost purificată direct prin HPLC preparativă pe o coloană Kinetics C18 Evo (30 x 100 mm, 100Å, 5 μm). Faza mobilă a constat din eluarea gradientului de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 20 - 60% B peste 22 min. Detecția UV a fost monitorizată la 220 și 254 nm. Frațiunile pure au fost combinate, și apoi liofilizate pentru a da produsul ca solid asemănător bumbacului.

Exemplul 69: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 69

1. Sinteză de rășină (Boc)-G-ISPEAPGEK(dde) ASPEELNRYYASLRHYLNLE(OAll)TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber

Extensiile de aminoacizi pe rășina (*psi*-R35, Y36)-Sieber preîncărcată din **Exemplul 1**, etapa 2 (0,1 mmol) au fost efectuate la rt utilizând DMF ca solvent, un exces de 6 ori de aminoacizi protejați și un protocol HATU/NMM (10 min, dublă cuplare). A fost utilizat un protocol de deprotejare Fmoc în două etape prin (20 % piperidină în DMF; rt; 10 min, 15 min).

2. Sinteză de rășină (Boc)-G-ISPEAPGEK(dde)ASPEELNRYYASLRHYLNLE (NHS)TRQ(*psi*-R35Y36)-Sieber Rășină

Deprotejarea alloc a rășinei de mai sus a fost efectuată urmând metoda descrisă în **Exemplul 1**, etapa 4, utilizând timpi de reacție modificați de 10 min pentru fiecare tratament. Rășina a fost apoi cuplată cu NHS (10 echiv.), utilizând un protocol HATU/DIEA în DMF (1 oră, rt, dublă cuplare).

3. Sinteză de (NH₂)-G-ISPEAPGEK(dde)ASPEELNRYYASLRHYLNLE(NHS)TRQ (*psi*-R35Y36)

Rășina de mai sus a fost tratată cu un cocktail de clivare constând din TFA/H₂O/TIPS (95:2,5:2,5) timp de 1,5 ore la rt. Peptida brută a fost precipitată cu eter urmând procedura descrisă în **Exemplul 1**, etapa 7.

4. Analog PYY ciclic SEQ ID NO: 69

Peptida brută obținută mai sus a fost dizolvată la o concentrație de 80 mg/mL în DMSO, și s-a adăugat TEA (25 echiv.) pentru a efectua lactamizarea. După agitare la rt timp de ~ 30 min, reacția a fost diluată de 10 ori cu 10% MeCN/apă, pH-ul ajustat până la 2 și peptida brută purificată direct prin HPLC preparativă pe o coloană Kinetics C18 Evo (30 x 100 mm, 100Å, 5 μm). Faza mobilă a constat din gradient de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 10 - 60% B peste 22 min. Detecția UV a fost monitorizată la 220 și 254 nm. Frațiunile pure au fost combinate, și apoi liofilizate pentru a da peptida protejată K(Dde). Gruparea de protecție Dde a fost îndepărtată utilizând 2% hidrazină/DMF (10mg peptidă/ml), 30 minute la rt. Reacția a fost diluată de 10 ori cu 10% MeCN/apă, și pH-ul a fost ajustat până la 2 cu TFA și soluția peptidică brută a fost purificată ca mai sus pentru a da produsul ca solid asemănător bumbacului.

Exemplul 70: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 70

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura din **Exemplul 69**, substituind Fmoc-E(OAll)-OH cu Fmoc-Leu-OH la poziția 30 și substituind Fmoc-Val-OH cu Fmoc-E(OAll)-OH la poziția 31.

Exemplul 71: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 71

1. Sinteză de rășină (Boc)-G-ISPEAPGEK(dde)ASPEELNRYYASLRHYLN E(OAll) VTRQ(N-Me-R)Y-NovaSyn TGR

Extensiile de aminoacizi pe o rășină NovaSyn TGR (0,1 mmol) au fost efectuate utilizând procedura descrisă în **Exemplul 69**, etapa 1.

2. Analog PYY ciclic SEQ ID NO: 71

Compusul din titlu a fost preparat din rășina de mai sus în conformitate cu procedurile descrise în **Exemplul 69**, etapele 2-4.

Exemplul 72: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 72

1. Sinteză de ester (S)-22-(terț-butoxicarbonil)-43,43-dimetil-10,19,24,41-tetraoxo-3,6,12,15,42-pentaoxa-9,18,23-triazatetratetracontan-1-oic N-hidroxisuccinimidă

La o soluție de acid (S)-22-(terț-butoxicarbonil)-43,43-dimetil-10,19,24,41-tetraoxo-3,6,12,15,42-pentaoxa-9,18,23-triazatetratetracontan-1-oic (intermediar 2 (16)) (54,0 mg, 0,063 mmol), N-hidroxisuccinimidă (14,6 mg, 0,127 mmol), și HATU (24,1 mg, 0,063 mmol) în 1,0 ml de DMF s-a adăugat DIEA (0,022 ml, 0,127 mmol) și amestecul a fost agitat timp de 30 minute la RT și utilizat direct în etapa următoare fără purificare suplimentară.

2. Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 72

La o soluție de [ciclo-(G2-E30), S4, K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (preparat în Exemplul 70) (4 mg, 0,96 μmol) în DMF (0,2 mL) s-au adăugat 24 μL de soluție de N-hidroxi ester (preparată în Etapa 1), și TEA (0,66 μL; 5 echiv.) și amestecul a fost agitat peste noapte la rt. Reacția a fost diluată de 10 ori cu 10% MeCN/apă, pH-ul ajustat până la 2 cu TFA și peptida brută purificată direct prin HPLC preparativă pe o coloană Kinetics C18 Evo (30 x 100 mm, 100 Å, 5 μm). Faza mobilă a constat din eluarea gradientului de tampon A (0,1% TFA în apă) și tampon B (0,1% TFA în MeCN) care variază de la 10 - 60% B peste 22 min. Detecția UV a fost monitorizată la 220 și 254 nm. Frațiunile pure au fost combinate, și apoi liofilizate pentru a da peptida protejată t-butil ester. Grupările de protecție t-butil ester au fost îndepărtate utilizând un amestec de TFA/H₂O/TIPS (95:2,5:2,5) timp de 1,5 ore la rt. Amestecul a fost concentrat și peptida purificată ca mai sus pentru a da produsul ca solid asemănător bumbacului.

Exemplul 73: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 73

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 substituind N-Fmoc-dPEG6-acid carboxilic cu N-Fmoc-dPEG12-acid carboxilic în etapa 5.

Exemplul 74: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 74

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 dar sărind peste cuplarea cu liantul PEG din etapa 5.

Exemplul 75: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 75

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 substituind Fmoc-C(trt)-OH cu Fmoc-hC(trt)-OH la poziția 31, și sărind peste etapa de cuplare a Fmoc-βA-OH în etapa 3.

Exemplul 76: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 76

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 cu etapa 3 și etapa 4 modificate. În etapa A, Fmoc-K(Alloc)-OH și Fmoc-K(dde)-OH au fost utilizate pentru poziția 30 și respectiv poziția 11. După ce alloc la poziția 30 a fost deprotejat cu Pd(PPh₃)₄-fenilsilan, mPEG16-acid carboxilic a fost cuplat cu HATU-DIPEA. În etapa 4, dde la poziția 11 a fost îndepărtat cu 2% hidrazină în DMF.

Exemplul 77: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 77

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 76 substituind mPEG12-acid carboxilic cu mPEG16-acid carboxilic în etapa A, și sărind peste etapa de cuplare a Fmoc-dPEG12-acid carboxilic în etapa 5.

Exemplul 78: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 78

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 substituind Fmoc-N-Me-Q(trt)-OH cu Fmoc-Q(trt)-OH în etapa 3.

Exemplul 79: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 79

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 substituind Fmoc-N-Me-R(pbf)-OH cu Fmoc-R(pbf)-OH în etapa 1B.

Exemplul 80: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 80

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 79 substituind Fmoc-R(pbf)-OH cu Fmoc-K(Boc)-OH la poziția 4, și substituind Fmoc-W(Boc)-OH cu Fmoc-L-OH la poziția 30 în etapa 3.

Exemplul 81: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 81

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 80 substituind Fmoc-C(trt)-OH cu Fmoc-hC(trt)-OH la poziția 31, și substituind acidul Fmoc-γ-aminobutanoic cu Fmoc-βA-OH în etapa 3.

Exemplul 82: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 82

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 substituind Fmoc-PEG2-acid carboxilic cu Fmoc-βA-OH și Fmoc-C(trt)-OH cu Fmoc-hC(trt)-OH la poziția 31 precum și sărind peste cuplarea de Fmoc-Ile-OH în etapa 3.

Exemplul 83: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 83

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 substituind Fmoc-K(N3)-OH cu Fmoc-hC(trt)-OH la poziția 31, substituind acidul pent-4-inoic cu Fmoc-βA-OH în etapa 3, și urmând procedura de ciclizare B ca mai jos.

Procedura de ciclizare B: la o soluție de peptidă complet deprotejată cu PEG12-AcBr instalat la poziția 11 (38 mg, 0,0067 mmol) în 2 mL de HEPES (pH 7,4) s-a adăugat 1,7 mL de soluție preamestecată CuSO₄/TBTA (soluția a fost preparată prin amestecarea unei soluții de 2,2 mg de CuSO₄ în apă (0,4 mL) cu o soluție de 11 mg de TBTA în EtOH), urmată de adăugarea a 7 mg de ascorbat de sodiu în apă (1 mL). Soluția clară de reacție a fost lăsată să se amestece la temperatura camerei și a fost monitorizată prin HPLC. După 30 min, reacția a fost completă, și amestecul de reacție a fost ajustat la pH 4 utilizând TFA și supus la purificare prin HPLC (coloană Pursuit XRS 5 250x30 mm C18, rulând @ 30 mpm flux, monitorizând lungimea de undă de 214 nM, cu un gradient care variază de la 20-60% ACN-apă/apă ambele cu 0,1% TFA peste 36 minute). Frațiunea dorită a fost colectată și liofilizată.

Exemplul 84: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 84

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 sărind peste etapa de cuplare a Fmoc-βA-OH, substituind N3-PEG8-acid carboxilic cu Fmoc-dPEG12-acid carboxilic în etapa 5, și substituind cuplarea 3-(bromometil)acid benzoic cu DIC cu acilarea bromoanhidridei acetice în etapa 3, și urmând procedura de ciclizare C ca mai jos.

Procedura de ciclizare C: la o soluție de peptidă complet deprotejată (20 mg, 0,0035 mmol) în 5 mL de apă degazată, s-a adăugat soluție NaHCO₃ apoasă pentru ajustarea amestecului de reacție la pH 6,4 sau mai ridicat. După 20 min, LCMS a indicat că reacția a fost completă, și amestecul de reacție a fost ajustat la pH 4 utilizând TFA și supus la purificare prin HPLC (coloană Pursuit XRS 5 250x30 mm C18, rulând @ 30 mpm flux, monitorizând lungimea de undă de 214 nM, cu un gradient care variază de la 10-60% ACN-apă/apă ambele cu 0,1% TFA peste 36 minute). Frațiunea dorită a fost colectată și liofilizată.

După ciclizare, intermediarul ciclizat a fost supus la extensia liantului prin chimie de click urmând procedura de ciclizare B cu N-(1-bromo-2-oxo-7,10,13-trioxa-3-azaheptadecan-16-il)pent-4-inamidă, care a fost preparată prin cuplarea N-Boc-PEG4-NH₂ cu acidul pent-4-inoic utilizând HATU-DIPEA, urmată de deprotejarea Boc cu TFA și acilarea cu bromoanhidridă acetică în prezența TEA.

Exemplul 85: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 85

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 cu liantul PEG12-AcBr instalat la poziția 23 în loc de poziția 11.

Exemplul 86: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 86

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 cu liantul PEG12-AcBr instalat la poziția 22 în loc de poziția 11.

Exemplul 87: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 87

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 cu liantul PEG12-AcBr instalat la poziția 7 în loc de poziția 11.

Exemplul 88: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 88

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 substituind Fmoc-V-OH cu Fmoc-hC(trt)-OH la poziția 31, substituind Fmoc-C(trt)-OH cu Fmoc-L-OH la poziția 30, și substituind Fmoc-G-OH cu Fmoc-βA-OH în etapa 3.

Exemplul 89: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 89

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 88 sărind peste etapa 1 pentru a face dipeptida redusă, și substituind încărcarea Fmoc-Y(tBu)-OH urmată de cuplarea cu Fmoc-(N-Me)R-OH pentru încărcarea Fmoc-psi-(R35-N(Boc)-Y36)-OH în etapa 2.

Exemplul 90: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 90

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 89 substituind Fmoc-βA-OH cu Fmoc-G-OH în etapa 3.

Exemplul 91: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 91

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 89 substituind Fmoc-hC(trt)-OH cu Fmoc-C(trt)-OH la poziția 30 în etapa 3.

Exemplul 92: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 92

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 90 substituind Fmoc-hC(trt)-OH cu Fmoc-V-OH la poziția 31, și substituind Fmoc-L-OH cu Fmoc-C(trt)-OH la poziția 30 în etapa 3.

Exemplul 93: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 93

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 substituind Fmoc-V-OH cu Fmoc-hC(trt)-OH la poziția 31, substituind Fmoc-C(trt)-OH cu Fmoc-L-OH la poziția 30, și substituind Fmoc-G-OH cu Fmoc-βA-OH la N-terminal în etapa 3.

Exemplul 94: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 94

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 substituind Fmoc-V-OH cu Fmoc-hC(trt)-OH la poziția 31 și substituind Fmoc-C(trt)-OH cu Fmoc-L-OH la poziția 30 în etapa 3.

Exemplul 95: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 95

Compusul din titlu a fost preparat (scară 0,05 mmol) în conformitate cu procedurile cum s-au descris în Exemplul 1 substituind Fmoc-V-OH cu Fmoc-hC(trt)-OH la poziția 31, substituind Fmoc-Glu(OAlloc)-OH cu Fmoc-L-OH la poziția 30, substituind Fmoc-Lys(dde)-OH cu Fmoc-Lys(Alloc)-OH la poziția 11, substituind Fmoc-Ser(tBu)-OH cu Fmoc-K(Boc)-OH în poziția 4 și substituind Boc-G-OH cu Fmoc-βA-OH la N-terminal în etapa 3.

La rășina rezultată de mai sus s-a adăugat DCM dezoxigenat (10 mL), fenilsilan (10 echiv.) și o soluție de Pd(PPh₃)₄ (0,2 echiv.) în DCM (1 mL) și amestecul a fost agitat timp de 10 minute. Reacția a fost drenată și rășina a fost spălată cu DCM dezoxigenat și deprotejarea a fost repetată încă odată.

La rășina rezultată de mai sus s-a adăugat DMF (10 mL), HATU (5 echiv.), și DIEA (10 echiv.) și amestecul a fost agitat timp de 5 minute apoi s-a adăugat o soluție de N-hidroxisuccinimidă (10 echiv.) în DMF și s-a agitat timp de încă 20 minute suplimentare. Rășina a fost filtrată și procedura repetată încă odată.

Rășina de mai sus a fost deprotejtată timp de 2 ore la RT în TFA/TIPS/apă (95/2,5/2,5)(10 mL). Cocktailul de clivare a fost concentrat la aprox. 1 mL și apoi s-au adăugat până la 40 mL de eter. Precipitatul rezultat a fost colectat prin centrifugare și uscat sub N₂.

Materialul rezultat de mai sus a fost dizolvat în 9 mL de DMSO la care s-au adăugat 10 echiv. de TEA și reacția a fost lăsată să se desfășoare timp de 3 ore la RT. Soluția rezultată a fost diluată până la 30 mL cu apă, pH-ul ajustat până la 2 și purificat prin RP-HPLC pe o coloană 30 mm x 250 mm C18 eluând cu un gradient liniar de 20-40% ACN în apă (0,1% TFA) în 30 minute. Frațiunile conținând produsul au fost liofilizate.

Materialul rezultat de mai sus a fost apoi tratat cu 1-2% hidrazină/DMF (1 mL) pentru a îndepărta Dde de lizină. Amestecul rezultat a fost diluat până la 10 mL cu apă, pH-ul ajustat până la 2 și apoi purificat prin RP-HPLC ca mai sus.

Produsul rezultat a fost apoi dizolvat în 10% ACN/apă, pH-ul ajustat până la 10, și s-a adăugat o soluție de ester bromoacetic N-hidroxisuccinimidă (3 echiv. de 0,1M/DMF soln) și reacția a fost lăsată să se desfășoare timp de 10 minute la RT. Amestecul rezultat a fost diluat până la 10 mL cu apă, pH-ul ajustat până la 2 și apoi purificat prin RP-HPLC ca mai sus pentru a da produsul din titlu.

Exemplul 96: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 96

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 substituind N-Fmoc-dPEG24-acid carboxilic cu N-Fmoc-dPEG12-acid carboxilic în etapa 5.

Exemplul 97: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 97

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 1 substituind Fmoc-G-OH cu Fmoc-βA-OH în etapa 3.

Exemplul 98: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 98

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 89 dar sărind peste etapa de cuplare a Fmoc-dPEG12-acid carboxilic în etapa 5.

Exemplul 99: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 99

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 90 dar sărind peste etapa de cuplare a Fmoc-dPEG12-acid carboxilic în etapa 5.

Exemplul 100: Sinteză de analog PYY ciclic SEQ ID NO: 100

Compusul din titlu a fost preparat în conformitate cu procedura cum s-a descris în Exemplul 94 dar sărind peste etapa de cuplare a Fmoc-dPEG12-acid carboxilic în etapa 5.

Exemplul 101: Identificarea și producția de mAb MSCB97

Selecția PH9L3 VL și PH9H5 VH ca regiuni V de început pentru modificări genetice

Regiunea variabilă a lanțului ușor al anticorpului (VL) denumită PH9L3 (SEQ ID NO: 128) (Teplyakov și colab., „Structural diversity in a human antibody germline library“, mAbs Aug-Sep 8(6):1045-63 (2016)) și regiunea variabilă a lanțului greu al anticorpului (VH) denumită PH9H5 (SEQ ID NO: 129) (Teplyakov și colab., „Structural diversity in a human antibody germline library“, mAbs Aug-Sep 8(6):1045-63 (2016)) au fost selectate ca regiuni variabile de început din care este permisă modificarea genetică a unui mAb pentru conjugarea peptidei. PH9L3 este cuprins complet de secvențele genei V a liniei germinale Ig umane și ca atare nu conține nici una din mutațiile de secvență din procesul de maturarea afinității *in vivo* care ar conduce la afinitate ridicată, legare specifică la antigen. CDR3 a PH9H5 este singurul segment necuprins de secvențele genei V a liniei germinale umane în acea VH. CDR3 a PH9H5 este dintr-un anticorp CCL2 anti-uman, CNTO 888 și este prevăzută de SEQ ID NO: 130. A fost generată o Fab conținând perechea VH/VL PH9H5/PH9L3.

PH9L3, PH9H5 și secvențele regiunii V și regiunii J ale liniei germinale Ig umane la care acestea au fost cel mai similar aliniate pentru a determina identitatea de secvență sau similaritatea cu secvențele liniei germinale. PH9H5 a fost aliniat la o concatenare (SEQ ID NO:131) a genelor liniei germinale Ig umane IGHV3-23*01 (PubMed ID: M99660) (SEQ ID NO:132) și IGHJ1*01 umană (PubMed ID: J00256) (SEQ ID NO: 133), cu singura diferență între secvența de aminoacizi a PH9H5 și

secvența IGHV3-23*01-IGHJ1*01 umană concatenată fiind la VH CDR3, care a fost SEQ ID NO:130 pentru PH9H5.

PH9L3 a fost aliniată la o concatenare (SEQ ID NO:134) a genelor liniei germinale Ig umane IGKV3-11*01 (PubMed ID: X01668) (SEQ ID NO:135) și IGKJ1*01 (PubMed ID: J00242) (SEQ ID NO: 136), cu singura diferență fiind o deviație în joncțiunea genă V/genă J.

Conceperea și generarea variantelor substituite Cys ale PH9H5 și PH9L3

Variantele de PH9H5 VH care conțin o singură substituție Cys la resturile CDR selectate de-a lungul tuturor celor trei regiuni CDR ale regiunii V au fost concepute, generate și clonate ca lanțuri grele complete a regiunii constanțe IgG1 umane la un vector de expresie gazdă de mamifer. Structura Fab PH9H5/PH9L3 a fost utilizată pentru a ajuta în selecția resturilor CDR pentru substituția care apare mai accesibilă pentru conjugare și în unele din variante, resturile suplimentare de glicină (Gly) au fost inserate pe orice parte a resturilor Cys introduse pentru a crește potențial accesibilitatea Cys pentru conjugare. Variante similare de PH9L3 VL au fost concepute și generate cu excepția celor care au fost clonate ca lanțuri ușoare complete cu o regiune constantă kapa umană în vectorul de expresie. Au fost generate un total de 24 de construcții de expresie ale variantelor Cys singure PH9H5 și 22 de construcții de expresie ale variantelor Cys singure PH9L3. Resturile selectate pentru substituții în PH9H5_VH (SEQ ID NO: 129) și în PH9L3_VL (SEQ ID NO: 128) sunt rezumate în Figura 2.

Construcțiile de expresie generate au fost utilizate pentru a exprima variante Cys prin cotransfectarea tranzitorie a fiecărei construcții de variantă Cys HC pe bază de PH9H5 cu construcția LC PH9L3 de tip sălbatic sau prin cotransfectarea fiecărei construcții de variantă Cys LC pe bază de PH9L3 cu construcția HC PH9H5 de tip sălbatic. Transfecțiile de testare inițiale au utilizat Expi293 derivat HEK ca gazdă de expresie și au fost la scara de 20ml. Majoritatea ambelor variante Cys HC și LC au exprimat bine pe baza cuantificării proteinei variante din supernatantul de cultură.

Cinci variante Cys HC inițiale, MSCB33-MSCB37, au fost exprimate în Expi293 la scară de 750 ml și proteinele variantă purificate. Randamentul de purificare și proprietățile de calitate ale variantelor purificate au fost destul de similare și suficient pentru utilizarea proteinelor purificate în reacțiile de conjugare ale peptidei inițiale.

Evaluarea conjugării peptidei la variantele Cys HC pe bază de PH9H5

Determinarea masei analitice a proteinei MSCB33 și altor proteine variantă a indicat prezența aducțiilor de cisteină la Cys modificat genetic pentru conjugare, cu două pe mAb, precum și îndepărtarea restului Lys C-terminal HC, care este văzut în mod obișnuit în mAb-urile produse recombinant. Pentru a prepara mAb-urile variantă pentru conjugare, aducțiile au fost îndepărtate printr-un procedeu de reducere dezvoltat pentru a menține legăturile disulfură native în mAb (vezi Exemplul 103). Conjugările testate inițial cu un analog de peptidă oxintomodulin uman (OXM) (GCG Aib2, Glu16,24, Arg20, Leu27, Lys30-ε-(PEG₁₂)-NH₂) au fost făcute utilizând chimie maleimidică pe toate cele cinci mAb-uri variantă Cys HC. Eficiența conjugării a diferit între variantele mAb, care a fost estimată calitativ prin produsele de reacție conjugate și procentajul relativ al fiecăruia. Cea mai mare eficiență, după cum s-a măsurat prin cel mai mare procentaj al produsului homodimer, a fost observată cu MSCB33, în comparație cu celelalte variante I102C care conțin resturi Gly pe flancuri, și o mică sau nici o conjugare nu a fost observată cu variantele Y103C MSCB35 sau MSCB37.

Câteva alte variante Cys HC și LC, cu substituții de cisteină modificate genetic în diferite regiuni CDR (o substituție T28C, S30C, și S54C în PH9H5_VH (SEQ ID NO: 129), și o substituție S30C și S92C în PH9L3_VL (SEQ ID NO: 128)) au fost exprimate pe scară largă în Expi293. Îndepărtarea aducțiilor Cys din aceste proteine purificate prin reducere a fost provocatoare și aceste variante nu au fost urmărite în continuare. Din cauza provocărilor observate cu majoritatea variantelor Cys și bunei eficiențe de conjugare inițială observată cu mAb-ul variantă PH9H5 I102C, MSCB33, dezvoltarea procedurii și eforturile suplimentare de modificare genetică s-au concentrat pe această variantă particulară.

Modificarea genetică Fc a MSCB33

MSCB33 a fost remodificat genetic pentru a conține Fc IgG4_PAA silențioasă, umană pentru a reduce funcția Fc *in vivo*. IgG4_PAA umană are mutațiile S228P/F234A/L235A pe alotipul IgG4 uman nG4m(a) (pe baza alelelor IGHG4*01 cum s-a definit în IMGT). O construcție de expresie cu VH a MSCB33 fuzionat la Fc IgG4_PAA a fost generată și utilizată împreună cu aceeași construcție de expresie LC utilizată pentru expresia MSCB33 pentru a produce varianta IgG4_PAA a MSCB33, care este denumită MSCB97. Secvențele de aminoacizi ale MSCB97 VH, HC, VL, și LC sunt furnizate de SEQ ID NO: 137, 138, 139, și respectiv 140.

Expresia testată de MSCB97 a fost făcută tranzient la scară de 20 ml în celule Expi293 și această variantă mAb a exprimat bine. MSCB97 a fost purificat dintr-o scară largă, rulând expresia Expi293. Randamentul de purificare al MSCB97 a fost 264,53 mg/L, și calitatea a fost determinată la 85% specii de monomer. Rulările și purificările de expresie ulterioare pe scară largă au fost similare sau mai bune în randament și calitate și au indicat consistența cu care acest mAb ar putea fi produs.

Evaluarea conjugării peptidei la MSCB97 și scalabilitatea reacției de conjugare

Conectivitatea disulfurii LC-HC diferă între izotipurile IgG1 și IgG4, astfel încât reducerea și conjugarea maleimidă au fost testate și confirmate ca fiind translatable de la MSCB33 mAb IgG1 la MSCB97 mAb IgG4_PAA utilizând reducerea TCEP și conjugarea peptidei de testare OXM-maleimidă descrisă mai sus. Legătura care rezultă din conjugarea maleimidă este cunoscută a fi potențial reversibilă, astfel încât chimia de conjugare bromoacetamidă, care produce o legătură mai stabilă, a fost adoptată și implementată cu succes pe o scară de 10 mg pe baza MSCB97 de început.

Conjugatul MSCB97 al analogului OXM GCG Aib2, Glu16,24, Arg20, Leu27, Lys30-ε-(PEG₁₂)-NH₂ (MSCB97-OXM1) generat prin chimia bromoacetamidă a fost testat pentru a determina potențele GLP-1R și GCGR *in vitro*. Potențele față de peptidele de referință și conjugatii polipeptidici nestructurați de referință au fost rezonabile și similare cu cele ale conjugatului generat cu aceeași peptidă la MSCB33 (IgG1). Acest lucru a demonstrat că singura diferență între MSCB97 (IgG4_PAA) și MSCB33 (IgG1), care este izotip, nu a avut impact asupra potenței conjugatilor conținând aceeași peptidă. Suplimentar, aceste date au arătat că potențele dorite *in vitro* ar putea fi reținute într-un conjugat peptidă-mAb generat cu chimie bromoacetamidă care produce o legătură care este stabilă *in vivo*. Alți analogi OXM au fost de asemenea conjugati la MSCB97 și potențele *in vitro* ale acestor conjugati testați. Acești conjugati au avut potențe GLP-1R și GCGR similare cu MSCB97-OXM1, subliniind abilitatea de a conjuga o varietate de peptide la MSCB97, în timp ce rețin potența peptidei.

Evaluarea conjugatului peptidă-MSCB97 care se leagă la CCL2 uman

În timp ce MSCB97 a fost selectat și modificat genetic pentru lipsa legării specifice la antigen, cel mai probabil antigen la care acest mAb s-ar putea lega, dacă există vreunul, este CCL2 uman pe baza originii VH CDR3. Dacă MSCB97 a demonstrat orice legare specifică la CCL2, aceasta a fost evaluată utilizând doi conjugati peptidă-MSCB97, cu un analog de peptidă OXM sau un analog de peptidă PYY.

Potențiala legare la CCL2 a fost măsurată direct prin rezonanța plasmonică de suprafață (SPR) în care conjugatii au fost imobilizați pe suprafață utilizând o metodă de captură anti-Fc. Un mAb de șoarece anti-CCL2 disponibil comercial a servit drept control pozitiv și doi anticorpi umani non-specfici, CNTO 9412 și HH3B33, au servit ca controale negative. Toate controalele au fost în mod similar imobilizate pe suprafață și CCL2 uman recombinant a fost circulat peste conjugatii imobilizați și controale la concentrații de până la 400nM. Pe baza criteriilor de testare prestabilite, acumularea de CCL2, care indică specific legarea la antigen, a fost văzută cu controlul pozitiv dar nu cu controalele negative și nici cu conjugatul peptidă-MSCB97. Acest lucru a confirmat că lui MSCB97, în forma terapeutică relevantă a unui conjugat peptidă-mAb, îi lipsește legarea la CCL2 uman.

Exemplul 102: Expresia și purificarea mAb

Anticorpus monoclonal complet uman (mAb) poate fi exprimat recombinant într-o gazdă de expresie de mamifer și purificat din supernatantul de cultură celulară utilizând metode standard care sunt cunoscute în domeniu. De exemplu, o secvență ADNc care codifică lanțurile ușoare (LC) și grele (HC) ale mAb-ului, fiecare incluzând o peptidă semnal adecvată pentru a permite secreția, poate fi clonată în vectori de expresie separați de mamifer sau într-un singur vector de expresie utilizând metode standard de biologie moleculară. Vectorii de expresie utilizați pot fi oricare din cei disponibili comercial cum ar fi pEE12.4, pcDNATM3.1(+) sau pIRESpuo3 sau orice vector de expresie personalizat cu funcționalități similare. În astfel de vectori transcripția lanțurilor grele și ușoare ale mAb-ului sunt fiecare ghidate de oricare din promotorii eficienți cunoscuți cum ar fi promotorul hCMV-MIE. ADN-ul plasmidic de calitate transfectată este preparat pentru construcții de expresie LC și HC separate sau pentru o singură construcție care exprimă ambele LC și HC utilizând metode standard cum ar fi o trusă medie plasmidică QIAGEN.

ADN-ul plasmidic purificat este preparat pentru transfectare cu un reactiv de transfectare pe bază de lipidă cum ar fi reactivul de transfectare FreestyleTM Max, urmărind instrucțiunile fabricantului, și este apoi transfectat într-o linie celulară gazdă de expresie de mamifer standard, cum ar fi CHO-S sau HEK 293-F. Dacă LC și HC mAb sunt codificate de construcții de expresie separate, cele două construcții sunt transfectate simultan. Înainte de și după transfectare, celulele de mamifer sunt cultivate pentru întreținere sau pentru expresia mAb după metode standard de cultură celulară prin care densitatea celulară variază pentru a menține, mediul de cultură pentru utilizare, și celelate condiții de cultură celulară urmate sunt determinate de linia celulară gazdă de mamifer specific utilizată. Acești parametri sunt de obicei documentați de vendorul de la care a fost obținută linia celulară sau din literatura științifică. De exemplu, celulele CHO-S sunt menținute în mediu CHO FreestyleTM în suspensie, agitând la 125 RPM într-un incubator umidificat setat la 37°C și 8% CO₂, și divizate când concentrația de celule este între 1,5 și 2,0 x 10⁶ celule pe ml.

Supernatanții de cultură celulară din celulele de mamifer transfectate tranzitoriu care exprimă mAb sunt recoltați la câteva zile după transfectare, limpeziți prin centrifugare și filtrați. Durata expresiei pentru celulele CHO-S este de obicei de patru zile dar poate fi ajustată și poate diferi pentru diferite linii celulare gazdă de mamifer. Transfectările pe scară largă (>10 litri) sunt concentrate de 10 ori utilizând un concentrator cum ar fi un Centrimate. MAb este purificat din supernatantul limpezit utilizând o coloană

de afinitate a proteinei A cum ar fi HiTrap MabSelect Sure utilizând metode standard pentru legarea mAb la rășina proteinei A, spălarea rășinei și eluarea proteinei utilizând tampon cu pH scăzut. Frațiunile de proteină sunt neutralizate imediat prin eluare în tuburi conținând tampon cu pH 7 și fracțiunile maxime sunt grupate, filtrate și dializate împotriva soluției saline tamponată cu fosfat (PBS), pH 7,2 peste noapte la 4°C. După dialize, mAb este filtrat din nou (filtru de 0,2μ) și concentrația de proteină este determinată prin absorbantă la 280nm. Calitatea proteinei mAb purificate este evaluată prin electroforeză cu gel de SDS-poliacrilamidă (PAGE) și HPLC cu excludere analitică a dimensiunii și nivelurile de endotoxină sunt măsurate utilizând un test lizat amebocit limulus (LAL). MAb-ul purificat este depozitat la 4°C.

Expresia și purificarea de MSCB97 din celulele CHO transfectate tranzitoriu

MSCB97 a fost exprimat în celule ExpiCHO-S™ (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA; Cat # A29127) prin transfectarea tranzitorie a celulelor cu ADN plasmidic purificat al unei construcții de expresie MSCB97 urmând recomandările fabricantului. Pe scurt, celulele ExpiCHO-S™ au fost menținute în suspensie în mediu de expresie ExpiCHO™ (ThermoFisher Scientific, Cat # A29100) într-un incubator cu agitare stabilit la 37°C, 8% CO₂ și 125 RPM. Celulele au fost pasate astfel încât pe ziua de transfectare, ar putea fi obținută o diluție de până la 6,0 x 10⁶ celule pe ml, menținând viabilitatea celulară la 98% sau mai bună. Transfectările tranzitorii au fost făcute utilizând trusa de transfectare ExpiFectamină™ CHO (ThermoFisher Scientific Cat # A29131). Pentru fiecare ml de celule diluate pentru a fi transfectate, este utilizat un microgram de ADN plasmidic și diluat în mediu de complexare OptiPRO™ SFM. Este utilizat reactivul ExpiFectamină™ CHO la un raport 1:3 (v/v, ADN:reactiv) și de asemenea diluat în OptiPRO™. ADN-ul diluat și reactivul de transfectare au fost combinate timp de un minut, permițând formarea complexului ADN/lipidă, și apoi a fost adăugat la celule. După incubarea peste noapte, s-au adăugat la celule alimentarea ExpiCHO™ și amelioratorul ExpiFectamină™ CHO. Celulele au fost cultivate cu agitare la 32°C timp de cinci zile înainte de recoltarea supernatanților de cultură.

Supernatanții de cultură din celulele ExpiCHO-S™ transfectate tranzitoriu au fost recoltați prin limpezire prin centrifugare (30 min, 6000 rpm) urmată de filtrare (membrană PES 0,2μ, Corning). Transfectările pe scară largă (5 până la 20 litri) au fost mai întâi concentrate de 10 ori utilizând un sistem de filtrare cu flux tangențial Pall Centrimate. S-a adăugat 10x DPBS (soluție salină Dulbecco tamponată cu fosfat), pH 7,2 la supernatant până la 1x concentrația finală înainte de încărcarea pe o coloană echilibrată de proteină A (DPBS, pH 7,2) HiTrap MabSelect Sure (GE Healthcare; Little Chalfont, United Kingdom) la o concentrație relativă de ~20 mg proteină pe ml de rășină, utilizând un sistem de cromatografie AKTA FPLC. După încărcare, coloana a fost spălată cu 10 volume coloană de DPBS, pH 7,2. Proteina a fost eluată cu 10 volume coloană de 0,1 M Na-Acetate, pH 3,5. Frațiunile de proteină au fost neutralizate imediat prin eluare în tuburi conținând 2,0 M Tris, pH 7 la 20% volum de fracțiune de eluare. Frațiunile maxime au fost grupate și pH-ul ajustat la ~5,5 cu Tris suplimentar, dacă este necesar. Proteina purificată a fost filtrată (0,2μ) și concentrația a fost determinată prin absorbantă la 280nm pe un spectrofotometru BioTek SynergyHT™. Calitatea proteinei purificate a fost evaluată prin SDS-PAGE și HPLC analitică de excludere dimensională (sistem HPLC Dionex). Nivelul de endotoxină a fost măsurat utilizând un test LAL turbidometric (Pirontell®-T, Associates of Cape Cod).

Exemplul 103: Conjugarea mAb și analogului PYY ciclic

Metodă A: reducerea parțială a mAb cu TCEP

O soluție de 10 mg/mL de mAb în tampon tris-acetat (20 mL, 1mM în EDTA) a fost tratată cu 3 echivalenți de TCEP. Soluția a fost ajustată la pH 6 și după 1 oră de cromatografie de lichide cu presiune înaltă la rt cu spectrometru de masă (LCMS) a arătat că aducțiile de disulfură la poziția C102 au fost complet reduse. MAb-urile reduse au fost purificate prin adsorbție de proteină A și eluare (4 CV 100 mM acid acetic) pentru a furniza 180 mg de mAb redus.

Conjugarea mAb redus și analogului PYY ciclic

Peptida liofilizată (5 echiv. vs mAb) a fost adăugată la mAb redus descris mai sus. S-a adăugat EDTA la o concentrație finală de 1 mM și pH-ul a fost ajustat la 7. Concentrația a fost ajustată la 8 mg/mL și reacția a fost lăsată să se desfășoare cu agitare ușoară timp de 16 ore la rt. S-a adăugat TCEP (0,5 echiv. vs mAb) și reacția a fost lăsată să se desfășoare în continuare timp de 4 ore la rt cu agitare ușoară, după care timp speciile cu masă moleculară mare (MW) au fost reduse până la mai puțin de 3%.

Amestecul de reacție a fost ajustat la pH 5,5 și purificat prin cromatografie cu schimb de ioni pe rășină CaptoSP utilizând un gradient 100% A (100mM TRIS-acetat, pH 5,5) până la 100% B (100mM TRIS-acetat, pH 5,5; 0,5 M NaCl) peste 20 CV. Frațiunile conținând conjugatul dorit au fost grupate și 140 mg de conjugat au fost recuperate, coeluând cu o cantitate mică de peptidă nereacționată. Purificarea finală a fost prin adsorbția proteinei A și eluare (4 CV 100 mM acid acetic). PH-ul produsului a fost ajustat la 6 pentru a da 120 mg de conjugat (randament 60%) la >puritate 90% cu <3% specii MW ridicate.

Metodă B

Purificarea prin cromatografie cu interacțiune hidrofobă (HIC) a mAb

O soluție de 20 mg/mL de mAb în tampon tris-acetat a fost încărcată pe o coloană de interacțiune hidrofobă (fenil gel TOSOH TSK 7,5x21cm) și eluată cu un gradient liniar (0-70% B/A, solvent A: 5% iPrOH, 1M (NH₄)₂SO₄, 100mM tampon fosfat, pH 6,0; solvent B: 20% iPrOH, 100mM tampon fosfat). Maximele monomerului mAb au fost grupate, concentrate (5-10 mg/mL) și dializate împotriva tamponului de acid 3-(N-morfolino)propansulfonic (MOPS) (100 mM, pH 5,5).

Reducere parțială cu TCEP și conjugarea mAb redus cu analog PYY ciclic

La mAb-ul purificat (27 mL, 9,28 mg/mL) s-au adăugat 4 echiv. de TCEP urmați de EDTA (1mM). După 2 ore la temperatura camerei LCMS a arătat că aducțiile de disulfură la poziția C102 au fost complet reduse. MAb-ul redus a fost tratat cu coloană de rotație de desalinizare Zebra (7x10mL, 7K MWCO, preechilibru cu MOPS 100mM pH 5,5) pentru a îndepărta cisteinele/GSH eliberate. La fracțiunile combinate de mAb redus (28mL) s-a adăugat o soluție de peptidă PYY în apă de calitate Milli Q (6,5 echiv. vs mAb, 15-20 mg/mL) urmată de EDTA (1mM). PH-ul reacției a fost ajustat de la 7,2 până la 7,4 prin adăugarea în picătură de 1N NaOH. Reacția a fost lăsată să se desfășoare 18 ore la temperatura camerei cu agitare ușoară. Reacția a fost continuată timp de alte 12 ore după adăugarea a 0,5 echiv. suplimentari de TCEP pentru a reduce dimerul mAb-mAb format în decursul reacției și a permite conversia la homodimerul mAb dorit. PH-ul reacției a fost scăzut la pH 5,5 prin adăugarea de 2 M acid acetic și conjugatul brut a fost purificat prin cromatografie cu interacțiune hidrofobă și eluat cu un gradient liniar (0-100% B/A, solvent A: 5% iPrOH, 1M (NH₄)₂SO₄, 100mM tampon fosfat, pH 6,0; solvent B: 20% iPrOH, 100mM tampon fosfat). Purificarea finală a fost prin adsorbția de proteină A (PBS) și eluare (NaOAc, pH 3,5). PH-ul produsului a fost ajustat la 6 și dializat împotriva PBS pentru a da mostra finală (56%).

Alternativ, mAb a fost redus cu GSH și/sau Cys. După îndepărtarea agentului reducător prin filtrare de flux tangențial (TFF), un exces de peptidă a fost adăugat la mAb-ul redus opțional în prezența a 0,2-0,5 echivalenți de TCEP.

Exemplul 104: caracterizarea conjugatului mAb

Caracterizarea analitică a conjugatilor PYY-mAb a fost efectuată utilizând (i) cromatografie cu interacțiune hidrofobă (HIC), (ii) măsurarea masei intacte prin LC-ESIMS, (iii) cromatografie de excludere dimensională (SEC). Rezultatele caracterizării analitice a conjugatilor PYY-mAb și metoda de conjugare sunt prezentate în Tabelul 1.

Tabelul 1: Date analitice pentru conjugatii PYY-mAb.

Nr. cps.	Conjugare	MS (calculată) Da	MS (găsită) Da	Puritate SEC %	Puritate HIC %
1	Metodă B	156144	156142	97,89	100
2	Metodă B	155616	155617	NA	100
3	Metodă B	154945	154947	NA	100
4	Metodă B	155972	155966	NA	100
5	Metodă B	157668	157670	NA	100
6	Metodă B	156116	156118	NA	100
7	Metodă B	156172	156155	NA	100
8	Metodă B	156173	156154	NA	100
9	Metodă B	156347	156350	NA	98
10	Metodă B	156347	156349	NA	100
11	Metodă B	156039	156040	NA	100
12	Metodă B	156450	156448	NA	100
13	Metodă B	156138	156162	NA	100
14	Metodă B	156201	156202	NA	100
15	Metodă B	156233	156145	93,79	97
16	Metodă B	156233	156236	NA	100
17	Metodă B	156060	156062	98,64	100
18	Metodă A	156116	156104	98,64	ND
19	Metodă A	156144	156129	98,15	ND

Nr. cps.	Conjugare	MS (calculată) Da	MS (găsită) Da	Puritate SEC %	Puritate HIC %
20	Metodă A	156144	156130	98,21	ND
21	Metodă A	156200	156187	98,22	ND
22	Metodă B	156082	156082	100	96
23	Metodă B	156082	156083	93	100
24	Metodă B	154714	154722	86	81
25	Metodă B	157202	157196	97,55	100
26	Metodă B	156117	156111	99,00	100

Exemplul 105: teste in vitro

Compusul 1 a fost evaluat pentru abilitatea sa de a activa receptorii NPY in vitro în celulele clonale (HEK sau CHO) care exprimă receptorii Y2 umani, de șobolan, de șoarece și de maimuță rhesus, și receptorii Y1, Y4 și Y5 umani. PYY3-36, NPY și PP au fost incluse în aceste teste ca controale de studiu.

Linii celulare

Liniile celulare clonale transfectate stabil care exprimă receptorii NPY au fost dezvoltate pentru utilizare în testele AMPc. Pe scurt, liniile celulare HEK293 au fost transfectate utilizând trusa Lipofectamină 2000 (Invitrogen) în conformitate cu protocolul acestora cu expresia plasmidelor care poartă secvențele codificatoare pentru receptorul Y2 uman (nr. de acces: NM_000910,2), receptorul Y5 uman (nr. de acces: NM_006174,2), receptorul Y2 de șoarece (nr. de acces: NM_008731) și receptorul Y2 de maimuță rhesus (nr. de acces: NM_001032832). La patruzeci și opt de ore după transfectare, celulele au fost replacate cu mediu de selecție (DMEM bogat în glucoză cu 10% ser fetal bovin (FBS), 50 I.U. penicilină, 50 μg/ml streptomycină, 2 mM L-glutamină, 1 mM piruvat de sodiu și 600 μg/ml G418). Celulele au fost ținute în mediu de selecție timp de 2 săptămâni înainte ca clonele singure să fie alese utilizând metoda de diluție limitată. Celulele transfectate au fost ulterior menținute prin cultivare în mediu DMEM bogat în glucoză (Cellgro) suplimentat cu 10% ser fetal bovin, 1% L-glutamină, 1% piruvat de sodiu, 1% penicilină/streptomycină și 600 μg/ml G418.

În plus, liniile celulare CHO-K1 au fost obținute de la DiscoverX Corporation, care exprimă receptorul Y1 uman (nr. de catalog: 93-0397C2) și receptorul Y4 uman (nr. de catalog: 95-0087C2). Celulele DiscoverX sunt cultivate în mediu F12 (Gibco) suplimentat cu 10% FBS și sub selecție G418 (800 μg /mL). Receptorul Y2 de șobolan a fost exprimat într-o linie CHO-K1 Glo-Senzor obținută de la Promega Corporation. Aceste celule au fost transfectate cu plasmidă pGloSensor™-23F AMPc pentru un test AMPc pe bază luminescentă dar au fost testate și validate pentru utilizare cu testul AMPc Perkin-Elmer LANCE. Celulele Y2 de șobolan au fost crescute în mediu F12 (Gibco) suplimentat cu 10% FBS și 800 μg/ml G418.

Toate liniile celulare au fost depozitate în fiole (4 X 10⁶ celule/fiolă) și depozitate în azot lichid până la utilizare. În ziua de dinaintea testului, fiolele au fost dezghețate și adăugate la 15 mls de mediu adecvat. Celulele au fost centrifugate la 450 x g timp de 5 min, supernatanții au fost aspirați și celulele au fost resuspendate în mediu fără G418 la o densitate de 0,2 x 10⁶ celule/ml. Celulele au fost dispensate (25 μl/godeu) în plăci Biocoat albe cu 384 de godeuri acoperite cu collagen la o densitate finală de 5000 celule/godeu. Plăcile celulelor au fost incubate peste noapte într-un incubator de cultură de țesut umidificat la 37°C sub 5% atmosferă de CO₂/90% O₂.

Protocol experimental

Testul AMPc a fost același pentru diferite testări de receptoare. Trusa AMPc LANCE (Perkin Elmer Corporation; Waltham, MA) a fost utilizată în toate experimentele pentru a cuantifica nivelurile AMPc intracelulare. În ziua testului, mediul celular a fost decantat de celule și 6 μl de peptide (2X concentrație) au fost adăugați la godeuri. Peptidele au fost făcute ca un răspuns la doză în 11 puncte (începând la 100 nM sau 10 μM cu diluții seriale 1:3) în tampon de stimulare. Tamponul de stimulare constă din 5 mM HEPES (acid 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetsulfonic), 500 μM IBMX și 0,1% albumină din ser bovin (BSA) în HBSS (soluție salină echilibrată Hank). Următorii 6 μl de tampon de stimulare conținând forskolină (2X, 5 μM concentrație finală) și anticorpi AMPc LANCE (1:100) au fost adăugați la celule. După incubare timp de 25 minute la rt, s-au adăugat 12 μl de amestec de detecție de testare la fiecare godeu. Amestecul de detecție a fost preparat prin diluarea biotinei-AMPc (1:750) și Europiului-W8044 (1:2250) în tamponul de detecție cum s-a prevăzut cu trusa AMPc LANCE. Placa a fost incubată timp de 2 ore la rt și apoi citită ca test TR-FRET pe cititorul de placă Envision (excitație 320 nm, emisie 615 nm și 665 nm). Fluorescența canalului 1 (unități de fluorescență relativă la 615 nm) și

fluorescența canalului 2 (unități de fluorescență relativă la 665 nm) împreună cu raportul lor au fost exportate într-un fișier Excel.

Analiza datelor

- 5 Datele de la cititorul de placă Envision au fost exprimate ca unități de fluorescență relativă (RFU) calculate ca (615 nm/ 665 nm) x 10.000. Toate mostrele au fost măsurate în triplicate. Datele au fost analizate utilizând software-ul in-house de analiză al datelor Crucible, conceput de Eudean Shaw. Concentrațiile AMPc necunoscute din fiecare godeu au fost interpolate din standardele de referință ale concentrațiilor AMPc cunoscute incluse în fiecare placă. Parametrii cum ar fi EC₅₀, Log(EC₅₀), panta Hill (nH), maxim, și minim, au fost derivate prin reprezentarea grafică a valorilor de concentrație AMPc față
- 10 de concentrațiile inițiale ale compușilor ajustați cu un model 4-P utilizând o aplicație a celor mai mici pătrate cu ponderi neliniare în mediu R (sursă deschisă <http://cran.us.r-project.org/>) implementată de Departamentul Non-Clinical Statistics & Computing de la Janssen R&D.

15 Tabelul 2: date *in vitro*

Compus	Potența izoformei umane (EC ₅₀ nM)				Potența speciilor încrucișate (EC ₅₀ nM)		
	hY2	hY1	hY4	hY5	Y2 de șoarece	Y2 de șobolan	Y2 de maimuță rhesus
Compusul 1	0,006	>2910	>2910	345,7	0,004	0,04	0,004
PYY3-36	0,08	66,4	136,7	12,3	0,03	0,50	0,06

Tabelul 3: izoformă umană *in vitro* și EC₅₀ a speciilor încrucișate

Nr. cps.	EC50 uman (nM)				EC50 a speciilor încrucișate (nM)		
	hY2	hY1	hY4	hY5	mY2	rY2	rhY2
1	0,0065	>2910	>2910	345,7	0,004	0,04	0,004
2	0,012						
3	0,012						
4	7,75						
5	0,42						
6	0,065						
7	0,02	678,7	>1186	10,8			
8	0,295						
9	0,01						
10	0,06						
11	0,015						
12	0,015	1990	520,8	154,5			
13	0,008	>3000	>3000	294,2			
14	0,04						
15	0,25						
16	0,04						
17	0,007						
18	0,0085						
19	0,015						
20	0,0075						
21	0,08						
22	0,0085						

Nr. cps.	EC50 uman (nM)				EC50 a speciilor încrucișate (nM)		
	hY2	hY1	hY4	hY5	mY2	rY2	rhY2
23	0,0075						
24							
25	0,0055						
26	0,0085						

Exemplul 106: test de stabilitate al șoarecilor *in vivo*

Șoarecii C57BL/6N masculi (cu vârsta de 9-12 săptămâni) au fost obținuți de la Laboratorul Taconic. Șoarecii au fost adăpostiți un șoarece pe cușcă cu așternut AlfaDri într-o cameră cu temperatură controlată cu ciclu lumină/întineric de 12 ore. Șoarecii le-a fost permis accesul ad libitum la apă și li s-a menținut dieta de mâncare (5001, Lab Dietă).

Șoarecii au fost dozați subcutanat cu 1 mg/kg de compus. Aproximativ 100 μ L de sânge de la 3 animale au fost colectați la t=4, 24, și 48 ore prin forfecarea cozii. Sângele (aproximativ 600 μ L) de la 2-3 animale pe moment de timp a fost de asemenea colectat la t=4, 24 și 48 ore prin puncție cardiacă. Probele de sânge au fost colectate în tuburi K3E (EDTA) conținând raport de 4% soluție inhibitoare de protează completă și raport de 1% de inhibitor DPPIV. Probele de sânge au fost plasate pe gheață umedă înainte de a fi centrifugate la 10.000 rpm timp de 10 minute în condiții de congelare (~5°C) pentru îndepărtarea celulei în 30 minute după colectarea la fiecare moment de timp și toată plasma disponibilă a fost transferată la o placă cu 96 de godeuri. Placa cu godeuri a fost depozitată într-un congelator la -80°C. Nivelurile compusului au fost măsurate utilizând metoda LCMS descrisă mai jos. Datele sunt prezentate în Tabelul 4.

Teste spec de masă pentru determinarea %rămas de conjugat intact

Mostrele de plasmă au fost procesate prin captură de imuno-afinitate utilizând un anticorp Fc anti-uman, urmat analiza MS cu scanare completă a rezoluției înalte LC cu fază inversă pe un spectrometru de masă TOF (Timp-de-Zbor) triplu. Seria spectrelor MS a fost deconvolutată pentru a clarifica masele moleculare ale componentelor în mostrele injectate. Maximul ionului moleculei conjugatului intact a fost utilizat pentru cuantificarea conjugatului intact nemodificat. Într-un test separat, mostrele de plasmă au fost procesate prin captură de imuno-afinitate utilizând un anticorp Fc anti-uman, urmate de digestia cu tripsină și analiza LC-MSMS cu fază inversă pe un spectrometru de masă cvadripol triplu. O peptidă situată pe Fc a mAb a fost monitorizată pentru cuantificarea mAb-ului total. Pentru ambele teste, curba standard și mostrele de control ale calității au fost preparate prin adăugarea standardului de referință în plasmă și procesând utilizând aceeași procedură în același timp cu mostrele adunate. Raportul concentrației de conjugat intact la cea a mAb-ului total a fost calculat pentru a fi %rămas.

Tabelul 4: date de stabilitate la șoarece *in vivo*

Nr. cps.	%rămas @ 48 ore la șoarece
1	90,8
2	65,6
3	51,8
4	NA
5	80,4
6	49,7
7	75,4
8	51,6
9	51,5
10	42,4
11	60
12	63,5
13	74,4
14	102

Nr. cps.	%rămas @ 48 ore la șoarece
15	NA
16	96
17	
18	77
19	87,4
20	74,4
21	85,8
22	
23	
24	
25	81,5
26	71,9

Exemplul 107: Farmacocinetici (PK)**PK la șoareci DIO**

Șoarecii C57BL/6N DIO masculi (vârstă de 20 săptămâni, 14 săptămâni pe dietă bogată în grăsime) au fost obținuți de la Laboratorul Taconic. Șoarecii au fost adăpostiți un șoarece pe cușcă cu așternut AlfaDri într-o cameră cu temperatură controlată cu ciclul lumină/întuneric de 12 ore. Șoarecilor le-a fost permis acces ad libitum la apă și li s-a menținut dieta bogată în grăsime (D12492, dietă de cercetare).

Șoarecii au fost dozați subcutanat (s.c.) cu 1mg/kg de compus 1, 3 animale au fost sacrificate la fiecare moment de timp și sângele a fost colectat la t=4, 8, 24, 48, 72, 120, și 168 ore. Sângele de la 3 animale naive a fost de asemenea colectat. Aproximativ 300 μ L de sânge de la fiecare animal au fost colectați prin vena jugulară după decapitare în timpul anesteziei indusă cu un amestec de gaz 70% CO₂ și 30% O₂. Probele de sânge (aproximativ 300 μ L) au fost colectate în tuburi Sarstedt Microvette® acoperite cu K3E (EDTA) conținând 12 μ L (raport 4%) de soluție inhibitoare de protează completă și 3 μ L (raport 1%) de inhibitor DPP-IV. Probele de sânge au fost plasate pe gheață umedă înainte de a fi centrifugate la 10.000 rpm timp de ~4 minute sub condiții de congelare (~5°C) pentru îndepărtarea celulară în 30 minute după colecție la fiecare moment de timp și toată plasma disponibilă a fost transferată la o placă cu 96 de godeuri. Placa cu godeuri a fost depozitată pe gheață uscată până când ea a fost plasată într-un congelator la -80°C. Datele sunt prezentate în Tabelul 5 și Figura 3.

PK de șobolan

Compusul 1 a fost administrat subcutanat și intravenos la șobolani Sprague-Dawley masculi (Charles River Laboratories, Wilmington, MA) la un nivel de dozare de 1,0 mg/kg în PBS, (pH 7,0-7,6). Aproximativ 500 μ L de sânge au fost colectați de la trei animale pe moment de timp printr-o venă safenă (t=1, 4, 24, 48, 72, 96, 168, și 240 ore post-doză). O mostră de sânge post doză la 336 ore a fost colectată prin vena jugulară după decapitare în timpul anesteziei induse cu un amestec de gaz cu 70% CO₂ și 30% O₂. Probele de sânge au fost colectate în tuburi Sarstedt Microvette® acoperite cu K3E (EDTA) conținând 20 μ L (raport 4%) de soluție inhibitoare de protează completă și 5 μ L (raport 1%) de inhibitor DPP-IV. Probele de sânge au fost plasate pe gheață umedă înainte de a fi centrifugate la 10.000 rpm timp de ~4 minute sub condiții de congelare (~5°C) pentru îndepărtarea celulară în 60 minute după colectarea la fiecare moment de timp și toată plasma disponibilă a fost transferată la o placă cu 96 de godeuri. Nivelurile compusului 1 au fost măsurate utilizând metoda LCMS descrisă mai jos. Datele sunt prezentate în Tabelul 6.

PK de maimuță cynomolgus (Cyno)

Toate animalele au fost ținute nemâncate timp de cel puțin opt ore înainte de dozare și în primele patru ore de colectare a mostrelor de sânge. Trei animale au primit o singură doză IV de 1mg/kg Compus 1 și trei animale au primit o singură doză SC de 1mg/kg Compus 1. Sângele a fost colectat predoză și la 1, 6, 10, 24, 36, 48, 72, 120, 168, 240, 336, 432, și 504 ore post-doză. O mostră suplimentară a fost colectată la 0,5 ore post-doză pentru grupul IV. Aproximativ 1ml de sânge de la fiecare animal a fost colectat în tuburi Sarstedt Microvette® acoperite cu K3E (EDTA) conținând raport de 4% de soluție inhibitoare de protează completă și raport de 1% de inhibitor DPP-IV. Probele de sânge au fost plasate pe gheață umedă înainte de a fi centrifugate în 30 minute după colectare la fiecare moment de timp și plasma rezultată a fost împărțită în treimi și transferată în triplicate la o placă cu 96 de godeuri. Placa cu godeuri a fost depozitată

pe gheață uscată până când a fost plasată într-un congelator la -80°C . Datele sunt prezentate în Tabelul 7 și Figura 4.

Testul spec de masă intactă pentru determinarea nivelurilor de plasmă

- 5 Mostrele de plasmă au fost procesate prin captură de imuno-afinitate utilizând un anticorp Fc anti-uman, urmate de analiza MS cu scanare completă de înaltă rezoluție cu LC cu fază inversă pe un spectrometru de masă TOF (timp-de-zbor) triplu. Seria de spectre MS a fost deconvolutată pentru a clarifica masele moleculare ale componentelor din mostrele injectate. Maximul ionului moleculei conjugatului intact a fost utilizat pentru cuantificare. Curba standard și mostrele de control ale calității au fost preparate prin adăugarea standardului de referință în plasmă și procesând utilizând aceeași procedură
- 10 în același timp cu mostrele acumulate. Datele PK pentru șoarecele DIO, șobolan, și cyno sunt prezentate în Tabelul 5, Tabelul 6, și respectiv Tabelul 7. Datele PK pentru șoarecele DIO și Cyno sunt de asemenea prezentate în Figurile 3 și respectiv 4.

Tabelul 5: PK la șoarecele DIO

Test	Doză (mg/kg)	T _{1/2} ore	T _{max} ore	C _{max} ng/mL	AUC _{last} ore*ng/mL
Intact	1,0	81,05	48	8750	995460

Tabelul 6: PK la șobolan

Cale	Doză (mg/kg)	T _{1/2} ore	T _{max} ore	C _{max} ng/mL	AUC _{last} ore*ng/mL
IV	1,0	93,0	1	19,5	809,2
SC	1,0	88,7	48	4,2	602,0

15 **Tabelul 7: PK la Cyno**

Cale	Doză (mg/kg)	T _{1/2} ore	T _{max} ore	C _{max} ng/mL	AUC _{last} ore*ng/mL
IV	1,0	178,39	0,67	30290	1207,39
SC	1,0	104,32	10	5590	712,19

Exemplul 108: Studii de eficacitate *in vivo*

Pierdere în greutate în dieta indusă la șoarecii obezi (DIO): dozare acută

- 20 Compusul 1 a fost evaluat pentru abilitatea sa de a reduce ingerarea alimentelor și greutatea corporală la șoarecii C57B1/6 DIO masculi după o doză unică. Șoarecii C57BL/6N DIO masculi (vârstă de 20 săptămâni, 14 săptămâni pe dietă bogată în grăsime) au fost obținuți de la Laboratorul Taconic. Șoarecii au fost adăpostiți un șoarece pe cușcă cu așternut AlfaDri într-o cameră cu temperatură controlată cu ciclu lumină/întuneric de 12 ore. Șoarecilor le-a fost permis acces ad libitum la apă și le-a
- 25 fost menținută dieta bogată în grăsime (D12492, dietă de cercetare). Animalele au fost aclimatizate la facilitățile timp de cel puțin o săptămână înainte de începerea experimentului.

- În ziua de dinainte de dozare, șoarecii au fost grupați în cohorte de opt animale pe baza greutății corporale individuale. La 3:00-4:00 pm în ziua următoare, animalele au fost cântărite și tratate cu vehicul (dPBS, pH 7,2), Compusul 1 la o doză de 0,1, 0,3, 1,0, 3,0, sau 7,5 nmol/kg, sau Dulaglutidă la 0,3 nmol/kg prin administrare subcutanată (s.c.). Greutățile corporale și ingerarea alimentelor au fost
- 30 măsurate la 24 h, 48 h și 72 h după dozare și a fost calculat procentajul de pierdere în greutate și reducere în ingerarea alimentelor. Analizele statistice au fost efectuate utilizând ANOVA bifactorială cu măsurători repetate cu post-test Tukey în prismă. Toate datele sunt prezentate ca medie $\pm$ SEM (Figura 5 și Figura 6).

Pierdere în greutate în dieta indusă la șoarecii obezi: dozare cronică

- 35 Compusul 1 a fost evaluat pentru abilitatea sa de a reduce ingerarea alimentelor și greutatea corporală și a îmbunătăți homeostaza glucozei la dozarea repetată pe șoarecii C57B1/6 DIO masculi pe o perioadă de 8 zile. Șoarecii C57BL/6N DIO masculi (vârstă de 20 săptămâni, 14 săptămâni pe dietă bogată în grăsime) au fost obținuți de la Laboratorul Taconic. Șoarecii au fost adăpostiți un șoarece pe cușcă cu așternut AlfaDri într-o cameră cu temperatură controlată cu ciclu lumină/întuneric de 12 ore. Șoarecilor le-a fost permis accesul ad libitum la apă și li s-a menținut dieta bogată în grăsime (D12492, dietă de cercetare). Animalele au fost aclimatizate la facilitățile timp de cel puțin o săptămână înainte de începerea experimentului.

- În ziua dinaintea dozării, șoarecii au fost grupați pe baza greutăților corporale individuale. La 3:00 - 4:00 pm pentru fiecare din următoarele 8 zile, animalele și alimentele ingerate au fost cântărite.
- 45 Animalele au fost tratate cu vehicul (dPBS, pH 7,2) sau dulaglutidă la 0,3 nmol/kg prin administrare subcutanată în fiecare zi sau Compusul 1 la doze de 0,1, 0,3, 1,0, 3,0 nmol/kg prin administrare subcutanată la fiecare trei zile. După 8 zile, șoarecii sunt ținuti nemâncați timp de 5 ore și apoi li s-a dat un bolus de 2g/kg de glucoză oral la t=0. La t=0, 30, 60, 90, și 120 minute post provocarea cu glucoză, se măsoară glucoza în sânge și la t=0, 30, și 90 minute se extrage sânge pentru a măsura insulina din plasmă.

Analizele statistice au fost efectuată utilizând ANOVA unifactorială sau ANOVA bifactorială cu măsurători repetate cu post-test Tukey în prismă. Toate datele sunt prezentate ca medie $\pm$ SEM (Figura 7, Figura 8, și Tabelele 8-11).

Tabelul 8: Efectul compusului 1 asupra greutateii corporale (g) după un tratament de 8 zile

Tratament	Vehicul	Compusul 1 (nmol/kg)				Dulaglutidă (nmol/kg)
Zi	n/a	0,1	0,3	1,0	3,0	0,3
-1	46,3 $\pm$ 0,6	46,3 $\pm$ 0,6	46,7 $\pm$ 0,8	46,3 $\pm$ 0,6	46,3 $\pm$ 0,6	46,3 $\pm$ 0,6
0	46,1 $\pm$ 0,7	46,0 $\pm$ 0,6	46,8 $\pm$ 0,7	46,3 $\pm$ 0,6	46,3 $\pm$ 0,6	45,9 $\pm$ 0,6
1	45,8 $\pm$ 0,7	45,0 $\pm$ 0,6	45,2 $\pm$ 0,7	43,9 $\pm$ 0,5	43,9 $\pm$ 0,6	44,1 $\pm$ 0,6
2	45,2 $\pm$ 0,7	43,9 $\pm$ 0,6	43,6 $\pm$ 0,7	42,4 $\pm$ 0,7*	41,8 $\pm$ 0,7*	42,2 $\pm$ 0,6*
3	45,1 $\pm$ 0,7	43,9 $\pm$ 0,6	42,8 $\pm$ 0,6	41,0 $\pm$ 0,6*	40,1 $\pm$ 0,6*	40,6 $\pm$ 0,6*
4	44,7 $\pm$ 0,7	43,4 $\pm$ 0,6	42,0 $\pm$ 0,6	39,9 $\pm$ 0,6*	38,5 $\pm$ 0,6*	39,3 $\pm$ 0,6*
5	44,5 $\pm$ 0,7	43,0 $\pm$ 0,6	41,5 $\pm$ 0,5*	39,1 $\pm$ 0,6*	36,8 $\pm$ 0,7*	38,1 $\pm$ 0,7*
6	44,5 $\pm$ 0,7	43,1 $\pm$ 0,6	41,4 $\pm$ 0,5*	38,6 $\pm$ 0,6*	35,5 $\pm$ 0,8*	37,1 $\pm$ 0,8*
7	44,3 $\pm$ 0,7	43,1 $\pm$ 0,7	41,3 $\pm$ 0,5*	38,2 $\pm$ 0,6*	34,8 $\pm$ 0,9*	36,4 $\pm$ 1,0*
8	45,2 $\pm$ 0,6	46,3 $\pm$ 0,7	41,9 $\pm$ 0,5*	38,8 $\pm$ 0,6	34,7 $\pm$ 1,0*	36,5 $\pm$ 1,1*

Valorile reprezintă medie $\pm$ SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup

*p<0,05, versus vehicul; ANOVA RM bifactorială, test Tukey de comparație multiplă

5 Tabelul 9: Efectul compusului 1 asupra nivelurilor de glucoză din sânge (mg/dL) în timpul OGTT după 8 zile de tratament

Tratament	Doză (nmol/kg)	Timp după provocarea cu glucoză (min)					Total AUC (mg/dl/ 120min)	Delta AUC (mg/dl/ 120min)
		0	30	60	90	120		
Vehicul	NA	148 $\pm$ 6	227 $\pm$ 15	272 $\pm$ 12	206 $\pm$ 9	209 $\pm$ 13	26492 $\pm$ 1232	8702 $\pm$ 1082
Comp. 1	0,1	151 $\pm$ 4	213 $\pm$ 9	249 $\pm$ 10	186 $\pm$ 11	194 $\pm$ 15	24598 $\pm$ 849	6433 $\pm$ 677
	0,3	137 $\pm$ 6	191 $\pm$ 11	208 $\pm$ 10*	146 $\pm$ 8*	160 $\pm$ 8*	20786 $\pm$ 728*	4379 $\pm$ 364*
	1,0	117 $\pm$ 5	146 $\pm$ 9*	203 $\pm$ 10*	135 $\pm$ 8*	136 $\pm$ 5*	18285 $\pm$ 769*	4319 $\pm$ 522*
	3,0	73 $\pm$ 11*	129 $\pm$ 5*	149 $\pm$ 10*	93 $\pm$ 9*	101 $\pm$ 9*	137032 $\pm$ 913*	5004 $\pm$ 585
Dulaglutidă	0,3	76 $\pm$ 9*	151 $\pm$ 14*	174 $\pm$ 17*	104 $\pm$ 10*	119 $\pm$ 9*	15758 $\pm$ 1054*	6668 $\pm$ 1846

Valorile reprezintă medie $\pm$ SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup

*p<0,05, versus vehicul; ANOVA RM bifactorială, test Tukey de comparație multiplă pentru valori de glucoză; ANOVA unifactorială, test Tukey de comparație multiplă pentru AUC

Tabelul 10: Efectul compusului 1 asupra nivelurilor de insulină (ng/mL) în timpul OGTT după 8 zile de tratament

Tratament	Doză (nmol/kg)	Timp după provocarea cu glucoză (min)			Total AUC (mg/dl/120min)
		0	30	90	
Vehicul	NA	5,6 $\pm$ 1,4	11,3 $\pm$ 3,0	4,0 $\pm$ 0,6	711,4 $\pm$ 164,1
Comp. 1	0,1	3,0 $\pm$ 0,4	6,6 $\pm$ 0,8*	2,4 $\pm$ 0,2	415,6 $\pm$ 44,2
	0,3	2,3 $\pm$ 0,2	4,0 $\pm$ 0,6*	1,7 $\pm$ 0,2	264,3 $\pm$ 33,0*
	1,0	1,3 $\pm$ 0,2*	2,2 $\pm$ 0,1*	1,1 $\pm$ 0,2	151,6 $\pm$ 12,5*
	3,0	0,4 $\pm$ 0,1*	1,2 $\pm$ 0,1*	0,4 $\pm$ 0,1*	73,9 $\pm$ 9,0*

Tratament	Doză (nmol/kg)	Timp după provocarea cu glucoză (min)			Total (mg/dl/120min)	AUC
		0	30	90		
Dulaglutidă	0,3	0,6±0,1*	1,7±0,2*	0,7±0,2	108,82±12,3*	

Valorile reprezintă medie ± SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup
 *p<0,05, versus vehicul; ANOVA RM bifactorială, test Tukey de comparație multiplă pentru valori de glucoză;
 ANOVA unifactorială, test Tukey de comparație multiplă pentru AUC

Tabelul 11: Efectul compusului 1 asupra nivelurilor de glucoză alimentație în sânge (mg/dL) după 8 zile de tratament

Tratament	Doză (nmol/kg)	Glucoză în sânge (mg/dL)
Vehicul	NA	180±5
Compus 1	0,1	164±6
	0,3	160±5
	1,0	149±6
	3,0	105±12*
Dulaglutidă	0,3	114±13*

Valori reprezintă medie ± SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup
 *p<0,05, versus vehicul; ANOVA unifactorială, test Tukey de comparație multiplă

Pierderea în greutate în dieta indusă la șoarecii obezi în combinație cu Liraglutidă: dozare cronică

5 Compusul 1 a fost evaluat pentru abilitatea sa de a reduce ingerarea alimentelor și greutatea corporală și de a îmbunătăți homeostaza glucozei în combinație cu un agonist GLP-1 care acționează pe termen lung, liraglutidă, pe dozarea repetată la șoarecii C57B1/6 DIO masculi într-o perioadă de 9 zile.

10 Șoarecii C57BL/6N DIO masculi (cu vârsta de 20 săptămâni, 14 săptămâni pe dietă bogată în grăsime) au fost obținuți de la Laboratorul Taconic. Șoarecii au fost adăpostiți un șoarece pe cușcă cu așternut AlfaDri într-o cameră cu temperatură controlată cu ciclul lumină/întuneric de 12 ore. Șoarecii le-a fost permis accesul ad libitum la apă și li s-a menținut dieta bogată în grăsime (D12492, dietă de cercetare). Animalele au fost aclimatizate la facilitate timp de cel puțin o săptămână înainte de începerea experimentului.

15 În ziua dinaintea dozării, compoziția corporală a fost măsurată prin MRI și șoarecii au fost grupați pe baza greutății corporale individuale. În ziua 0 la 3:00 - 4:00 pm, animalele și alimentele ingerate au fost cântărite. Animalele din grupurile de tratament singure au fost tratate cu vehicul (dPBS, pH 7,2) sau liraglutidă la 10 nmol/kg prin administrare subcutanată în fiecare zi sau Compusul 1 la doze de 0,1, sau 1,0 nmol/kg prin administrare subcutanată la fiecare trei zile. Animalele din grupurile combinate au primit liraglutidă (10 nmol/kg) zilnic și compusul 1 la doze de 0,1 sau 1,0 nmol/kg la fiecare trei zile. În ziua 8, compoziția corporală a fost măsurată prin MRI. În ziua 9, șoarecii sunt ținuți nemâncați timp de 5 ore și s-a măsurat glucoza din sânge în timpul repausului alimentar și insulina. Analizele statistice au fost efectuate utilizând ANOVA unifactorială sau ANOVA bifactorială cu măsurători repetate cu post-test Tukey în prismă. Toate datele sunt prezentate ca medie ± SEM (Figura 9 și Tabelele 12-17).

25 **Tabelul 12: Efectul compusului 1, liraglutidei, și combinațiilor de compus 1 și liraglutidă asupra ingerării zilnice de alimente (g) după 9 zile de tratament.**

Tratament		Compusul 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
	Vehicul	Liraglutidă (nmol/kg)				
Zi	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
0	2,6±0,1	2,4±0,1	2,3±0,1	2,4±0,1	2,5±0,1	2,8±0,1
1	2,5±0,1	2,0±0,2*	1,2±0,1*	1,1±0,1*	0,8±0,1*	0,5±0,1*
2	2,5±0,1	2,0±0,2	0,8±0,1*	1,1±0,1*	0,7±0,1*	0,2±0,1*
3	2,5±0,1	2,3±0,2	1,5±0,2*	1,5±0,2*	1,2±0,1*^	0,5±0,1*
4	2,6±0,1	2,4±0,1	1,8±0,1*	1,9±0,2*	1,2±0,2*	0,3±0,1*

Tratament		Compusul 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
	Vehicul	Liraglutidă (nmol/kg)				
Zi	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
5	2,4±0,1	2,4±0,1	2,0±0,2	1,9±0,1*	1,3±0,2*^	0,5±0,1*
6	2,8±0,2	2,8±0,1	2,4±0,1	2,2±0,1*	1,5±0,2*^	0,3±0,1*^
7	2,6±0,1	2,6±0,1	2,3±0,1	2,3±0,1	1,6±0,1*	0,3±0,2*^
8	2,9±0,2	2,2±0,1*^	2,3±0,1*	1,8±0,1*	1,4±0,1*	0,5±0,2*^
9	1,8±0,3	2,0±0,1	2,2±0,1	1,7±0,1	1,6±0,2	0,7±0,2*^

Valorile reprezintă medie + SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup, cu excepția n=7 când s-a notat cu ^

*p<0,05, versus vehicul; ANOVA RM bifactorială, test Tukey de comparație multiplă

Tabelul 13: Efectul compusului 1, liraglutidei, și combinațiilor de compus 1 și liraglutidă asupra greutateii corporale (g) după 9 zile de tratament.

Tratament		Compusul 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
	Vehicul	Liraglutidă (nmol/kg)				
Zi	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
-1	46,8±0,5	46,8±0,5	46,8±0,5	46,8±0,5	46,8±0,5	46,8±0,4
0	46,9±0,4	46,8±0,5	46,8±0,5	47,0±0,5	46,8±0,5	47,0±0,4
1	47,0±0,5	46,4±0,5	45,5±0,5	45,6±0,4	44,9±0,5*	44,3±0,4*
2	46,8±0,5	45,9±0,5	44,1±0,4*	44,4±0,5*	43,7±0,5*	42,4±0,5*
3	46,6±0,5	45,8±0,5	43,5±0,5*	43,9±0,6*	43,0±0,5*	40,9±0,4*
4	46,5±0,4	45,7±0,5	43,2±0,4*	43,6±0,6*	42,1±0,4*	39,1±0,5*
5	46,4±0,5	45,5±0,6	42,7±0,4*	43,3±0,6*	41,2±0,5*	37,4±0,4*
6	46,8±0,5	46,0±0,6	43,0±0,5*	43,2±0,6*	40,7±0,5*	35,9±0,5*
7	46,7±0,5	45,8±0,6	42,9±0,5*	43,2±0,7*	40,3±0,5*	34,4±0,4*
8	46,6±0,5	45,5±0,6	42,6±0,5*	42,4±0,6*	39,5±0,4*	33,2±0,5*
9	47,0±0,6	45,8±0,6	43,1±0,5*	42,6±0,6*	39,4±0,4*	32,5±0,5*

Valorile reprezintă medie + SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup

*p<0,05, versus vehicul; ANOVA RM bifactorială, test Tukey de comparație multiplă

5 **Tabelul 14: Comparație a compusului 1 codizat și liraglutidei asupra modificării procentuale a greutateii corporale versus suma modificărilor procentuale ale greutateii corporale a compusului 1 sau liraglutidei dozate singure în ziua 9.**

Trata- ment	Compus 1 (nmol/kg)			Sumă de Compus 1 (0,1) și Lira (10,0)	Compus 1 (mnol/kg)			Sumă de Compus 1 (1,0) și Lira (10,0)
	0,1	n/a	0,1		1,0	n/a	1,0	
Zi	Liraglutidă (nmol/kg)				Liraglutidă (nmol/kg)			
	n/a	10,0	10,0		n/a	10,0	10,0	
9	-2,2±0,7	-9,3±1,1	-15,8±0,8*	-11,5±1,1*	-7,8±1,1	-9,3±1,1	-30,8±0,9*	-17,1±1,9*

Valorile reprezintă medie ± SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup

*p<0,05, suma compusului 1 și liraglutidei versus codizare; ANOVA unifactorială, test Tukey de comparație multiplă

Tabelul 15: Efectul compusului 1, liraglutidei, și combinațiilor de compus 1 și liraglutidă asupra glucozei în sânge (mg/dL), insulinei, și HOMA-IR după 9 zile de tratament.

	Vehicul	Compus 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
		Liraglutidă (nmol/kg)				
	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
Glucoza din sânge în regim alimentat (mg/dL)	140,8±11,7	132,6±2,9	126,4±5,1	112,5±4,3	112,9±6,7	79,4±10,1*
Glucoza din sânge în repaus alimentar (mg/dL)	173,8±7,8	149,8±4,9	133,1±6,6*	124,1±4,9*	109,8±4,3*	68,6±7,7*
Insulina în repaus alimentar (ng/mL)	7,2±1,1	8,1±1,1	5,8±0,9	3,9±0,6*	1,9±0,3*	0,5±0,1*
HOMA-IR	92,1±18,6	86,4±10,7	54,7±9,2	34,8±6,0*	14,5±2,6*	2,9±0,6*

Valorile reprezintă medie ± SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup
 *p<0,05, versus vehicul; ANOVA unifactorială, test Tukey de comparație multiplă

Tabelul 16: Efectul compusului 1, liraglutidei, și combinațiilor de compus 1 și liraglutidă asupra compoziției corporale (g) măsurate prin MRI după 8 zile de tratament.

Tratament	Vehicul	Compus 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
		Liraglutidă (nmol/kg)				
	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
Grăsime(g) Zi 1	18,6±0,4	18,6±0,4	18,8±0,6	18,2±0,5	18,1±0,6	18,1±0,7
Grăsime(g) Zi 8	18,9±0,4	18,3±0,5	16,1±0,8*	15,6±0,5*	13,3±0,4*	9,3±0,7*
Slab(g) Zi 1	26,3±0,4	26,3±0,4	26,1±0,7	26,6±0,5	26,7±0,5	27,0±0,6
Slab(g) Zi 8	25,9±0,5	25,4±0,3	24,7±0,6	25,0±0,5	24,4±0,4	22,1±0,4*

Valorile reprezintă medie + SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup
 *p<0,05, versus vehicul; ANOVA unifactorială, test Tukey de comparație multiplă

5 Tabelul 17: Efectul compusului 1, liraglutidei, și combinațiilor de compus 1 și liraglutidă asupra compoziției corporale (%) măsurate prin MRI după 8 zile de tratament.

Tratament	Vehicul	Compus 1 (nmol/kg)				
		0,1	1,0	n/a	0,1	1,0
		Liraglutidă (nmol/kg)				
	n/a	n/a	n/a	10,0	10,0	10,0
Grăsime(%) Zi 1	39,0±0,8	39,1±0,6	39,4±1,3	38,3±0,9	38,1±1,1	38,1±1,3
Grăsime(%) Zi 8	39,9±0,8	39,6±0,6	37,3±1,6	36,2±0,9	33,4±0,9*	27,7±1,7*
Slab(%) Zi 1	55,3±0,8	55,2±0,6	54,9±1,3	56,0±1,0	56,0±1,2	56,8±1,3
Slab(%) Zi 8	54,7±0,7	55,1±0,6	57,4±1,5	58,1±0,9	61,2±1,0*	66,3±1,7*

Valorile reprezintă medie ± SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup
 *p<0,05, versus vehicul; ANOVA unifactorială, test Tukey de comparație multiplă

Exemplul 109: Efectul unei singure doze de compus 1 asupra ingerării alimentelor și greutateii corporale la șobolanii Sprague-Dawley

Compusul 1 a fost evaluat pentru abilitatea sa de a reduce ingerarea alimentelor și greutatea corporală la Sprague-Dawley după o doză unică. Animalele au fost obținut de la Laboratoarele Charles River (Wilmington, MA) la 200-225 g greutate corporală și au fost utilizate la o săptămână de la livrare. Ele au fost adăpostite unul în cușcă pe așternut uscat alfa și un tub de plastic pentru îmbogățire într-o cameră cu temperatură controlată cu un ciclu lumină/întineric de 12 ore. Lor le-a fost permis accesul ad libitum la apă și au fost alimentate cu dietă de laborator pentru rozătoare; dietă iradiată certificată PicoLab® pentru rozătoare 20, 5K75* (furnizată de Purina Mills, St. Louis, MO prin ASAP Quakertown, PA). Au fost luate și înregistrate greutateile animalelor pentru fiecare șobolan înainte de dozare.

În ziua de dinaintea dozării, șobolanii au fost grupați în cohorte de opt animale pe baza greutateii corporale individuale. În ziua următoare, animalele au fost cântărite și tratate cu vehicul (dPBS, pH 7,2), Compusul 1 la o doză de 0,1, 0,3, 1,0, sau 3,0 nmol/kg, sau dulaglutidă la 0,3 nmol/kg prin administrare subcutanată. Greutățile corporale și alimentele ingerate au fost măsurate la 1, 2 și 3 zile după dozare și s-a calculat procentajul de pierdere în greutate și reducere în ingerarea alimentelor. Analizele statistice au fost efectuate utilizând ANOVA bifactorială cu măsurători repetate cu post-test Tukey în prismă. Toate datele sunt prezentate ca medie $\pm$ SEM (Tabelele 18-20).

Tabelul 18: Efectul unei singure doze de compus 1 asupra ingerării zilnice de alimente și consumului total de alimente după trei zile la șobolanii Sprague-Dawley.

Tratament	Doză (nmol/kg)	Zi 0	Zi 1	Zi 2	Zi 3	Consum total de alimente
Vehicul		26,7 $\pm$ 0,7	28,6 $\pm$ 1,0	29,4 $\pm$ 0,7	29,7 $\pm$ 0,8	87,7 $\pm$ 1,6
Compus 1	0,1	25,9 $\pm$ 1,0	27,6 $\pm$ 1,0	29,1 $\pm$ 1,0	29,1 $\pm$ 1,0	85,7 $\pm$ 2,7
	0,3	24,3 $\pm$ 0,7	25,8 $\pm$ 1,1	27,2 $\pm$ 1,3	27,9 $\pm$ 0,9	80,9 $\pm$ 2,7
	1	27,0 $\pm$ 1,1	23,7 $\pm$ 0,6*	25,0 $\pm$ 2,0*	27,1 $\pm$ 0,9	75,8 $\pm$ 3,2*
	3	27,0 $\pm$ 0,8	19,6 $\pm$ 1,4*	19,1 $\pm$ 1,0*	23,6 $\pm$ 1,0*	62,3 $\pm$ 2,5*
Dulaglutidă	0,3	26,6 $\pm$ 0,8	27,3 $\pm$ 1,2	30,0 $\pm$ 0,7	30,1 $\pm$ 0,7	87,4 $\pm$ 2,0

Valorile reprezintă medie $\pm$ SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup *p<0,05, versus vehicul; ANOVA unifactorială, test Dunnett de comparație multiplă pentru consumul total de alimente; ANOVA bifactorială, test Tukey de comparație multiplă pentru consumul zilnic de alimente

Tabelul 19: Efectul unei singure doze de compus 1 asupra greutății corporale absolute după trei zile la șobolanii Sprague-Dawley.

Tratament	Doză (nmol/kg)	Zi -1	Zi 0	Zi 1	Zi 2	Zi 3
Vehicul		263,9 $\pm$ 4,9	271,6 $\pm$ 4,7	281,2 $\pm$ 5,0	289,5 $\pm$ 5,3	299,0 $\pm$ 5,9
Compus 1	0,1	266,0 $\pm$ 2,3	274,1 $\pm$ 2,9	284,3 $\pm$ 2,7	293,3 $\pm$ 2,8	301,4 $\pm$ 2,8
	0,3	264,9 $\pm$ 3,6	270,8 $\pm$ 3,8	278,2 $\pm$ 4,5	285,9 $\pm$ 4,8	294,3 $\pm$ 4,9
	1	266,5 $\pm$ 3,6	276,1 $\pm$ 3,7	280,9 $\pm$ 3,7	287,1 $\pm$ 4,5	294,3 $\pm$ 4,1
	3	265,1 $\pm$ 3,6	272,7 $\pm$ 3,4	274,8 $\pm$ 3,8	275,7 $\pm$ 3,4*	282,1 $\pm$ 3,7*
Dulaglutidă	0,3	264,0 $\pm$ 3,1	270,3 $\pm$ 3,0	280,8 $\pm$ 4,2	292,47 $\pm$ 3,6	299,0 $\pm$ 3,3

Valorile reprezintă medie $\pm$ SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup *p<0,05, versus vehicul; ANOVA bifactorială, test Tukey de comparație multiplă

Tabelul 20: Efectul unei singure doze de compus 1 asupra modificării greutății corporale după trei zile la șobolanii Sprague-Dawley.

Tratament	Doză (nmol/kg)	Zi -1	Zi 0	Zi 1	Zi 2	Zi 3
Vehicul		-7,7 $\pm$ 1,5	0,0 $\pm$ 0,0	9,6 $\pm$ 1,5	18,0 $\pm$ 1,4	27,4 $\pm$ 1,8
Compus 1	0,1	-8,2 $\pm$ 0,9	0,0 $\pm$ 0,0	10,2 $\pm$ 1,6	19,1 $\pm$ 1,0	27,3 $\pm$ 1,4

Tratament	Doză (mmol/kg)	Zi -1	Zi 0	Zi 1	Zi 2	Zi 3
	0,3	-5,9 ± 0,9	0,0 ± 0,0	7,3 ± 1,1	15,1 ± 1,1	23,4 ± 1,7
	1	-9,7 ± 0,8	0,0 ± 0,0	4,7 ± 0,8*	11,0 ± 1,4*	18,2 ± 1,0*
	3	-7,6 ± 1,4	0,0 ± 0,0	2,2 ± 1,6*	3,0 ± 1,5*	9,4 ± 1,9*
Dulaglutidă	0,3	-6,3 ± 0,8	0,0 ± 0,0	10,6 ± 1,6	22,5 ± 0,8	28,7 ± 0,6

Valorile reprezintă medie ± SEM pentru datele de la 8 animale pe moment de timp pe grup
 *p<0,05, versus vehicul; ANOVA unifactorială, test Dunnett de comparație multiplă pentru modificarea netă în greutate corporală pe zi 3; ANOVA bifactorială, test Tukey de comparație multiplă pentru modificarea zilnică în greutatea corporală

Exemplul 110: Efectele compusului 1, singur sau în combinație cu liraglutida, la macacii rhesus obezi

5 Compusul 1 a fost evaluat pentru abilitatea sa de a reduce ingerarea alimentelor la macacii rhesus obezi. Eficacitatea suplimentară observată când liraglutida este coadministrată cu o doză eficientă de compus 1 a fost de asemenea evaluată. Mai întâi, a fost efectuat un studiu abreviat variabil cu doză pentru a determina doza de liraglutidă care trebuie utilizată în timpul coadministrării. Șase animale au primit o singură administrare sc zilnică de soluție salină timp de trei săptămâni. Ingerarea alimentelor a fost măsurată zilnic și ingerarea alimentelor liniei de bază a fost stabilită ca ingerare medie zilnică pe parcursul celor trei săptămâni de tratament cu vehicul. Cele șase animale au fost apoi divizate în două grupuri; 0,01 mg/kg (n=3) și 0,02 mg/kg (n=3). Fiecare a primit o doză zilnică subcutanată de liraglutidă timp de o săptămână pentru a determina efectele asupra ingerării alimentelor față de linia de bază și pentru a identifica o doză maximă tolerabilă. Ingerarea alimentelor a fost de asemenea măsurată timp de două săptămâni după întreruperea tratamentului cu liraglutidă. Toate datele sunt prezentate ca medie săptămânală de ingerare a alimentelor ± SEM (Figura 10).

Zece (10) macaci rhesus obezi au fost utilizați pentru a evalua eficacitatea compusului 1. După o perioadă de 2 săptămâni a liniei de bază, compusul 1 a fost administrat s.c. zilnic timp de 4 săptămâni. Animalele au fost dozate timp de 7 zile la 0,01 mg/kg, apoi 7 zile la 0,03 mg/kg, apoi 9 zile la 0,015 mg/kg, și în final 5 zile de codozare a compusului 1 la 0,015 mg/kg în combinație cu liraglutidă la 0,01 mg/kg. Ingerarea alimentelor a fost monitorizată zilnic și greutatea corporală a fost măsurată săptămânal. Nivelurile de glucoză, insulină, colesterol total, HDL, LDL, ALT și AST au fost evaluate la linia de bază, după tratamentul cu compusul 1 și după tratamentul combinat. Toate datele sunt prezentate ca medie ± SEM (Tabelele 21-22 și Figurile 11 și 12).

25 Tabelul 21: Efectul compusului 1 cu adăugare de liraglutidă asupra ingerării alimentelor la macacii rhesus obezi

Zile de tratament	Compus 1 (mg/kg)			
	0,01	0,03	0,015	0,015 + liraglutidă
Linia de bază la 2 săpt.	190±15			
1	160±9	149±12	117±18	50±11
2	167±19	149±14	72±14	13±5
3	175±13	94±16	72±12	15±10
4	196±14	181±13	86±14	34±17
5	166±15	101±12	77±8	34±12
6	180±14	99±27	91±12	
7	146±12	73±11	75±4	
8			97±12	
9			118±21	

Tabelul 22: Efectul compusului 1 cu adăugare de liraglutidă asupra greutății corporale la macacii rhesus obezi

Tratament	Doză (mg/kg)	BW (kg)
Predoza	NA	15,8±0,9
Compus 1	0,01	15,9±0,9
	0,03	15,7±0,9
	0,015	15,4±0,8*
Compus 1 + liraglutidă	0,015	15,0±0,8*

Valorile reprezintă medie + SEM pentru datele de la 8 animale pe grup
*p<0,05, versus vehicul

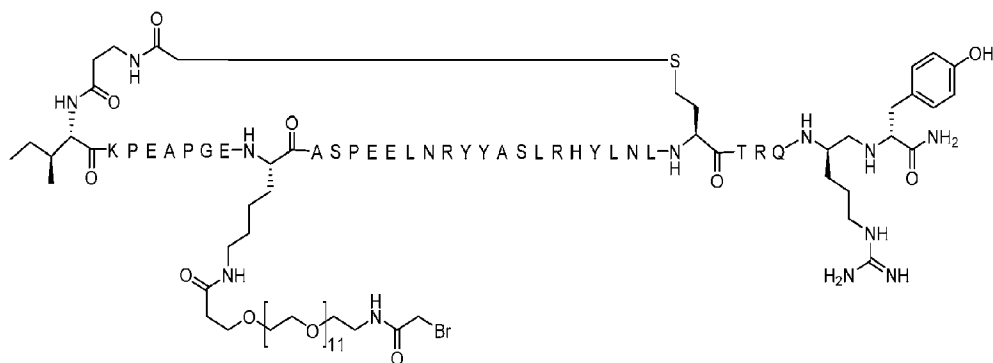
ANOVA RM unifactorială, test Dunnett de comparație multiplă

5 Exemple de secvențe PYY ciclice sau conjugate ai acestora ai invenției includ:

SEQ ID NO: 1

10 Nume: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(35R,36Y)]-PYY2-36

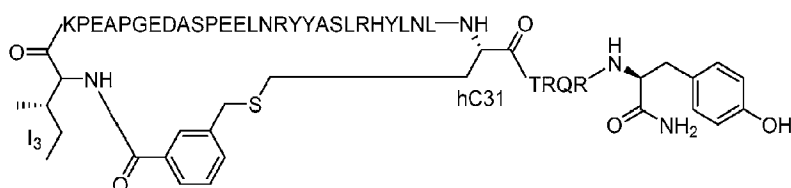
Structură:



SEQ ID NO: 2

15 Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31)]-PYY3-36

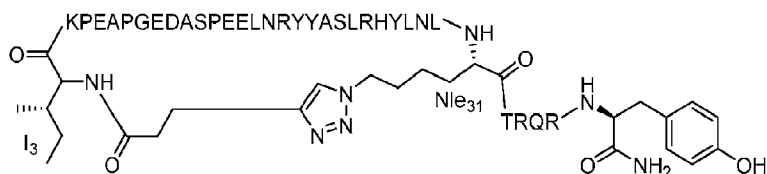
Structură:



SEQ ID NO: 3

20 Nume: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazolil-Nle31)]-PYY3-36

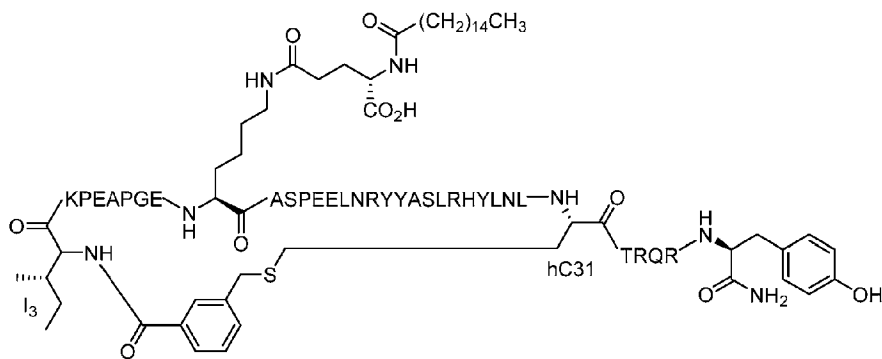
Structură:



SEQ ID NO: 4

25 Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)11]-PYY3-36

Structură:

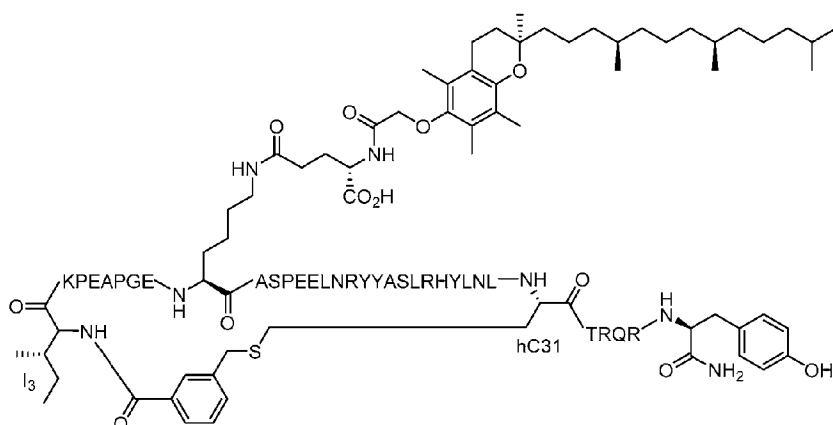


SEQ ID NO: 5

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-AcVitE)11]-PYY3-36

Structură:

5

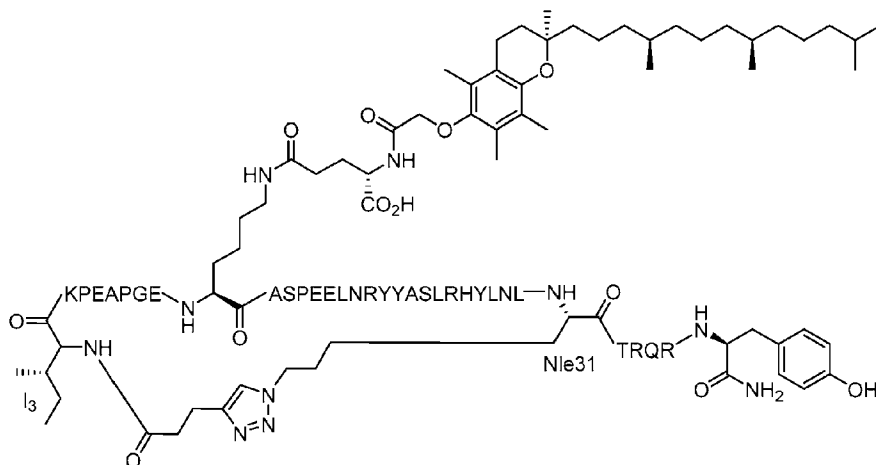


SEQ ID NO: 6

Nume: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazolil-Nle31), K(γ -Glu-AcVitE)11]-PYY3-36

Structură:

10

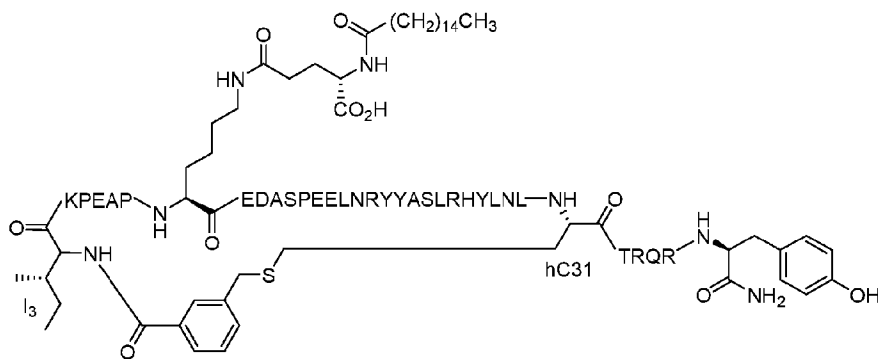


SEQ ID NO: 7

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)9]-PYY3-36

Structură:

15

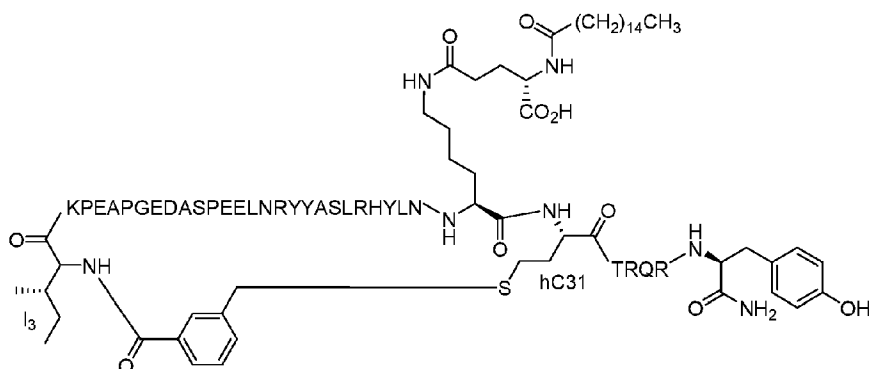


SEQ ID NO: 8

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30]-PYY3-36

Structură:

5

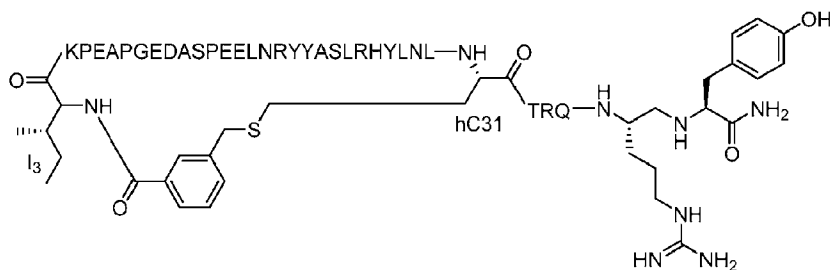


SEQ ID NO: 9

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), psi-(R35Y36)]-PYY3-36

Structură:

10

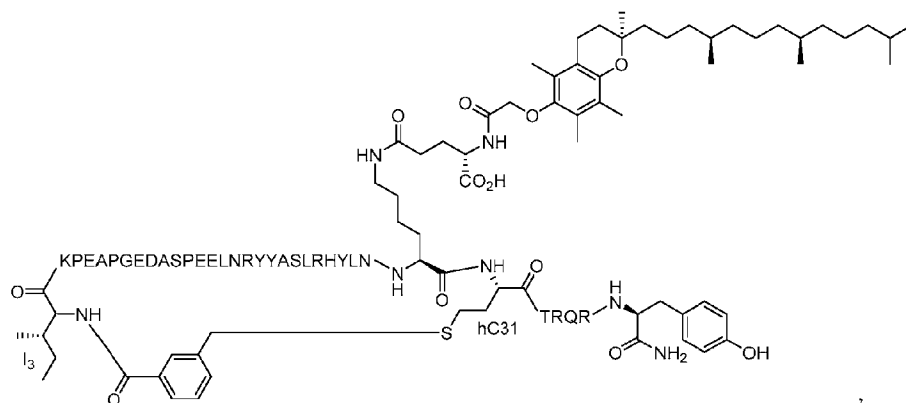


SEQ ID NO: 10

15

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-AcVitE)30]-PYY3-36

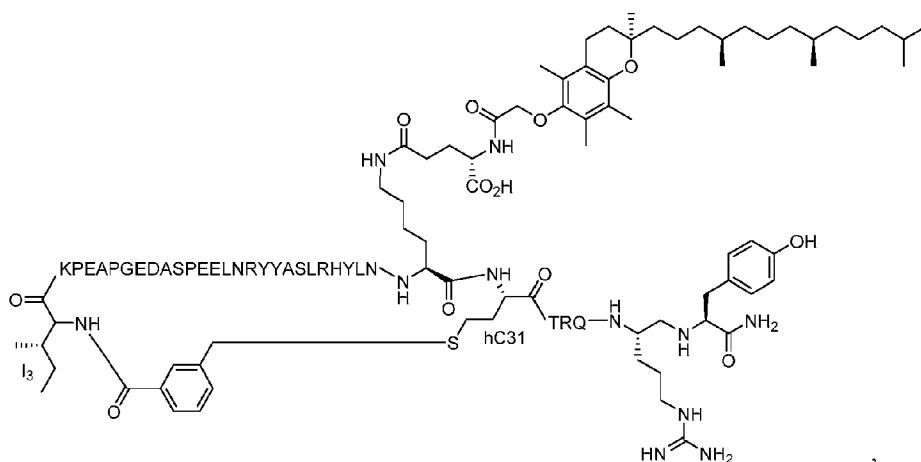
Structură:



SEQ ID NO: 11

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-AcVitE)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

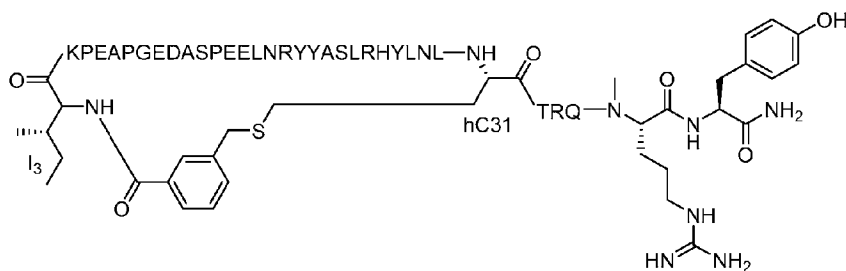


5

SEQ ID NO: 12

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), (N-Me-R35)]-PYY3-36

Structură:

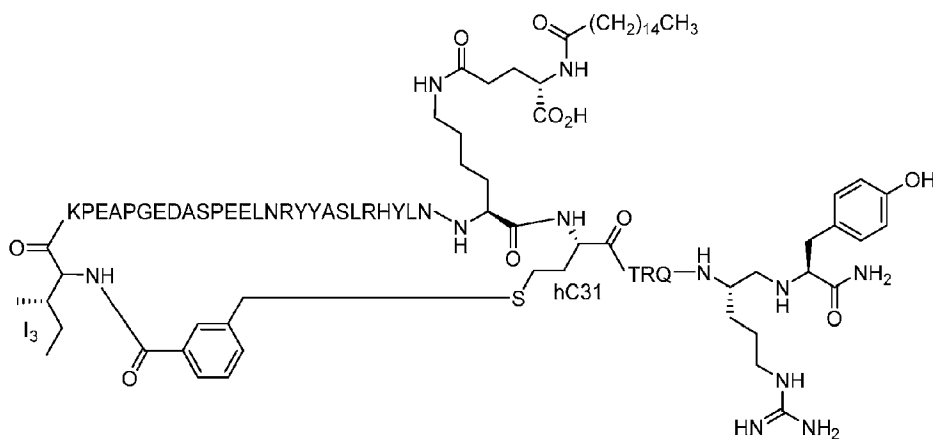


10

SEQ ID NO: 13

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

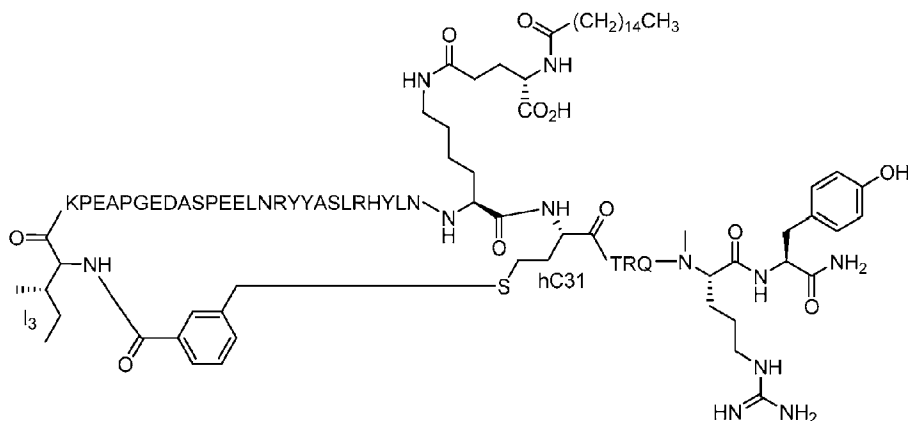


15

SEQ ID NO: 14

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36

Structură:

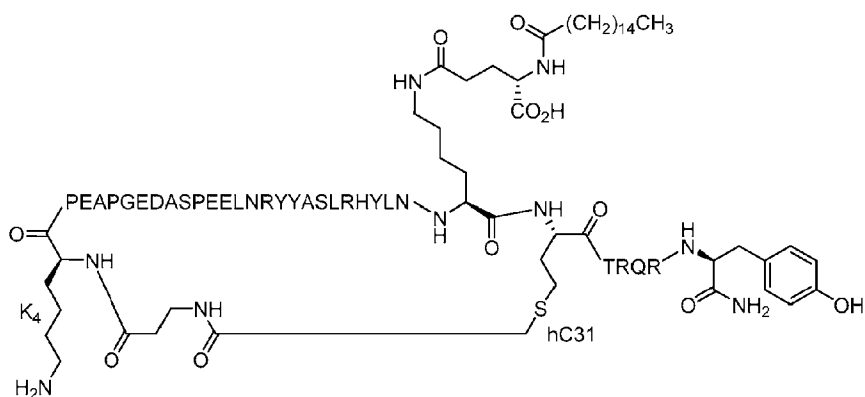


SEQ ID NO: 15

Nume: [ciclo-(K4-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30]-PYY4-36

Structură:

5

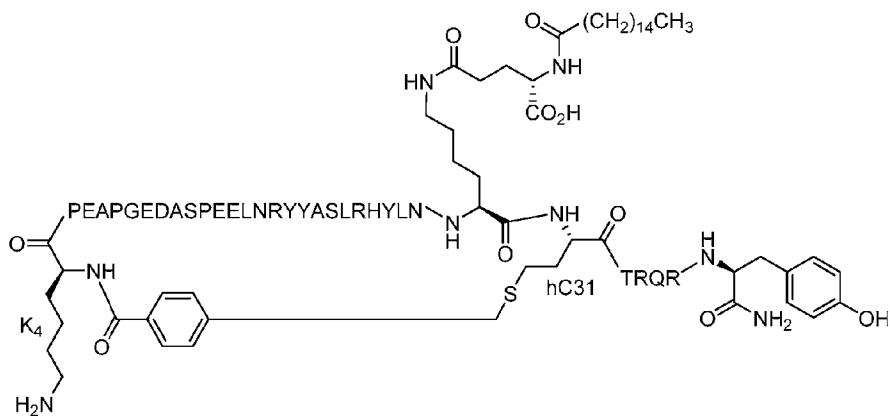


SEQ ID NO: 16

Nume: [ciclo-(K4-*p*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30]-PYY4-36

Structură:

10

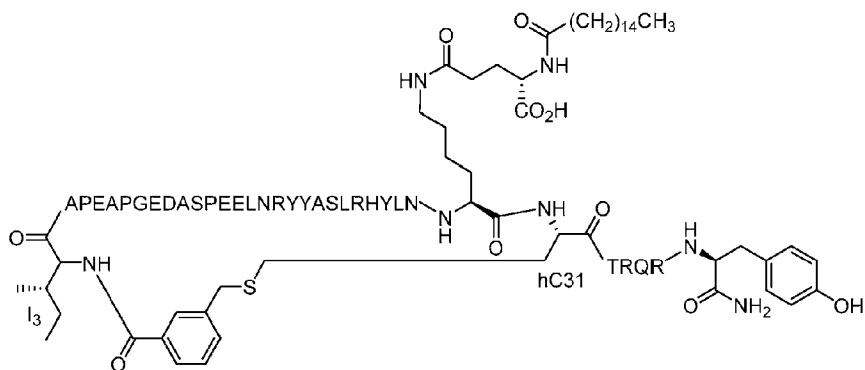


SEQ ID NO: 17

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), A4, K(γ-Glu-Pal)30]-PYY3-36

Structură:

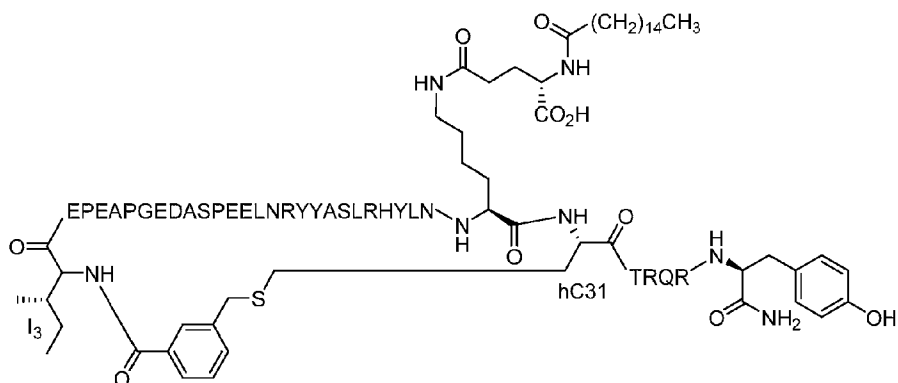
15



SEQ ID NO: 18

Nume: [ciclo-(13-*m*-COPhCH₂-hC31), E4, K(γ -Glu-Pal)30]-PYY3-36

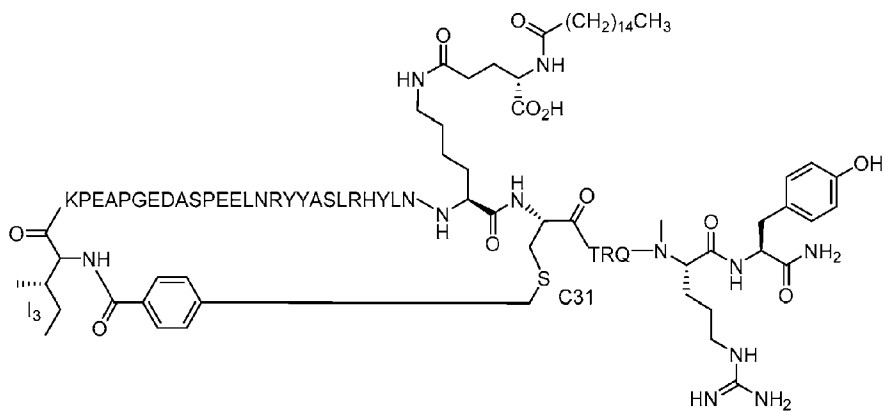
Structură:



SEQ ID NO: 19

Nume: [ciclo-(13-*p*-COPhCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36

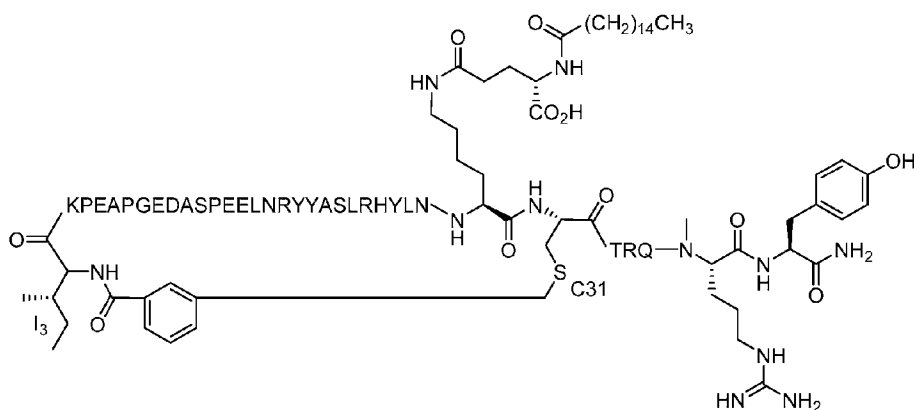
Structură:



SEQ ID NO: 20

Nume: [ciclo-(13-*m*-COPhCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35)]-PYY3-36

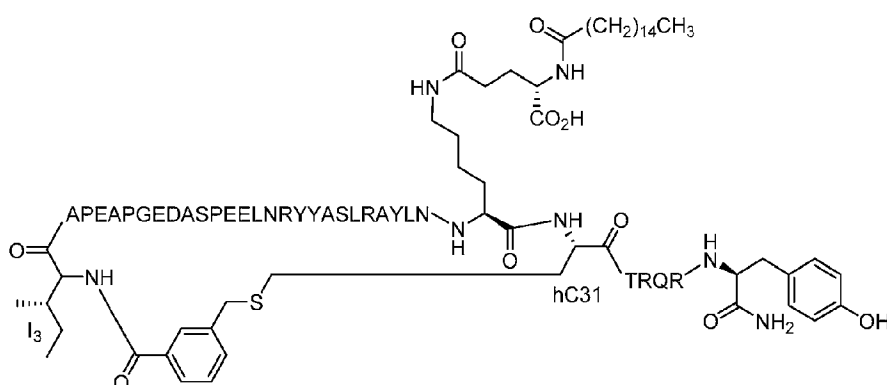
Structură:



SEQ ID NO: 21

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), A4, A26, K(γ -Glu-Pal)30]-PYY3-36

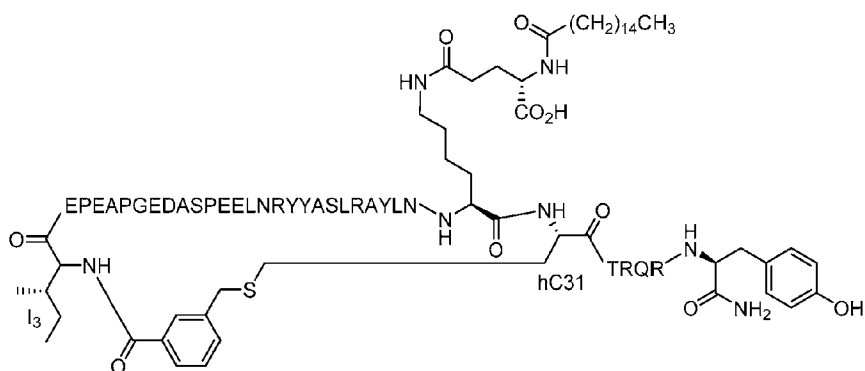
5 Structură:



SEQ ID NO: 22

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), E4, A26, K(γ -Glu-Pal)30]-PYY3-36

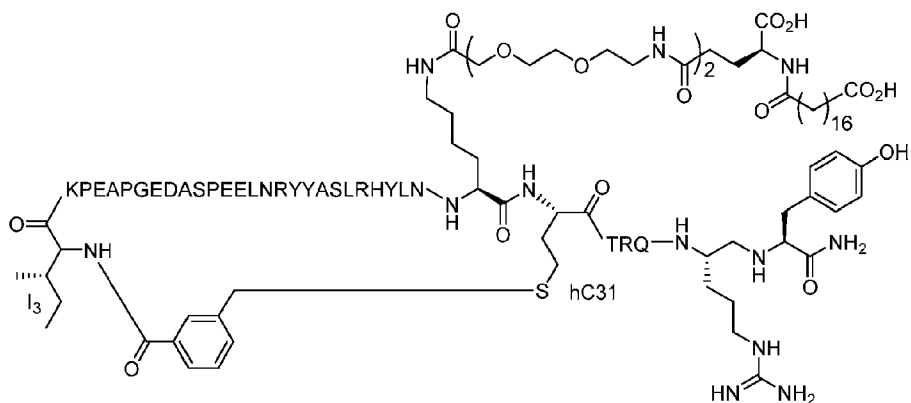
10 Structură:



SEQ ID NO: 23

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂- γ -Glu-COC₁₆CO₂H)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

15 Structură:

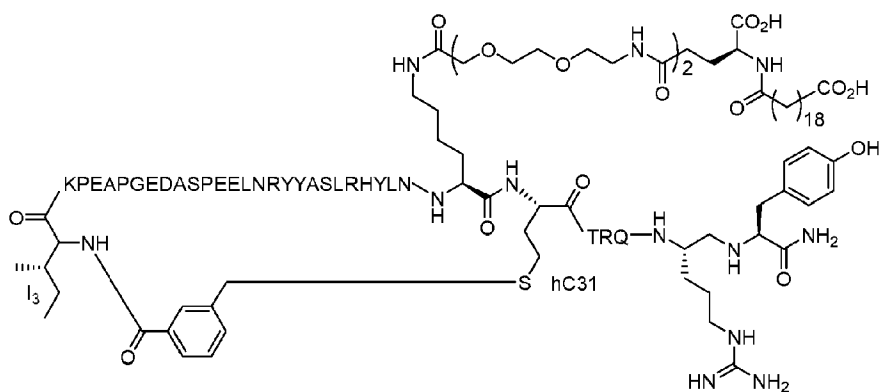


SEQ ID NO: 24

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₈CO₂H)₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

5

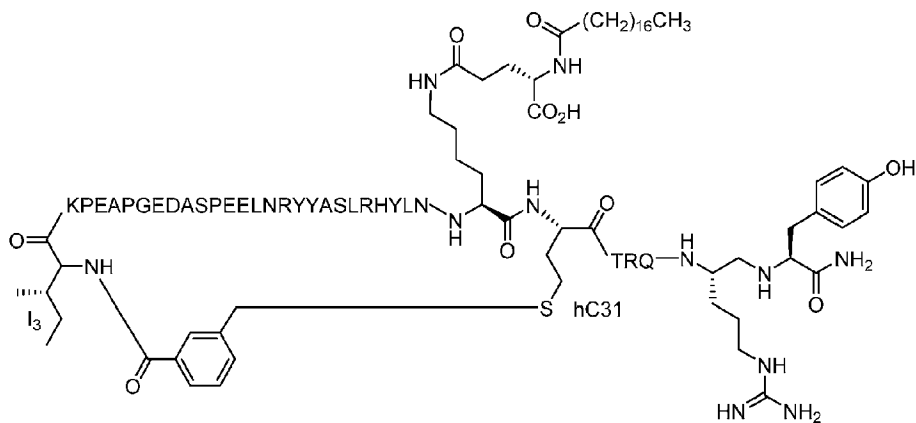


SEQ ID NO: 25

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Stear)₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

10

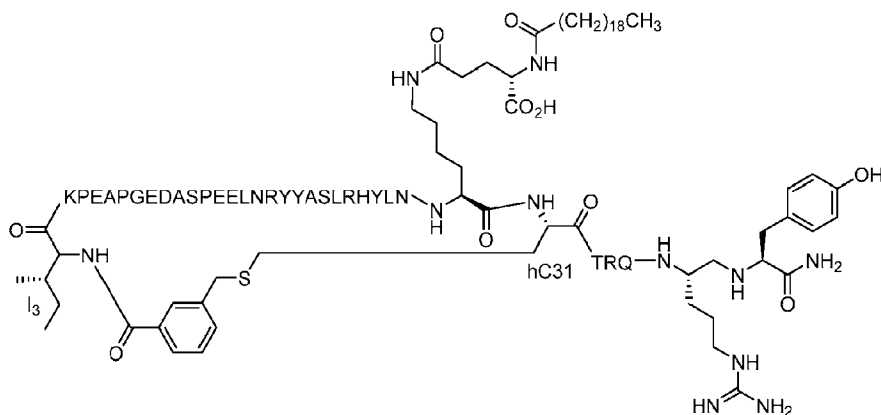


SEQ ID NO: 26

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Arach)₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

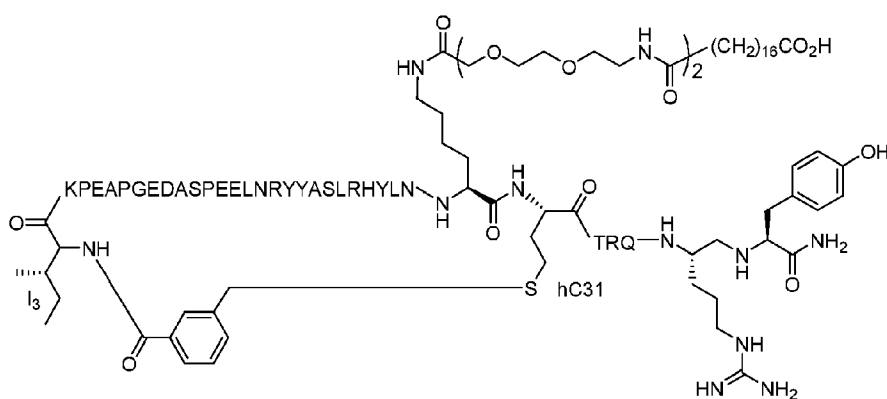
15



SEQ ID NO: 27

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-COC₁₆CO₂H)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

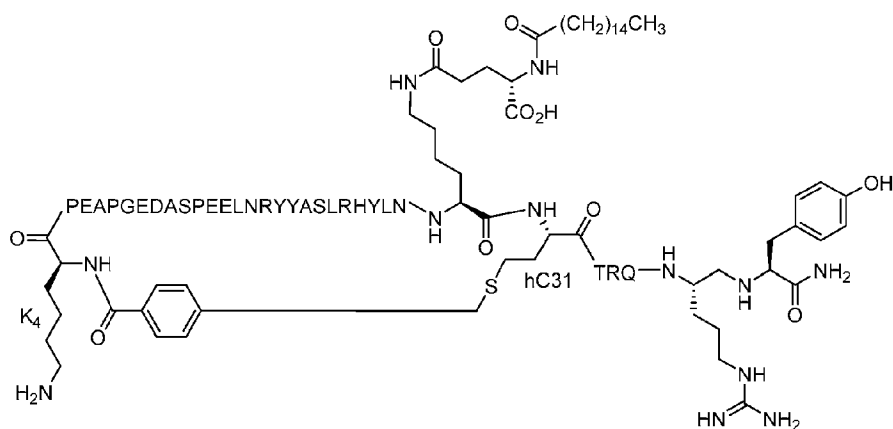
Structură:



SEQ ID NO: 28

Nume: [ciclo-(K4-*p*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36

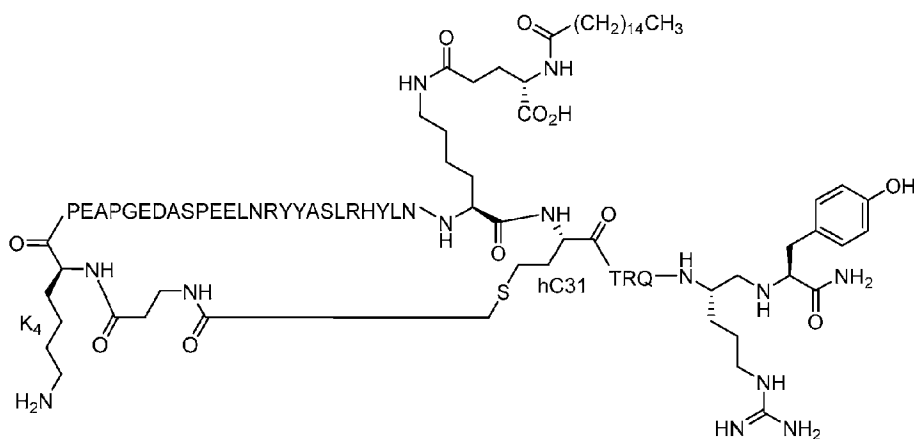
Structură:



SEQ ID NO: 29

Nume: [ciclo-(K4-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36

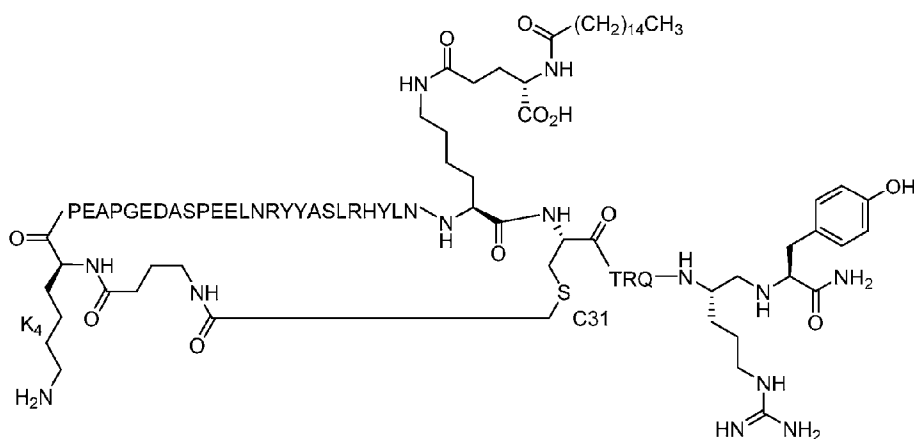
Structură:



SEQ ID NO: 30

Nume: [ciclo-(K4-CO(CH₂)₃NHCOCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36

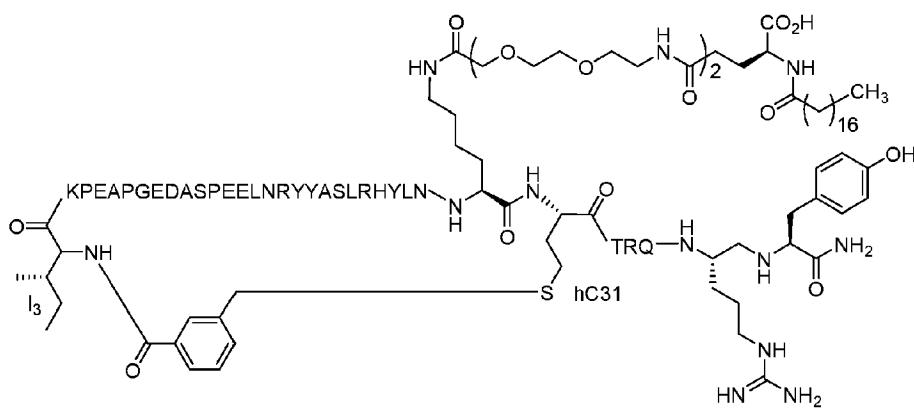
Structură:



SEQ ID NO: 31

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂- γ -Glu-Stear)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

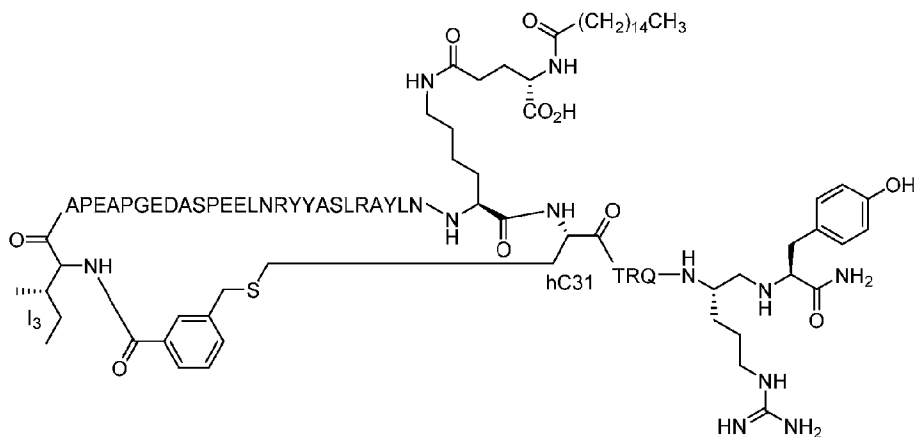
Structură:



SEQ ID NO: 32

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), A4, A26, K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

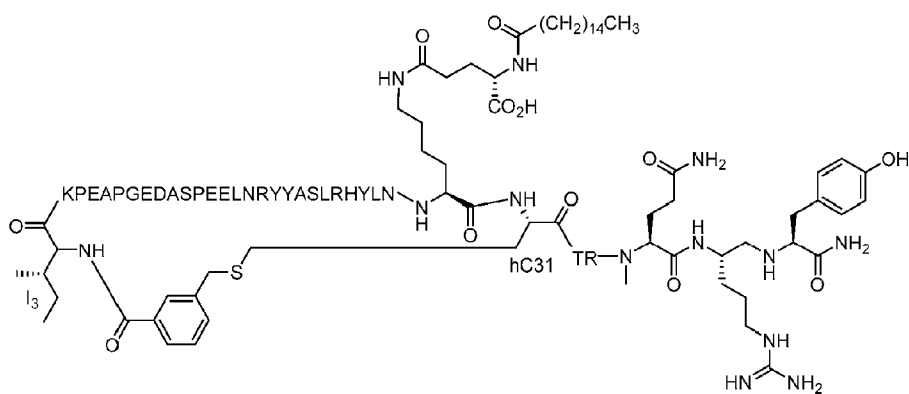
Structură:



SEQ ID NO: 33

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-Q34), psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

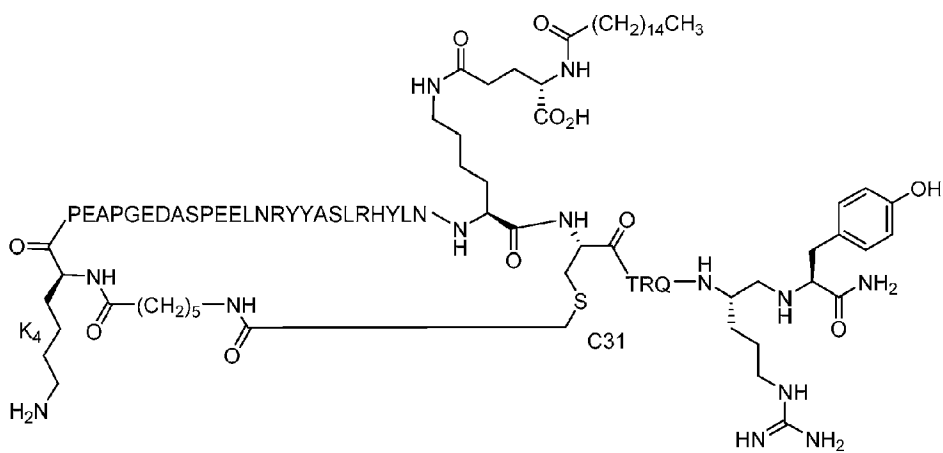
5 Structură:



SEQ ID NO: 34

Nume: [ciclo-(K4-CO(CH₂)₅NHCOCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY4-36

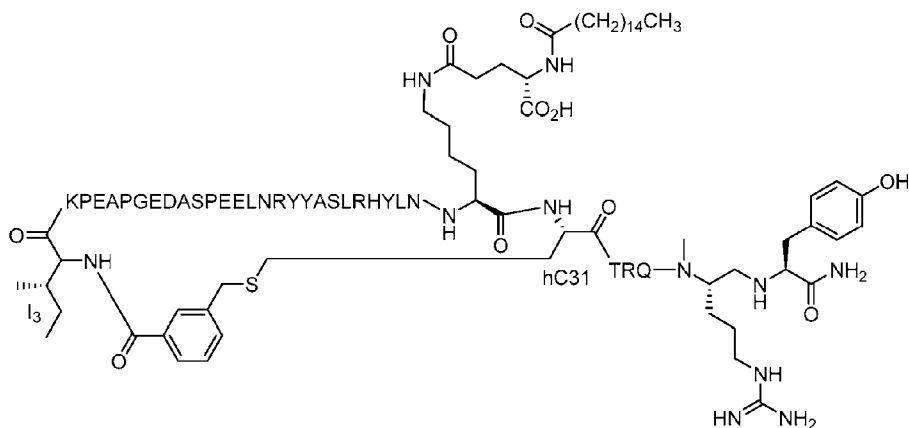
10 Structură:



SEQ ID NO: 35

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35), psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

15 Structură:

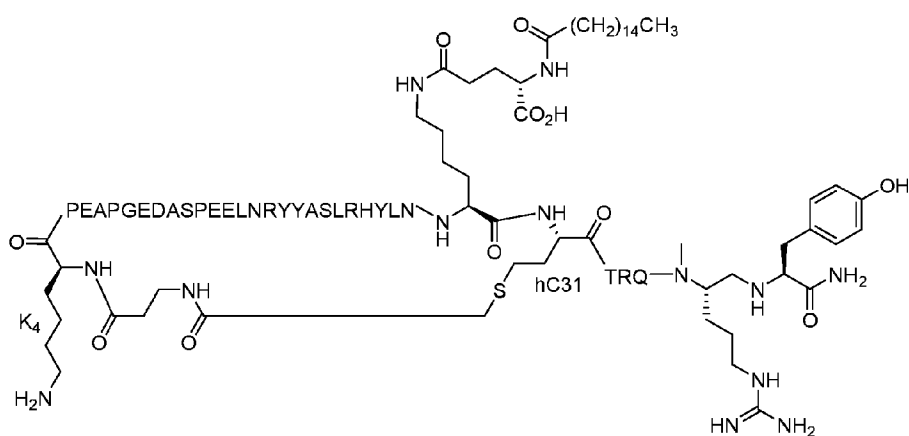


SEQ ID NO: 36

Nume: [ciclo-(K4-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35), psi-(R35,Y36)]-PYY4-36

5

Structură:

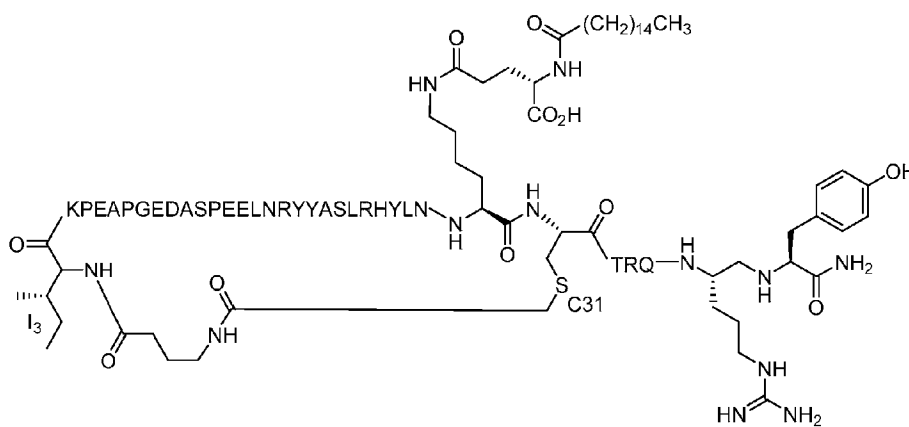


SEQ ID NO: 37

Nume: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₃NHCOCH₂-C31), K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

10

Structură:

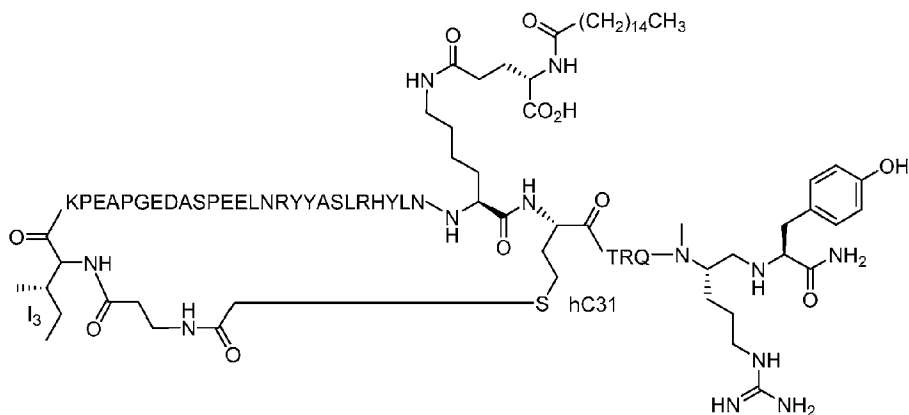


SEQ ID NO: 38

Nume: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31), K(γ -Glu-Pal)30, (N-Me-R35), psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

15

Structură:

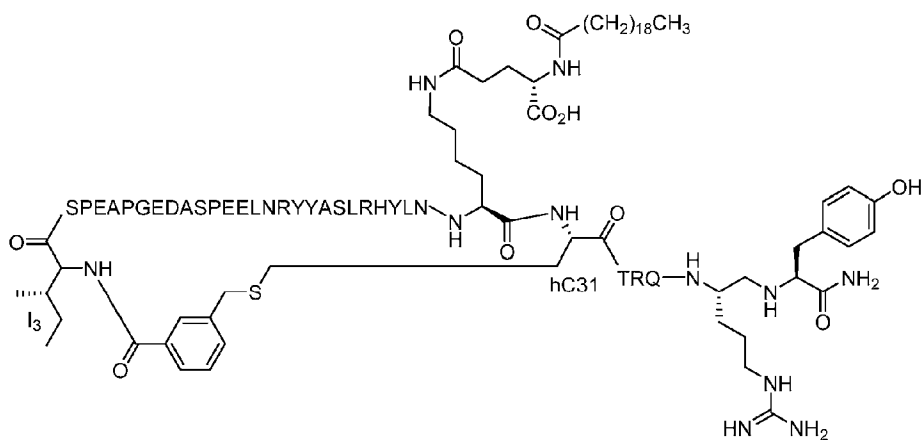


SEQ ID NO: 39

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), S4, K(γ -Glu-Arach)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

5

Structură:

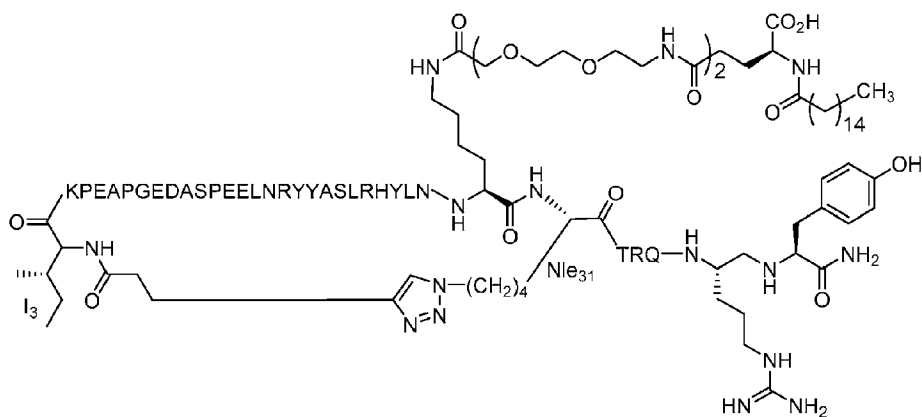


SEQ ID NO: 40

Nume: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazolil-Nle31), K((OEG)₂- γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

10

Structură:

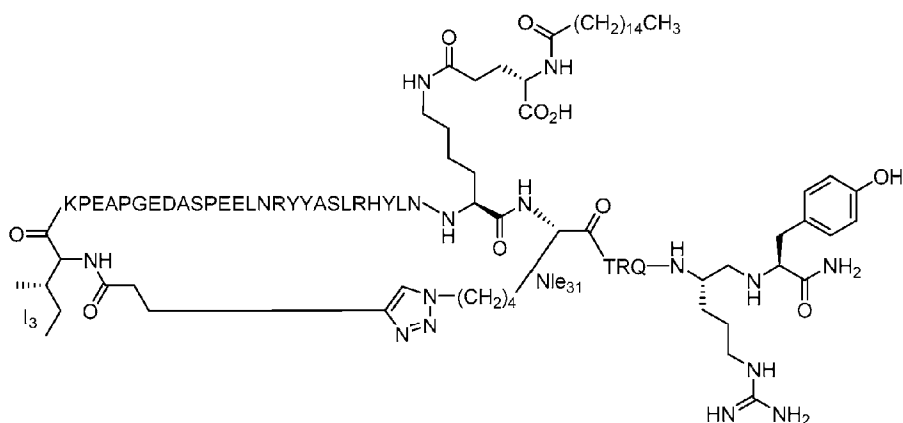


SEQ ID NO: 41

Nume: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazolil-Nle31), K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

15

Structură:

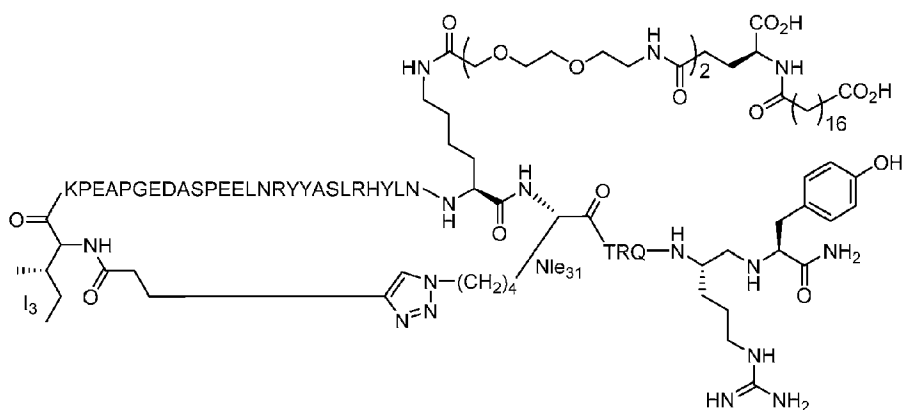


SEQ ID NO: 42

Nume: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂triazolil-Nle₃₁), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)₃₀, psi-(R₃₅,Y₃₆)]-PYY3-36

Structură:

5

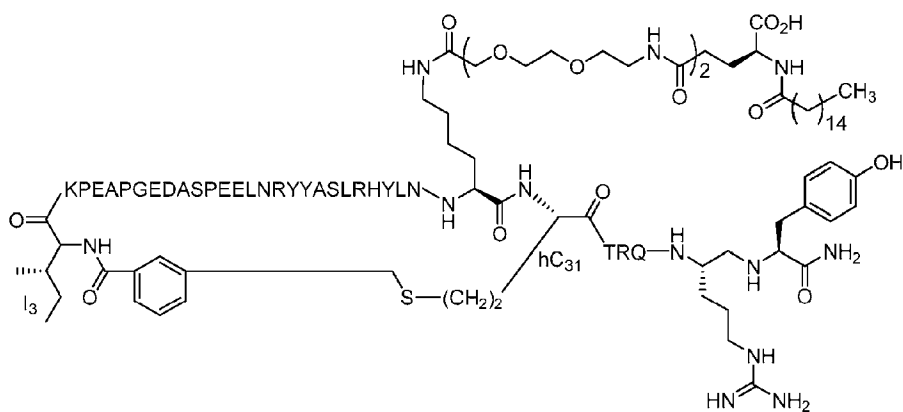


SEQ ID NO: 43

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC₃₁), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)₃₀, psi-(R₃₅,Y₃₆)]-PYY3-36

Structură:

10

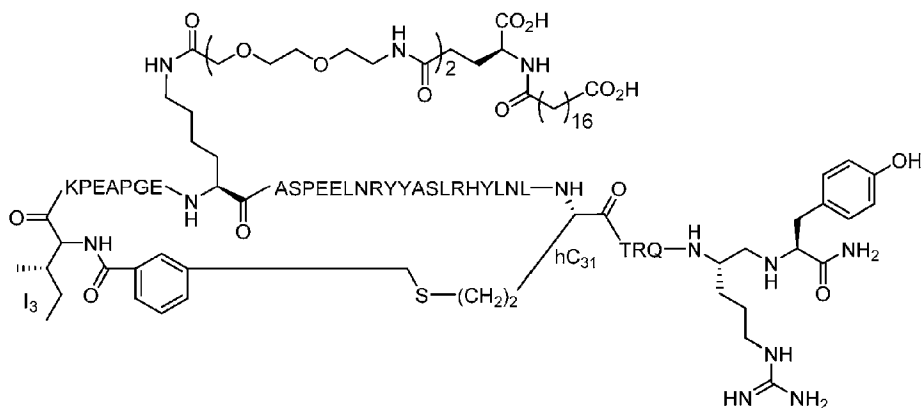


SEQ ID NO: 44

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC₃₁), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)₁₁, psi-(R₃₅,Y₃₆)]-PYY3-36

Structură:

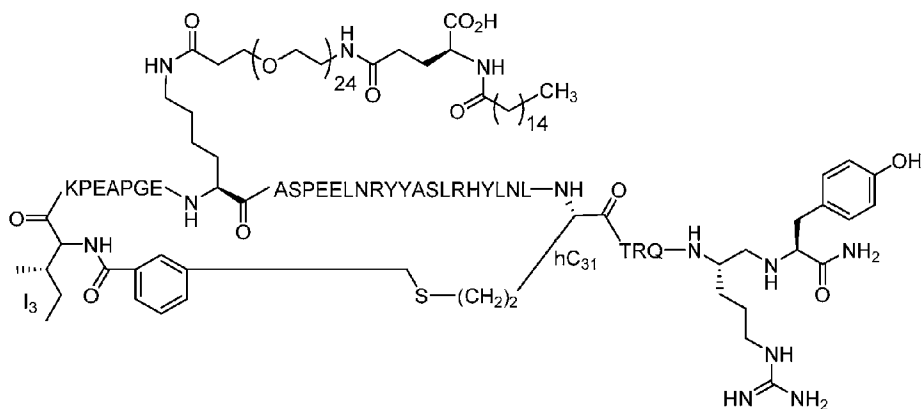
15



SEQ ID NO: 45

Num: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(COCH₂CH₂(OCH₂CH₂)₂₄NH-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

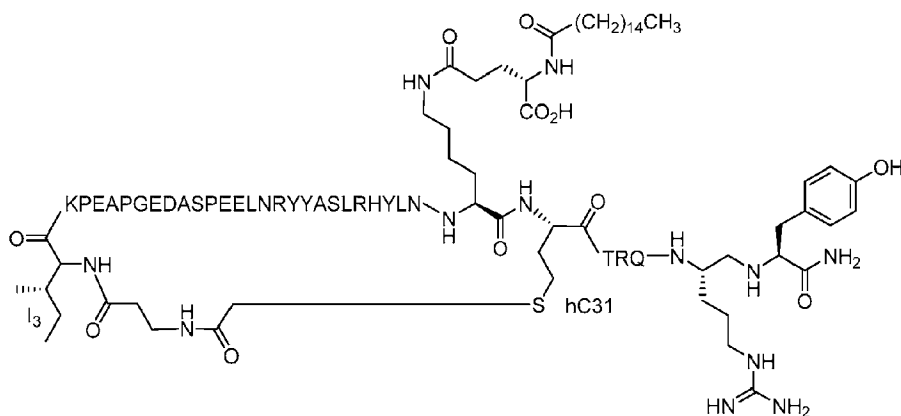
Structură:



SEQ ID NO: 46

Num: [ciclo-(I3-CO(CH₂)₂NHCOCH₂-hC31), K(γ-Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

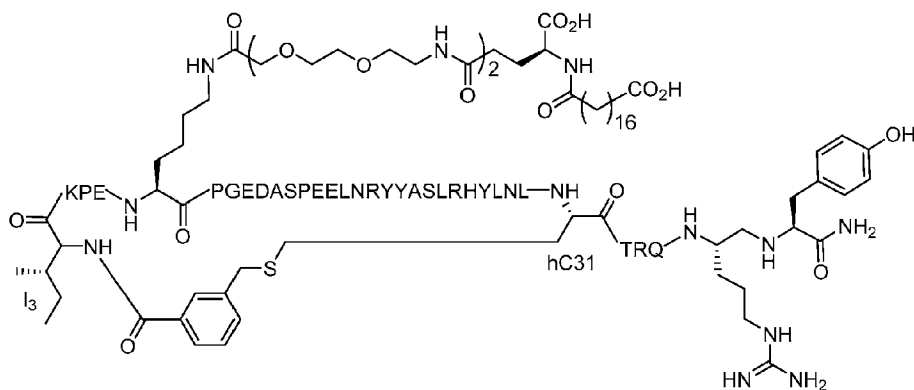
Structură:



SEQ ID NO: 47

Num: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)7, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

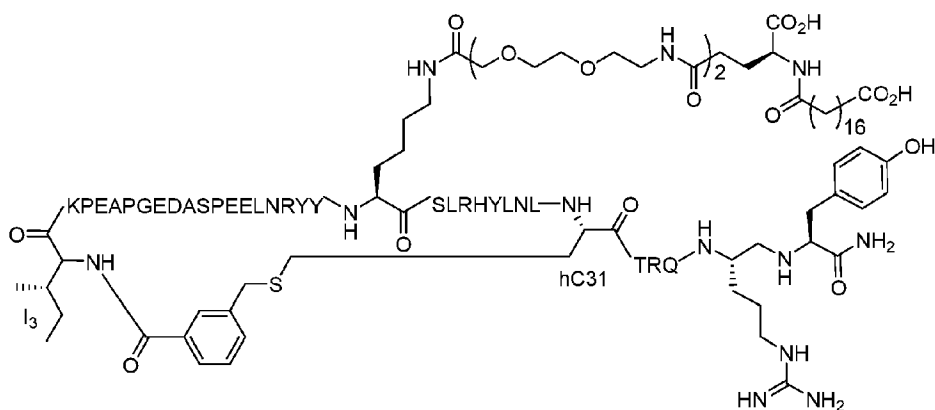


SEQ ID NO: 48

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)₂₂, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

5

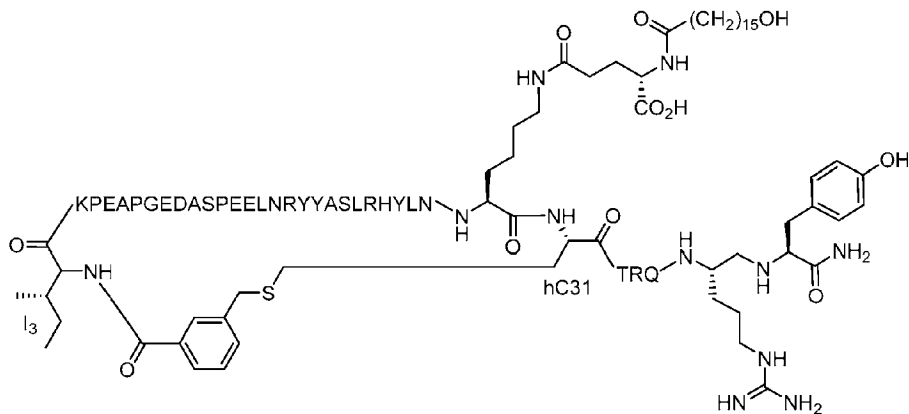


SEQ ID NO: 49

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-(Pal-16-OH))₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

10

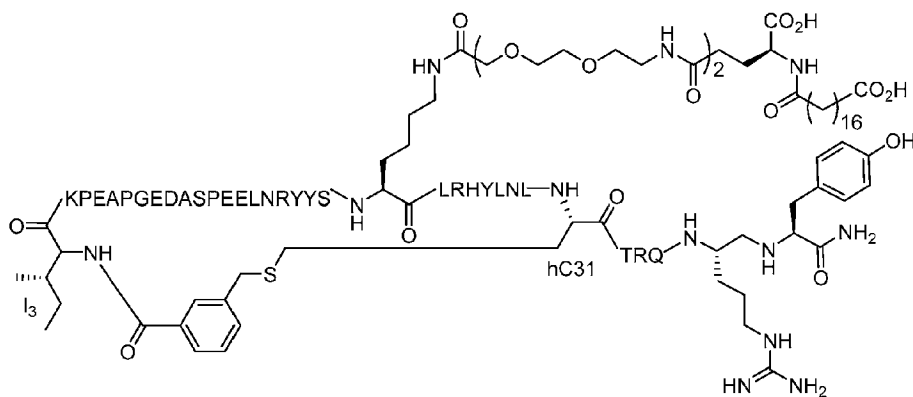


SEQ ID NO: 50

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)₂₃, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

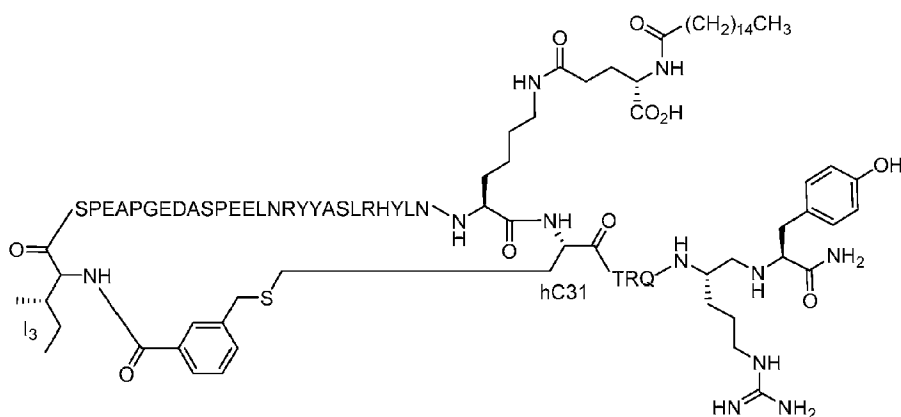
15



SEQ ID NO: 51

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), S4, K(γ -Glu-Pal)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

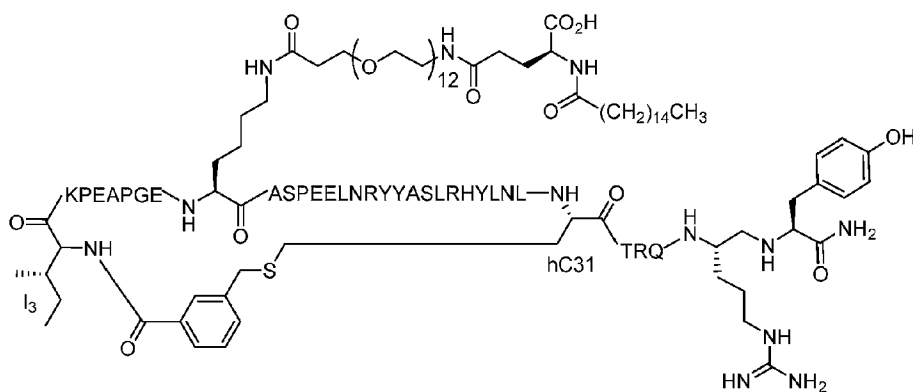
Structură:



SEQ ID NO: 52

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(COCH₂CH₂(OCH₂CH₂)₁₂NH- γ -Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

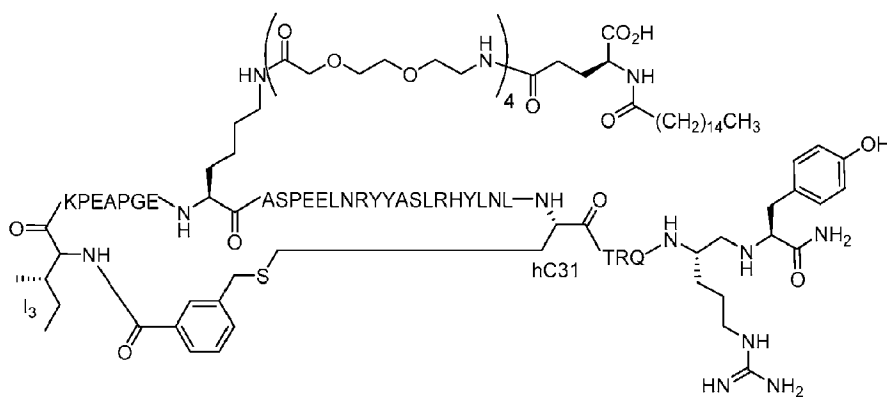
Structură:



SEQ ID NO: 53

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₄- γ -Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

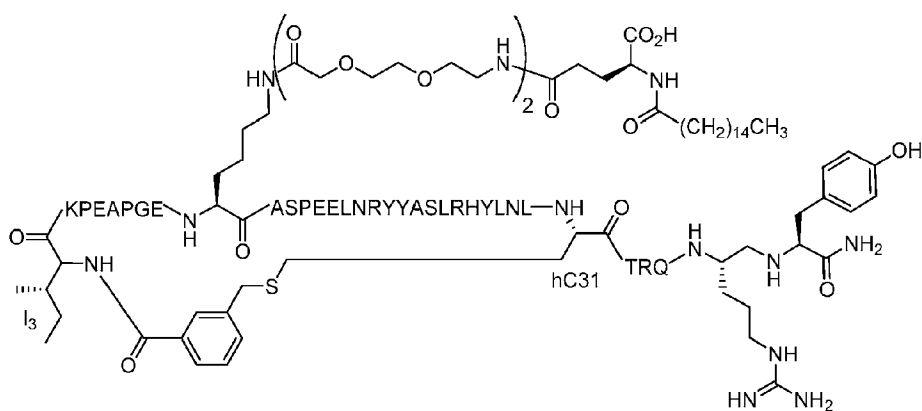
Structură:



SEQ ID NO: 54

Nume: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)11, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

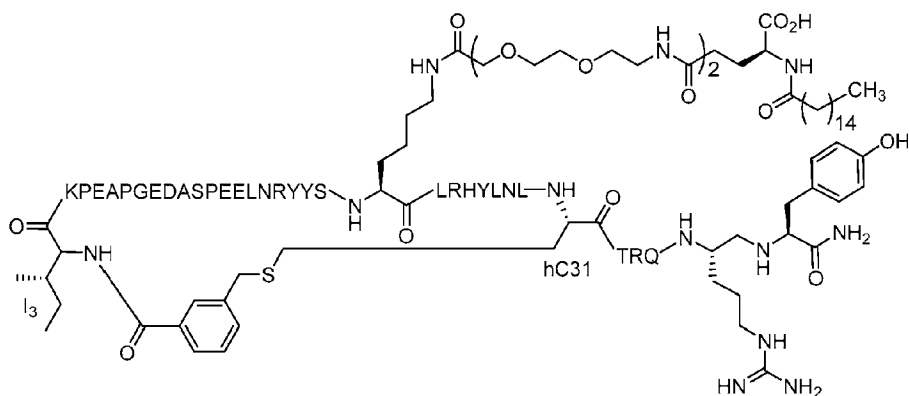
5 Structură:



SEQ ID NO: 55

Nume: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)23, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

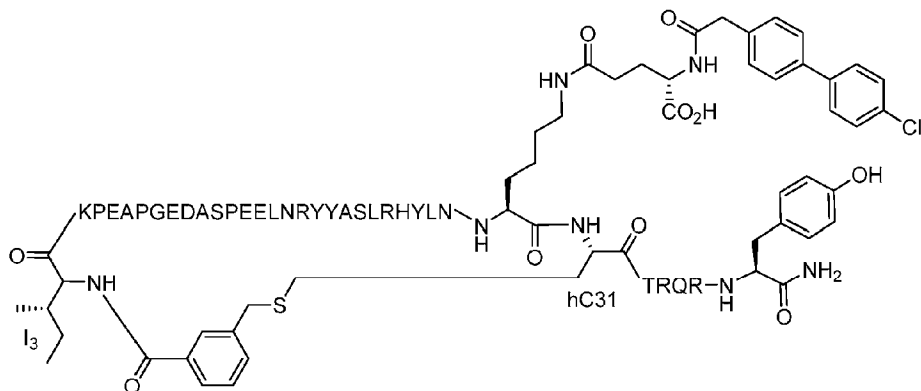
10 Structură:



SEQ ID NO: 56

Nume: [ciclo-(I3-m-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-COCH₂Ph-(4-ClPh)30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

15 Structură:

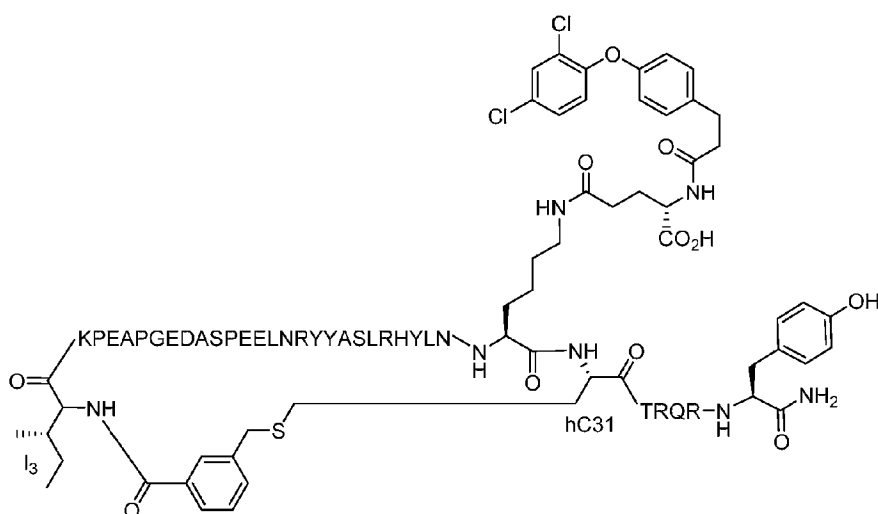


SEQ ID NO: 57

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-CO(CH₂)₂PhO-(2,4-Cl₂Ph))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

5

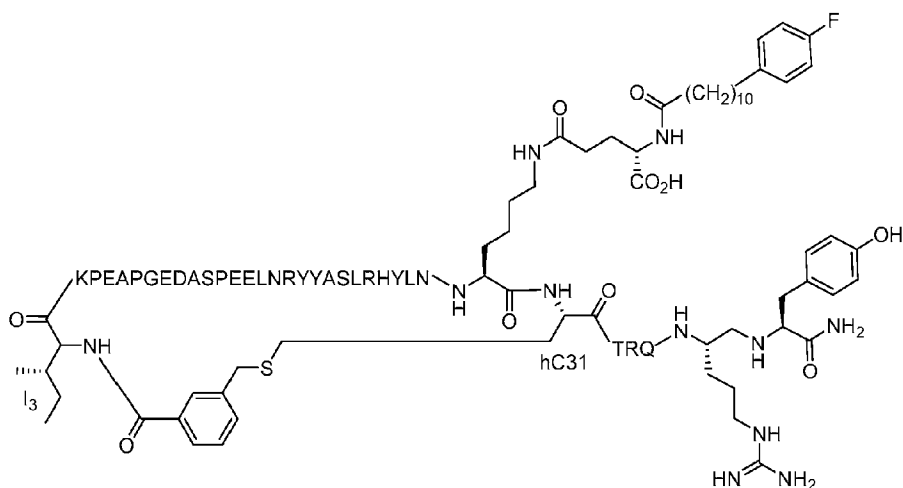


SEQ ID NO: 58

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-CO(CH₂)₁₀-(4-F-Ph))30, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

10

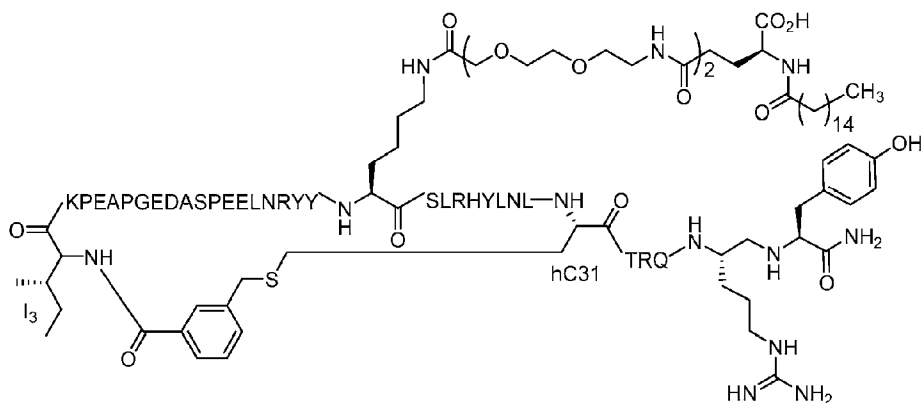


SEQ ID NO: 59

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂- γ -Glu-Pal)22, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:

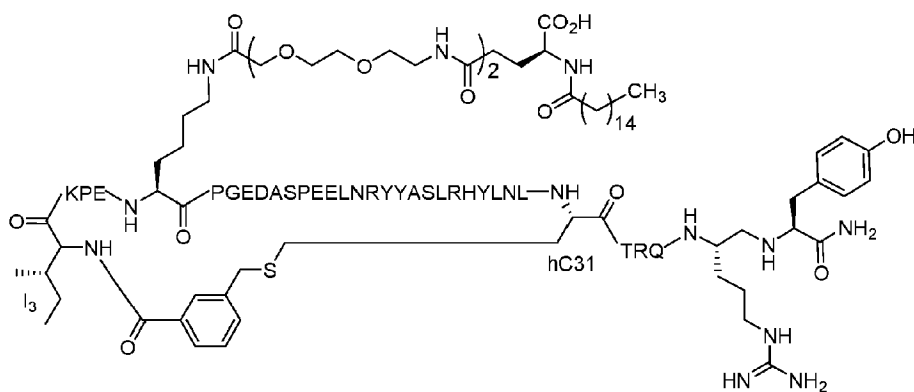
15



SEQ ID NO: 60

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K((OEG)₂-γ-Glu-Pal)₇, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

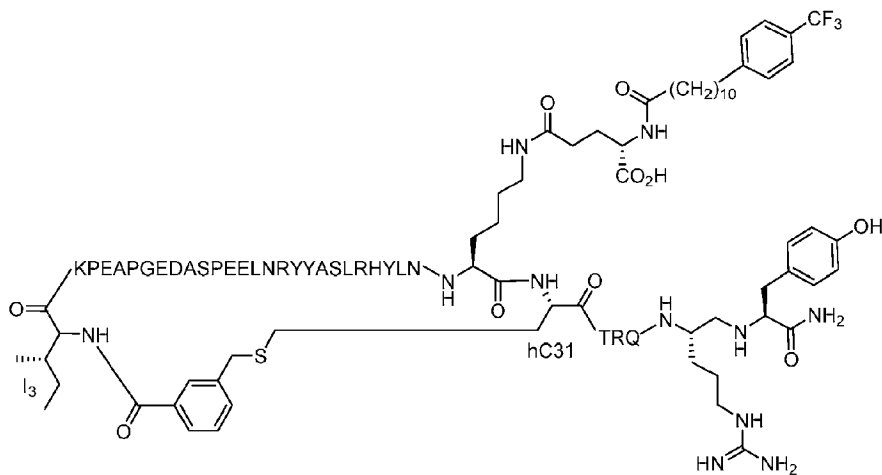
5 Structură:



SEQ ID NO: 61

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-CO(CH₂)₁₀-(4-F₃C-Ph))₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

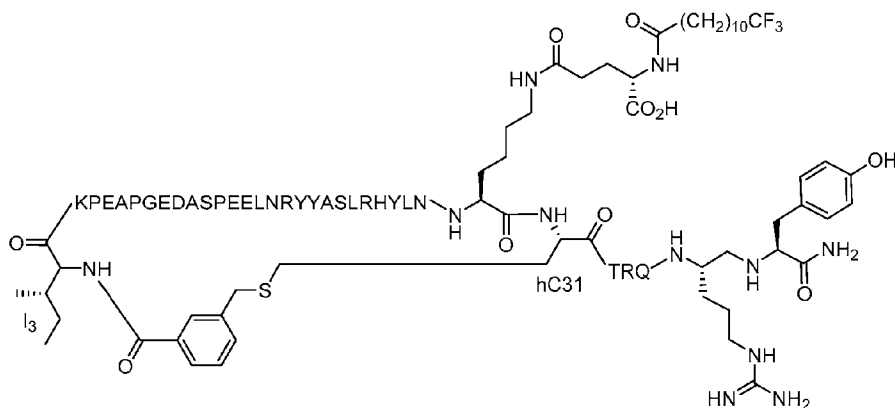
10 Structură:



SEQ ID NO: 62

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ-Glu-CO(CH₂)₁₀-CF₃)₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

15 Structură:

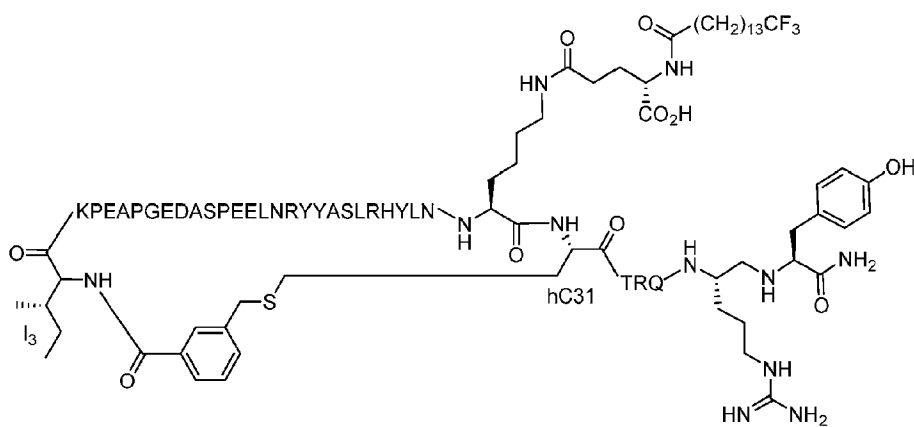


SEQ ID NO: 63

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂- hC31), K(γ -Glu-CO(CH₂)₁₃-CF₃)₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

5

Structură:

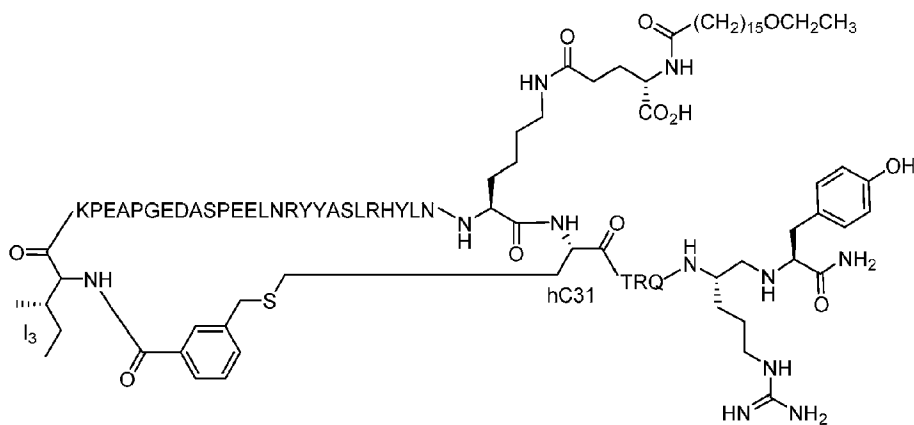


SEQ ID NO: 64

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-(Pal-16-OEt))₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

10

Structură:



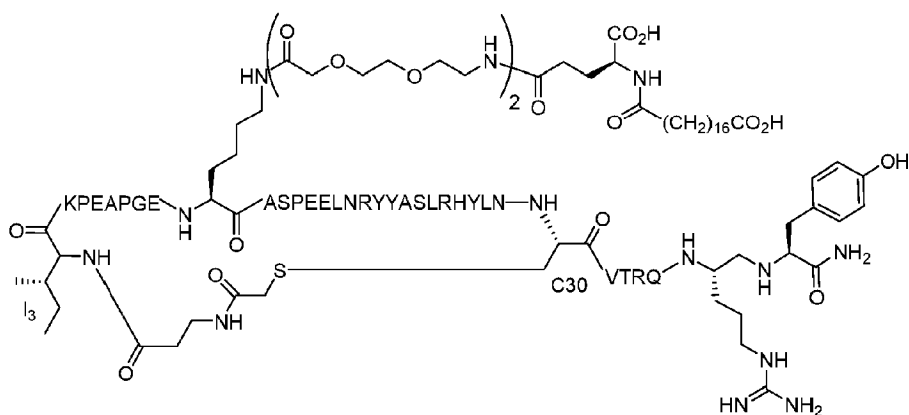
SEQ ID NO: 65

Nume: [ciclo-(I3-*m*-COPhCH₂-hC31), K(γ -Glu-CO(CH₂)₁₁(CD₂)₃CD₃)₃₀, psi-(R35,Y36)]-PYY3-36

15

Structură:

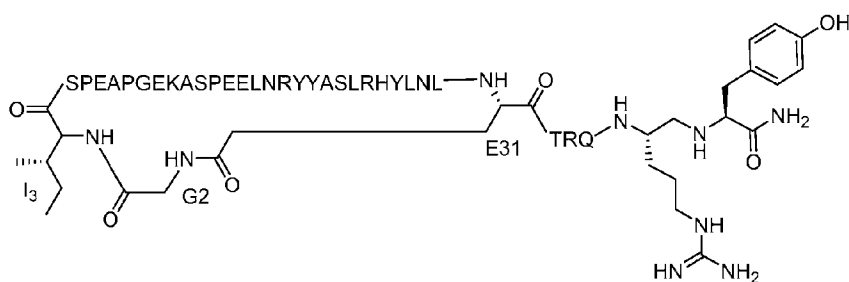




SEQ ID NO: 69

Nume: [ciclo-(G2-E31), S4, K11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

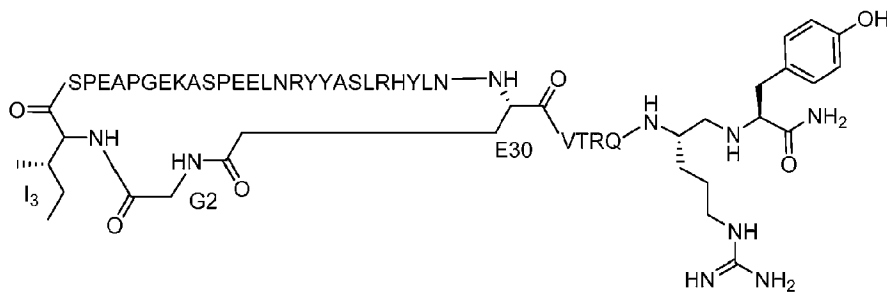
5 Structură:



SEQ ID NO: 70

Nume: [ciclo-(G2-E30), S4, K11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

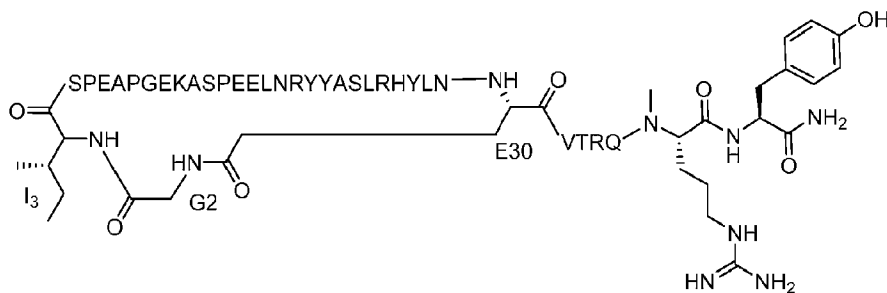
10 Structură:



SEQ ID NO: 71

Nume: [ciclo-(G2-E30), S4, K11, (N-Me-R35)]-PYY3-36

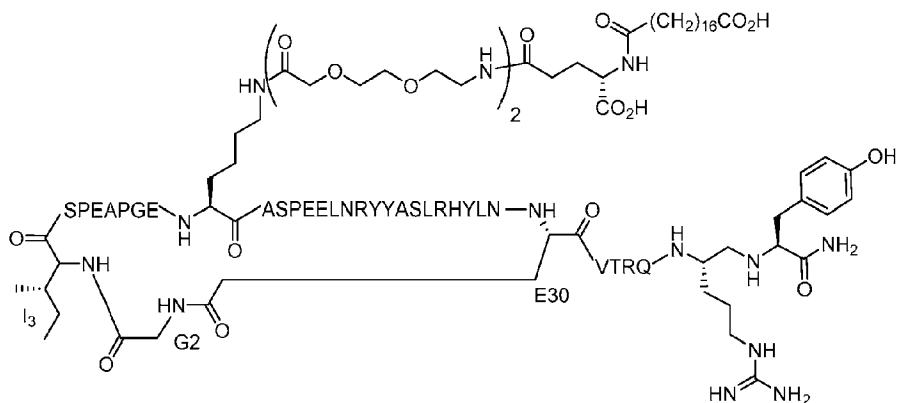
15 Structură:



SEQ ID NO: 72

Nume: [ciclo-(G2-E30), S4, K((OEG)₂-γ-Glu-COC₁₆CO₂H)11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

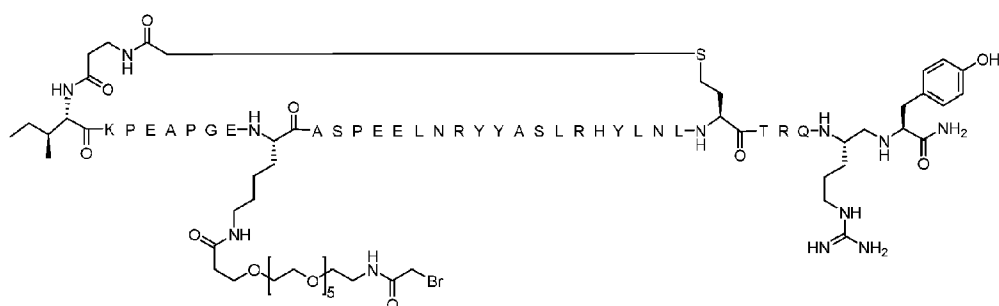
20 Structură:



SEQ ID NO: 73

Nume: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG6-AcBr)11, *psi*-(R35, Y36)]-PYY2-36

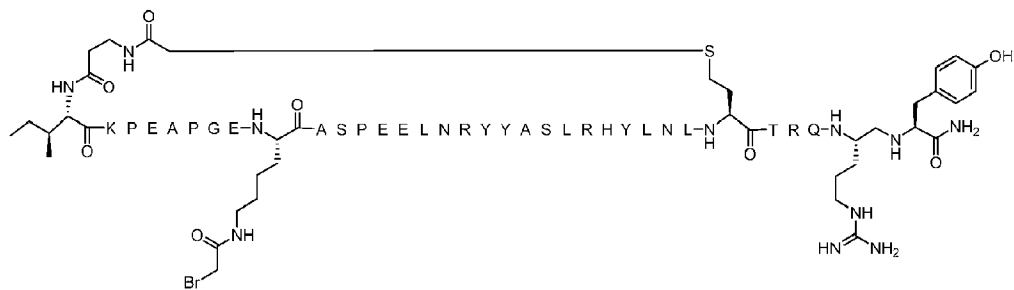
5 Structură:



SEQ ID NO: 74

Nume: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(AcBr)11, *psi*-(R35, Y36)]-PYY2-36

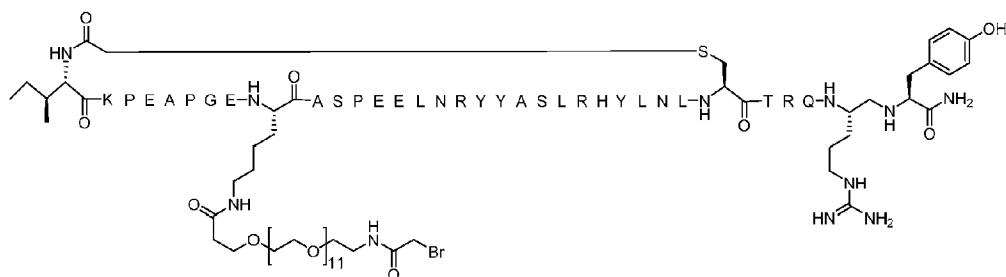
10 Structură:



SEQ ID NO: 75

Nume: [Ciclo-(I3-COCH₂-C31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35, Y36)]-PYY3-36

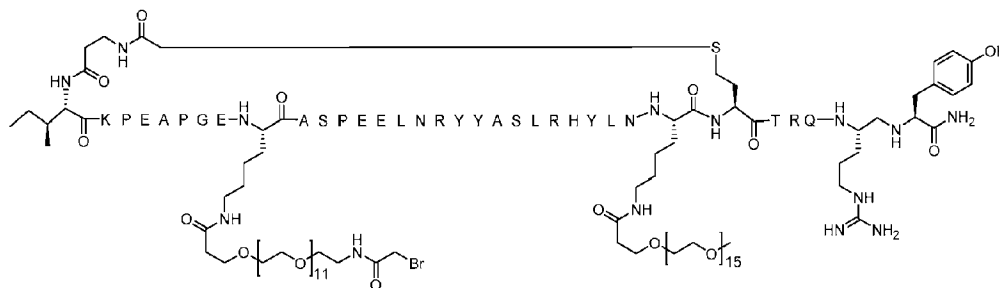
15 Structură:



SEQ ID NO: 76

Nume: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, K(mPEG16)30, *psi*-(R35, Y36)]-PYY2-36

20 Structură:

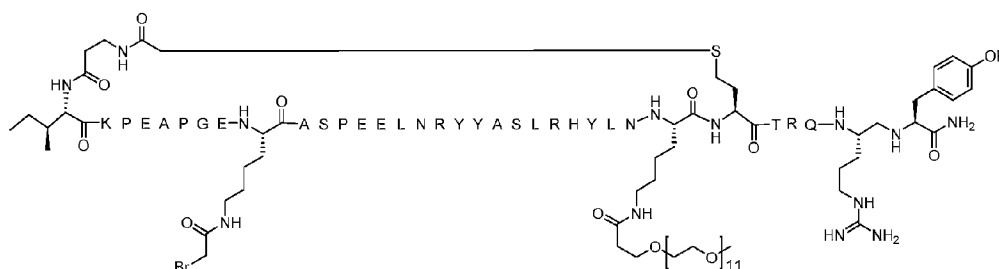


SEQ ID NO: 77

Nume: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(AcBr)11, K(mPEG12)20, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

Structură:

5

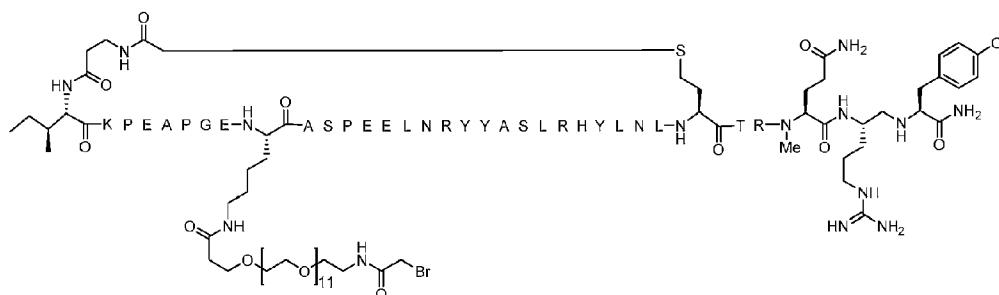


SEQ ID NO: 78

Nume: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, (N-Me)Q34, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

Structură:

10

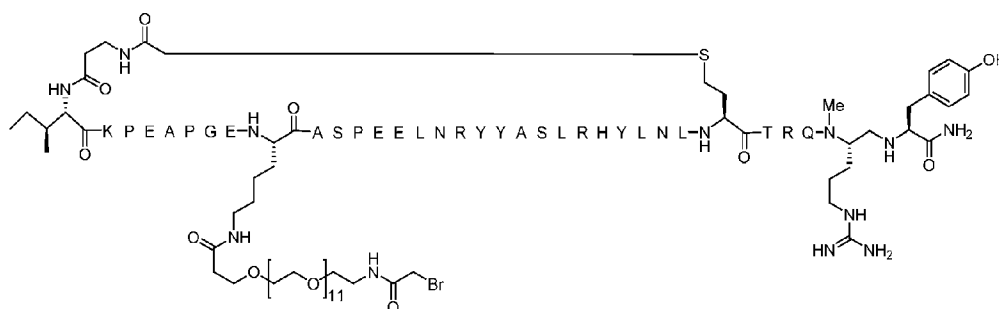


SEQ ID NO: 79

Nume: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG12-AcBr)11, N-Me-R35, *psi*-(R35,36Y)]-PYY2-36

Structură:

15

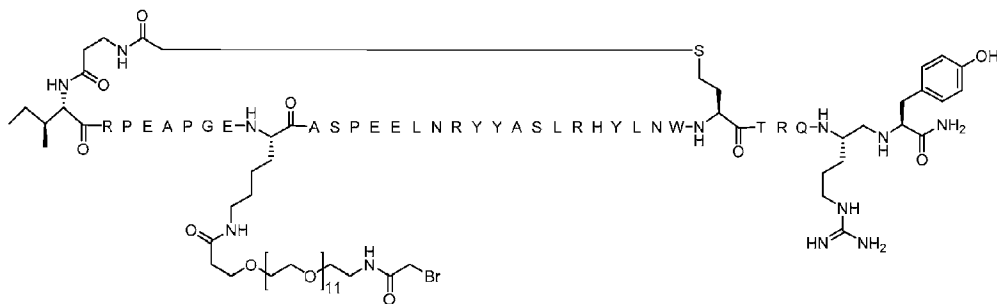


SEQ ID NO: 80

Nume: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), R4, K(PEG12-AcBr)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

Structură:

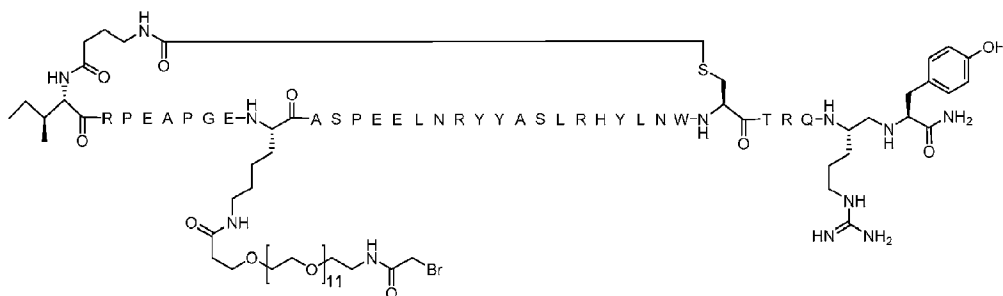
20



SEQ ID NO: 81

Nume: [Ciclo-(3I-COCH₂CH₂CH₂NHCOCH₂-C31), R4, K(PEG12-AcBr)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36

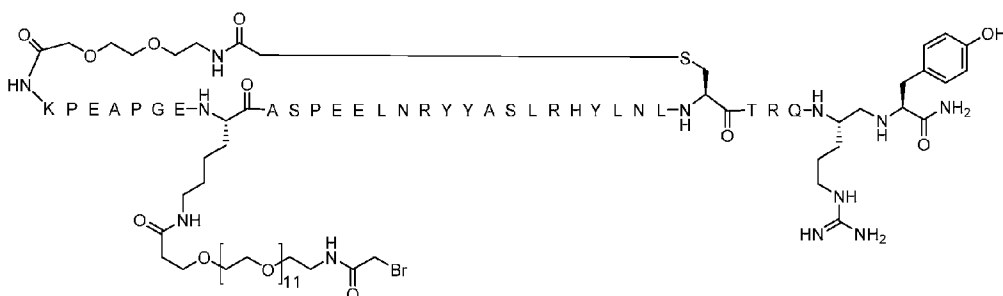
Structură:



SEQ ID NO: 82

Nume: [Ciclo-(K4-OEG-COCH₂-C31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY4-36

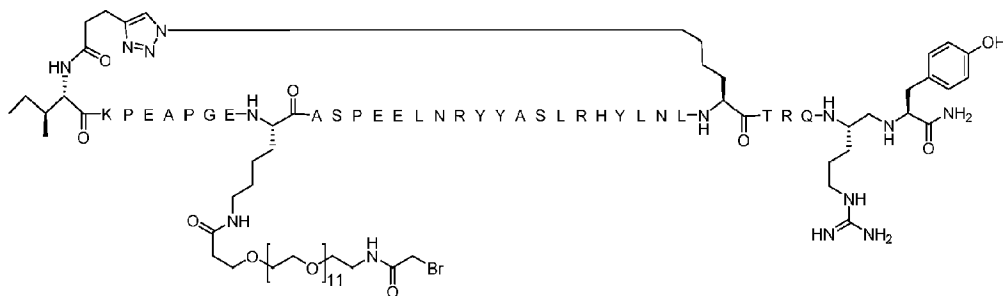
Structură:



SEQ ID NO: 83

Nume: [Ciclo-(I3-COCH₂CH₂triazolilNle31), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36

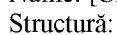
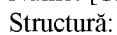
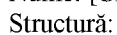
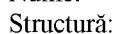
Structură:

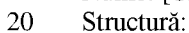
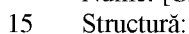
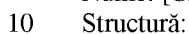
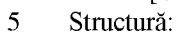


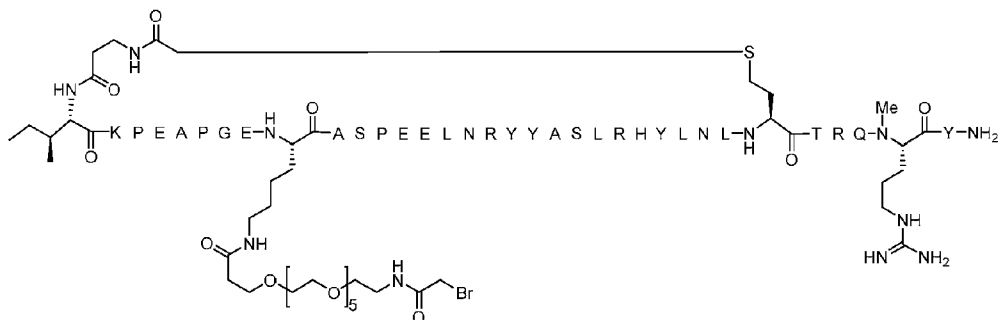
SEQ ID NO: 84

Nume: [Ciclo-(I3-*m*-CO-benzil-hC31), K(PEG8-triazolil-CH₂CH₂CO-PEG4-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36

Structură:



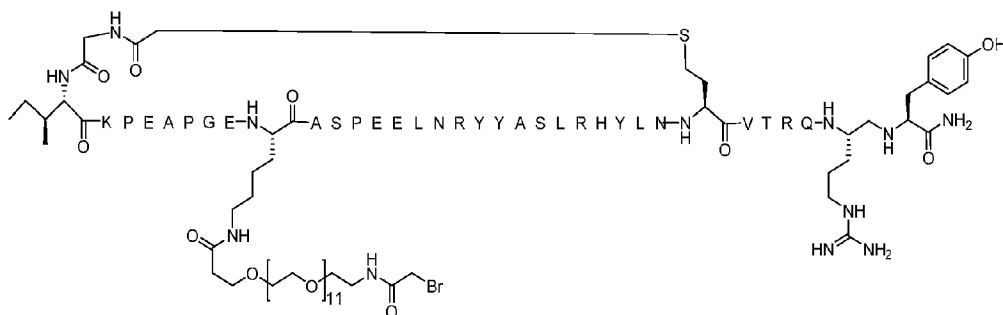




SEQ ID NO: 93

Nume: [Ciclo-(G2-COCH₂-hC30), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

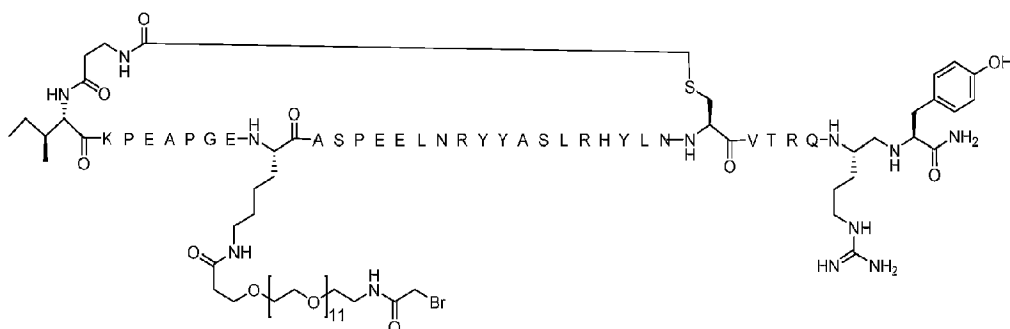
5 Structură:



SEQ ID NO: 94

Nume: [Ciclo-(βA2-COCH₂-C30), K(PEG12-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

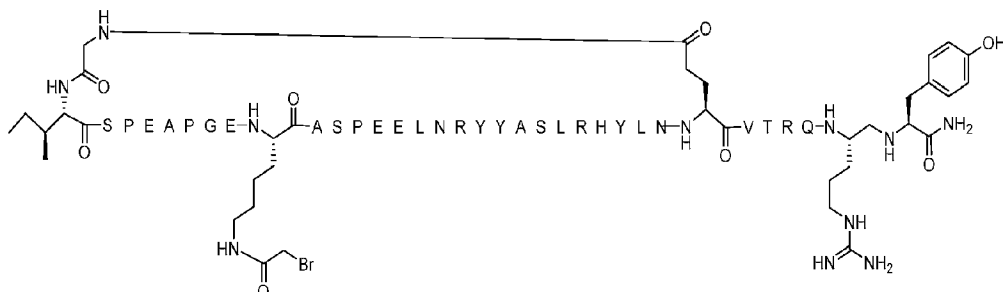
10 Structură:



SEQ ID NO: 95

Nume: [Ciclo-(G2-E30), S4, K(AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

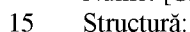
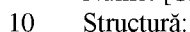
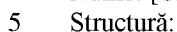
15 Structură:

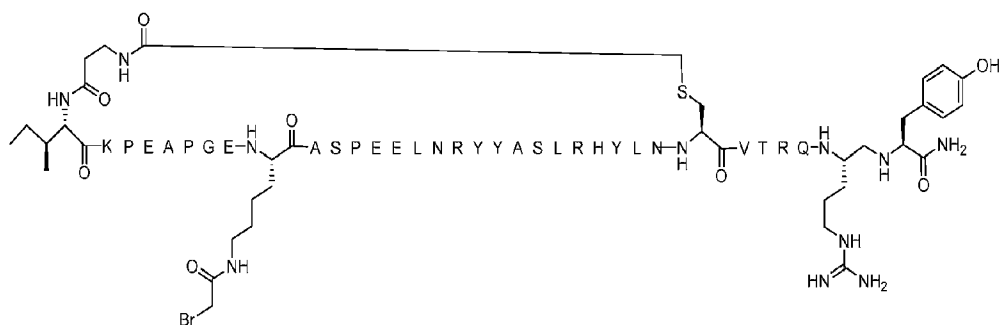


SEQ ID NO: 96

Nume: [Ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG24-AcBr)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

20 Structură:





SEQ ID NO: 101

Nume: hPYY3-36

Structură:

5

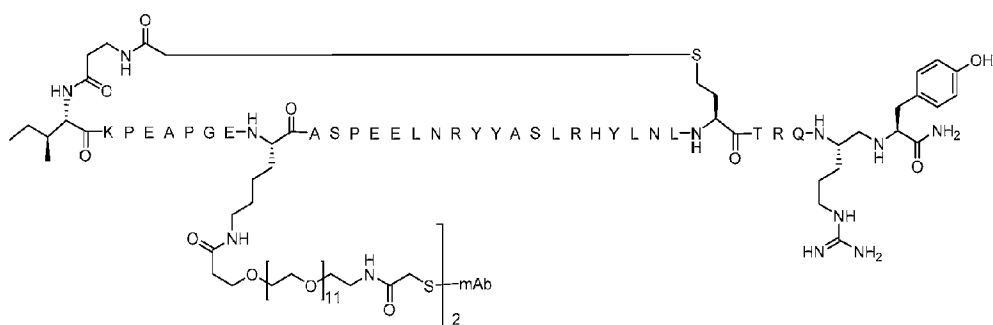


SEQ ID NO: 102

Nume: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)11, *psi*-(35R,36Y)]-PYY2-36 (Compusul 1)

Structură:

10

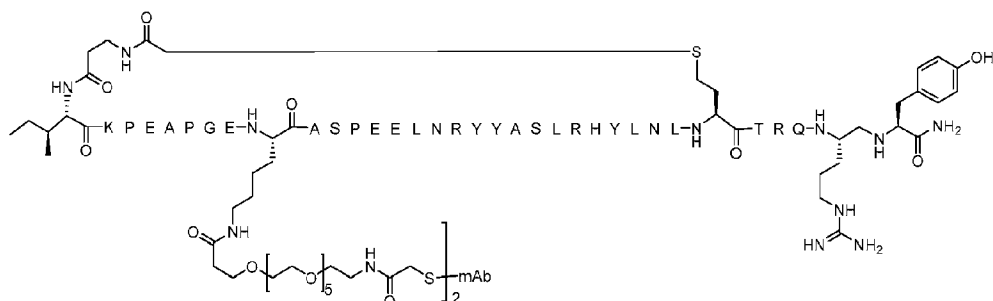


SEQ ID NO: 103

Nume: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG6)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 2)

Structură:

15

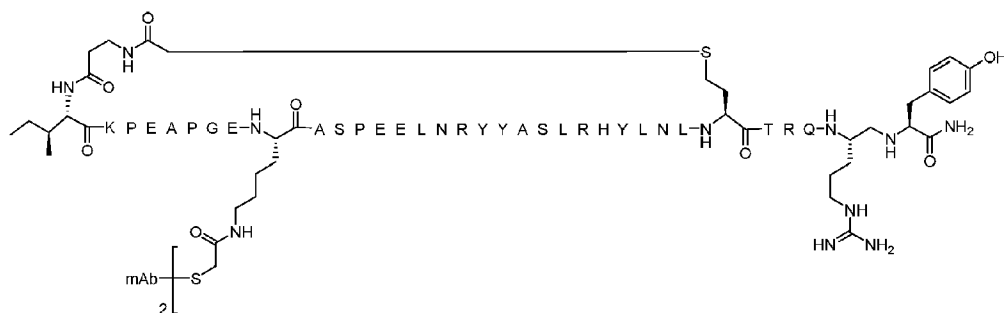


SEQ ID NO: 104

Nume: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 3)

Structură:

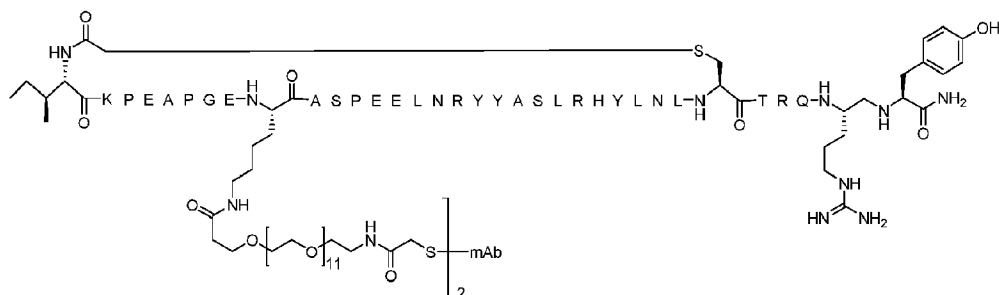
20



SEQ ID NO: 105

Num: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(I3-COCH₂-C31), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 (Compusul 4)

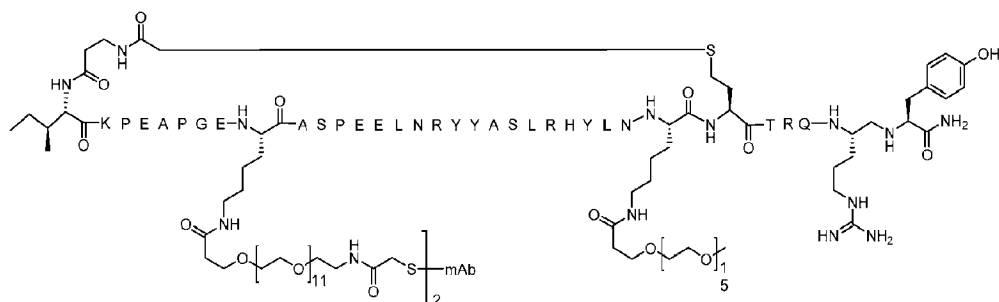
Structură:



SEQ ID NO: 106

10 Num: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)11, K(mPEG16)30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 5)

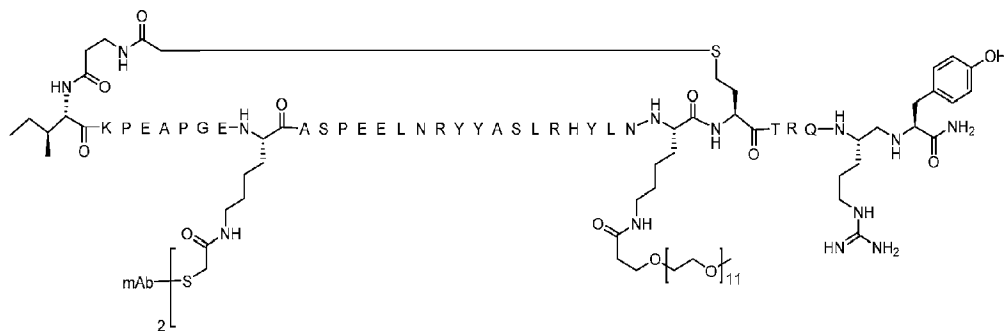
Structură:



SEQ ID NO: 107

15 Num: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K11, K(mPEG12)20, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 6)

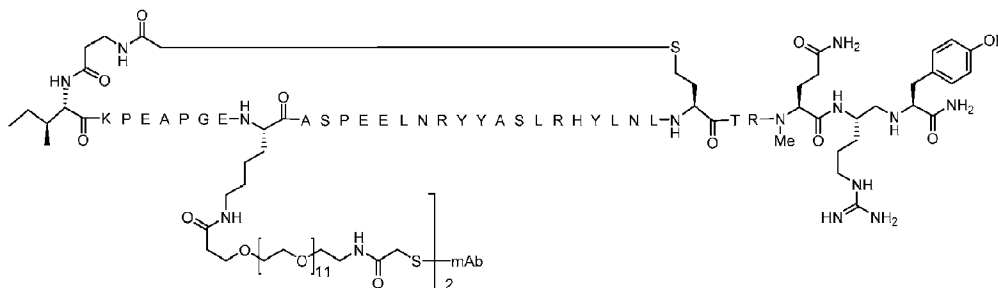
Structură:



SEQ ID NO: 108

20 Num: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)11, (N-Me)Q34, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 7)

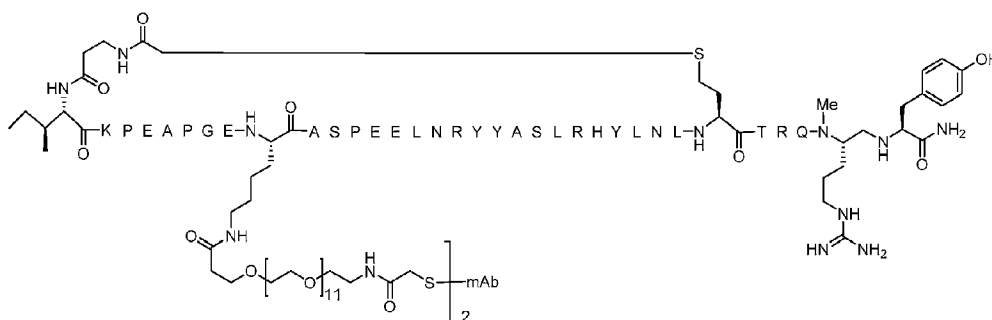
Structură:



SEQ ID NO: 109

Nume: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)11, N-Me-R35, *psi*-(R35,36Y)]-PYY2-36 (Compusul 8)

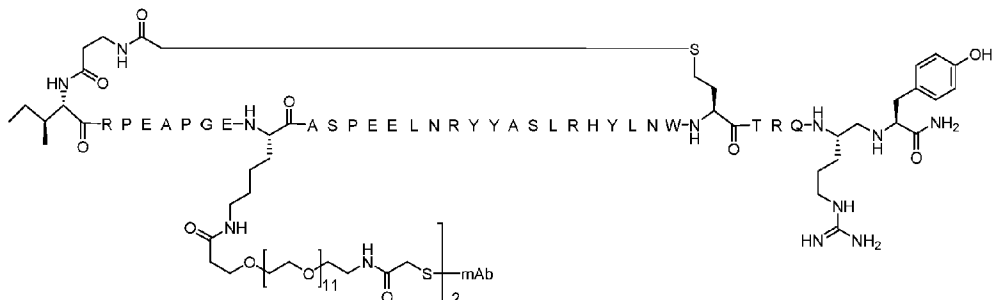
Structură:



SEQ ID NO: 110

Nume: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), R4, K(PEG12)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 9)

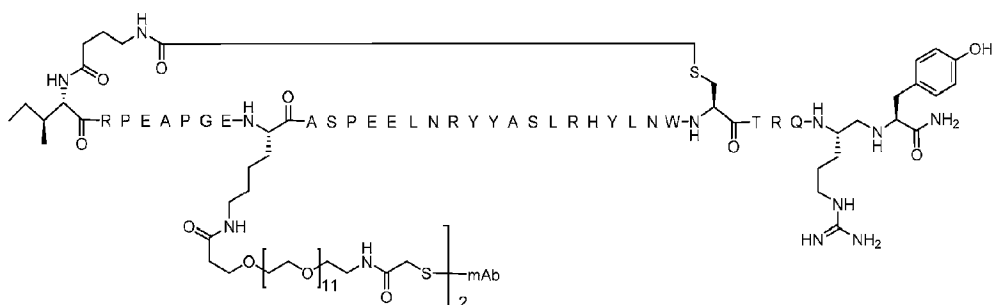
Structură:



SEQ IDNO: 111

Nume: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(3I-COCH₂CH₂CH₂NHCOCH₂-C31), R4, K(PEG12)11, W30, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 (Compusul 10)

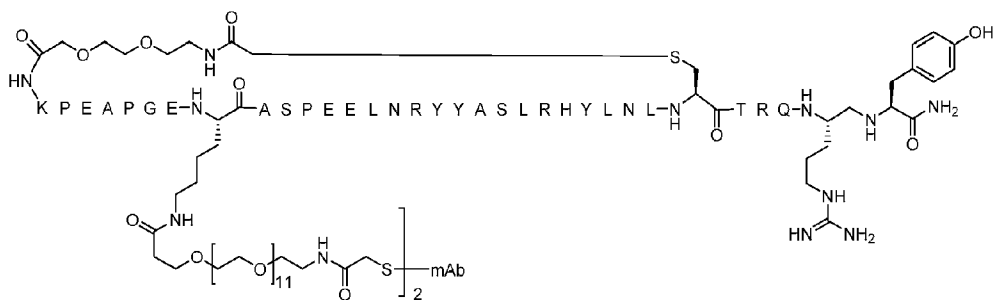
Structură:



SEQ ID NO: 112

Nume: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(K4-OEG-COCH₂-C31), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY4-36 (Compusul 11)

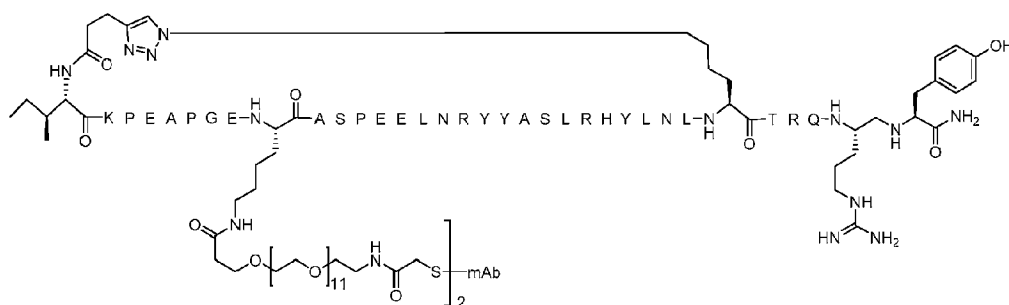
Structură:



SEQ ID NO: 113

Num: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(I3-COCH₂CH₂triazolilNle31), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 (Compusul 12)

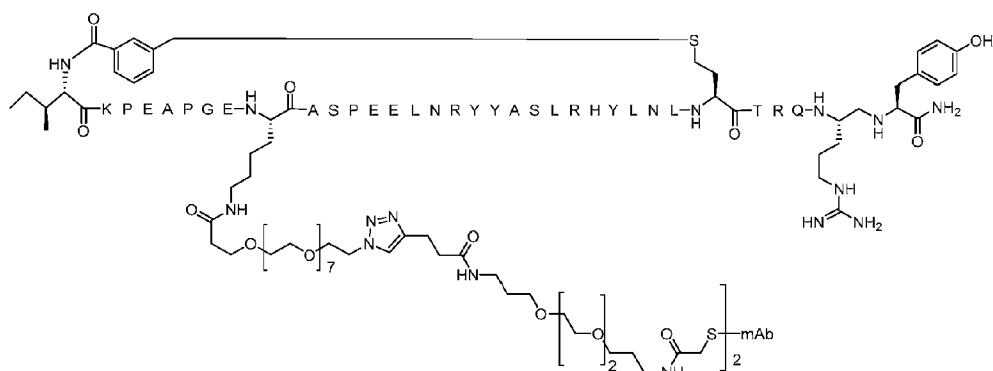
Structură:



SEQ ID NO: 114

10 Num: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(I3-*m*-CO-benzil-hC31), K(PEG8-triazolil-CH₂CH₂CO-PEG4)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY3-36 (Compusul 13)

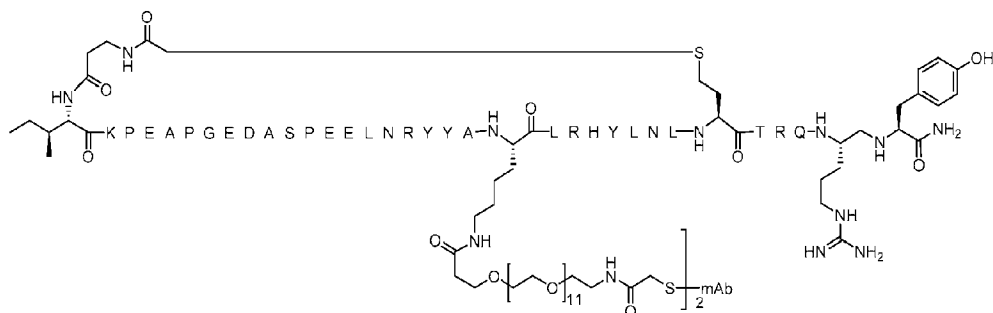
Structură:



SEQ ID NO: 115

15 Num: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)23, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 14)

Structură:

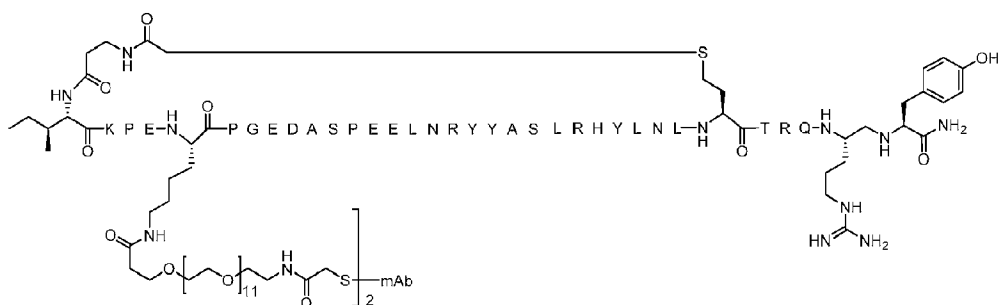


SEQ ID NO: 116

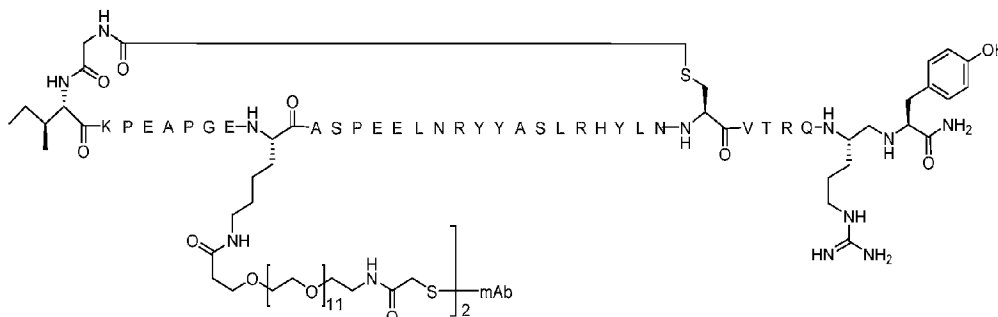
20 Num: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)22, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 15)

[illegible]

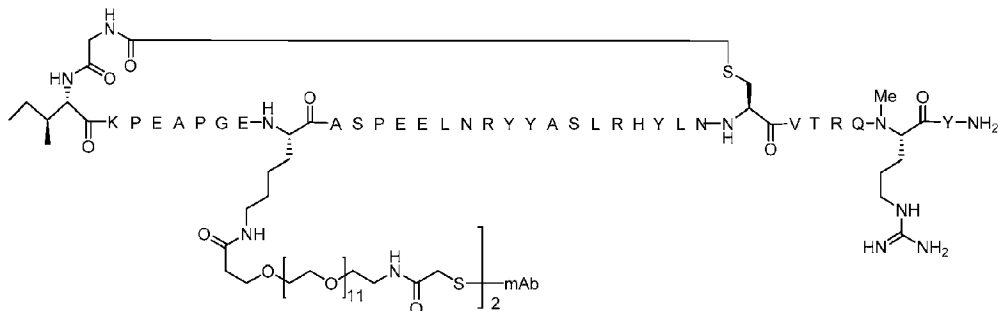
Structură:



Structură:

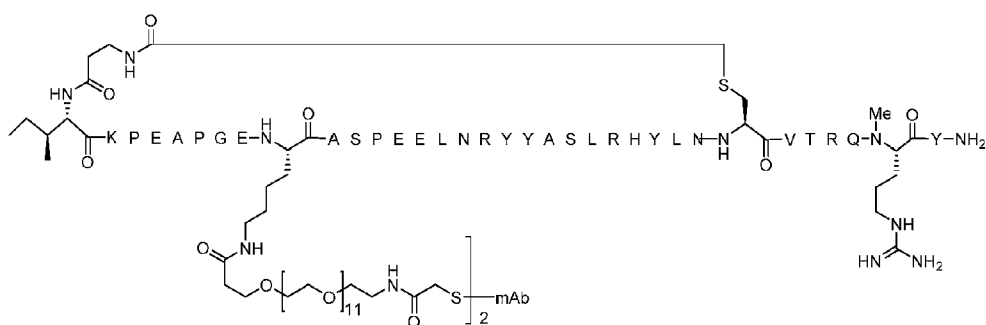


Structură:



Name: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(β A2-COCH₂-C30), K(PEG12)11, N-Me-R35]-PYY2-36
(Compusul 19)

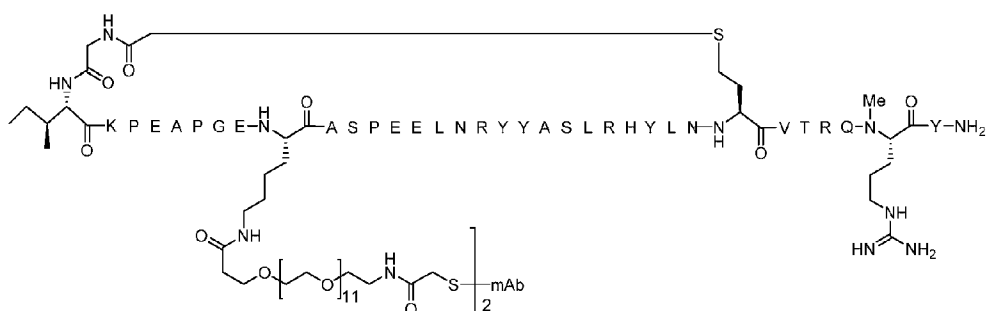
Structură:



SEQ ID NO: 121

- 5 Nume: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(G2-COCH₂-hC30), K(PEG12)11, N-Me-R35]-PYY2-36 (Compusul 20)

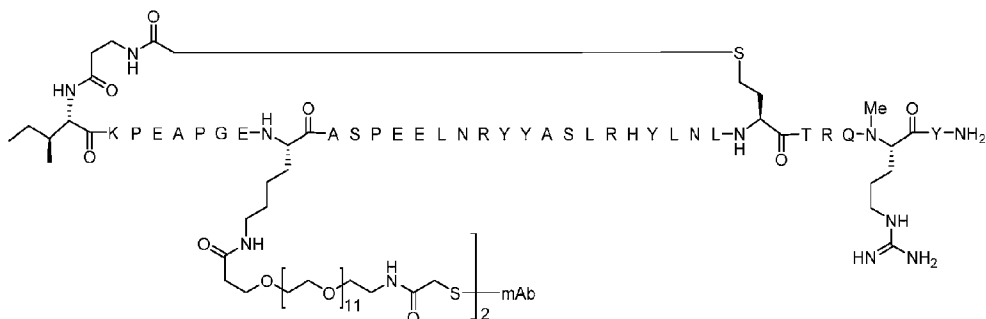
Structură:



- 10 SEQ ID NO: 122

Nume: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(βA2-COCH₂-hC31), K(PEG12)11, N-Me-R35]PYY2-36 (Compusul 21)

Structură:



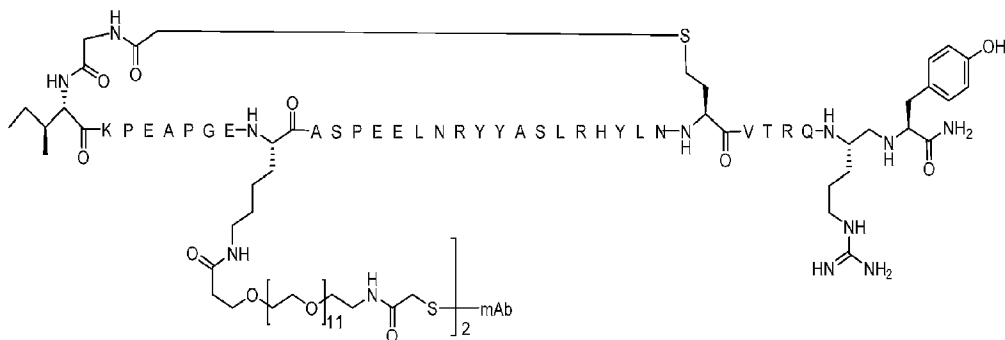
- 15

SEQ ID NO: 123

Nume: Conjugat homodimer mAb [Ciclo-(G2-COCH₂-hC30), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 22)

Structură:

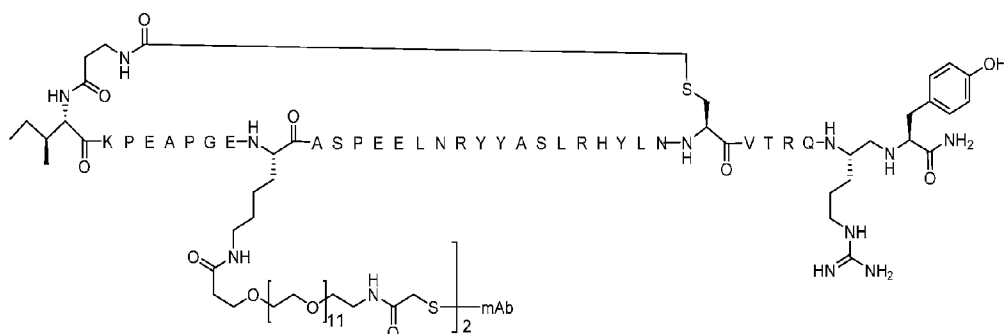
- 20



SEQ ID NO: 124

Nume: Conjugat homodimer mAb [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 23)

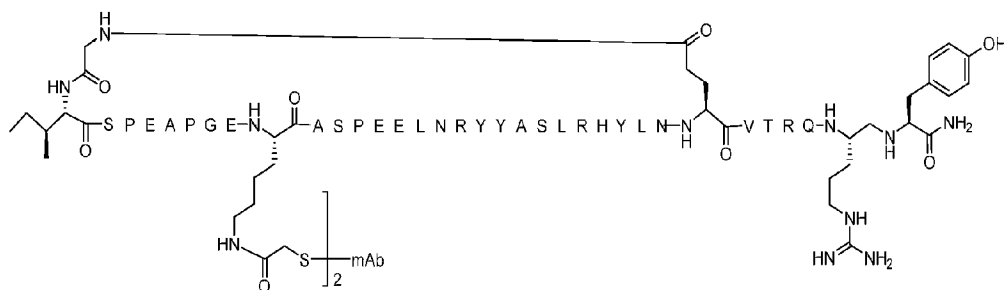
Structură:



SEQ ID NO: 125

Nume: Conjugat homodimer [ciclo-(G2-E30), S4, K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 24)

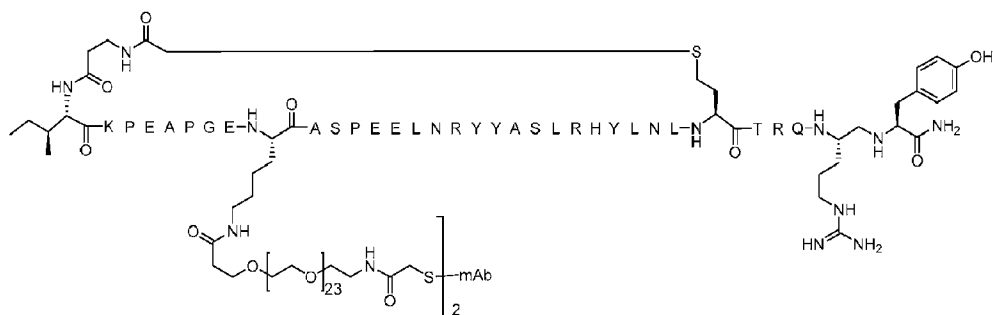
Structură:



SEQ ID NO: 126

Nume: Conjugat homodimer mAb [ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K(PEG24)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 25)

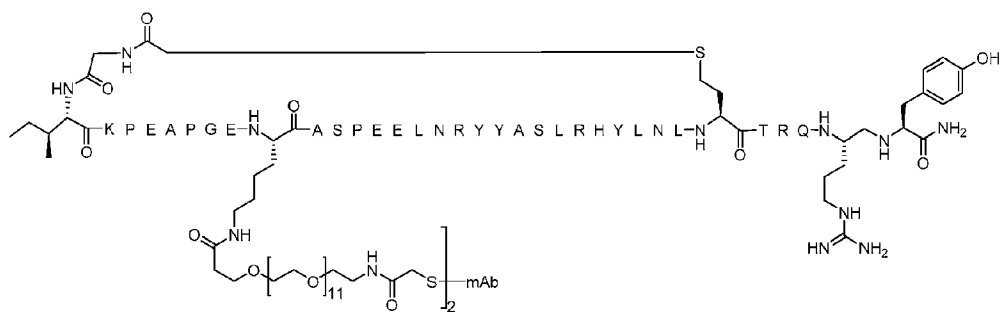
Structură:



SEQ ID NO: 127

Nume: Conjugat homodimer mAb [Ciclo-(G2-Ac-hC31), K(PEG12)11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36 (Compusul 26)

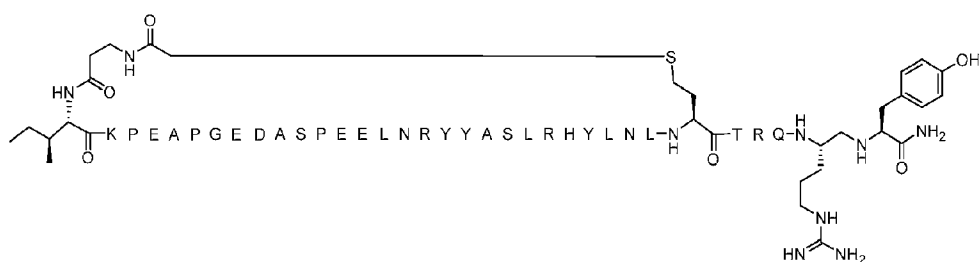
Structură:



SEQ ID NO: 147

Nume: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

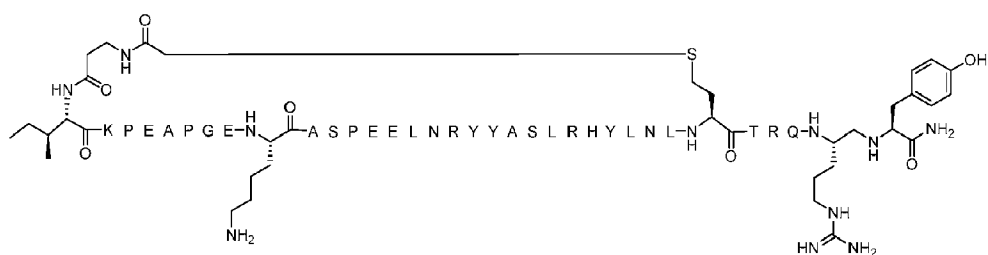
Structură:



SEQ ID NO: 148

5 Nume: [Ciclo-(β A2-COCH₂-hC31), K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

Structură:



SEQ ID NO: 149

10 Nume: [Ciclo-(G2-E30), S4, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

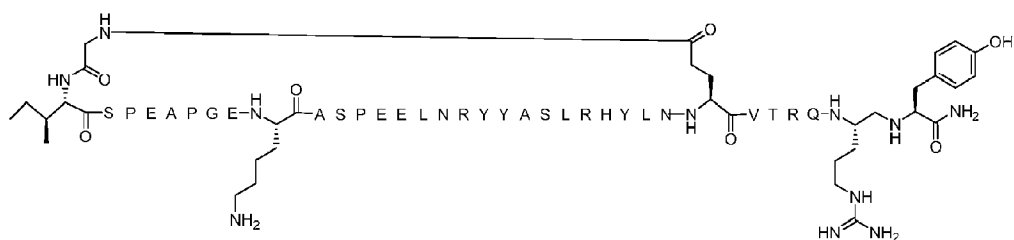
Structură:



SEQ ID NO: 150

15 Nume: [Ciclo-(G2-E30), S4,K11, *psi*-(R35,Y36)]-PYY2-36

Structură:



SEQ ID NO: 151

20 Nume: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), N-Me-R35]-PYY2-36

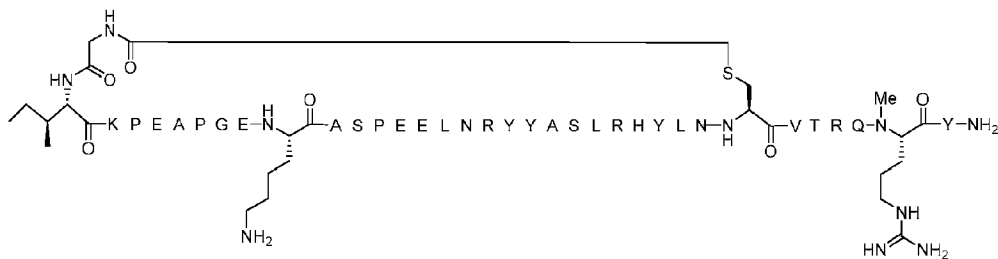
Structură:



SEQ ID NO: 152

25 Nume: [Ciclo-(G2-COCH₂-C30), K11, N-Me-R35]-PYY2-36

Structură:

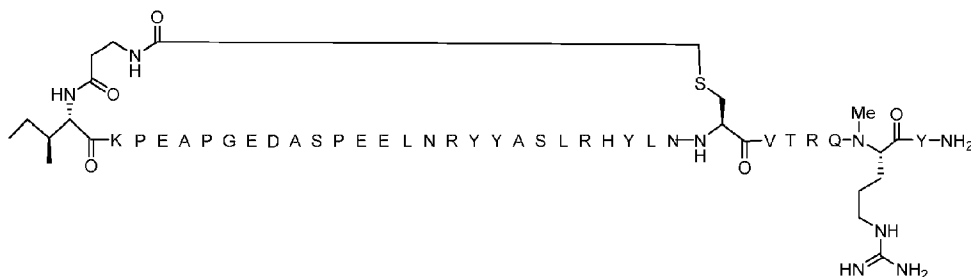


SEQ ID NO: 153

Nume: [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), N-Me-R35]-PYY2-36

Structură:

5



SEQ ID NO: 154

Nume: [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), K11, N-Me-R35]-PYY2-36

Structură:

10

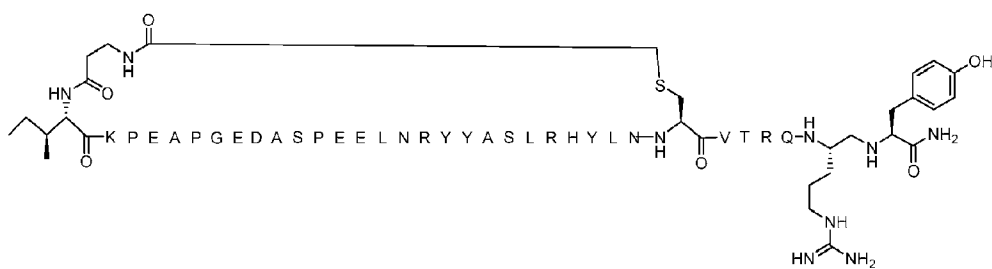


SEQ ID NO: 155

Nume: [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

Structură:

15

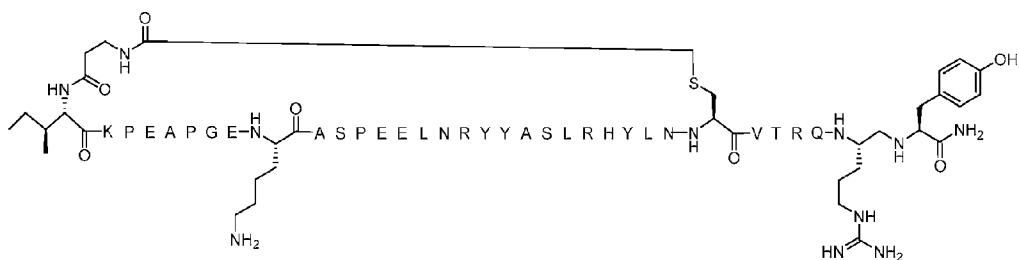


SEQ ID NO: 156

Nume: [Ciclo-(β A2-COCH₂-C30), K11, psi-(R35,Y36)]-PYY2-36

Structură:

20



LISTĂ DE SECVENȚE

- <110> Janssen Farmaceutica NV
 <120> Compuși Tirozină Tirozină Peptidică Ciclică Cuplați la Anticorp ca Modulatori de Receptori Y
 de Neuropeptide
 <130> PRD3436
 <150> US62/413.613
 <151> 27-10-2016
 <150> US62/413.586
 <151> 27-10-2016
 <160> 156
 <170> Versiune patentln 3.5
 <210> 1
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, în care Cys este o homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 <400> 1
 Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30
 Gln Arg Tyr
 35
 <210> 2
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care Cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 <400> 2

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 3

<211> 34

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

10 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Leu

<222> (29)..(29)

15 <223> Leu, în care Leu este o norleucină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 3

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Leu Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

20 <210> 4

<211> 34

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

25 <223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

30 <220>

<221> Lys

<222> (9)..(9)

<223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

35 <221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 4

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

40 <210> 5

<211> 34

<212> PRT

<213> Secvență artificială

- <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 5 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 10 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 15 <400> 5
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

 Arg Tyr
 <210> 6
 <211> 34
 <212> PRT
 20 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 25 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 30 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 <220>
 <221> Leu
 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, în care leu este norleucină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 35 <400> 6
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Leu Thr Arg Gln
 20 25 30

 Arg Tyr
 <210> 7
 <211> 34
 <212> PRT
 40 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 45 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație
 <220>
 <221> Lys

<222> (7)..(7)

<223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

5 <222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 7

Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Lys	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	Asn
1				5					10					15	

Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Leu	Cys	Thr	Arg	Gln
			20					25					30		

Arg Tyr

<210> 8

10 <211> 34

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

15 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

20 <221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

25 <222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 8

Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	Asn
1				5					10					15	

Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Lys	Cys	Thr	Arg	Gln
			20					25					30		

Arg Tyr

<210> 9

30 <211> 34

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

35 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

40 <221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este a homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Arg

45 <222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 9

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 10

<211> 35

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

10 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

15 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

20 <400> 10

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Lys Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 11

<211> 35

<212> PRT

25 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

30 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

35 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

40 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 11

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Lys Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 12

<211> 34

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

10 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

15 <223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

20 <400> 12

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 13

<211> 34

<212> PRT

25 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

30 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

35 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

40 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 13

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 14

<211> 34

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

10 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

15 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

20 <223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 14

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 15

<211> 33

<212> PRT

<213> Secvență artificială

30 <220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Lys

<222> (1)..(1)

35 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (27)..(27)

<223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

40 <220>

<221> Cys

<222> (28)..(28)

<223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 15

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr

<210> 16

<211> 33

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Lys

10 <222> (1)..(1)

<223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (27)..(27)

15 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (28)..(28)

<223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

20 <400> 16

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr

<210> 17

<211> 34

<212> PRT

25 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

30 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

35 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

40 <400> 17

Ile Ala Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 18

<211> 34

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

10 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

15 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

20 <400> 18

Ile Glu Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 19

<211> 34

25 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

30 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

35 <222> (28)..(28)

<223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

40 <223> Cys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

45 <400> 19

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 20

<211> 34

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

10 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

15 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

20 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 20

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

25 **Arg Tyr**

<210> 21

<211> 34

<212> PRT

<213> Secvență artificială

30 <220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

35 <223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

40 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 21

Ile Ala Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 22

<211> 34

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

10 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

15 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

20 <400> 22

Ile Glu Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg Ala Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 23

<211> 34

<212> PRT

25 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

30 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

35 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

40 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 23

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 24

<211> 34

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

10 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

15 <223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

20 <223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 24

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

25 **Arg Tyr**

<210> 25

<211> 34

<212> PRT

<213> Secvență artificială

30 <220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

35 <223> Ile cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

40 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<220>

45 <221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificare chimică cum s-a descris în specificație

<400> 25

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 26

<211> 34

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

10 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

15 <222> (28)..(28)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

20 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

25 <400> 26

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 27

<211> 34

<212> PRT

30 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

35 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

40 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

45 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 27

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

Arg Tyr

<210> 28

<211> 33

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

10 <221> Lys

<222> (1)..(1)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

15 <222> (27)..(27)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (28)..(28)

20 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (32)..(32)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

25 <400> 28

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30

Tyr

<210> 29

<211> 33

<212> PRT

30 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Lys

35 <222> (1)..(1)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (27)..(27)

40 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (28)..(28)

<223> Cys, în care cys este a homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

45 <220>

<221> Arg

<222> (32)..(32)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 29

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30

Tyr

<210> 30

<211> 33

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

10 <221> Lys

<222> (1)..(1)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

15 <222> (27)..(27)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (28)..(28)

20 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (32)..(32)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

25 <400> 30

Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30

Tyr

<210> 31

<211> 34

<212> PRT

30 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

35 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

40 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

45 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 31

Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	Asn
1				5				10						15	

Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Lys	Cys	Thr	Arg	Gln
			20					25					30		

Arg Tyr

<210> 32

<211> 34

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

10 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

15 <222> (28)..(28)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

20 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

25 <400> 32

Ile	Ala	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	Asn
1				5				10						15	

Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	Ala	Tyr	Leu	Asn	Lys	Cys	Thr	Arg	Gln
			20					25					30		

Arg Tyr

<210> 33

<211> 34

<212> PRT

30 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

35 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

40 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

45 <220>

<221> Gln

<222> (32)..(32)

<223> Gln cu modificarea chimică descrisă în specificație

- <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <400> 33
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 34
 <211> 33
 <212> PRT
 10 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Lys
 15 <222> (1)..(1)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (27)..(27)
 20 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 25 <220>
 <221> Arg
 <222> (32)..(32)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 34
 Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30
 Tyr
 30 <210> 35
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 35 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 40 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 45 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

- <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <400> 35
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 36
 <211> 33
 <212> PRT
 10 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Lys
 15 <222> (1)..(1)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (27)..(27)
 20 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 25 <220>
 <221> Arg
 <222> (32)..(32)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 36
 Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30
 Tyr
 30 <210> 37
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 35 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 40 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 45 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

- <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <400> 37
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 38
 <211> 34
 <212> PRT
 10 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 15 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 20 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 25 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 38
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 39
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 35 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 40 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 45 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

- <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <400> 39
 Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 40
 <211> 34
 <212> PRT
 10 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 15 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 20 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Leu
 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, în care the leu este o norleucină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 25 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 40
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Leu Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 41
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 35 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 40 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 45 <220>
 <221> Leu
 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, în care the leu este o norleucină cu modificarea chimică descrisă în specificație

- <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <400> 41
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Leu Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 42
 <211> 34
 <212> PRT
 10 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 15 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 20 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Leu
 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, în care the leu este o norleucină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 25 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 42
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Leu Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 43
 <211> 34
 <212> PRT
 35 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 40 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (28)..(28)
 45 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

- <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <400> 43
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 44
 <211> 34
 <212> PRT
 10 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 15 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 20 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 25 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 44
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 45
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 35 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 40 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 45 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

- <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <400> 45
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 46
 <211> 34
 10 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 15 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 20 <222> (28)..(28)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 25 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 30 <400> 46
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 47
 <211> 34
 <212> PRT
 35 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 40 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (5)..(5)
 45 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

5 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 47

Ile Lys Pro Glu Lys Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 48

<211> 34

10 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

15 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

20 <222> (20)..(20)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

25 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

30 <400> 48

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 49

<211> 34

<212> PRT

35 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

40 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

45 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

5 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 49

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 50

<211> 34

10 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

15 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

20 <222> (21)..(21)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

25 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

30 <400> 50

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 51

<211> 34

<212> PRT

35 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

40 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

45 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

5 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 51

Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 52

<211> 34

10 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

15 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

20 <222> (9)..(9)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

25 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

30 <400> 52

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 53

35 <211> 34

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

40 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

45 <221> Lys

<222> (9)..(9)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

50 <222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

5 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 53

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 54

<211> 34

10 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

15 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

20 <222> (9)..(9)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

25 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

30 <400> 54

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 55

<211> 34

<212> PRT

35 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

40 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (21)..(21)

45 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

5 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 55

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 56

10 <211> 34

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

15 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

20 <221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

25 <222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 56

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 57

30 <211> 34

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

35 <220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

40 <221> Lys

<222> (28)..(28)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

45 <222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 57

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 58

<211> 34

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

10 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

15 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

20 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 58

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

25 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 59

<211> 34

<212> PRT

30 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

35 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (20)..(20)

40 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

45 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 59

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

Arg Tyr

<210> 60

<211> 34

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

10 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

15 <222> (5)..(5)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

20 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

25 <400> 60

Ile Lys Pro Glu Lys Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

Arg Tyr

<210> 61

<211> 34

<212> PRT

30 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

35 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

40 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

45 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 61

Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	Asn
1				5					10					15	

Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Lys	Cys	Thr	Arg	Gln
			20					25					30		

Arg Tyr

<210> 62

<211> 34

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

10 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

15 <222> (28)..(28)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

20 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

25 <400> 62

Ile	Lys	Pro	Glu	Ala	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Glu	Glu	Leu	Asn
1				5					10					15	

Arg	Tyr	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	His	Tyr	Leu	Asn	Lys	Cys	Thr	Arg	Gln
			20					25					30		

Arg Tyr

<210> 63

<211> 34

<212> PRT

30 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

35 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

40 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

45 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 63

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

Arg Tyr

<210> 64

<211> 34

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

10 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

15 <222> (28)..(28)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

20 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

25 <400> 64

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

Arg Tyr

<210> 65

<211> 34

<212> PRT

30 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

35 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

40 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

45 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 65

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

Arg Tyr

<210> 66

<211> 34

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

10 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

15 <222> (28)..(28)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

20 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

25 <400> 66

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

Arg Tyr

<210> 67

<211> 34

<212> PRT

30 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

35 <222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (28)..(28)

40 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

45 <220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 67

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

Arg Tyr

<210> 68

<211> 34

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

10 <221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

15 <222> (9)..(9)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (28)..(28)

20 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

25 <400> 68

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg Gln
 20 25 30

Arg Tyr

<210> 69

<211> 35

30 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

35 <221> Gly

<222> (1)..(1)

<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Glu

40 <222> (30)..(30)

<223> Glu cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

45 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 69

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Glu Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 70

<211> 35

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Gly

10 <222> (1)..(1)

<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Glu

<222> (29)..(29)

15 <223> Glu cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

20 <400> 70

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 71

<211> 35

<212> PRT

25 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Gly

30 <222> (1)..(1)

<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Glu

<222> (29)..(29)

35 <223> Glu cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

40 <400> 71

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 72

<211> 35

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Gly

10 <222> (1)..(1)

<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

15 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Glu

<222> (29)..(29)

<223> Glu cu modificarea chimică descrisă în specificație

20 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 72

Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

25 <210> 73

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

30 <220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

35 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

40 <220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

45 <221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 73

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 74

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 74

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 75

<211> 34

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (9)..(9)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <400> 75
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 <210> 76
 <211> 35
 <212> PRT
 10 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ala
 15 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 20 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (29)..(29)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 25 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 30 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 76
 Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg
 20 25 30
 Gln Arg Tyr
 35 35
 <210> 77
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 40 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 45 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)

- <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (19)..(19)
- 5 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
- 10 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 77
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
- Asn Arg Lys Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg**
 20 25 30
- 15 **Gln Arg Tyr**
 35
 <210> 78
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
- 20 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
- 25 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
- 30 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
- 35 <221> Gln
 <222> (33)..(33)
 <223> Gln cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
- 40 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 78
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
- Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg**
 20 25 30
- Gln Arg Tyr**
 35
 <210> 79
 <211> 35
 <212> PRT
- 45

- <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
- 5 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
- 10 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
- 15 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
- 20 <400> 79
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
- Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg**
 20 25 30
- Gln Arg Tyr**
 35
- <210> 80
 <211> 35
 <212> PRT
- 25 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
- 30 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
- 35 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
- 40 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 80
Ala Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
- Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Trp Cys Thr Arg**
 20 25 30
- Gln Arg Tyr**
 35
- 45 <210> 81

<211> 34
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 5 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 10 <220>
 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 15 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 20 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 81
 Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Trp Cys Thr Arg Gln
 20 25 30
 Arg Tyr
 25 <210> 82
 <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 30 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Lys
 <222> (1)..(1)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 35 <220>
 <221> Lys
 <222> (8)..(8)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 40 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 45 <222> (32)..(32)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 82
 Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
 1 5 10 15

 Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln Arg
 20 25 30
 Tyr
 50 <210> 83
 <211> 35

- <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 5 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 10 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Leu
 15 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, în care the leu este o norleucină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 20 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 83
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Leu Val Thr Arg
 20 25 30

 Gln Arg Tyr
 35
 <210> 84
 <211> 35
 25 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 30 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 35 <222> (9)..(9)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 40 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 45 <400> 84
 Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15
 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr Arg
 20 25 30

 Gln Arg Tyr
 35
 <210> 85
 <211> 36

- <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 5 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 10 <221> Lys
 <222> (22)..(22)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 15 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 20 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 85
 Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

 Asn Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
 20 25 30

 Arg Gln Arg Tyr
 35
 <210> 86
 <211> 36
 25 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 30 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 35 <222> (21)..(21)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 40 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 45 <400> 86

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
20 25 30

Arg Gln Arg Tyr
35

<210> 87

<211> 36

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ala

10 <222> (1)..(1)

<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (6)..(6)

15 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

20 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 87

Ala Ile Lys Pro Glu Lys Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
20 25 30

Arg Gln Arg Tyr
35

25 <210> 88

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

30 <220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Gly

<222> (1)..(1)

35 <223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

40 <220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

45 <221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 88

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 89

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Gly

<222> (1)..(1)

<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 89

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 90

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <400> 90
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35
 <210> 91
 <211> 35
 <212> PRT
 10 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Gly
 15 <222> (1)..(1)
 <223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 20 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 25 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 91
Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35
 30 <210> 92
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 35 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 40 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 45 <220>
 <221> Cys

- <222> (30)..(30)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
- 5 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 92
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
- Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg**
 20 25 30
- Gln Arg Tyr**
 35
- 10 <210> 93
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
- 15 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
- 20 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
- 25 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
- 30 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 93
Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
- Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg**
 20 25 30
- Gln Arg Tyr**
 35
- 35 <210> 94
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
- 40 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
- 45 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 94
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

10 **Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg**
20 25 30
Gln Arg Tyr
35

<210> 95
 <211> 35
 <212> PRT
 15 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Gly
 20 <222> (1)..(1)
 <223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 25 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Glu
 <222> (29)..(29)
 <223> Glu cu modificarea chimică descrisă în specificație
 30 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 95
Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30
Gln Arg Tyr
35

35 <210> 96
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 40 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 45 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys

- <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
- 5 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
- 10 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 96
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
- Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg**
 20 25 30
- Gln Arg Tyr**
 35
- <210> 97
 <211> 35
- 15 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
- 20 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
- 25 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
- 30 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
- 35 <400> 97
Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30
- Gln Arg Tyr**
 35
- <210> 98
 <211> 35
- 40 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
- 45 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys

- <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 5 <222> (29)..(29)
 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 10 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 98
Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15
- Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg**
20 25 30
- Gln Arg Tyr**
35
 <210> 99
 <211> 35
 15 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 20 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 25 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 30 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 35 <400> 99
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15
- Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg**
20 25 30
- Gln Arg Tyr**
35
 <210> 100
 <211> 35
 <212> PRT
 40 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Compus peptidic PYY ciclic
 <220>
 <221> Ala
 45 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

- <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 10 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 100
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
 20 25 30

Gln Arg Tyr
 35
 15 <210> 101
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 101
Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Val Thr Arg Gln
 20 25 30

 20 **Arg Tyr**
 <210> 102
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 25 <220>
 <223> Conjugat 1
 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 30 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 35 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 40 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 102

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 103

<211> 35

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Conjugat 2

<220>

10 <221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys<222> (10)..(10)

15 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

20 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 103

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

25 <210> 104

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

30 <220>

<223> Conjugat 3

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

35 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

40 <220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

45 <221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 104

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 105

<211> 34

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Conjugat 4

<220>

<221> Ile

<222> (1)..(1)

<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (9)..(9)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (33)..(33)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 105

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln
20 25 30

Arg Tyr

<210> 106

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Conjugat 5

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (29)..(29)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>

5 <221> Arg
 <222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 106

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Lys Cys Thr Arg
 20 25 30

Gln Arg Tyr
 35

10 <210> 107

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

15 <223> Conjugat 6

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

20 <220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

25 <221> Lys

<222> (19)..(19)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

30 <222> (30)..(30)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

35 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 107

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

Asn Arg Lys Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

Gln Arg Tyr
 35

<210> 108

<211> 35

40 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Conjugat 7

<220>

45 <221> Ala

- <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
- 5 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
- 10 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Gln
 <222> (33)..(33)
 <223> Gln cu modificarea chimică descrisă în specificație
- 15 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 108
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15
- Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg**
20 25 30
- Gln Arg Tyr**
35
- 20 <210> 109
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
- 25 <220>
 <223> Conjugat 8
 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
- 30 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
- 35 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
- 40 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 109
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15
- Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg**
20 25 30
- Gln Arg Tyr**
35
- 45 <210> 110
 <211> 35

<212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Conjugat 9
 5 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 10 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 15 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 20 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 110
 Ala Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Trp Cys Thr Arg
 20 25 30

 Gln Arg Tyr
 35
 <210> 111
 <211> 34
 25 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Conjugat 10
 <220>
 30 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 35 <222> (9)..(9)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 40 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 45 <400> 111
 Ile Arg Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
 1 5 10 15

 Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Trp Cys Thr Arg Gln
 20 25 30

 Arg Tyr
 <210> 112

- <211> 33
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 5 <223> Conjugat 11
 <220>
 <221> Lys
 <222> (1)..(1)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 10 <220>
 <221> Lys
 <222> (8)..(8)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 15 <221> Cys
 <222> (28)..(28)
 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 20 <222> (32)..(32)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 112
Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn Arg
1 5 10 15

Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg Gln Arg
20 25 30

Tyr
 25 <210> 113
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Conjugat 12
 30 <220>
 <221> Ile
 <222> (1)..(1)
 <223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 35 <221> Lys
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Leu
 40 <222> (29)..(29)
 <223> Leu, în care leu este o norleucină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (33)..(33)
 45 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 113

Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Leu Val Thr Arg
20 25 30
Gln Arg Tyr
35

- <210> 114
<211> 35
5 <212> PRT
<213> Secvență artificială
<220>
<223> Conjugat 13
<220>
10 <221> Ile
<222> (1)..(1)
<223> Ile cu modificarea chimică descrisă în specificație
<220>
<221> Lys
15 <222> (10)..(10)
<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
20 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
25 <400> 114
Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu Asn
1 5 10 15

Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

- <210> 115
<211> 36
<212> PRT
30 <213> Secvență artificială
<220>
<223> Conjugat 14
<220>
<221> Ala
35 <222> (1)..(1)
<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
<220>
<221> Lys
<222> (22)..(22)
40 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
45 <220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 115

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Lys Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
 20 25 30

Arg Gln Arg Tyr
 35

<210> 116

<211> 36

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Conjugat 15

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (21)..(21)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 116

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
Asn Arg Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
 20 25 30

Arg Gln Arg Tyr
 35

<210> 117

<211> 36

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Conjugat 16

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (6)..(6)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 117

Ala Ile Lys Pro Glu Lys Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Val Thr
20 25 30

Arg Gln Arg Tyr
35

<210> 118

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Conjugat 17

<220>

<221> Gly

<222> (1)..(1)

<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 118

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 119

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> Conjugat 18

<220>

<221> Gly

<222> (1)..(1)

<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

	<220>
	<221> Arg
	<222> (34)..(34)
	<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
5	<400> 119
	Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
	1 5 10 15
	Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
	20 25 30
	Gln Arg Tyr
	35
	<210> 120
	<211> 35
	<212> PRT
10	<213> Secvență artificială
	<220>
	<223> Conjugat 19
	<220>
	<221> Ala
15	<222> (1)..(1)
	<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
	<220>
	<221> Lys
	<222> (10)..(10)
20	<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
	<220>
	<221> Cys
	<222> (29)..(29)
	<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
25	<220>
	<221> Arg
	<222> (34)..(34)
	<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
	<400> 120
	Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
	1 5 10 15
	Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
	20 25 30
	Gln Arg Tyr
	35
30	<210> 121
	<211> 35
	<212> PRT
	<213> Secvență artificială
35	<220>
	<223> Conjugat 20
	<220>
	<221> Gly
	<222> (1)..(1)
40	<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație
	<220>
	<221> Lys
	<222> (10)..(10)
	<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
45	<220>
	<221> Cys

<222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 5 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 121
Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35
 <210> 122
 10 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Conjugat 21
 15 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 20 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 25 <222> (30)..(30)
 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 30 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 122
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35
 <210> 123
 <211> 35
 35 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Conjugat 22
 <220>
 40 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 45 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 123
Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

 10 **Gln Arg Tyr**
35
 <210> 124
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 15 <220>
 <223> Conjugat 23
 <220>
 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 20 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 25 <220>
 <221> Cys
 <222> (29)..(29)
 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 30 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 124
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

 35 **Gln Arg Tyr**
35
 <210> 125
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 40 <223> Conjugat 24
 <220>
 <221> Gly
 <222> (1)..(1)
 <223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație
 45 <220>
 <221> Lys

- <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Glu
 5 <222> (29)..(29)
 <223> Glu cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 10 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 125
Gly Ile Ser Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
 20 25 30

Gln Arg Tyr
 35
 <210> 126
 <211> 35
 15 <212> PRT
 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Conjugat 25
 <220>
 20 <221> Ala
 <222> (1)..(1)
 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Lys
 25 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 30 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 35 <400> 126
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30

Gln Arg Tyr
 35
 <210> 127
 <211> 35
 <212> PRT
 40 <213> Secvență artificială
 <220>
 <223> Conjugat 26
 <220>
 <221> Gly
 45 <222> (1)..(1)
 <223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>
 <221> Lys
 <222> (10)..(10)
 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
 5 <220>
 <221> Cys
 <222> (30)..(30)
 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <220>
 10 <221> Arg
 <222> (34)..(34)
 <223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
 <400> 127
 Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
 1 5 10 15
 Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
 20 25 30
 Gln Arg Tyr
 35
 15 <210> 128
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 128
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 20 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 129
 <211> 119
 25 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 129

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Tyr Asp Gly Ile Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 130

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 130

Tyr Asp Gly Ile Tyr Gly Glu Leu Asp Phe
1 5 10

<210> 131

<211> 115

10 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> concatenare de IGHV3-23*01 și IGHJ1*01

<400> 131

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ala Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 132

<211> 98

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 132

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys

<210> 133

10 <211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Ala Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
1 5 10 15

Ser

15 <210> 134

<211> 107

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

5 <223> concatenare de IGKV3-11*01 și IGKJ1*01

<400> 134

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 135

10 <211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro
 85 90 95

15 <210> 136

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

20 <210> 137

<211> 119

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> VH MSCB97

<400> 137

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5				10						15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		

Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			

Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				

Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75					80

Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	

Ala	Lys	Tyr	Asp	Gly	Cys	Tyr	Gly	Glu	Leu	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105					110		

Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
						115

5

<210> 138

<211> 446

<212> PRT

10

<213> Secvență artificială

<220>

<223> HC MSCB97

<400> 138

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		

Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			

Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				

Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75					80

Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	

15

MD/EP 3532486 T2 2022.01.31

185

Ala Lys Tyr Asp Gly Cys Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

MD/EP 3532486 T2 2022.01.31

186

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 139

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> VL MSCB97

<400> 139

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

10 <210> 140

<211> 214

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

15 <223> LC MSCB97

<400> 140

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 141

<211> 5

5 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> HCDR1 MSCB97

<400> 141

Ser Tyr Ala Met Ser

10 1 5

<210> 142

<211> 17

<212> PRT

<213> Secvență artificială

15 <220>

<223> HCDR2 MSCB97

<400> 142

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 143

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> HCDR3 MSCB97

<400> 143

Tyr Asp Gly Cys Tyr Gly Glu Leu Asp Phe**1****5****10**

10 <210> 144

<211> 11

<212> PRT

15 <213> Secvență artificială

<220>

<223> LCDR1 MSCB97

<400> 144

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala**1****5****10**

20 <210> 145

<211> 7

<212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

25 <223> LCDR2 MSCB97

<400> 145

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr**1****5**

<210> 146

<211> 9

30 <212> PRT

<213> Secvență artificială

<220>

<223> LCDR3 MSCB97

<400> 146

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr35 **1****5**

<210> 147

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

40 <220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

45 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (30)..(30)

<223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație

50 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 147

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

- <210> 148
<211> 35
5 <212> PRT
<213> Secvență artificială
<220>
<223> Compus peptidic PYY ciclic
<220>
10 <221> Ala
<222> (1)..(1)
<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație
<220>
<221> Lys
15 <222> (10)..(10)
<223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație
<220>
<221> Cys
<222> (30)..(30)
20 <223> Cys, în care cys este o homocisteină cu modificarea chimică descrisă în specificație
<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
25 <400> 148
Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Leu Cys Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

- <210> 149
<211> 35
<212> PRT
30 <213> Secvență artificială
<220>
<223> Compus peptidic PYY ciclic
<220>
<221> Gly
35 <222> (1)..(1)
<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație
<220>
<221> Glu
<222> (29)..(29)
40 <223> Glu cu modificarea chimică descrisă în specificație
<220>
<221> Arg
<222> (34)..(34)
<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație
45 <400> 149

MD/EP 3532486 T2 2022.01.31

190

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 150

<211> 35

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Gly

10 <222> (1)..(1)

<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

15 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Glu

<222> (29)..(29)

<223> Glu cu modificarea chimică descrisă în specificație

20 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 150

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Glu Val Thr Arg
20 25 30

25

Gln Arg Tyr
35

<210> 151

<211> 35

<212> PRT

30 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Gly

35 <222> (1)..(1)

<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

40 <223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

45

<400> 151

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 152

<211> 35

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Gly

10 <222> (1)..(1)

<223> Gly cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

15 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

20 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 152

Gly Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

25 <210> 153

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

30 <220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

35 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

40 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 153

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 154

<211> 35

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ala

10 <222> (1)..(1)

<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

15 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

20 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 154

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

25 <210> 155

<211> 35

<212> PRT

<213> Secvență artificială

30 <220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ala

<222> (1)..(1)

35 <223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

40 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 155

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Asp Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

<210> 156

<211> 35

<212> PRT

5 <213> Secvență artificială

<220>

<223> Compus peptidic PYY ciclic

<220>

<221> Ala

10 <222> (1)..(1)

<223> Ala cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Lys

<222> (10)..(10)

15 <223> Lys cu modificarea chimică descrisă în specificație

<220>

<221> Cys

<222> (29)..(29)

<223> Cys cu modificarea chimică descrisă în specificație

20 <220>

<221> Arg

<222> (34)..(34)

<223> Arg cu modificarea chimică descrisă în specificație

<400> 156

Ala Ile Lys Pro Glu Ala Pro Gly Glu Lys Ala Ser Pro Glu Glu Leu
1 5 10 15

Asn Arg Tyr Tyr Ala Ser Leu Arg His Tyr Leu Asn Cys Val Thr Arg
20 25 30

Gln Arg Tyr
35

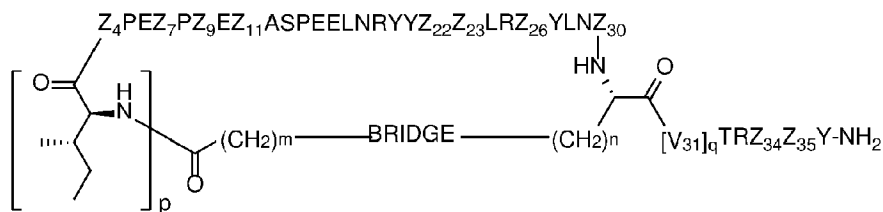
25

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- GERMAIN ET AL.: 'Analogues of pancreatic polypeptide and peptide YY with a locked PP-fold structure are biologically active' PEPTIDES vol. 39, 2013, pages 6 - 10, XP028973917
- WO-A1-2015/197735
- US-A1- 2015 258 209
- US-A1- 2016 108 098

(57) Revendicări:

1. Un conjugat cuprinzând un anticorp monoclonal sau un fragment cu legare la antigen al acestuia cuplat la o peptidă PYY ciclică, în care peptidă PYY ciclică este reprezentată prin Formula I sau printr-un derivat sau sare acceptabilă farmaceutic a acesteia:



Formula I

în care

p este 0 sau 1;

m este 0, 1, 2, 3, 4, sau 5;

n este 1, 2, 3, sau 4;

q este 0 sau 1; cu condiția că q este 1 numai când Z₃₀ este absent;

BRIDGE este -Ph-CH₂-S-, -triazolil-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH-,

-(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)-, sau -CH₂S-;

Z₄ este K, A, E, S, sau R;

Z₇ este A sau K;

Z₉ este G sau K;

Z₁₁ este D sau K;

Z₂₂ este A sau K;

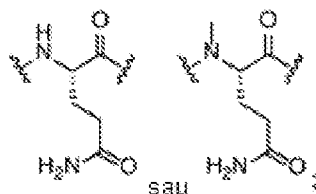
Z₂₃ este S sau K;

Z₂₆ este A sau H;

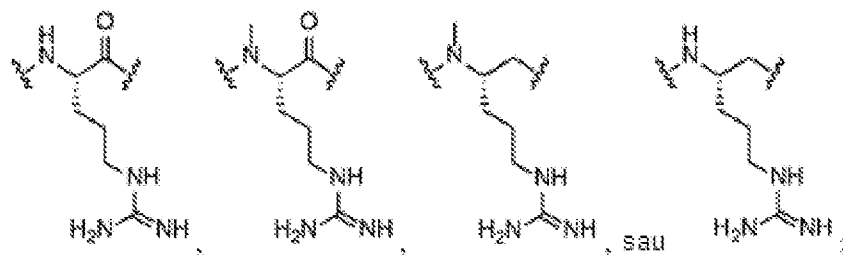
Z₃₀ este L, W, absent, sau K;

cu condiția că Z₃₀ este absent numai când q este 1;

Z₃₄ este



Z₃₅ este



în care derivatul este compusul cu Formula I care este modificat prin unul sau mai multe procese selectate din grupul constând din amidare, glicozilare, carbamilare, sulfatare, fosforilare, ciclizare, lipidare, și PEGilare.

2. Conjugatul conform revendicării 1, în care peptidă PYY ciclică este un compus cu Formula I sau un derivat al peptidei PYY ciclice cu Formula I care este modificat prin unul sau mai multe procese selectate din grupul constând din amidare, lipidare, și PEGilare, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

3. Conjugatul conform revendicării 1, în care peptida PYY ciclică este reprezentată prin Formula I sau derivatul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

p este 0 sau 1;

m este 0, 1, 2, 3, 4, sau 5;

n este 1, 2, 3, sau 4;

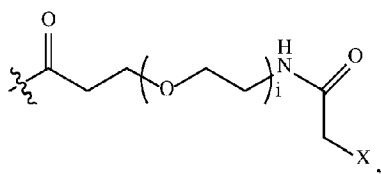
q este 0 sau 1; cu condiția că q este 1 numai când Z_{30} este absent;

BRIDGE este -Ph-CH₂-S-, -triazolil-, -NHC(O)CH₂S-, -SCH₂C(O)NH₂-,

-(OCH₂CH₂)₂NHC(O)CH₂S-, -NHC(O)-, sau -CH₂S-;

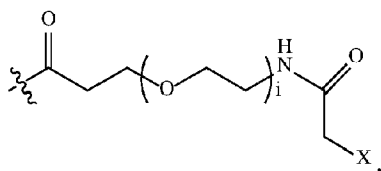
Z₄ este K, A, E, S, sau R;

Z₇ este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



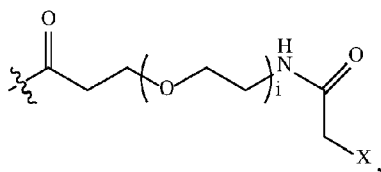
în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și X = Br, I sau Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, sau -C(O)CH₂Cl;

Z₉ este G sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



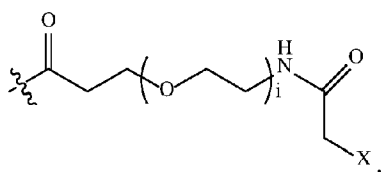
în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și X = Br, I sau Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, sau -C(O)CH₂Cl;

Z₁₁ este D sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



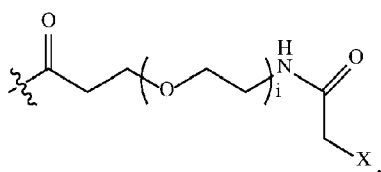
în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și X = Br, I sau Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, sau -C(O)CH₂Cl;

Z₂₂ este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și X = Br, I sau Cl, -C(O)CH₂Br, -C(O)CH₂I, sau -C(O)CH₂Cl;

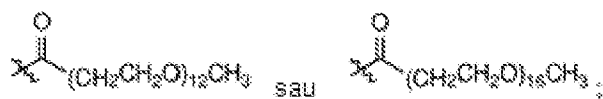
Z₂₃ este S sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită opțional cu



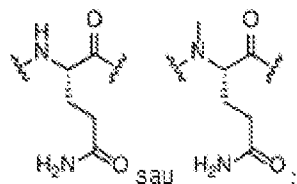
în care i este un număr întreg de la 0 până la 24, și X = Br, I sau Cl, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{I}$, sau $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Cl}$;

Z_{26} este A sau H;

Z_{30} este L sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu

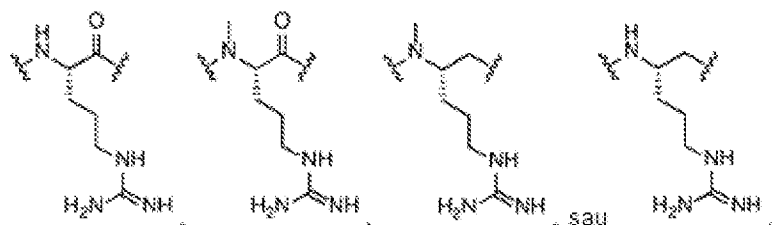


Z_{34} este



și

Z_{35} este



4. Conjugatul conform revendicării 1, în care peptida PYY ciclică este reprezentată prin Formula I sau derivatul sau sarea acceptabilă farmaceutic a acesteia, în care:

p este 0 sau 1;

m este 0, 1, 2, 3, sau 5;

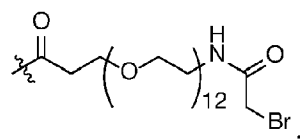
n este 1, 2, sau 4;

q este 0 sau 1; cu condiția că q poate fi 1 numai când Z_{30} este absent;

BRIDGE este $-\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{S}-$, $-\text{triazolil}-$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{S}-$, $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{NHC}(\text{O})-$, sau $-\text{CH}_2\text{S}-$;

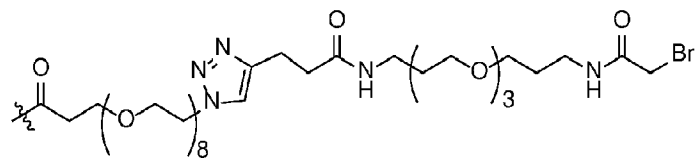
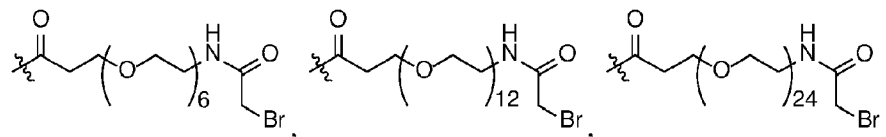
Z_4 este K, A, E, S, sau R;

Z_7 este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu



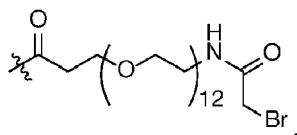
Z_9 este G sau K,

Z_{11} este D sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu

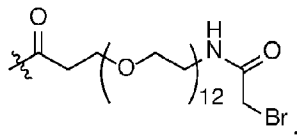


$-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{Br}$,

Z_{22} este A sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu

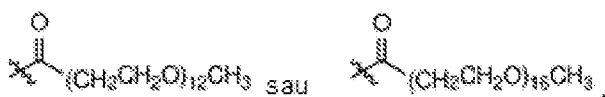


Z₂₃ este S sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu

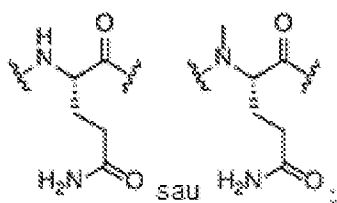


Z₂₆ este A sau H,

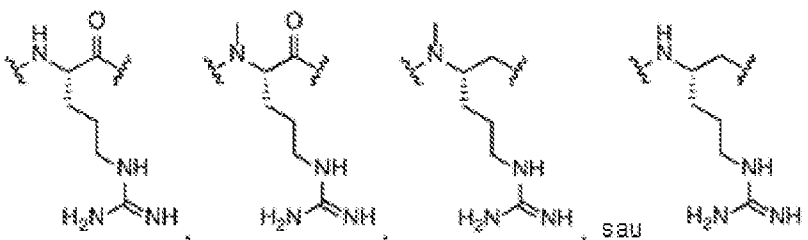
Z₃₀ este L sau K, în care catena laterală amino a respectivului K este substituită cu



Z₃₄ este



Z₃₅ este



5. Conjugatul conform revendicării 1, în care peptida PYY ciclică este selectată din grupul constând din SEQ ID NO:1, 73-100, și 147-156, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora.

6. Conjugatul conform oricăreia dintre revendicările 1-5, în care anticorpul monoclonal sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia este legat covalent la peptida PYY ciclică la un rest de lizină al peptidei PYY ciclice printr-un liant; în care opțional liantul cuprinde unul selectat din grupul constând din polietilen glicol (PEG)8-triazolil-CH₂CH₂CO-PEG4, o catenă PEG de 2-24 unități PEG, o catenă alchil conținând 2-10 atomi de carbon, (Gly4Ser)_j în care j = 1-4, (AlaPro)_u în care u = 1-10, și o legătură.

7. Conjugatul conform revendicării 6, în care numai unul din Z₇, Z₉, Z₁₁, Z₂₂ și Z₂₃ în Formula I este lizină, și lizina este legată covalent la un rest de cisteină modificat genetic al anticorpului monoclonal sau fragmentului cu legare la antigen al acestuia prin liant.

8. Un conjugat cuprinzând o moleculă conform cu formula următoare:

cPYY-L]₂-mAb

în care:

cPYY este o secvență de peptidă PYY ciclică selectată din grupul constând din SEQ ID NO:102-127 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora;

L este un liant;

mAb este un anticorp monoclonal sau un fragment cu legare la antigen al acestuia cuplat la peptida PYY ciclică prin liant; și

]2 reprezintă că 1 sau 2 dintre peptidele PYY ciclice sunt conjugate covalent la mAb.

9. Conjugatul conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 8, în care anticorpus monoclonal sau fragment cu legare la antigen al acestuia cuprinde o regiune 1 determinantă de complementaritate a lanțului greu (HCDR1), HCDR2, HCDR3, și o regiune 1 determinantă de complementaritate a lanțului ușor (LCDR1), LCDR2, și LCDR3, având secvențele de polipeptidă din SEQ ID NO: 141, 142, 143, 144, 145, și 146, respectiv, în care opțional anticorpus monoclonal izolat cuprinde un domeniu variabil al lanțului greu (VH) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO:137, și un domeniu variabil al lanțului ușor (VL) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO:139.

10. Conjugatul conform revendicării 9, cuprinzând în plus o porțiune Fc, care cuprinde opțional un lanț greu (HC) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO:138 și un lanț ușor (LC) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO:140.

11. Un conjugat cuprinzând un anticorpus monoclonal sau un fragment cu legare la antigen al acestuia cuplat la o peptidă PYY ciclică, în care:

anticorpus monoclonal sau fragment cu legare la antigen al acestuia cuprinde o regiune 1 determinantă de complementaritate a lanțului greu (HCDR1), HCDR2, HCDR3, și o regiune 1 determinantă de complementaritate a lanțului ușor (LCDR1), LCDR2, și LCDR3, având secvențele de polipeptidă din SEQ ID NO: 141, 142, 143, 144, 145, și respectiv 146, preferabil anticorpus monoclonal sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia cuprinzând un domeniu variabil al lanțului greu (VH) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO:137, și un domeniu variabil al lanțului ușor (VL) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO:139, și mai preferabil, anticorpus monoclonal cuprinde un lanț greu (HC) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO:138 și un lanț ușor (LC) având secvența de polipeptidă din SEQ ID NO:140;

peptida PYY ciclică cuprinde o secvență de polipeptidă selectată din grupul constând din SEQ ID NO: 1, 73-100, și 147-156, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestora; și

anticorpus monoclonal sau fragmentul cu legare la antigen al acestuia este conjugat la peptida PYY ciclică la restul 7, 9, 11, 22 sau 23 al peptidei PYY ciclice, preferabil la restul 11 de lizină al peptidei PYY ciclice, direct sau printr-un liant.

12. O metodă pentru producerea conjugatului conform oricăreia dintre revendicările 1-11, cuprinzând punerea în reacție a unui electrofil, preferabil bromoacetamidă sau maleimidă, introdus pe o catenă laterală a peptidei PYY ciclice, preferabil catena laterală a unui rest de lizină al peptidei PYY ciclice, cu gruparea sulfhidril a restului de cisteină din SEQ ID NO:143 a anticorpusului monoclonal sau fragmentului care se leagă la antigen al acestuia, creând prin urmare o legătură covalentă între peptida PYY ciclică și anticorpus monoclonal sau fragmentul care se leagă la antigen al acestuia.

13. O compoziție farmaceutică cuprinzând conjugatul conform oricăreia dintre revendicările 1-11 și un purtător acceptabil farmaceutic.

14. Compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicarea 13 pentru utilizare într-o metodă pentru tratarea sau prevenirea unei boli sau tulburări la un subiect care are nevoie de aceasta, în care respectiva boală sau tulburare este selectată din grupul constând din obezitate, diabet de tip I sau tip II, sindrom metabolic, rezistență la insulină, toleranță scăzută la glucoză, hiperglicemie, hiperinsulinemie, hipertrigliceridemie, hipoglicemie din cauza hiperinsulinismului congenital (CHI), dislipidemie, ateroscleroză, nefropatie diabetică, și alți factori de risc cardiovascular cum ar fi hipertensiunea și factori de risc cardiovascular asociați cu negestionarea colesterolului și/sau nivelurilor de lipidă, osteoporoză, inflamație, boală a ficatului gras nealcoolice (NAFLD), steatohepatită nealcoolică (NASH), boală renală, și eczemă, metoda cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a compoziției farmaceutice.

15. Compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicarea 13 pentru utilizare într-o metodă de reducere a ingerării alimentelor la un subiect care are nevoie de aceasta, metoda cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a compoziției farmaceutice.

16. Compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicarea 13 pentru utilizare într-o metodă de modulare a activității receptorului Y2 la un subiect care are nevoie de aceasta, metoda cuprinzând administrarea către subiectul care are nevoie de aceasta a unei cantități eficiente a compoziției farmaceutice.

17. Compoziția farmaceutică pentru utilizare conform oricăreia dintre revendicările 14-16, în care compoziția farmaceutică este administrată printr-o injecție și/sau într-o combinație cu cel puțin un agent antidiabetic.

18. Compoziția farmaceutică pentru utilizare în conformitate cu revendicarea 17, în care respectivul agent antidiabetic este un modulator al receptorului peptidă-1 de tip glucagon sau compoziția farmaceutică este administrată în combinație cu liraglutidă.

19. O trusă cuprinzând conjugatul conform oricăreia dintre revendicările 1-11, preferabil cuprinzând în plus o liraglutidă și un dispozitiv pentru injecție.

20. O metodă pentru producerea unei compoziții farmaceutice cuprinzând conjugatul conform oricăreia dintre revendicările 1-11, cuprinzând combinarea conjugatului cu un purtător acceptabil farmaceutic pentru a obține compoziția farmaceutică.

Fig. 1

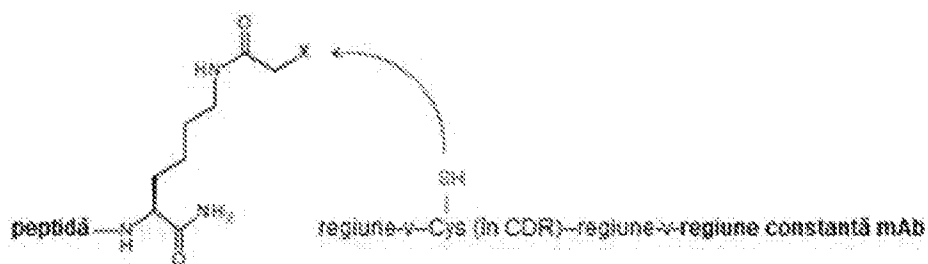


Fig. 2

PH9H5 VH (SEQ ID NO:129)

EVGLLESQGGIVQPGGSLRLSCAASGFTIPSSYAMSWVPQAFGKGLENVSAISGSSTYYADSV
KGRPTISRDNSKNTLYLQMNSLAIEDTAVYYCARYDGIYGEIDFWGQGILVTSS

PH9L3 VL (SEQ ID NO:128)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAQSIVSSYLANYCQKPGQAPRLLIYDASNPATGIPANFSG
SGSGTDFTLTISBLEPEDFAVYYCQRRSNWPLTFQGGTIVEIK

Fig. 3

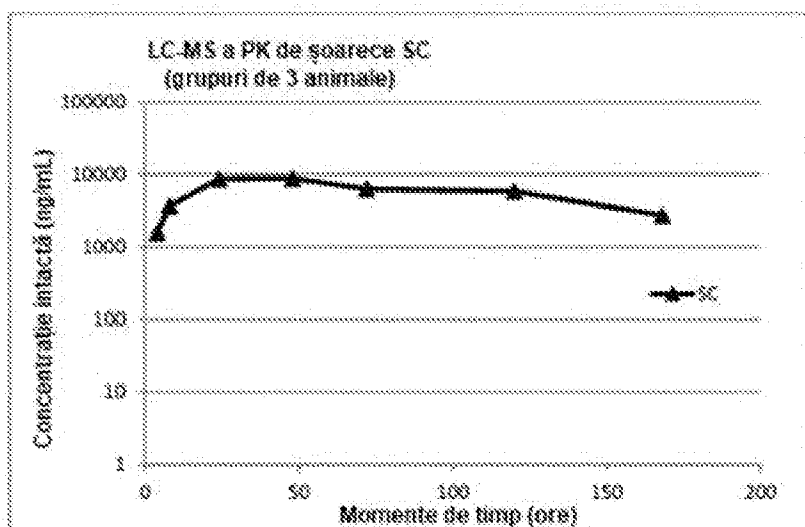


Fig. 4

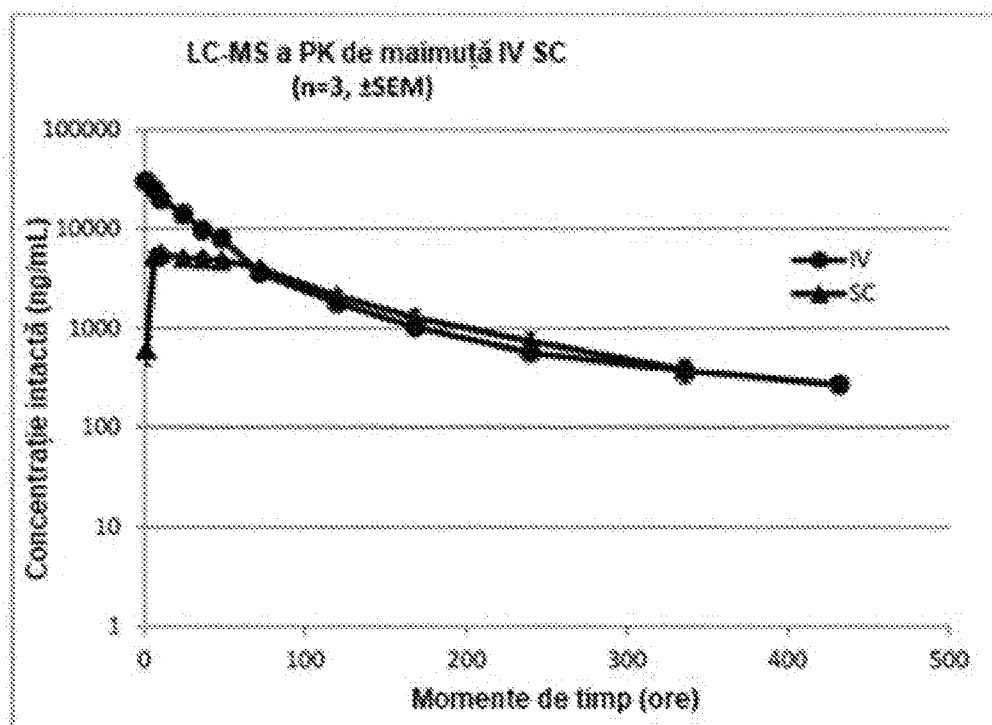
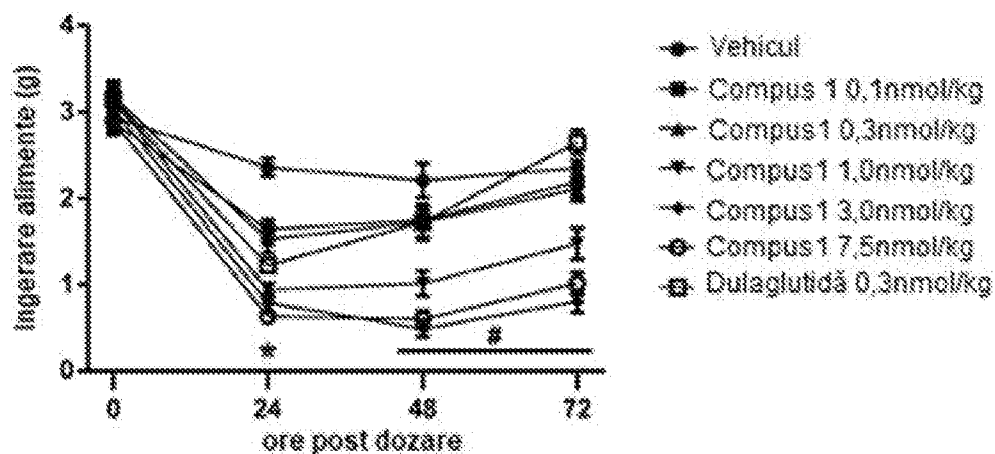


Fig. 5

Ingerare alimente la șoarecii DIO după Compusul 1

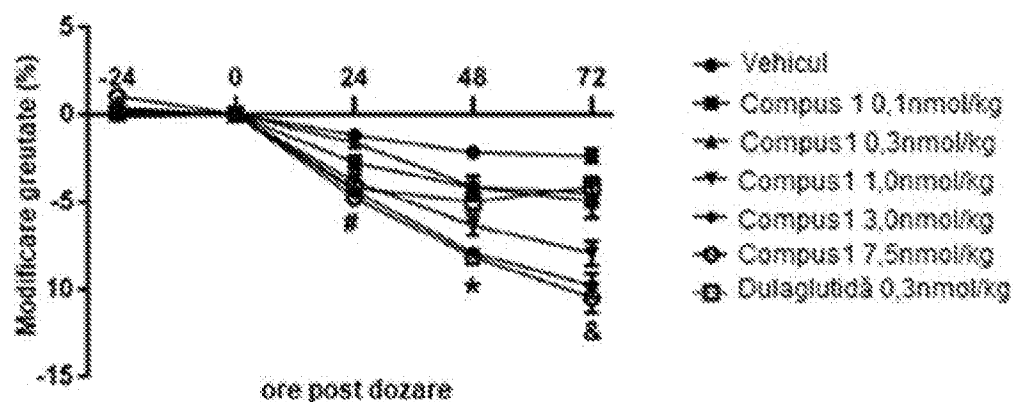


ANOVA RM bifactorială, Tukey

* $p < 0,05$ vehicul vs. toate grupurile# $p < 0,05$ vehicul vs. Compus1
1,0, 3,0, și 7,5nmol/kg

Fig. 6

Modificare BW la șoarecii DIO după Compusul 1



ANOVA RM bifactorială, Tukey

* $p < 0,05$ vehicul vs toate grupurile# $p < 0,05$ vehicul vs Compus 1 1,0, 3,0,

7,5 nmol/kg și Dulaglutidă

& $p < 0,05$ vehicul vs toate grupele de Compus 1

Fig. 7

Ingerare alimente la șoarecii DIO după Compusul 1

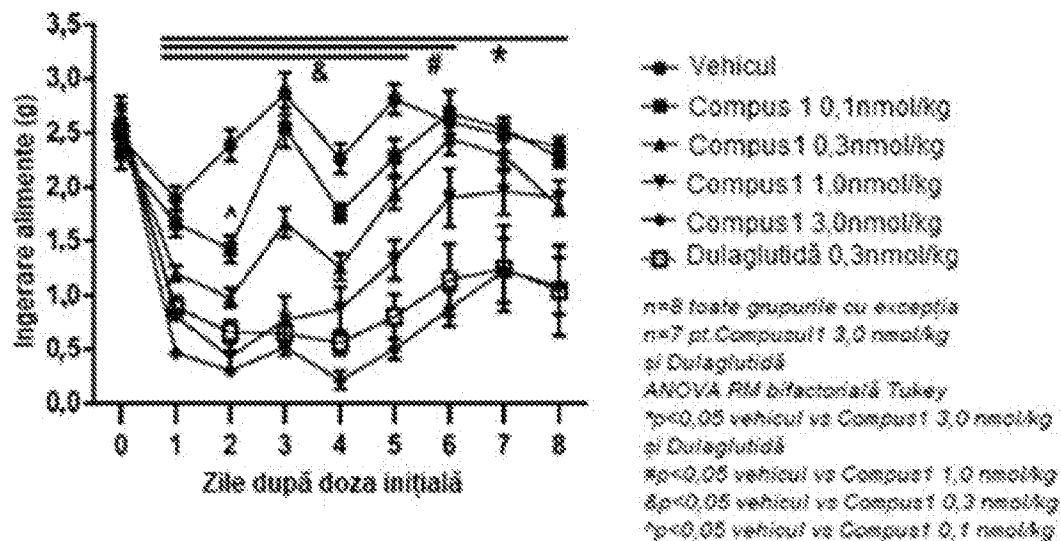


Fig. 8

Modificarea BW la șoarecii DIO după Compusul 1

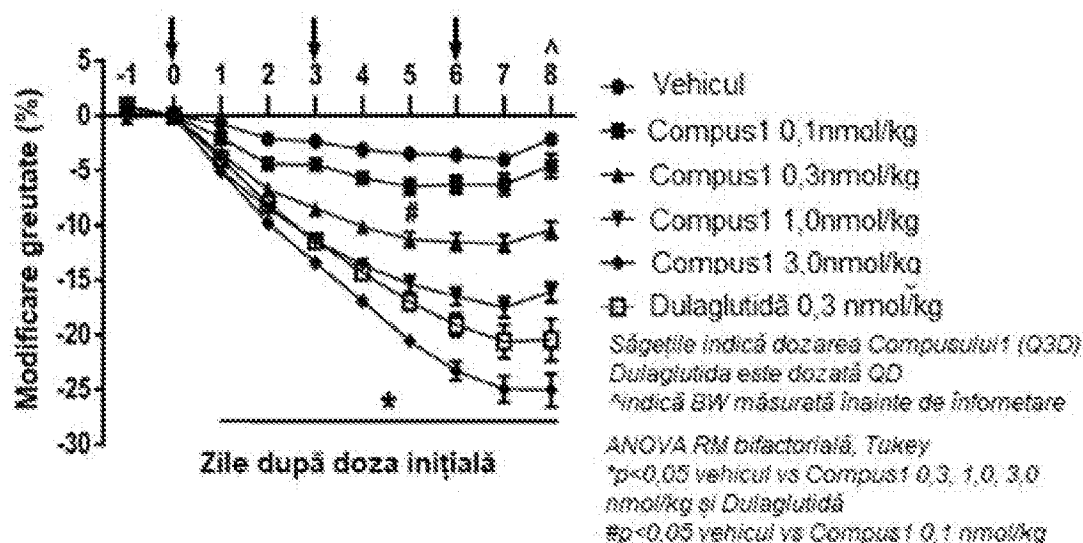


Fig. 9

Modificarea greutății corporale la șoarecii DIO

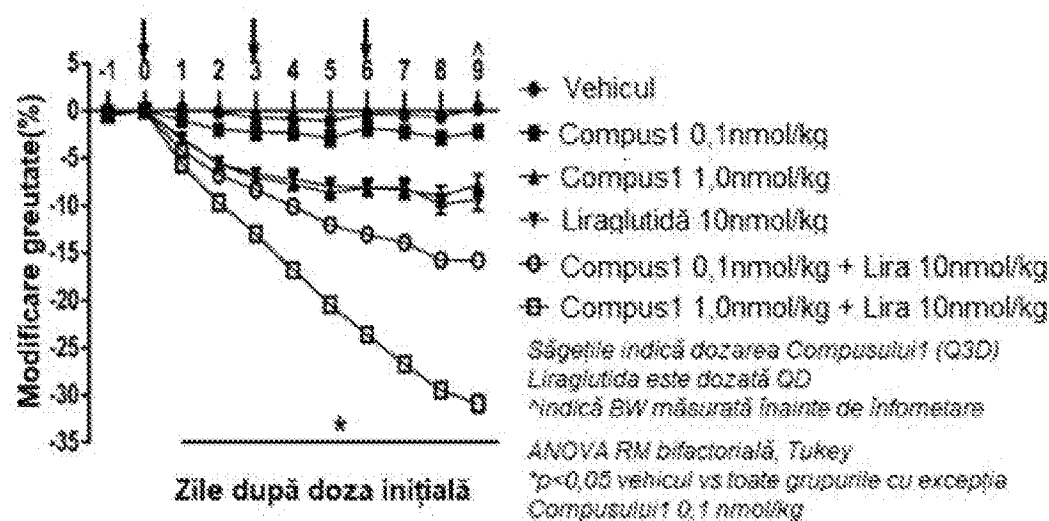


Fig. 10

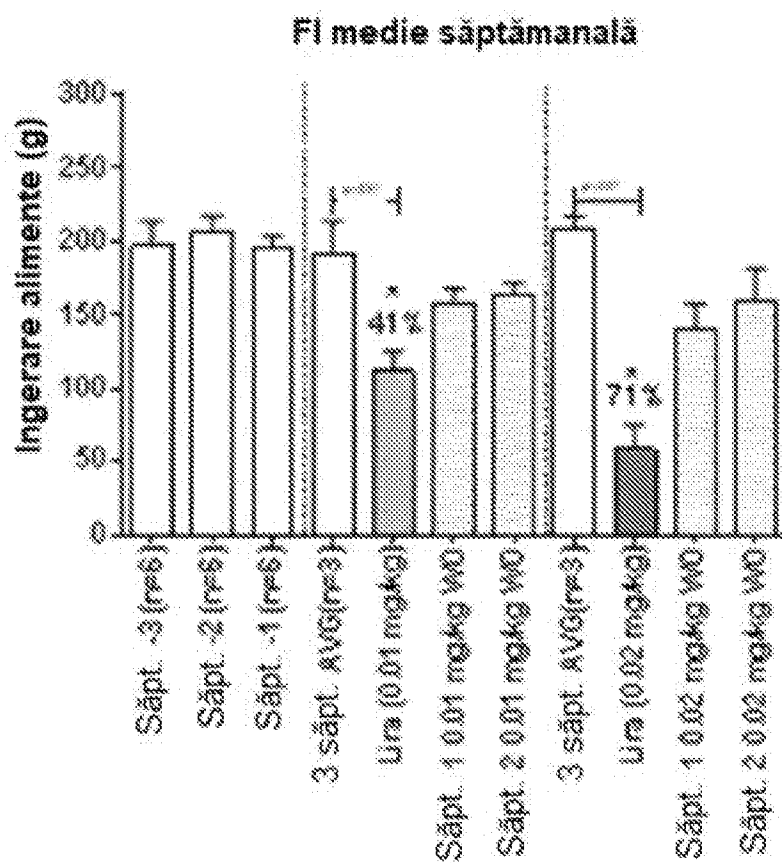


Fig. 11A

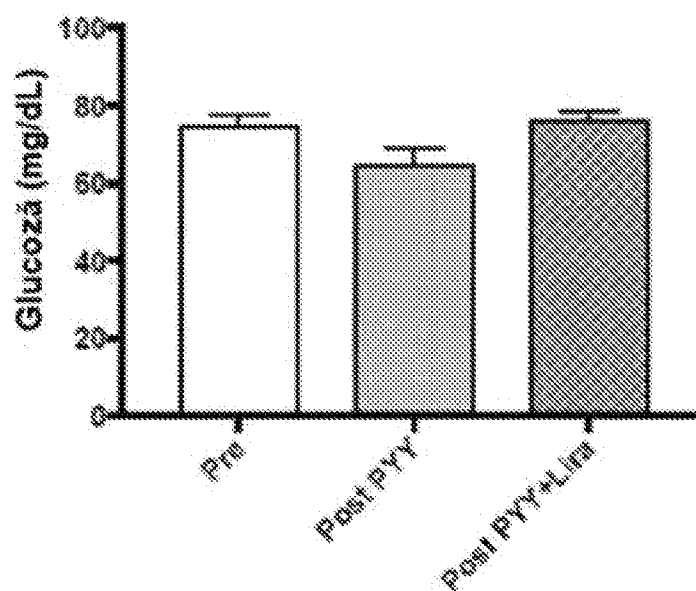


Fig. 11B

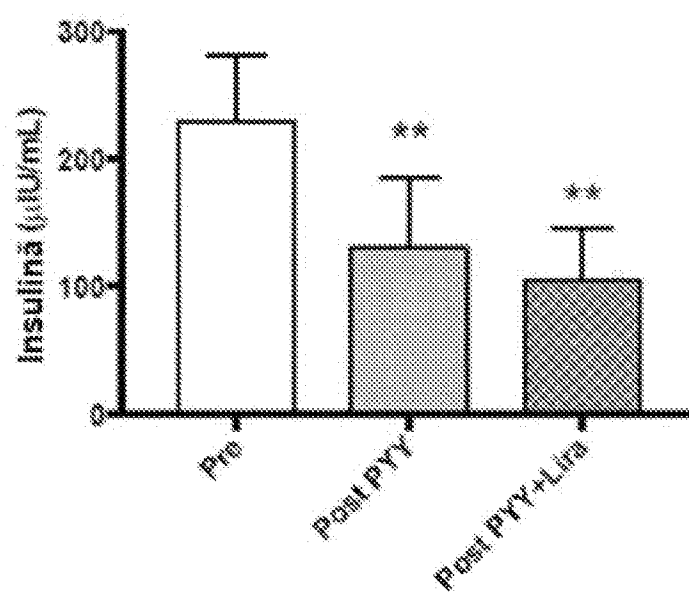


Fig. 11C

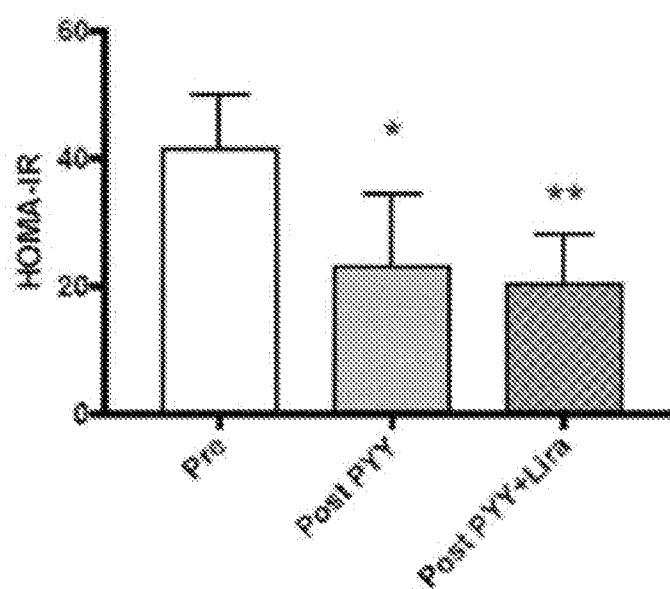


Fig. 11D

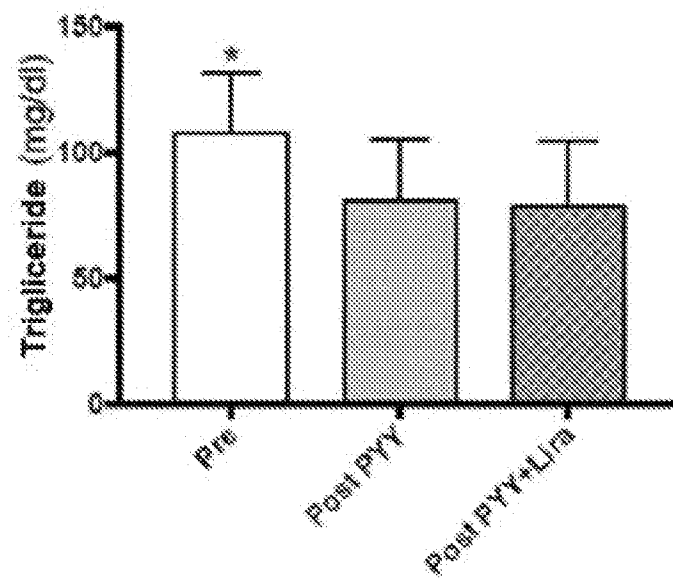


Fig. 12A

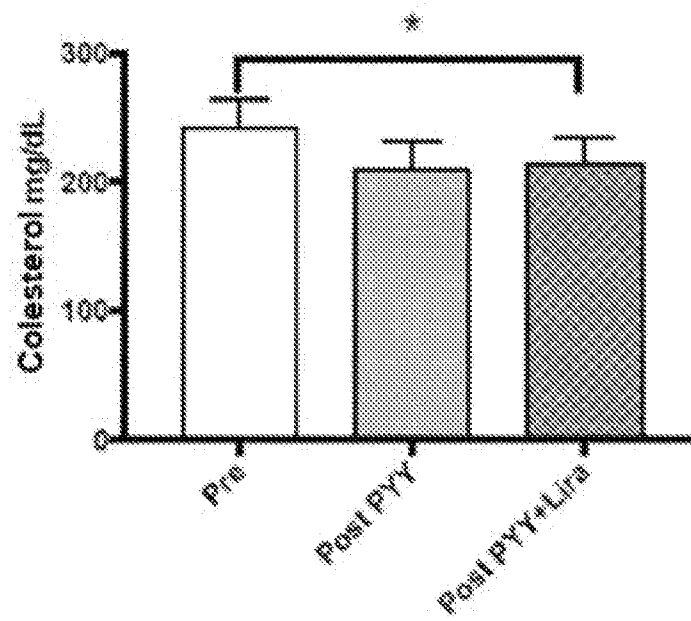


Fig. 12B

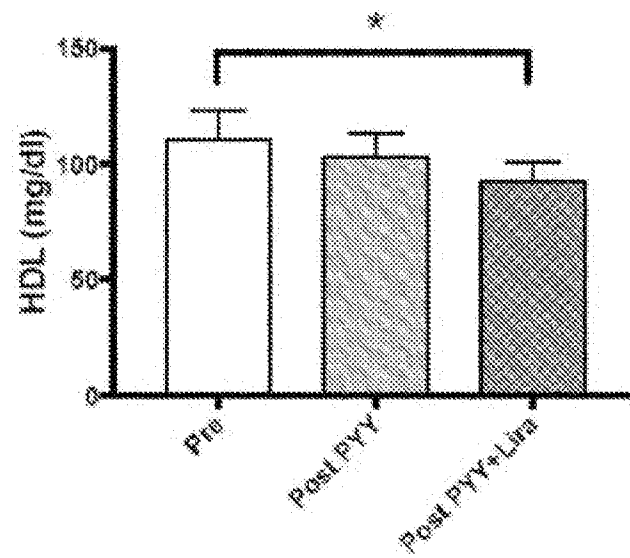


Fig. 12C

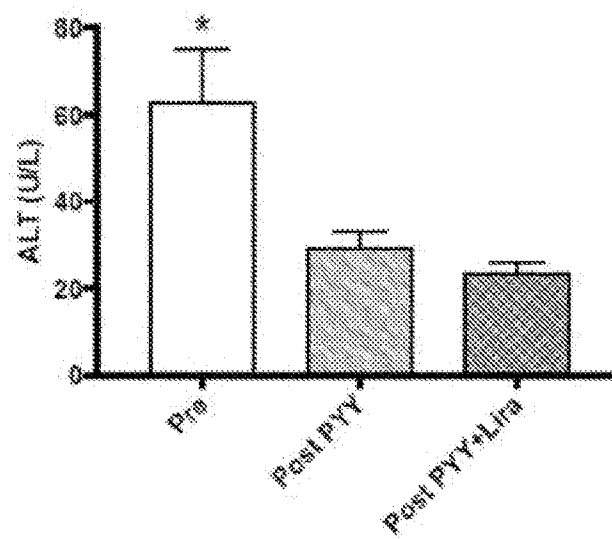


Fig. 12D

