



República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) PI 0712041-9 A2



(22) Data de Depósito: 08/05/2007  
(43) Data da Publicação: 27/12/2011  
(RPI 2138)

(51) Int.CI.:  
C07K 14/62  
A61K 38/28

**(54) Título:** DERIVADO DE INSULINA

**(30) Prioridade Unionista:** 09/05/2006 EP 06 113709.7,  
01/08/2006 EP 06 118260.6, 01/08/2006 EP 06 118260.6, 09/05/2006  
EP 06 113709.7

**(73) Titular(es):** Novo Nordisk A/S

**(72) Inventor(es):** Frantisek Hubalek, Ib Jonassen, Janos Tibor  
Kodra, Palle Jakobsen, Patrick William Garibay, Svend Havelund,  
Thomas Hoeg-Jensen

**(74) Procurador(es):** Dannemann ,Siemsen, Bigler &  
Ipanema Moreira

**(86) Pedido Internacional:** PCT EP2007054444 de  
08/05/2007

**(87) Publicação Internacional:** WO 2007/128817 de  
15/11/2007

**(57) Resumo:** DERIVADO DE INSULINA. A presente invenção refere-se a novos derivados de insulina humana, que são solúveis em valores de pH fisiológico e têm um perfil de ação prolongada. A invenção também refere-se a métodos para proporcionar tais derivados, a composições farmacêuticas contendo os mesmos, a métodos para tratar diabetes e hiperglicemia usando os derivados de insulina da invenção e ao uso de tais derivados de insulina no tratamento de diabetes e hiperglicemia.



PI0712041-9

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "DERIVADO DE INSULINA".

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se a novos derivados de insulina humana, que são solúveis em valores de pH fisiológico e têm um perfil de ação prolongada. A invenção também refere-se a métodos para proporcionar tais derivados, a composições farmacêuticos contendo os mesmos, a métodos para tratar diabetes e hiperglicemia usando os derivados de insulina da invenção e ao uso de tais derivados de insulina no tratamento de diabetes e hiperglicemia.

Antecedentes da Invenção

Correntemente, o tratamento de diabetes, ambos o diabetes tipo 1 e o diabetes tipo 2, se baseia, em grau crescente, no assim chamado tratamento intensivo com insulina. De acordo com esse regime, os pacientes são tratados com injeções de insulina diárias múltiplas compreendendo uma ou duas injeções diárias de uma insulina de longa ação para cobrir a exigência de insulina basal suplementada por injeções de bolo de uma insulina de ação rápida para cobrir a exigência de insulina relacionada à refeições.

Composições de insulina de longa ação são bem-conhecidas na técnica. Assim, um tipo principal de composições de insulina de longa ação compreende suspensões aquosas injetáveis de cristais de insulina ou insulina amorfa. Nessas composições, os compostos de insulina são, tipicamente, insulina protamina, insulina zinco ou insulina zinco protamina.

Certas desvantagens estão associadas com o uso de suspensões de insulina. Assim, de modo a assegurar uma dose acurada, as partículas de insulina devem ser postas em suspensão homogênea por agitação lenta antes de um volume definido da suspensão ser retirado de um frasco ou expelido de um cartucho. Também, para a armazenagem de suspensões de insulina, a temperatura deve ser mantida dentro de limites mais estreitos que para soluções de insulina, para evitar formação de inchaços grumos ou coagulação.

Embora anteriormente acreditassem que as protaminas eram

não-imunogênicas, verificou-se agora que as protaminas podem ser imunogênicas no homem e que seu uso para propósitos medicinais pode levar à formação de anticorpos. Também, encontrou-se evidência que o complexo de protamina-insulina é por si mesmo imunogênico. Portanto, com alguns 5 pacientes, o uso de composições de insulina de longa ação contendo protaminas deve ser evitado.

Um outro tipo de composições de insulina de longa ação são soluções tendo um valor de pH abaixo do pH fisiológico do qual a insulina precipitará devido ao aumento do valor de pH quando a solução é injetada. 10 Uma desvantagem com essas soluções é a distribuição do tamanho de partícula do precipitado formado no tecido na injeção, e assim o perfil de liberação da medicação depende do fluxo sanguíneo no sítio de injeção e de outros parâmetros de um modo algo imprevisível. Uma outra desvantagem é que as partículas sólidas da insulina podem agir como um irritante local provocando inflamação do tecido no sítio de injeção. 15

O pedido de patente internacional publicado sob o número WO 2005/012347 (Novo Nordisk A/S) refere-se a derivados de insulina que têm uma cadeia lateral ligada ou ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na 20 cadeia B.

O pedido de patente internacional EP2006/050593 (Novo Nordisk A/S) refere-se a derivados de insulina tendo um grupo aromático na cadeia lateral.

O pedido de patente EP2006/050594 (Novo Nordisk A/S) refere- 25 se a derivados de insulina tendo um PEG na cadeia lateral.

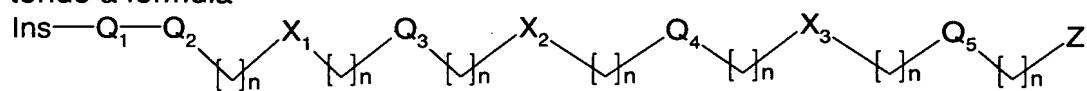
Outros derivados de insulina estão descritos no pedido de patente publicado JP 1-254699 (Kodama Co., Ltd.) e WO 5/07931 (Novo Nordisk A/S).

Contudo, há ainda necessidade de insulina tendo um perfil de 30 ação mais prolongada que os derivados de insulina conhecidos até hoje.

#### Sumário da Invenção

Em um aspecto da invenção, um derivado de insulina é aquele

tendo a fórmula



em que Ins é uma porção de insulina parente e  $Q_1 - Q_2 - [\text{CH}_2]_n - X_1 - [\text{CH}_2]_n - Q_3 - [\text{CH}_2]_n - X_2 - [\text{CH}_2]_n - Q_4 - [\text{CH}_2]_n - X_3 - [\text{CH}_2]_n - Q_5 - [\text{CH}_2]_n - Z$  é um substituinte e onde Ins é ligado ao substituinte

5 através de uma ligação de amida entre o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou um grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins e um grupo CO em  $Q_1$  ou  $Q_2$  do substituinte;

cada n é independentemente 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6;

10  $Q_1$  é:

- uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, cujo resíduo forma, com seu grupo ácido carboxílico, um grupo amida junto com o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de

15 Ins ou junto com o grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ou de aminoácido conforme especificados acima ligados juntamente através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação ami-

20 da – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

- uma ligação

$Q_2$  é:

25 •  $-\text{COCH}(\text{CONH}_2)-$

•  $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$

•  $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)$

•  $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$

•  $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$

30 •  $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$

- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
  - $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CONH}-$
  - $-\text{CO}((\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{NHCO})_{1-4}-$ ;
  - $-\text{CO}((\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{CO-NH})_{1-4}-$ , onde  $\text{R}^5$  pode ser independentemente H,
- 5      $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$  ou  $-\text{CONH}_2$  e  $\text{R}^6$  pode ser independentemente H,  
 $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ ; ou
- uma ligação  
 com a condição que  
 - pelo menos um de  $\text{Q}_1$  ou  $\text{Q}_2$  na seja uma ligação, e
- 10    - que  $\text{Q}_2$  não seja  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{CO-NH}-$  quando n for 0 ou 1,  $\text{X}_1$  for uma  
 ligação e  $\text{Q}_3$  for  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$ ,  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-$  ou  
 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})-$  e  
 - que se uma amina em  $\text{Q}_1$  ou  $\text{Q}_2$  formar uma ligação com o resto do substituinte, a amina deve ser ligada ao resto do substituinte através de um grupo  
 15    carbonila;
- $\text{Q}_3$ ,  $\text{Q}_4$ , e  $\text{Q}_5$  podem ser, independentemente um do outro,
- $-(\text{CH}_2)_m-$  onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32;
  - uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2, ou 3 grupos  
 $-\text{CH}=\text{CH}-$  e um número de grupos  $-\text{CH}_2-$  suficiente para dar um número  
 20    total de átomos de carbono na cadeia na faixa de 4 a 32;
  - $-\text{CO}((\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{NHCO})-$ ;
  - $-(\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{CO-NH})_{1-4}-$ , onde  $\text{R}^5$  pode ser independentemente H,  
 $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$  ou  $-\text{CONH}_2$  e  $\text{R}^6$  pode ser independentemente H,  
 $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ ;
- 25    •  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{0-3}\text{-Ar-}(\text{CH}_2)_{0-3}-$  onde Ar pode ser arileno ou heteroarileno, que  
 podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que  
 consiste em  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ,  $-\text{CONR}^1\text{R}^2$  ou  $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , onde  $\text{R}^1$  e  $\text{R}^2$ ,  
 podem ser, independentemente um do outro, H,  $-\text{CH}_3$  ou  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ;
- $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;
- 30     $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$  ou  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;  
 $-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_y-$  onde y é 1-20;
- arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois gru-

pos selecionados do grupo que consiste em  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ,  $-\text{CONR}^1\text{R}^2$  ou  $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , onde  $\text{R}^1$  e  $\text{R}^2$  podem ser, independentemente um do outro, H,  $-\text{CH}_3$  ou  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ;

- N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>;  
 -SO<sub>3</sub>H  
 -OSO<sub>3</sub>H  
 -OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>  
 5 -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou  
 -tetrazol-5-ila ou  
 -O-W<sub>1</sub>,  
 onde W<sub>1</sub> é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em tetrazo-5-ila, -COOH,  
 10 -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, -CONR<sup>3</sup>R<sup>4</sup> ou -SO<sub>2</sub>NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, onde R<sup>3</sup> e R<sup>4</sup>, podem ser, independentemente um do outro, H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, ou -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>; com a condição que quando Z for -O-W<sub>1</sub> então Q<sub>1</sub> deve estar presente  
 e qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup> deste.
- 15 Em um aspecto da invenção, Q<sub>2</sub> do derivado de insulina é selecionado do grupo que consiste em
  - -COCH(CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)
 20 • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-  
 • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-  
 • -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-  
 • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-  
 • -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-;
- 25 • -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-; ou  
 • -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser, independentemente, H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou -CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser, independentemente, H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>.
- Em um aspecto da invenção, Q<sub>3</sub> é -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>- onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32 ou de 8 a 20 ou m é 12, 13, 14, 15 ou 16.
- Em um aspecto da invenção, Q<sub>1</sub>, Q<sub>4</sub>, Q<sub>5</sub>, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e X<sub>3</sub> são ligações e n é zero.

Em um aspecto da invenção,  $Q_3$  is  $-(CH_2)_m-$  onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32 ou de 8 a 20 ou m é 12, 13, 14, 15 ou 16,  $Q_1$ ,  $Q_4$ ,  $Q_5$ ,  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  são ligações, n é zero e Z é  $-COOH$ .

Em um aspecto da invenção, um de  $Q_3$ ,  $Q_4$ , ou  $Q_5$  é  
 5  $(CH_2CH_2O)_y-$ ;  $(CH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;  $(CH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;  
 $(CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$  ou  $(CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;  
 $-(CH_2OCH_2)_y-$  onde y é 1-20.

Em um aspecto da invenção,  $Q_3$  é  
 •  $-CO-((CR^5R^6)_{1-6}-NH-CO)-$ ;  
 10 •  $-(CO-(CR^5R^6)_{1-6}-CO-NH)_{1-4}-$ , onde  $R^5$  pode ser independentemente H, —CH<sub>3</sub>, —(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou —CONH<sub>2</sub> e  $R^6$  pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>;  
 •  $-CO-(CH_2)_{0-3}-Ar-(CH_2)_{0-3}-$  onde Ar pode ser aríleno ou heteroaríleno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que  
 15 consiste em -CH<sub>3</sub>, -(CH)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>, -CONR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> or  $-SO_2NR^1R^2$ , onde R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> podem ser, independentemente um do outro, H, -CH<sub>3</sub> ou -(CH)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>; ou  
 • uma ligação

$Q_4$  é

•  $-(CH_2)_m-$  onde m é um número inteiro de 4 a 22;  
 20 • uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2 ou 3 grupos —CH=CH— e um número de grupos —CH<sub>2</sub>- suficiente para dar um número total de átomos de carbono na cadeia na faixa de 4 a 22;  
 • aríleno ou heteroaríleno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em -CH<sub>3</sub>, -(CH)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>, -CONR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>  
 25 ou  $-SO_2NR^1R^2$ , onde R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup>, podem ser, independentemente um do outro, H, -CH<sub>3</sub> ou -(CH)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>; ou  
 • uma cadeia da fórmula  
 $-(CH_2)_s-Y_1-(Ar)_{v1}-Y_2-(CH_2)_w-Y_3-(Ar)_{v2}-Y_4-(CH_2)_t-Y_5-(Ar)_{v3}-Y_6-(CH_2)_z-$   
 em que Ar é definido como acima, Y<sub>1</sub> – Y<sub>6</sub> podem ser, independentemente  
 30 um do outro, O, S, S=O, SO<sub>2</sub> ou uma ligação; onde s, w, t e z independentemente um do outro são zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que quando a soma de s, w, t e z está na faixa de 4 a 30, e v<sub>1</sub>, v<sub>2</sub>, e v<sub>3</sub> podem

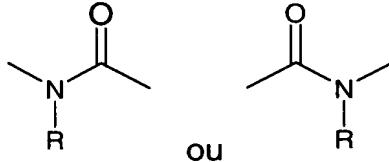
ser, independentemente um do outro, zero ou 1, com a condição que  $Y_1 - Y_6$  não se liguem um ao outro e que a estrutura  $-O-(CH_2)_1-O-$  não ocorra;

$X_1$  é

- O;

5     •  $-C=O$

- $NCOR^1$ , onde  $R^1$  pode ser H,  $-CH_3$  ou  $-(CH_2)_{1-6}-CH_3$ ; ou



onde R é hidrogênio,  $C_{1-3}$ -alquila,  $C_{2-3}$ -alquenila ou  $C_{2-3}$ -alquinila; com a condição que quando  $X_1$  for O, então  $X_1$  não se ligará diretamente a O em  $Q_4$ ;

10     $X_2$ ,  $X_3$  e  $Q_5$  são ligações;

Todos os valores de n são zero; e

Z é:

- COOH;

- CO–Asp;

15    –CO–Glu;

- CO–Gly;

- CO–Sar;

- CH(COOH)<sub>2</sub>;

- N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>;

20    –SO<sub>3</sub>H

- OSO<sub>3</sub>H

- OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>

- PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou

- tetrazol-5-ila ou

25    –O–W<sub>1</sub>,

onde W<sub>1</sub> é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em tetrazo-5-lila, –COOH, –SO<sub>3</sub>H,  $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ ,  $-CONR^3R^4$  ou  $-SO_2NR^3R^4$ , onde  $R^3$  e  $R^4$  podem ser, independentemente um do outro, H,  $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ ,

ou  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{-O-PO}_3\text{H}_2$ ;

e qualquer complexo de  $\text{Zn}^{2+}$  deste.

Em um aspecto da invenção, Z é  $-\text{COOH}$ .

Em um aspecto da invenção, a insulina parente do derivado de  
5 insulina é um análogo de insulina.

Em um aspecto da invenção, a insulina parente é selecionada do grupo que consiste em: insulina humana desB30, Insulina humana GlyA21, insulina humana GlyA21desB30, insulina humana GlyA21ArgB31ArgB32, insulina humana LysB3GluB29, insulina humana LysB28ProB29 e insulina  
10 humana ThrB29LysB30.

Em um aspecto da invenção, é proporcionada uma composição farmacêutica para o tratamento de diabetes em um paciente que necessite do mesmo, compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina de acordo com a invenção.

15 Em um aspecto da invenção, é proporcionado um método para produzir uma composição farmacêutica que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina de acordo com a invenção, em que até cerca de 10 átomos de zinco por 6 moléculas do derivado de insulina são adicionados à composição farmacêutica.

20 Em um aspecto da invenção, é proporcionado um método para o tratamento de diabetes em um paciente que necessite de tal tratamento, que compreende administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina de acordo com a invenção.

Em um aspecto da invenção, o derivado de insulina é adminis-  
25 trado via pulmonar.

Em um aspecto da invenção, é proporcionada uma mistura de um derivado de insulina de acordo com a invenção e um análogo de insulina de ação rápida selecionado do grupo que consiste em Insulina humana AspB28; insulina humana LysB28ProB29 e insulina humana LysB3GluB29.

30 Em um aspecto da invenção, o derivado de insulina é selecionado do grupo que consiste em:

$\text{N}^{\epsilon\text{B29}}\text{-}\omega\text{-carbóxi-pentadecanoil-}\gamma\text{-L-glutamilamida insulina humana desB30}$ ,

- $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-tetradecanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-tridecanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\beta$ -alanil insulina humana desB30,
- 5       $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\gamma$ -L-aspartilamida insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\epsilon$ -aminohexanoil insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\delta$ -aminopentanoíla insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ -10-(4-carboxifenóxi)-decanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana  
desB30,
- 10      $N^{\epsilon B29}$ -4-[11-(4-carboxifenil)undecanoilamino]butirila insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ -(3-(3-{4-[3-(7-carboxieptanoilamino)propóxi]butóxi}propilcarbamoil)-  
propionil- $\gamma$ -glutamilamida) insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-tridecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-undecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,
- 15      $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-tetradecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ -{4-[10-(4-carbóxi-fenóxi)-decanoilamino]-butiril} insulina desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ -{4-[(14-carbóxi-tetradecanoilamino)-metil]-benzoil} insulina desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ -[16-(4-carbóxi-fenóxi)-hexadecanoil] insulina desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ -{4-[(15-carboxipentadecanoilamino)benzoil]-insulina humana desB30 e
- 20      $N^{\epsilon B29}$ -{4-[(15-carbóxi-pentadecanoilamino)-metil]-benzoil}-insulina desB30.

#### Definições

“Análogo de insulina”, como usado aqui, tem o significado de um polipeptídeo que tem uma estrutura molecular, que formalmente pode ser derivada da estrutura de uma insulina que ocorre na natureza, por exemplo, aquela da insulina humana, por deleção e/ou troca de pelo menos um resíduo de aminoácido que ocorre na insulina natural e/ou por adição de pelo menos um resíduo de aminoácido. Os resíduos de aminoácidos adicionados e/ou trocados podem ser ou resíduos de aminoácidos codificáveis ou outros resíduos naturais ou resíduos de aminoácidos puramente sintéticos.

30       Nos aspectos da invenção, um máximo de 17 aminoácidos foi modificado. Nos aspectos da invenção um máximo de 15 aminoácidos foi modificado. Nos aspectos da invenção um máximo de 10 aminoácidos foi

modificado. Nos aspectos da invenção um máximo de 8 aminoácidos foi modificado. Nos aspectos da invenção um máximo de 7 aminoácidos foi modificado. Nos aspectos da invenção um máximo de 6 aminoácidos foi modificado. Nos aspectos da invenção um máximo de 5 aminoácidos foi modificado.

- 5 Nos aspectos da invenção um máximo de 4 aminoácidos foi modificado. Nos aspectos da invenção um máximo de 3 aminoácidos foi modificado. Nos aspectos da invenção um máximo de 2 aminoácidos foi modificado. Nos aspectos da invenção 1 aminoácido foi modificado.

Com “desB30 insulina”, “insulina humana desB30” significa uma insulina natural ou um análogo desta que carece do resíduo de aminoácido B30. Similarmente, “insulina DesB29, desB30” ou “insulina humana desB29, desB30” significa uma insulina natural ou análogo desta que carece dos resíduos de aminoácidos B29 e B30.

Com “B1”, “A1”, etc. significa que o resíduo de aminoácido na posição 1 na cadeia B da insulina (contando a partir da extremidade N-terminal) e o resíduo de aminoácido na posição 1 na cadeia A da insulina (contando a partir da extremidade N-terminal), respectivamente. O resíduo de aminoácidos em uma posição específica pode ser também denotado como, por exemplo, PheB1, que significa que o resíduo de aminoácido na posição B1 é um resíduo de fenilalanina.

Com “insulina”, conforme usado aqui, significa uma insulina humana, insulina de porco ou insulina bovina com pontes de dissulfeto entre CysA7 e CysB7 e entre CysA20 e Cys B19 e uma ponte de dissulfeto interna entre CysA6 e Cys A11.

25 Por “insulina parente” deve ser entendido uma insulina natural tal como insulina humana ou insulina de porco. Alternativamente, a insulina parente pode ser um análogo de insulina.

A expressão “não-carregada” significa que não estão presentes grupos ou grupos que assumiriam uma carga no intervalo de pH de 4 a 9.

30 Por exemplo, ácidos carboxílicos livres não estão presentes.

“Porção graxa disfuncionalizada” significa uma cadeia de carbono de 6 a 32 átomos de carbono compreendendo dois grupos funcionais se-

lecionados de carbóxi, amino ou hidroxila.

O termo “amida não-ligante” significa descrever uma função de amida presente em uma cadeia lateral ou grupo lateral de um resíduo presente no substituinte, de modo que a dita ligação de amida não é usada para conectar, juntos, os resíduos do substituinte. Deve ser entendido que um resíduo do substituinte, além de amida não-ligante, pode compreender ainda grupos amida, por exemplo, amidas que se ligam a outros resíduos do substituinte.

“Resíduo de amida de aminoácidos” significa que a alfa-carbóxi amida de um aminoácido, ou se o aminoácido contém um ácido carboxílico na cadeia lateral, “amida de aminoácido” significa amida tanto do grupo alfa-hidróxi como amida de grupo carbóxi da cadeia lateral, conforme especificado.

Quando um derivado de insulina de acordo com a invenção é estabelecido como sendo “solúvel em valores de pH fisiológico”, isto significa que o derivado de insulina pode ser usado para preparar composições de insulina que são completamente dissolvidas em valores de pH fisiológico. Tal solubilidade favorável pode ser tanto devida às propriedades inerentes do derivado de insulina sozinho como um resultado de uma interação desfavorável entre o derivado de insulina e um ou mais ingredientes contidos no veículo.

O termo “sem “blunting”, como usado aqui, significa que quando formulada em uma formulação, ambas a insulina de ação rápida e a insulina acilada têm perfil de ação que é idêntico ou substancialmente idêntico ao perfil de ação, quando a insulina de ação rápida e a insulina acilada são administradas em formulações separadas.

A expressão “insulina de alto peso molecular” ou “hmw” significa que o peso molecular de um complexo de insulina humana, de um análogo de insulina ou de um derivado de insulina está acima da albumina sérica humana, acima de um complexo dodecamérico de um análogo de insulina ou de um derivado de insulina ou mais que cerca de 72 kdáltons.

A expressão “insulina de peso molecular médio” ou “mmw” significa que o peso molecular de um complexo de insulina humana, de um análogo de insulina ou de um derivado de insulina é de cerca de um hexâmero

de insulina a cerca de um dodecâmero de insulina entre 24 e 80 kdáltons.

A expressão “insulina de baixo peso molecular” ou “imw” significa que o peso molecular de uma insulina humana, de um análogo de insulina ou de um derivado de insulina está abaixo de 24 kdáltons.

- 5 As seguintes abreviações foram usadas no relatório descritivo e exemplos:

CV	volume de coluna
HPLC	Cromatografia Líquida de Alto Desempenho
HSA	albumina sérica humana
CI	cromatografia líquida
MALDI	Dessorção/Ionização a Laser Assistida Com Matriz
MS	espectrometria de massa
Temp. amb.	Temperatura ambiente
SEC	cromatografia de exclusão de tamanho
SPA	Ensaio de Proximidade de Cintilação
Tris	tris(hidroximetil)aminometano
DO	densidade óptica = absorbância
monômero X2	AspB9 GluB27 insulina humana
DIEA:	N,N-diisopropiletilamina
DMF:	N,N-dimetilformamida
Sar:	Sarcosina (N-metil-glicina)
tBu:	t-butila
TSTU:	tetrafluorborato de O-(N-succinimidil)-1,1,3,3-tetrametilurônio
THF:	Tetraidrofurano
EtOAc:	Acetato de etila
DIPEA	Diisopropiletilamina TEA: trietil amina
TFA:	ácido trifluoracético
DCM:	Diclorometano
Temp amb.:	temperatura ambiente
PEG:	polietilenoglicol
GIR:	Taxa de infusão de glicose

Todas as referências, incluindo publicações, pedidos de patente, e patentes, citados aqui, são aqui incorporados a título de referência em sua totalidade, e na mesma extensão como se cada referência fosse individual e especificamente indicada para ser incorporada a título de referência, e fosse estabelecida em sua totalidade aqui (na extensão máxima permitida por lei).

5 Todos os cabeçalhos e subcabeçalhos são usados aqui a título de conveniência somente e não devem, de nenhum modo, ser interpretados como limitativos da invenção.

O uso de qualquer e todos os exemplos, ou linguagem de exemplo (por exemplo, "tal como") provido aqui, tem o objetivo de apenas mais 10 bem esclarecer a invenção e não significa impor uma limitação ao escopo da invenção, a menos que de outro modo reivindicado. Nenhuma linguagem no relatório descritivo deve ser interpretada como indicando qualquer elemento não-reivindicado como essencial para a prática da invenção.

15 A citação e a incorporação de documentos de patente, aqui, são feitas tão-somente por conveniência e não refletem qualquer aspecto de validade, patenteabilidade, e/ou execução de tais patentes.

Esta invenção inclui todas as modificações e equivalentes da matéria mencionada nas reivindicações apenas aqui, conforme permitido 20 pela lei aplicável.

#### Descrição da Invenção

A presente invenção é baseada no reconhecimento que tendo um substituinte em uma molécula de derivado de insulina, onde somente o grupo terminal está carregado, desempenha um importante papel na duração *in vivo* da ação das insulinas de ação prolongada e para a misturabilidade da insulina de ação prolongada com insulina de ação rápida sem "*blunting*".

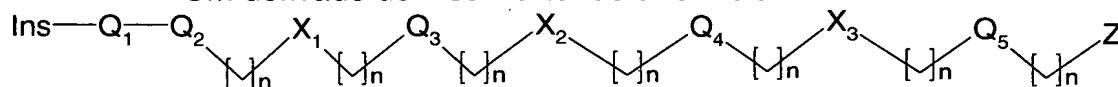
Vantajosamente, os derivados de insulina de acordo com a invenção são solúveis em valores de pH fisiológico, têm uma potência que é 30 comparável àquela da insulina humana, e são misturáveis com insulinas de ação rápida sem "*blunting*". Os perfis individuais de ação de insulinas basais mistas e bolo são retidos em formulações contendo concentrações de Zn(II)

de até ou menos que aproximadamente 3 Zn(II) por hexâmero de insulina que limita o risco de precipitações na formulação, em comparação com formulações contendo mais que 3 Zn(II) por hexâmero de insulina.

A invenção está sumarizada nos seguintes parágrafos:

5

Um derivado de insulina tendo a fórmula



em que Ins é uma porção de insulina parente e  $Q_1—Q_2—[CH_2]_n—X_1—[CH_2]_n—Q_3—[CH_2]_n—X_2—[CH_2]_n—Q_4—[CH_2]_n—X_3—[CH_2]_n—Q_5—[CH_2]_n—Z$  é um substituinte e onde Ins é ligado ao substituinte através de uma ligação de amida entre o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou um grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins e um grupo CO em  $Q_1$  ou  $Q_2$  do substituinte;

cada n é independentemente 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6;

$Q_1$  é:

- uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada,

10 cujo resíduo forma, com seu grupo ácido carboxílico, um grupo amida junto com o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou junto com o grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -

15 aminoácido ou de aminoácido conforme especificados acima ligada juntamente através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação amida – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

20 • uma ligação

$Q_2$  é:

- $-COCH(CONH_2)-$
- $-COCH_2N(CH_2CONH_2)-$

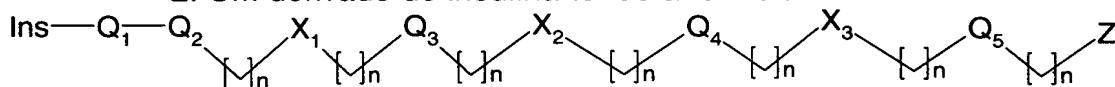
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- 5     • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-
  - -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-;
  - -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou —CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>,
- 10   -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>; ou
- uma ligação com a condição que
  - pelo menos um de Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> não seja uma ligação, e
  - que Q<sub>2</sub> não seja -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-NH- quando n for 0 ou 1, X<sub>1</sub> for uma
- 15   ligação e Q<sub>3</sub> for (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>- , (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>- ou (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O) - e
- que se uma amina em Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> formar uma ligação com o resto do substituinte, a amina deve ser ligada ao resto do substituinte através de um grupo carbonila;
- 20   Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>, e Q<sub>5</sub> podem ser, independentemente um do outro,
- -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>- onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32;
  - uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2, ou 3 grupos -CH=CH- e um número de grupos -CH<sub>2</sub>- suficiente para dar um número total de átomos de carbono na cadeia na faixa de 4 to 32;
- 25   • -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)-;
- -(CO-(CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou —CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>;
  - -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-Ar-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>- onde Ar pode ser arileno ou heteroarileno, que
- 30   podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em -CH<sub>3</sub>, -(CH)<sub>1-6</sub>-CH<sub>3</sub>, -CONR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> ou -SO<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, onde R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup>, podem ser, independentemente um do outro, H, -CH<sub>3</sub> ou -(CH)<sub>1-6</sub>-CH<sub>3</sub>;

- $(CH_2CH_2O)_y-$ ;  $(CH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;  $(CH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;
  - $(CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$  ou  $(CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;
  - $-(CH_2OCH_2)_y-$  onde  $y$  é 1-20;
  - arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em  $-CH_3$ ,  $-(CH)_{1-6}CH_3$ ,  $-CONR^1R^2$  ou  $-SO_2NR^1R^2$ , onde  $R^1$  e  $R^2$  podem ser, independentemente um do outro, H,  $-CH_3$  ou  $-(CH)_{1-6}CH_3$ ;
  - uma cadeia da fórmula  $-(CH_2)_s-Y_1-(Ar)_{v1}-Y_2-(CH_2)_w-Y_3-(Ar)_{v2}-Y_4-(CH_2)_t-Y_5-(Ar)_{v3}-Y_6-(CH_2)_z-$  em que Ar é definido como acima,  $Y_1$  –  $Y_6$  podem ser, independentemente um do outro, O, S,  $S=O$ ,  $SO_2$  ou uma ligação; onde  $s$ ,  $w$ ,  $t$  e  $z$ , independentemente um do outro, são zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de  $s$ ,  $w$ ,  $t$  e  $z$  está na faixa de 4 a 30, e  $v_1$ ,  $v_2$ , e  $v_3$  podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1 com a condição que  $Y_1$  –  $Y_6$  não se liguem um ao outro e que a estrutura  $-O-(CH_2)_1-O-$  não ocorra; ou
  - uma ligação; com a condição de que pelo menos um de  $Q_3$  –  $Q_5$  não seja uma ligação;  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  são independentemente um do outro,
  - O;
  - $-C=O$
  - uma ligação;
  - $NCOR^1$ , onde  $R^1$  pode ser H,  $-CH_3$  ou  $-(CH)_{1-6}CH_3$ ; ou
- ou
- onde R é hidrogênio,  $C_{1-3}$ -alquila,  $C_{2-3}$ -alquenila ou  $C_{2-3}$ -alquinila; com a condição que
- 25 -  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  não possam se ligar a Z e
- quando  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  forem O, então  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  não se ligam diretamente a O em  $Q_3$ ,  $Q_4$ , e  $Q_5$
  - e
  - Z é

- COOH;
- CO-Asp;
- CO-Glu;
- CO-Gly;
- 5 -CO-Sar;
- CH(COOH)<sub>2</sub>;
- N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>;
- SO<sub>3</sub>H
- OSO<sub>3</sub>H
- 10 -OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>
- PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou
- tetrazol-5-ila ou
- O-W<sub>1</sub>,

onde W<sub>1</sub> é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou  
 15 dois grupos selecionados do grupo que consiste em tetrazo-5-ila, -COOH,  
 -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, -CONR<sup>3</sup>R<sup>4</sup> ou -SO<sub>2</sub>NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>,  
 onde R<sup>3</sup> e R<sup>4</sup> podem ser, independentemente um do outro, H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-  
 SO<sub>3</sub>H, ou -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>; com a condição que quando Z for -O-W<sub>1</sub>  
 então Q<sub>1</sub> deve estar presente;  
 20 e qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup>.

2. Um derivado de insulina tendo a fórmula



em que Ins é uma porção de insulina parente e Q<sub>1</sub>-Q<sub>2</sub>-[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>-X<sub>1</sub>-[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>-Q<sub>3</sub>-  
 [CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>-X<sub>2</sub>-[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>-Q<sub>4</sub>-[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>-X<sub>3</sub>-[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>-Q<sub>5</sub>-[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>-Z é um substituinte e  
 onde Ins é ligado ao substituinte através de uma ligação de amida entre o  
 25 grupo α-amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou  
 um grupo ε-amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins e um  
 grupo CO em Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> do substituinte;  
 cada n é independentemente 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6;

Q<sub>1</sub> é:

- 30 • uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na

cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, cujo resíduo forma, com seu grupo ácido carboxílico, um grupo amida junto com o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou junto com o grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A

5 ou B de Ins, ou

- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ou de aminoácido conforme especificados acima ligados juntamente através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação amida – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da ca-

10 deia B de Ins ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

- uma ligação

$Q_2$  é:

- -COCH(CONH<sub>2</sub>)-

15 • -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)

- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

20 • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

- -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-

- -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-;

- -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H, —CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou -CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>,

25 -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>; ou

- uma ligação

com a condição que

- pelo menos um de Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> não seja uma ligação, e

- que Q<sub>2</sub> não seja -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-NH- quando n for 0 ou 1, X<sub>1</sub> for uma

30 ligação e Q<sub>3</sub> for (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>-, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>- ou (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O) - e

- que se uma amina em Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> formar uma ligação com o resto do substi-

tuinte, a amina deve ser ligada ao resto do substituinte através de um grupo carbonila;

$Q_3$ ,  $Q_4$ , e  $Q_5$  podem ser, independentemente um do outro,

- $-(CH_2)_m-$  onde  $m$  é um número inteiro na faixa de 6 a 32;

5     • uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2, ou 3 grupos  $-CH=CH-$  e um número de grupos  $-CH_2-$  suficiente para dar um número total de átomos de carbono na cadeia na faixa de 4 a 32;

- $-CO-((CR^5R^6)_{1-6}-NH-CO)-$ ;

10    •  $-(CO-(CR^5R^6)_{1-6}-CO-NH)_{1-4}-$ , onde  $R^5$  pode ser independentemente H,

10     $-CH_3$ ,  $-(CH_2)_{1-6}CH_3$  ou  $-CONH_2$  e  $R^6$  pode ser independentemente H,  $-CH_3$ ,  $-(CH_2)_{1-6}CH_3$ ;

15    •  $-CO-(CH_2)_{0-3}-Ar-(CH_2)_{0-3}-$  onde Ar pode ser arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em  $-CH_3$ ,  $-(CH)_{1-6}CH_3$ ,  $-CONR^1R^2$  ou  $-SO_2NR^1R^2$ , onde  $R^1$  e  $R^2$

15    podem ser, independentemente um do outro, H,  $-CH_3$  ou  $-(CH)_{1-6}CH_3$ ;

- $(CH_2CH_2O)_y-$ ;        $(CH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;        $(CH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;

20     $(CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$  ou  $(CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;

20     $-(CH_2OCH_2)_y-$  onde  $y$  é 1-20;

20    • arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois gru-

20    pos selecionados do grupo que consiste em  $-CH_3$ ,  $-(CH)_{1-6}CH_3$ ,  $-CONR^1R^2$  ou  $-SO_2NR^1R^2$ , onde  $R^1$  e  $R^2$  podem ser, independentemente um do outro, H,  $-CH_3$  ou  $-(CH)_{1-6}CH_3$ ; ou

- uma cadeia da fórmula

25     $-(CH_2)_s-Y_1-(Ar)_{v1}-Y_2-(CH_2)_w-Y_3-(Ar)_{v2}-Y_4-(CH_2)_t-Y_5-(Ar)_{v3}-Y_6-(CH_2)_z-$

25    em que Ar é definido como acima,  $Y_1$  –  $Y_6$  podem ser, independentemente um do outro, O, S,  $S=O$ ,  $SO_2$  ou uma ligação; onde s, w, t e z, independentemente um do outro, são zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de s, w, t e z está na faixa de 4 a 30, e  $v_1$ ,  $v_2$ , e  $v_3$  podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1 com a condição que  $Y_1$  –  $Y_6$  não se

30    liguem um ao outro e que a estrutura  $-O-(CH_2)_1-O-$  não ocorra; ou

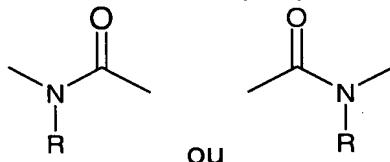
- uma ligação;

com a condição que

- pelo menos um de  $Q_3 - Q_5$  não seja uma ligação;
- $Q_2$  não seja  $-\text{CO}-((\text{CH}_2)_{1-6}\text{-NH-}\text{CO})_{1-4}-$  quando um de  $Q_3 - Q_5$  for arileno ou heteroarileno ou uma cadeia da fórmula  $-(\text{CH}_2)_s\text{-}Y_1\text{-}(\text{C}_6\text{H}_4)_{v1}\text{-}Y_2\text{-}(\text{CH}_2)_w\text{-}Y_3\text{-}(\text{C}_6\text{H}_4)_{v2}\text{-}Y_4\text{-}(\text{CH}_2)_l\text{-}Y_5\text{-}(\text{C}_6\text{H}_4)_{v3}\text{-}Y_6\text{-}(\text{CH}_2)_z-$ ;

5  $X_1, X_2$  e  $X_3$  são independentemente um do outro

- O;
- $-\text{C=O}$
- uma ligação;
- $\text{NCOR}^1$ , onde  $R^1$  pode ser H,  $-\text{CH}_3$  ou  $-(\text{CH})_{1-6}\text{-CH}_3$ ; ou



10 onde R é hidrogênio,  $\text{C}_{1-3}$ -alquila,  $\text{C}_{2-3}$ -alquenila ou  $\text{C}_{2-3}$ -alquinila;

com a condição que

- $X_1, X_2$  e  $X_3$  não possam se ligar a Z e
- quando  $X_1, X_2$  e  $X_3$  forem O, então  $X_1, X_2$  e  $X_3$  não se ligam diretamente a O em  $Q_3, Q_4$ , e  $Q_5$

15 e

Z é

- $-\text{COOH};$
- $-\text{CO-Asp};$
- $-\text{CO-Glu};$

20  $-\text{CO-Gly};$

$-\text{CO-Sar};$

$-\text{CH}(\text{COOH})_2;$

$-\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_2;$

$-\text{SO}_3\text{H}$

25  $-\text{OSO}_3\text{H}$

$-\text{OPO}_3\text{H}_2$

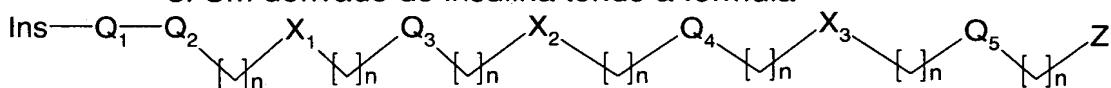
$-\text{PO}_3\text{H}_2$  ou

$-\text{tetrazol-5-ila}$  ou

$-\text{O-W}_1,$

onde  $W_1$  é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em tetrazo-5-lila, -COOH,  $-SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ ,  $-CONR^3R^4$  ou  $-SO_2NR^3R^4$ , onde  $R^3$  e  $R^4$ , podem ser, independentemente um do outro, H,  $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ , 5 ou  $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ ; com a condição que quando Z for  $-O-W_1$  então  $Q_1$  deve estar presente; e qualquer complexo de  $Zn^{2+}$  deste.

3. Um derivado de insulina tendo a fórmula



em que Ins é uma porção de insulina parente e  $Q_1-Q_2-[CH_2]_n-X_1-[CH_2]_n-10 Q_3-[CH_2]_n-X_2-[CH_2]_n-Q_4-[CH_2]_n-X_3-[CH_2]_n-Q_5-CH_2]-Z$  é um substituinte e onde Ins é ligado ao substituinte através de uma ligação de amida entre o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou um grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins e um grupo CO em  $Q_1$  ou  $Q_2$  do substituinte;

15 cada n é independentemente 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6;

$Q_1$  é:

- uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, cujo resíduo forma, com seu grupo ácido carboxílico, um grupo amida junto 20 com o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou junto com o grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ou de aminoácido conforme especificados acima ligados juntamente através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação amida – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

25 • uma ligação

30  $Q_2$  é:

- -COCH(CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- 5     • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-
  - -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-;
- 10    • -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou —CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, —CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>; ou
- uma ligação
- com a condição que
- 15    - pelo menos um de Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> não seja uma ligação, e
- que Q<sub>2</sub> não seja -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-NH- quando n for 0 ou 1, X<sub>1</sub> for uma ligação e Q<sub>3</sub> for (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>-, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>- ou (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)- e
  - que se uma amina em Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> formar uma ligação com o resto do substituinte, a amina deve ser ligada ao resto do substituinte através de um grupo carbonila;
- Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>, e Q<sub>5</sub> podem ser, independentemente um do outro,
- -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>- onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32;
  - uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2, ou 3 grupos
- 25    -CH=CH- e um número de grupos -CH<sub>2</sub>- suficiente para dar um número total de átomos de carbono na cadeia na faixa de 4 to 32;
- -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)-;
  - -(CO-(CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou —CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, —CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>;
- 30    • -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-Ar-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>- onde Ar pode ser arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que

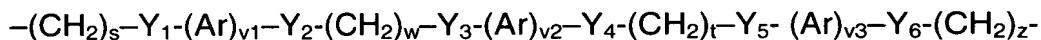
consiste em  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ,  $-\text{CONR}^1\text{R}^2$  ou  $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , onde  $\text{R}^1$  e  $\text{R}^2$ , podem ser, independentemente um do outro, H,  $-\text{CH}_3$  ou  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ;

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;  
 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$  ou  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;

5  $-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_y-$  onde  $y$  é 1-20;

- arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ,  $-\text{CONR}^1\text{R}^2$  ou  $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , onde  $\text{R}^1$  e  $\text{R}^2$  podem ser, independentemente um do outro, H,  $-\text{CH}_3$  ou  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ; ou

10 • uma cadeia da fórmula



em que Ar é definido como acima,  $\text{Y}_1$  –  $\text{Y}_6$  podem ser, independentemente um do outro, O, S, S=O, SO<sub>2</sub> ou uma ligação; onde s, w, t e z, independentemente um do outro, são zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que

15 a soma de s, w, t e z está na faixa de 4 a 30, e  $v_1$ ,  $v_2$ , e  $v_3$  podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1 com a condição que  $\text{Y}_1$  –  $\text{Y}_6$  não se liguem um ao outro e que a estrutura  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_1-\text{O}-$  não ocorra; ou

- uma ligação;

com a condição que

20 - pelo menos um de  $\text{Q}_3$  –  $\text{Q}_5$  não seja uma ligação; e

- que  $\text{Q}_1$  ou  $\text{Q}_2$  compreenda uma amida de não ligação quando um de  $\text{Q}_3$  –  $\text{Q}_5$  for arileno, heteroarileno ou uma cadeia da fórmula  $-(\text{CH}_2)_s-\text{Y}_1-(\text{C}_6\text{H}_4)_{v1}-\text{Y}_2-(\text{CH}_2)_w-\text{Y}_3-(\text{C}_6\text{H}_4)_{v2}-\text{Y}_4-(\text{CH}_2)_t-\text{Y}_5-(\text{C}_6\text{H}_4)_{v3}-\text{Y}_6-(\text{CH}_2)_z-$ ;

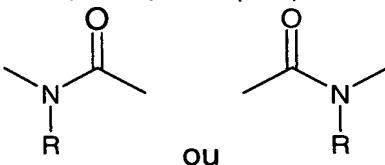
$\text{X}_1$ ,  $\text{X}_2$  e  $\text{X}_3$  são independentemente um do outro

25 • O;

- $-\text{C}=\text{O}$

- uma ligação;

- NCOR<sup>1</sup>, onde R<sup>1</sup> pode ser H,  $-\text{CH}_3$  ou  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ; ou



onde R é hidrogênio, C<sub>1-3</sub>-alquila, C<sub>2-3</sub>-alquenila ou C<sub>2-3</sub>-alquinila;

com a condição que

- $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  não possam se ligar a  $Z$  e
- quando  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  forem O, então  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  não se ligam diretamente a O em  $Q_3$ ,  $Q_4$ , e  $Q_5$

5 e

$Z$  é

-COOH;

-CO-Asp;

-CO-Glu;

10 -CO-Gly;

-CO-Sar;

-CH(COOH)<sub>2</sub>;

-N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>;

-SO<sub>3</sub>H

15 -OSO<sub>3</sub>H

-OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>

-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou

-tetrazol-5-ila ou

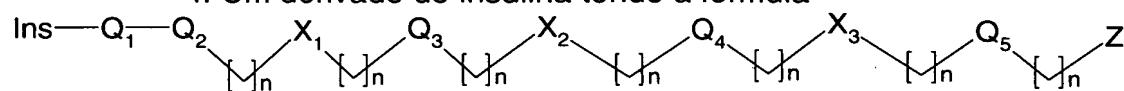
-O-W<sub>1</sub>,

20 onde  $W_1$  é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em tetrazo-5-lila, -COOH, -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, -CONR<sup>3</sup>R<sup>4</sup> ou -SO<sub>2</sub>NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, onde R<sup>3</sup> e R<sup>4</sup>, podem ser, independentemente um do outro, H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, ou -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>; com a condição que quando  $Z$  for -O-W<sub>1</sub> então Q<sub>1</sub>

25 deve estar presente;

e qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup> deste.

4. Um derivado de insulina tendo a fórmula



em que Ins é uma porção de insulina parente e

$Q_1-Q_2-[CH_2]_n-X_1-[CH_2]_n-Q_3-[CH_2]_n-X_2-[CH_2]_n-Q_4-[CH_2]_n$

30  $-X_3-[CH_2]_n-Q_5-[CH_2]_n-Z$  é um substituinte e onde Ins é ligado ao subs-

tituinte através de uma ligação de amida entre o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou um grupo  $\varepsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins e um grupo CO em Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> do substituinte;

5 cada n é independentemente 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6;

Q<sub>1</sub> é:

- uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, cujo resíduo forma, com seu grupo ácido carboxílico, um grupo amida junto

10 com o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou junto com o grupo  $\varepsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ou de aminoácido conforme especificados acima ligados juntas

15 mente através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação amida – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou ao grupo  $\varepsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

- uma ligação

20 Q<sub>2</sub> é:

- -COCH(CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

25 • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

- -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-

- -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-;

30 • -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou -CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>; ou

- uma ligação com a condição que
    - pelo menos um de Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> não seja uma ligação, e
    - que Q<sub>2</sub> não seja  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-$  quando n for 0 ou 1, X<sub>1</sub> for uma ligação e Q<sub>3</sub> for  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$ ,  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-$  ou  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})-$  e
    - que se uma amina em Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> formar uma ligação com o resto do substituinte, a amina deve ser ligada ao resto do substituinte através de um grupo carbonila;
- 5      10     Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>, e Q<sub>5</sub> podem ser, independentemente um do outro,
- $-(\text{CH}_2)_m-$  onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32;
  - uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2, ou 3 grupos  $-\text{CH}=\text{CH}-$  e um número de grupos  $-\text{CH}_2-$  suficiente para dar um número total de átomos de carbono na cadeia na faixa de 4 to 32;
- 15     20     25     30     •  $-\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{NH}-\text{CO}-$ ;
- $-(\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{CO}-\text{NH})_{1-4}-$ , onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$  ou  $-\text{CONH}_2$  e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ ;
  - $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{0-3}\text{-Ar-}(\text{CH}_2)_{0-3}-$  onde Ar pode ser arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em -CH<sub>3</sub>, -(CH)<sub>1-6</sub>-CH<sub>3</sub>, -CONR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> ou  $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , onde R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup>, podem ser, independentemente um do outro, H, -CH<sub>3</sub> ou  $-(\text{CH})_{1-6}\text{-CH}_3$ ;
  - $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;     $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;     $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;  
 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$  ou  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;
  - $-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_y-$  onde y é 1-20;
  - arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em -CH<sub>3</sub>, -(CH)<sub>1-6</sub>-CH<sub>3</sub>, -CONR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> ou  $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , onde R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> podem ser, independentemente um do outro, H, -CH<sub>3</sub> ou  $-(\text{CH})_{1-6}\text{-CH}_3$ ; ou
  - uma cadeia da fórmula  
 $-(\text{CH}_2)_s-\text{Y}_1-(\text{Ar})_{v1}-\text{Y}_2-(\text{CH}_2)_w-\text{Y}_3-(\text{Ar})_{v2}-\text{Y}_4-(\text{CH}_2)_t-\text{Y}_5-(\text{Ar})_{v3}-\text{Y}_6-(\text{CH}_2)_z-$   
 em que Ar é definido como acima, Y<sub>1</sub> – Y<sub>6</sub> podem ser, independentemente

- um do outro, O, S, S=O, SO<sub>2</sub> ou uma ligação; onde s, w, t e z, independentemente um do outro, são zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de s, w, t e z está na faixa de 4 a 30, e v<sub>1</sub>, v<sub>2</sub>, e v<sub>3</sub> podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1 com a condição que Y<sub>1</sub> – Y<sub>6</sub> não se liguem um ao outro e que a estrutura –O–(CH<sub>2</sub>)<sub>1</sub>–O– não ocorra; ou
- 5     • uma ligação;
- com a condição que
- pelo menos um de Q<sub>3</sub> – Q<sub>5</sub> não seja uma ligação;
- X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e X<sub>3</sub> são independentemente um do outro
- 10    • O;
- –C=O
- uma ligação;
- NCOR<sup>1</sup>, onde R<sup>1</sup> pode ser H, -CH<sub>3</sub> ou -(CH)<sub>1-6</sub>-CH<sub>3</sub>; ou
- ou
- onde R é hidrogênio, C<sub>1-3</sub>-alquila, C<sub>2-3</sub>-alquenila ou C<sub>2-3</sub>-alquinila;
- 15     com a condição que
- X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e X<sub>3</sub> não possam se ligar a Z e
- quando X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e X<sub>3</sub> forem O, então X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e X<sub>3</sub> não se ligam diretamente a O em Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>, e Q<sub>5</sub>
- e
- 20     Z é:
- COOH;
- CO–Asp;
- CO–Glu;
- CO–Gly;
- 25     –CO–Sar;
- CH(COOH)<sub>2</sub>;
- N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>;
- SO<sub>3</sub>H
- OSO<sub>3</sub>H

–OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>

–PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou

–tetrazol-5-ila ou

–O-W<sub>1</sub>,

- 5 onde W<sub>1</sub> é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em tetrazo-5-lila, -COOH, –SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, –CONR<sup>3</sup>R<sup>4</sup> ou –SO<sub>2</sub>NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, onde R<sup>3</sup> e R<sup>4</sup>, podem ser, independentemente um do outro, H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, ou -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>; com a condição que quando Z for –O-W<sub>1</sub> então Q<sub>1</sub>
- 10 deve estar presente;
- e qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup> deste.

5. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1 a 4, em que Q<sub>1</sub> é uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral carregada, o resíduo de amida de aminoácido ou resíduo de aminoácido tendo de 2 a 10 átomos de carbono.

- 15 6. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 5, em que Q<sub>1</sub> é selecionado do grupo que consiste em β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida, γ-L-Glu-amida e γ-D-Glu-amida.

- 20 7. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1 a 4, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de α-aminoácido ou resíduos de aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada.

- 25 8. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1 a 4 ou 7, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de dois resíduos de amida de aminoácidos selecionados do grupo que consiste em β-L-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida- γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amide-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-D-

Asp-amida.

9. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 8, em que  $Q_1$  é uma ligação.

10. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 3 ou 5 a 8, em que  $Q_2$  é  $-CO-((CR^5R^6)_{1-4}-NH-CO)_{1-4}-$ .

11. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 10, onde  $Q_2$  é selecionado do grupo que consiste em  $-CO-((CH_2)_2-NH-CO)_{1-}$ ,  $-CO-((CH_2)_3-NH-CO)_{1-}$  e  $-CO-((CH_2)_4-NH-CO)_{1-}$ ,  $-CO-((CH_2)_5-NH-CO)_{1-}$ .

12. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1 a 3 ou 10 a 11, em que  $Q_1$  é uma ligação.

13. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1 a 3, em que

$Q_1$  é:

- uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, cujo resíduo forma, com seu grupo ácido carboxílico, um grupo amida junto com o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou junto com o grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

20     

- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ou de aminoácido conforme especificados acima ligados juntamente através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação amida – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

- uma ligação

$Q_2$  é:

- $-COCH(CONH_2)-$
- $-COCH_2N(CH_2CONH_2)-$

30     

- $-COCH_2N(CH_2CONH_2)COCH_2N(CH_2CONH_2)-$
- $-COCH_2CH_2N(CH_2CH_2CONH_2)-$
- $-COCH_2CH_2N(CH_2CH_2CONH_2)-COCH_2CH_2N(CH_2CH_2CONH_2)-$

- $\text{-COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)\text{-}$

- $\text{-COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)\text{-}$

- $\text{-COCH}_2\text{OCH}_2\text{CONH-}$

- $\text{-CO-}((\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{-NH-CO})_{1-4}-$ ;

- 5     •  $\text{-CO-}((\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{-CO-NH})_{1-4}-$ , onde  $\text{R}^5$  pode ser H,  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$  ou  $-\text{CONH}_2$  e  $\text{R}^6$  pode ser H,  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ ; ou

- uma ligação

com a condição de que pelo menos um de  $\text{Q}_1$  ou  $\text{Q}_2$  não seja uma ligação, e que se uma amina em  $\text{Q}_1$  ou  $\text{Q}_2$  formar uma ligação com o resto do substitu-

- 10    inte, a amina deve ser ligada ao resto do substituinte através de um grupo carbonila;

$\text{Q}_3$  é

- $-(\text{CH}_2)_m-$  onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32;

- uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2, ou 3 grupos

- 15     $-\text{CH=CH-}$  e um número de grupos  $-\text{CH}_2-$  suficiente para dar um número total de átomos de carbono na cadeia na faixa de 4 to 32; ou
- uma cadeia de hidrocarboneto divalente da fórmula  $-(\text{CH}_2)_s\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_2)_w-$  em que v e w são números inteiros ou um deles é zero de modo que a soma de s e w fique na faixa de 6 a 30;

- 20     $\text{X}_1$  pode ser  $-\text{C=O}$  ou uma ligação;

$\text{Q}_4$ ,  $\text{Q}_5$ ,  $\text{X}_2$  e  $\text{X}_3$  são ligações;

todos os valores de n são zero; e

$\text{Z}$  é:

$-\text{COOH};$

- 25     $-\text{CO-Asp};$

$-\text{CO-Glu};$

$-\text{CO-Gly};$

$-\text{CO-Sar};$

$-\text{CH}(\text{COOH})_2;$

- 30     $-\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_2;$

$-\text{SO}_3\text{H}$

$-\text{OSO}_3\text{H}$

–OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>  
 –PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou  
 tetrazol-5-ila  
 e qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup> deste.

- 5            14. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 13, em que Q<sub>1</sub> é uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, o resíduo de amida de aminoácido ou resíduo de aminoácido tendo de 2 a 10 átomos de carbono.
- 10          15. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 13 e 14, em que Q<sub>1</sub> é selecionado do grupo que consiste em β-D-Asp-amida β-L-Asp-amida, γ-L-Glu-amida e γ-D-Glu-amida.
- 15          16. Derivado de insulina, de acordo com parágrafo 13, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia compostos de dois, três ou quatro resíduos de amida de aminoácido e/ou resíduos de aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada.
- 20          17. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 13 ou 16, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de dois resíduos de amida de aminoácido selecionados do grupo que consiste em β-L-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida- αγ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-D-Asp-amida.
- 25          18. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 13 a 17, em que Q<sub>2</sub> é uma ligação.
- 30          19. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 13 a 17, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste em
- -COCH(CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- 5     • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-;
  - -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-; ou  
-CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H,  
-CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou -CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, —CH<sub>3</sub>,
- 10    —(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>.

20. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 19, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo consiste em -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-, -CO-((CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NH-CO)<sub>1</sub>-, -CO-((CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-CO)<sub>1</sub>-, -CO-((CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-NH-CO)<sub>1</sub>- e -CO-((CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-NH-CO)<sub>1</sub>-.

15       21. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 13 ou 19 a 21, em que Q<sub>1</sub> é uma ligação.

22. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 13 a 21, em que X<sub>1</sub> é -C=O.

23. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 13 a 22, onde Q<sub>3</sub> é -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-, onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32 ou de 8 a 20.

24. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 23, onde m é 12, 13, 14, 15, ou 16.

25. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 13 a 22, em que Q<sub>3</sub> é uma cadeia de hidrocarboneto divalente que compreende 1, 2 ou 3 grupos -CH=CH- e um número de grupos -CH<sub>2</sub>- suficiente para dar um número total de átomos de carbonos na cadeia na faixa de 4 a 32.

26. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 13 a 25, em que Z é -COOH.

30       27. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 13 a 25, em que Z é -CH(COOH)<sub>2</sub>.

28. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos pará-

grafos 13 a 25, em que Z é  $-N(CH_2COOH)_2$ .

29. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 13 a 25, em que Z é  $-SO_3H$ .

30. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 13 a 25, em que Z é  $-PO_3H$ .

31. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 13 a 30, em que o derivado de insulina é derivado do grupo que consiste em

$N^{eB29}-\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana desB30,

10  $N^{eB29}-\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,

$N^{eB29}-\omega$ -carbóxi-tetradecanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana desB30,

$N^{eB29}-\omega$ -carbóxi-tridecanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana desB30,

$N^{eB29}-\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\beta$ -alanila insulina humana desB30,

$N^{eB29}-\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\gamma$ -L-aspartilamida insulina humana desB30,

15  $N^{eB29}-\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\epsilon$ -aminoexanoíla insulina humana desB30,

$N^{eB29}-\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\delta$ -aminopentanoíla insulina humana desB30,

$N^{eB29}-\omega$ -carbóxi-tridecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,

$N^{eB29}-\omega$ -carbóxi-undecanoil- $\delta$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,

$N^{eB29}-\omega$ -carbóxi-tetradecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30.

20 32. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 2 ou 4, em que

Q<sub>3</sub> é:

•  $-CO-((CR^5R^6)_{1-6}-NH-CO)-$ ;

•  $-(CO-(CR^5R^6)_{1-6}-CO-NH)_{1-4}-$ , onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H,

25 -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou -CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>;

• -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-Ar-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3-</sub> onde Ar pode ser arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em -CH<sub>3</sub>, -(CH)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>, -CONR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> ou  $-SO_2NR^1R^2$ , onde R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup>,

30 podem ser, independentemente um do outro, H, -CH<sub>3</sub> ou -(CH)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>; ou

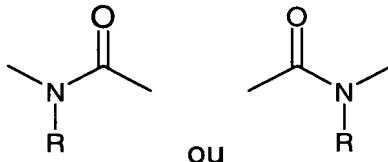
• uma ligação

Q<sub>4</sub> é:

- $-(CH_2)_m-$  onde m é um número inteiro de 4 a 22;
  - uma cadeia de hidrocarboneto divalente que compreende 1, 2 ou 3 grupos  $-CH=CH-$  e um número total de grupos  $-CH_2-$  suficiente para dar um número total de átomos de carbono na faixa de 4 a 22;
- 5     • arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em  $-CH_3$ ,  $-(CH)_{1-6}CH_3$ ,  $-CONR^1R^2$  ou  $-SO_2NR^1R^2$ , onde  $R^1$  e  $R^2$ , podem ser, independentemente um do outro, H,  $-CH_3$  ou  $-(CH)_{1-6}CH_3$ ; ou
- uma cadeia da fórmula
- 10     $-(CH_2)_s-Y_1-(Ar)_v-Y_2-(CH_2)_w-Y_3-(Ar)_{v2}-Y_4-(CH_2)_t-Y_5-(Ar)_{v3}-Y_6-(CH_2)_z-$   
em que Ar é definido como acima,  $Y_1 - Y_6$  podem ser, independentemente um do outro, O, S, S=O, SO<sub>2</sub> ou uma ligação; onde s, w, t e z são independentemente um do outro zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de s, w, t e z está na faixa de 4 a 30, e  $v_1$ ,  $v_2$ , e  $v_3$  podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1 com a condição que  $Y_1 - Y_6$  não se liguem um ao outro e que a estrutura  $-O-(CH_2)_1-O-$  não ocorra;
- 15     $X_1$  é:

- O;
- $-C=O$

- 20    • NCOR<sup>1</sup>, onde R<sup>1</sup> pode ser H,  $-CH_3$  ou  $-(CH)_{1-6}CH_3$ ; ou



onde R é hidrogênio, C<sub>1-3</sub>-alquila, C<sub>2-3</sub>-alquenila ou C<sub>2-3</sub>-alquinila; com a condição que quando X<sub>1</sub> for O, então X<sub>1</sub> não se liga diretamente a O em Q<sub>4</sub>;

X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> e Q<sub>5</sub> são ligações;

- 25    todos os valores de n são zero; e

Z é

- COOH;
- CO–Asp;
- CO–Glu;

- CO-Gly;
  - CO-Sar;
  - CH(COOH)<sub>2</sub>;
  - N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>;
  - 5 -SO<sub>3</sub>H
  - OSO<sub>3</sub>H
  - OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>
  - PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou
  - tetrazol-5-ila ou
  - 10 -O-W<sub>1</sub>,
- onde W<sub>1</sub> é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em tetrazo-5-lila, -COOH, -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, -CONR<sup>3</sup>R<sup>4</sup> ou -SO<sub>2</sub>NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, onde R<sup>3</sup> e R<sup>4</sup>, podem ser, independentemente um do outro, H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, 15 ou -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>;
- e qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup> deste.

33. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 2, 4 ou 32, em que Q<sub>1</sub> é uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, o resíduo de amida de aminoácido ou resíduo de aminoácido tendo de 2 a 10 átomos de carbono.

34. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 2, 4 ou 33, em que Q<sub>1</sub> é selecionado do grupo que consiste em β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida, γ-L-Glu-amida e γ-D-Glu-amida.

25 35. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 2, 4, ou 34, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de α-aminoácido ou resíduos de aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada.

36. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 2, 4 ou 30 35, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de dois resíduos de amida de aminoácidos selecionados do grupo que consiste em β-L-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida- γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amide-β-L-

Asp-amida,  $\beta$ -L-Asp-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -L-Asp-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -D-

5 Asp-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\beta$ -D-Asp-amida.

37. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 2, 4 ou 32 a 36, em que  $Q_2$  é uma ligação.

38. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 2, 4 ou 10 32 a 36, onde  $Q_2$  é  $—CO—CH_2—(CHCONH_2)—NH—CO;$   $—CO—(CH_2)_2$   $—(CHCONH_2)—NH—CO)$  ou  $—CO—(CH_2)_3 —(CHCONH_2)—NH—CO)—.$

39. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 2, 4 ou 38, em que  $Q_1$  é uma ligação.

40. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 32 a 39, 15 em que  $Q_3$  é  $—(CH_2)_s—Y_1—(Ar)_{v1}—Y_2—(CH_2)_w—Y_3—(Ar)_{v2}—Y_4—(CH_2)_t—Y_5—(Ar)_{v3}—Y_6—(CH_2)_z—$

em que Ar é definido como acima,  $Y_1$  –  $Y_6$  podem ser, independentemente um do outro, O, S, S=O, SO<sub>2</sub> ou uma ligação; onde s, w, t e z são independentemente um do outro zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que a 20 soma de s, w, t e z está na faixa de 4 a 30, e  $v_1$ ,  $v_2$ , e  $v_3$  podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1, com a condição que  $Y_1$  –  $Y_6$  não se liguem um ao outro e que a estrutura  $—O—(CH_2)_1—O—$  não ocorra.

41. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 40, em que pelo menos dois de  $v_1$ ,  $v_2$  ou  $v_3$  são zero.

25 42. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 40 e 41, em que  $Y_1$  –  $Y_6$  são ligações.

43. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 40 e 41, em que pelo menos um de  $Y_1$  –  $Y_6$  são O ou S.

44. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 40 e 41 ou 43, em que  $Y_1$  é O ou S e  $v_1$  é um.

45. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 40 a 44, em que s é 6, 7, 8, 9 ou 10.

46. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 40 a 45, em que  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $Q_4$ , e  $Q_5$  são ligações e Ar é  $C_6H_4$ .
47. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 32 a 46, em que n é zero.
- 5 48. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 32 a 47, em que Z é  $-COOH$ .
49. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 32 a 47, em que Z é  $-CH(COOH)_2$ .
50. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 32 a 47, em que Z é  $-N(CH_2COOH)_2$ .
- 10 51. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 32 a 47, em que Z é  $-SO_3H$ .
52. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 32 a 47, em que Z é  $-PO_3H$ .
- 15 53. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 32 a 47, em que Z é  $-O-W_1$ , onde  $W_1$  é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em tetrazo-5-lila,  $-COOH$ ,  $-SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ ,  $-CONR^{13}R^{14}$  ou  $-SO_2NR^{13}R^{14}$ , onde  $R^{13}$  e  $R^{14}$ , podem ser, independentemente um do outro, H,  $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ , ou  $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ .
- 20 54. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 32 a 53, em que o derivado de insulina é  $N^{eB29}-10-(4\text{-carboxifenóxi})$ -decanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana desB30.
55. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 1, em que
- 25  $Q_1$  é uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, o resíduo de amida de aminoácido ou resíduo de aminoácido tendo de 2 a 10 átomos de carbono.
56. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 ou 55, em que  $Q_1$  é selecionado do grupo que consiste em  $\beta$ -D-Asp-amida  $\beta$ -L-Asp-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida e  $\gamma$ -D-Glu-amida.
- 30 57. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 1, em que

$Q_1$  é uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ou resíduos de aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada.

58. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1 ou 57,  
 5 em que  $Q_1$  é uma cadeia de dois resíduos de amida de aminoácido selecionados do grupo que consiste em  $\beta$ -L-Asp-amida- $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -L-Asp-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -L-Asp-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -L-Asp-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\alpha$  $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\beta$ -D-Asp-amida.

59. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 ou 55 a 58, em que  $Q_2$  é uma ligação.

60. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 ou 55 a 58, em que  $Q_2$  é selecionado do grupo que consiste em  $-\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{NH}-\text{CO}-$  e  $-(\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{CO}-\text{NH})_{1-4}-$ , onde  $\text{R}^5$  pode ser independentemente H,  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$  ou  $-\text{CONH}_2$  e  $\text{R}^6$  pode ser independentemente H,  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ .

61. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1 ou 60, onde  $Q_2$  é  $-\text{CO}-((\text{CH}_2)_3-\text{NH}-\text{CO})-$ ,  $-\text{CO}-\text{CH}_2-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO}$ ;  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO})-$  ou  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_3-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO})-$ .

62. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1 ou 60 e 61, em que  $Q_1$  é uma ligação.

63. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 55 a 62, em que  $Q_3$  é  $-(\text{CH}_2)_s-\text{Y}_1-(\text{Ar})_{v1}-\text{Y}_2-(\text{CH}_2)_w-\text{Y}_3-(\text{Ar})_{v2}-\text{Y}_4-(\text{CH}_2)_t-\text{Y}_5-(\text{Ar})_{v3}-\text{Y}_6-(\text{CH}_2)_z-$

30 em que Ar é definido como acima,  $\text{Y}_1 - \text{Y}_6$  podem ser, independentemente um do outro, O, S,  $\text{S}=\text{O}$ ,  $\text{SO}_2$  ou uma ligação; onde s, w, t e z são independentemente um do outro zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de s, w, t e z está na faixa de 4 a 30, e  $v_1$ ,  $v_2$ , e  $v_3$  podem ser, inde-

pendentemente um do outro, zero ou 1, como a condição que  $Y_1 - Y_6$  não se liguem um ao outro e que a estrutura  $-O-(CH_2)_1-O-$  não ocorra.

64. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 63, em que pelo menos dois de  $v_1$ ,  $v_2$  ou  $v_3$  são zero.

5 65. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 63 e 64, em que  $Y_1 - Y_6$  são ligações.

66. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 63 e 64, em que pelo menos um de  $Y_1 - Y_6$  é O ou S.

10 67. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 63 e 64 ou 66, em que  $Y_1$  é O ou S e  $v_1$  é um.

68. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 63 a 67, em que s é 6, 7, 8, 9 ou 10.

69. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 55 a 68, em que  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $Q_4$  e  $Q_5$  são ligações e Ar é  $C_6H_4$ .

15 70. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 55 a 69, em que n é zero.

71. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 55 a 70, em que Z é  $-COOH$ .

20 72. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 55 a 70, em que Z é  $-CH(COOH)_2$ .

73. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 55 a 70, em que Z é  $-N(CH_2COOH)_2$ .

74. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 55 a 70, em que Z é  $-SO_3H$ .

25 75. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 55 a 70, em que Z é  $-PO_3H$ .

76. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 55 a 70, em que Z é  $-O-W_1$ , onde  $W_1$  é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que 30 consiste em tetrazo-5-lila,  $-COOH$ ,  $-SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ ,  $-CONR^{13}R^{14}$  ou  $-SO_2NR^{13}R^{14}$ , onde  $R^{13}$  e  $R^{14}$ , podem ser, independentemente um do outro, H,  $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ , ou  $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H$ .

77. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 ou 55 a 70, em que o derivado de insulina é selecionado do grupo que consiste em N<sup>eB29</sup>-10-(4-carboxifenóxi)-decanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30, N<sup>eB29</sup>-4-[11-(4-carboxifênol)undecanoilamino]butirila insulina humana desB30.

78. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 3, em que Q<sub>1</sub> é uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral tendo de 2 a 10 átomos de carbono.

79. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 3 ou 77, em que Q<sub>1</sub> é selecionado do grupo que consiste em β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida, γ-L-Glu-amida e γ-D-Glu-amida.

80. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 3, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de dois resíduos de amida de aminoácido selecionados do grupo que consiste em β-L-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-D-Asp-amida.

81. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 3 ou 77-79, em que Q<sub>2</sub> é uma ligação.

82. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 3 ou 77 a 80, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste em

- 25 • -COCH(CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- 30 • -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-;

- $-\text{CO}-((\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{NH}-\text{CO})_{1-4}-$ ; ou
- $-\text{CO}-((\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{CO}-\text{NH})_{1-4}-$ , onde  $\text{R}^5$  podem ser, independentemente um do outro, H,  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$  ou  $-\text{CONH}_2$  e  $\text{R}^6$  pode ser independentemente H,  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ , com a condição  $Q_2$  compreenda uma amida de não ligação se  $Q_1$  for uma ligação.

83. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 3 ou 82, em que  $Q_1$  é uma ligação.

84. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 78 a 83, em que  $Q_3$  é  $-(\text{CH}_2)_s-\text{Y}_1-(\text{Ar})_{v1}-\text{Y}_2-(\text{CH}_2)_w-\text{Y}_3-(\text{Ar})_{v2}-\text{Y}_4-(\text{CH}_2)_t-\text{Y}_5-(\text{Ar})_{v3}-\text{Y}_6-(\text{CH}_2)_z-$

em que Ar é definido como acima,  $\text{Y}_1 - \text{Y}_6$  podem ser, independentemente um do outro, O, S, S=O, SO<sub>2</sub> ou uma ligação; onde s, w, t e z são independentemente um do outro zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de s, w, t e z está na faixa de 4 a 30, e  $v_1$ ,  $v_2$ , e  $v_3$  podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1, com a condição que  $\text{Y}_1 - \text{Y}_6$  não se liguem um ao outro e que a estrutura  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_1-\text{O}-$  não ocorra.

85. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 84, em que pelo menos dois de  $v_1$ ,  $v_2$ , ou  $v_3$  são zero.

86. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 84 a 85, em que  $\text{Y}_1 - \text{Y}_6$  são ligações.

87. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 84 e 85, em que pelo menos um de  $\text{Y}_1 - \text{Y}_6$  é O ou S.

88. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 84 e 85 ou 87, em que  $\text{Y}_1$  é O ou S e  $v_1$  é um.

89. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 84 a 88, em que s é 6, 7, 8, 9 ou 10.

90. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 78 a 89, em que  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $Q_4$  e  $Q_5$  são ligações e Ar é C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>.

91. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 78 a 90, em que n é zero.

92. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 78 a 91, em que Z é COOH.

93. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 78 a 91, em que Z é  $-\text{CH}(\text{COOH}_2)$ .

94. Um Derivado de insulina de acordo com qualquer um dos parágrafos 78 a 91, em que Z é  $-\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_2$ .

5 95. Um Derivado de insulina de acordo com qualquer um dos parágrafos 78 a 91, em que Z é  $-\text{SO}_3\text{H}$ .

96. Um Derivado de insulina de acordo com qualquer um dos parágrafos 78 a 91, em que Z é  $-\text{PO}_3\text{H}$ .

10 97. Um Derivado de insulina de acordo com qualquer dos parágrafos 78 a 91, em que Z é  $-\text{O}-\text{W}_1$ , onde  $\text{W}_1$  é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em tetrazo-5-lila,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{O}-\text{PO}_3\text{H}_2$ ,  $-\text{CONR}^{13}\text{R}^{14}$  ou  $-\text{SO}_2\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ , onde  $\text{R}^{13}$  e  $\text{R}^{14}$ , podem ser, independentemente um do outro, H,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{SO}_3\text{H}$ , ou  $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{O}-\text{PO}_3\text{H}_2$ .

15 98. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 3 ou 78 a 97, em que o derivado de insulina é selecionado do grupo que consiste em  $\text{N}^{\epsilon\text{B}29}-10-(4\text{-carboxifenóxi})\text{-decanoil-}\gamma\text{-L-glutamilamida}$  insulina humana desB30,  $\text{N}^{\epsilon\text{B}29}-4-[11-(4\text{-carboxifenil})\text{undecanoilamino}]$ butirila insulina humana desB30 e  $\text{N}^{\epsilon\text{B}29}-\{4-[10-(4\text{-carboxifenóxi})\text{-decanoilamino}]$ butiril}insulina desB30.

20 25 99. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1 ou 2, em que  $\text{Q}_1$  é uma amida de aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, o resíduo de amida de aminoácido ou resíduo de aminoácido tendo de 2 a 10 átomos de carbono.

100. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1, 2 ou 99, em que  $\text{Q}_1$  é selecionado do grupo que consiste em  $\beta\text{-D-Asp-amida}$ ,  $\beta\text{-L-Asp-amida}$ ,  $\gamma\text{-L-Glu-amida}$  e  $\gamma\text{-D-Glu-amida}$ .

30 101. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 1 ou 2, em que  $\text{Q}_1$  é uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ou de aminoácido com cadeias laterais não-carregadas.

102. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1, 2 ou

101, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de dois resíduos de amida de aminoácido se-  
 lecionado do grupo que consiste em  $\beta$ -L-Asp-amida- $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -L-Asp-  
 amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\beta$ -L-Asp-  
 amida,  $\beta$ -L-Asp-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -L-Asp-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -L-  
 5 Glu-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\beta$ -  
 L-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  
 $\gamma$ -D-Glu-amida- $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-  
 amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\beta$ -D-  
 Asp-amida.

10 103. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos pa-  
 rágrafos 99 a 102, em que Q<sub>2</sub> é uma ligação.

104. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos pa-  
 rágrafos 1, 2 ou 99 a 102, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste  
 em  $-\text{CO}-(\text{C R}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{NH-CO}-$  e  $-(\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{CO-NH})_{1-4}-$ , onde R<sup>5</sup>  
 15 pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou -CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode  
 ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>.

105. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos pa-  
 rágrafos 1, 2 ou 99 a 104, em que Q<sub>2</sub> é  $-\text{CO-CH}_2-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH-CO}$ ;  
 $-\text{CO-(CH}_2)_2-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH-CO}-$  ou  $-\text{CO-(CH}_2)_3-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH-}$   
 20 CO-.

106. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1, 2 ou  
 104 e 105, em que Q<sub>1</sub> é uma ligação.

107. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos pa-  
 rágrafos 99 a 106, em que um de Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>, ou Q<sub>5</sub> é  $-(\text{CH}_2)_m-$  onde m é um  
 25 número inteiro na faixa de 1 a 32 ou 1 a 12.

108. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 107, em  
 que m é 4, 5, 6, 8, 9, 10 ou 11.

109. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos pa-  
 rágrafos 99 a 108, em que um de Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>, ou Q<sub>5</sub> é  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;  
 30  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$  ou  
 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ ;  $-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_y-$  onde y é 1 a 20.

110. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 109, em

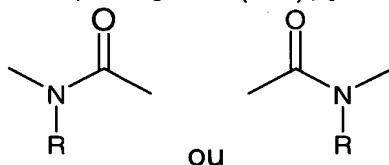
que um de Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub> ou Q<sub>5</sub> é (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>– ou (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub> , em que y está na faixa de 1 a 12, 2 a 4 ou 2-3.

111. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 109 e 110, em que y é 1.

5 112. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 99 a 111, em que X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e X<sub>3</sub> são independentemente um do outro

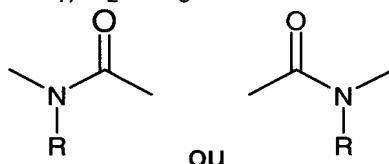
- O;
- –C=O
- uma ligação;

10 • NCOR<sup>1</sup>, onde R<sup>1</sup> pode ser H, -CH<sub>3</sub> ou -(CH)<sub>1-6</sub>-CH<sub>3</sub>; ou



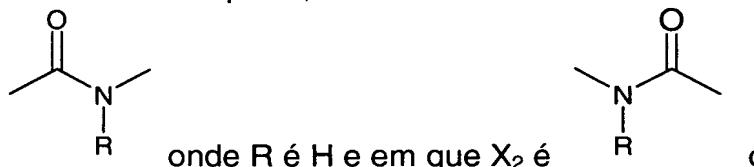
onde R é hidrogênio, C<sub>1-3</sub>-alquila, C<sub>2-3</sub>-alquenila ou C<sub>2-3</sub>-alquinila.

113. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 99 a 112, em que X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e X<sub>3</sub> são:



onde R é hidrogênio, C<sub>1-3</sub>-alquila, C<sub>2-3</sub>-alquenila ou C<sub>2-3</sub>-alquinila.

15 114. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 99 a 113 em que X<sub>1</sub> é



onde R é H e em que X<sub>2</sub> é

onde R é H.

115. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 99 a 114, em que n é 0, 1, 2 ou 3.

20 116. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 99 a 115, em que Z é –COOH.

117. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 99 a 115, em que Z é –CH(COOH)<sub>2</sub>.

118. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos pa-

rágrafos 99 a 115, em que Z é  $-N(CH_2COOH)_2$ .

119. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 99 a 115, em que Z é  $-SO_3H$ .

120. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 99 a 115, em que Z é  $-PO_3H$ .

121. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 e 2 ou 99 a 120, em que o derivado de insulina é  $N^{eB29}-(3-(3-(4-[3-(7-carboxieptanoilamino)propóxi]butóxi}propilcarbamoil)-propionil- $\gamma$ -glutamylamide) insulina humana desB30.$

10 Em um aspecto da invenção Q<sub>1</sub> é uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, o resíduo de amida de aminoácido ou o resíduo de aminoácido tendo de 3 a 10 átomos de carbono.

15 Q<sub>1</sub> pode ser também composto de dois, três ou quatro amidas de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral e/ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada. A cadeia de aminoácidos pode compreender pelo menos um aminoácido contendo uma amida. Assim, Q<sub>1</sub>, pode ser, por exemplo, selecionado do grupo que compreende  $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida e  $\gamma$ -D-Glu-amida.

20 Em um aspecto, Q<sub>1</sub> é uma cadeia composta de dois resíduos de aminoácidos não-carregados, que tem de 4 a 10 átomos de carbono. Os aminoácidos podem compreender uma amida. Exemplos de tais resíduos de aminoácidos são  $\beta$ -L-Asp-amida- $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -L-Asp-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -L-Asp-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -L-Asp-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\gamma$ -L-Glu-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\beta$ -D-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\gamma$ -D-Glu-amida,  $\gamma$ -D-Glu-amida- $\beta$ -D-Asp-amida.

25 30 Em um aspecto da invenção, Q<sub>1</sub> é uma cadeia composta de três resíduos de aminoácido tendo, independentemente, de 4 a 10 átomos de carbono, onde pelo menos um dos resíduos de aminoácido da cadeia é se-

selecionado do grupo de resíduos tendo uma amida. A combinação das três amidas de aminoácido pode ser qualquer combinação de  $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida e  $\gamma$ -D-Glu-amida, que significa que 64 combinações diferentes são possíveis.

5 Em um outro aspecto, Q<sub>1</sub> é uma cadeia composta de quatro resíduos de aminoácidos, tendo, independentemente, de 4 a 10 átomos de carbono, onde pelo menos um dos resíduos de aminoácido é selecionado do grupo de resíduos tendo uma amida. A combinação das quatro amidas de aminoácido pode ser qualquer combinação de  $\beta$ -L-Asp-amida,  $\beta$ -D-Asp-10 amida,  $\gamma$ -L-Glu-amida e  $\gamma$ -D-Glu-amida, que significa que 256 combinações diferentes são possíveis.

122. Derivando de insulina tendo um substituinte ligado à insulina humana desB30 no grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou em um grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia 15 A ou B da insulina humana desB30, cujo substituinte compreende pelo menos uma porção graxa difuncionalizada com cerca de 6 a cerca de 32 átomos de carbono e um ligante não-carregado da fórmula  $-\text{CO}((\text{CH}_2)_{1-6}\text{NH}-\text{CO})_{1-4}$ , que liga a porção graxa difuncionalizada à insulina humana desB30, em que a porção graxa difuncionalizada compreende um grupo aromático.

20 123. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 122, em que o ligante não-carregado é selecionado do grupo que consiste em:  $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}$ ,  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\text{CO}$ ,  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-\text{CO}$  e  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_1-\text{NH}-\text{CO}$ .

25 124. Derivado de insulina, de acordo com qualquer dos parágrafos 122 ou 123, em que a porção graxa difuncionalizada é

$T-(\text{CH}_2)_s-Y_1-(\text{Ar})_{v1}-Y_2-(\text{CH}_2)_w-Y_3-(\text{Ar})_{v2}-Y_4-(\text{CH}_2)_t-Y_5-(\text{Ar})_{v3}-Y_6-(\text{CH}_2)_z-T$   
em que

- Ar pode ser arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ,  $-\text{CONR}^1\text{R}^2$  ou  $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , onde R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> podem ser, independentemente um do outro, H,  $-\text{CH}_3$  ou  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ;
- Y<sub>1</sub> – Y<sub>6</sub> podem ser, independentemente um do outro, O, S, S=O, SO<sub>2</sub> ou

uma ligação;

- s, w, t e z são independentemente um do outro zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de s, w, t e z está na faixa de 4 a 30.

5      • v<sub>1</sub>, v<sub>2</sub>, e v<sub>3</sub> podem ser independentemente um do outro zero ou 1 com a condição que Y<sub>1</sub> – Y<sub>6</sub> não se liguem um ao outro e que a estrutura –O–(CH<sub>2</sub>)<sub>1</sub>–O– não ocorra; e

- T é um grupo funcional selecionado de grupos carbóxi, amino ou hidroxila.

125. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 122 a 124, em que o derivado de insulina é N<sup>εB29</sup>-4-[11-(4-carboxifenil)undecanoilamino] butirila insulina humana desB30.

126. Um derivado de insulina tendo um substituinte ligado a uma porção insulina parente no grupo α-amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou em um grupo ε-amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B da porção insulina parente, cujo substituinte compreende pelo menos uma porção graxa difuncionalizada com cerca de 6 a cerca de 32 átomos de carbono e um ligante não-carregado que liga a porção graxa difuncionalizada à insulina parente, com a condição que o ligante não-carregado não compreenda –(CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>–NH–CO)<sub>1-4</sub> se o substituinte insulina compreender um grupo aromático e que o substituinte não compreenda um ou mais resíduos selecionados do grupo de –CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>–CO–NH–(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>–, –CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>–CO–NH–CH<sub>2</sub>–(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>–, –CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>–CO–NH–(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>– e –CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>–CO–NH–CH<sub>2</sub>–(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)–.

127. Derivado de insulina tendo um substituinte ligado a uma porção insulina parente no grupo α-amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou em um grupo ε-amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B da porção insulina parente, cujo substituinte compreende pelo menos uma porção graxa difuncionalizada com cerca de 6 a cerca de 32 átomos de carbono e um ligante não-carregado que liga a porção graxa difuncionalizada à insulina parente, com a condição que o substituinte não compreenda um ou mais resíduos selecionados do grupo de –CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>–CO–NH–(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>–, –CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>–CO–NH–CH<sub>2</sub>–(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>–, –CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>–CO–NH–(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>– e –CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>–CO–NH–CH<sub>2</sub>–

$(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})-$ .

128. Um derivado de insulina tendo um substituinte ligado a uma porção insulina parente no grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou em um grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente
- 5 na cadeia A ou B da porção insulina parente, cujo substituinte comprehende pelo menos uma porção graxa difuncionalizada com cerca de 6 a cerca de 32 átomos de carbono e um ligante não-carregado que liga a porção graxa difuncionalizada à insulina parente, com a condição que o substituinte não comprehenda um ou mais resíduos selecionados do grupo de  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-$
- 10  $\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$ ,  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2$   $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$ ,  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-$  e  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2$   $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-$
- 15  $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})-$  caracterizado pelo fato de que o ligante não-carregado é selecionado do grupo que consiste em
- uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, cujo resíduo forma, com seu grupo ácido carboxílico, um grupo amida junto com o grupo  $\alpha$ -amino de resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia de B de Ins ou junto com o grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou
- 20 • uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ou de aminoácido conforme especificados acima ligados juntos através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação amida – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de
- 25 Ins
  - $-\text{COCH}(\text{CONH}_2)-$
  - $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
  - $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)$
  - $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- 30 •  $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$ 
  - $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
  - $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$

- $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CONH}-$ ; ou
  - $-\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{CO-NH}_{1-4}-$ , onde  $\text{R}^5$  pode ser independentemente H,  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$  ou  $-\text{CONH}_2$  e  $\text{R}^6$  pode ser independentemente H,  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$  com a condição de que se uma amina no ligante não-carregado
- 5 formar uma ligação com o resto do substituinte, a amina deve ser ligada ao resto do substituinte através de um grupo carbonila.

129. Um derivado de insulina tendo um substituinte ligado a uma porção insulina parente no grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou em um grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B da porção insulina parente, cujo substituinte compreende pelo menos uma porção graxa difuncionalizada com cerca de 6 a cerca de 32 átomos de carbono e um ligante não-carregado que liga a porção graxa difuncionalizada à insulina parente, com a condição que o ligante não-carregado não compreenda  $-(\text{CO})-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{NH-CO}_{1-4}$  se o substituinte insulina compreender um grupo aromático e que o substituinte não compreenda um ou mais resíduos selecionados do grupo de  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{CO-NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{2-}$ ,  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{CO-NH-CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{2-}$ ,  $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{CO-NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-$       e       $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{CO-NH-CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})-$  caracterizado pelo fato de que o ligante não-carregado é selecionado do grupo que consiste em

- uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, cujo resíduo forma, com seu grupo ácido carboxílico, um grupo amida junto com o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou junto com o grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou
- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ou de aminoácido conforme especificados acima ligados juntos através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação amida – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins

- -COCH(CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- 5     • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-
  - -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-; ou
- 10    • -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH) <sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H, —CH<sub>3</sub>, —(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou —CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>, com a condição de que se uma amina no ligante não-carregado formar uma ligação com o resto do substituinte, a amina deve ser ligada ao resto do substituinte através de um grupo carbonila.
- 15           130. Derivado de insulina tendo um substituinte ligado a uma porção insulina parente no grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou em um grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B da porção insulina parente, cujo substituinte comprehende pelo menos uma porção graxa difuncionalizada com cerca de 6 a cerca de 20 32 átomos de carbono e um ligante não-carregado que liga a porção graxa difuncionalizada à insulina parente, com a condição de que o substituinte não comprehenda um ou mais resíduos selecionados do grupo de -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-NH-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>-, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-NH-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>-,-CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-NH-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>-       e       -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-NH-CH<sub>2</sub>-
- 25           (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)-, caracterizado pelo fato que o ligante não-carregado é selecionado do grupo que consiste em
- uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, cujo resíduo forma, com seu grupo ácido carboxílico, um grupo amida junto com o grupo  $\alpha$ -amino de resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou junto com o grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ou de aminoácido conforme especificados acima ligados através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação amida – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou
- 5        ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins,
- -COCH(CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- 10      • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-
  - -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-; ou
- 15      • -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou -CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> com a condição de que se uma amina no ligante não-carregado formar uma ligação com o resto do substituinte, a amina deve ser ligada ao resto do substituinte via um grupo carbonila.
- 20            131. Um derivado de insulina tendo um substituinte ligado a uma porção insulina parente no grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou em um grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B da porção insulina parente, cujo substituinte compreende pelo menos uma porção graxa difuncionalizada com cerca de 6 a cerca de
- 25            32 átomos de carbono e um ligante não-carregado que liga a porção graxa difuncionalizada à insulina parente, com a condição que uma amida não-ligante está presente no ligante se o substituinte compreender um grupo aromático e que o substituinte não compreenda um ou mais resíduos selecionados do grupo de -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-NH-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>-, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-
- 30            NH-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>-, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-NH-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>- e -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-NH-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)-.
132. Um derivado de insulina tendo um substituinte ligado a uma

porção insulina parente no grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou em um grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B da porção insulina parente, cujo substituinte compreende pelo menos uma porção graxa difuncionalizada com cerca de 6 a cerca de 5 32 átomos de carbono e um ligante não-carregado que liga a porção graxa difuncionalizada à insulina parente, com a condição que a porção graxa difuncionalizada seja uma cadeia alifática, uma amida esteja presente no ligante.

133. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 121 a 10 129, em que o substituinte é ligado ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B da insulina parente.

134. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 121 a 129, em que o substituinte é ligado ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B da insulina parente.

135. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 121 a 129 ou 131, em que o substituinte é ligado ao grupo  $\epsilon$ -amino do resíduo Lys na posição B29 presente na cadeia B da insulina parente.

136. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 132, em que o substituinte é ligado ao grupo  $\epsilon$ -amino do resíduo Lys na posição B29 20 na insulina humana desB30.

137. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 121 a 129, em que o ligante compreende uma amida ou uma amida N-substituída da fórmula  $-\text{CONR}_7\text{R}^8$ , onde  $\text{R}^7$  e  $\text{R}^8$  podem ser, independentemente, um do outro hidrogênio, metila, etila, propila ou isopropila.

25 138. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 134, onde  $\text{R}^7$  e  $\text{R}^8$  são hidrogênio.

139. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 121 a 129, em que o ligante compreende uma amida não-ligante.

140. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 30 121 a 129, em que o substituinte compreende uma ou mais resíduos de etilenoglicol, propilenoglicol e/ou butilenoglicol contendo, independentemente, em cada uma das terminações, um grupo selecionado de  $-\text{NH}_2$

e –COOH, que é usado para conectar os componentes individuais do substituinte.

141. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 121 a 129, em que o substituinte compreende pelo menos um grupo aromático.

5 142. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 141, em que a insulina parente é insulina humana ou insulina de porco.

143.. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1 a 141, em que a insulina parente é um análogo de insulina.

10 144. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 143, em que o resíduo de aminoácido na posição B30 da insulina parente é Lys ou foi deletado.

145. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 143 e 144, em que a insulina parente é insulina humana desB30.

15 146. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 143 a 145, em que o resíduo de aminoácido na posição B1 da insulina parente foi deletado.

20 147. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 143 a 146, em que o resíduo de aminoácido na posição A21 da insulina parente é Gly ou Asn.

148. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 143 a 147, em que o resíduo de aminoácido na posição B3 da insulina parente é Lys.

25 149. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 143 a 148, em que o resíduo de aminoácido na posição B28 da insulina parente é Asp ou Lys.

150. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 143 a 149, em que o resíduo de aminoácido na posição B29 da insulina parente é Pro ou Thr.

30 151. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 149, em que a insulina parente é Insulina humana AspB28.

152. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 147, em

que a insulina parente é insulina humana GlyA21 ou GlyA21desB30 ou Insulina humana GlyA21ArgB31ArgB32.

153. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 148, em que a insulina parente é Insulina humana LysB3GluB29.

5 154. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 149 e 150, em que a insulina parente é Insulina humana LysB28ProB29.

155. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 144 e 150, em que a insulina parente é Insulina humana ThrB29LysB30.

10 156. Complexo de zinco de um derivado de insulina conforme definido em qualquer um dos parágrafos precedentes, em que dois íons zinco, três íons zinco, quatro íons zinco, cinco íons zinco, seis íons zinco, sete íons zinco, oito íons zinco, nove íons zinco ou dez íons zinco são ligados por seis moléculas de derivado de insulina.

15 157. Composição farmacêutica para o tratamento de diabetes em um paciente que necessite de tal tratamento, compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina conforme definido em qualquer um dos parágrafos 1 a 155 ou um complexo de zinco conforme definido no parágrafo 156 junto com um veículo farmaceuticamente aceitável.

20 158. Composição farmacêutica para o tratamento de diabetes em um paciente que necessite de tal tratamento, compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina conforme definido em qualquer um dos parágrafos 1 a 155 ou um complexo de zinco conforme definido no parágrafo 156 em mistura com insulina ou um análogo de insulina, que tem início de ação rápido, junto com um veículo farmaceuticamente aceitável.

30 159. Método para tratar diabetes em um paciente que necessite de tal tratamento, compreendendo administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina conforme definido nos parágrafos 1 a 155 ou um complexo de zinco conforme definido no parágrafo 156 junto com um veículo farmaceuticamente aceitável.

160. Método para tratar diabetes em um paciente que necessite

de tal tratamento, compreendendo administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina conforme definido nos parágrafos 1 a 155 ou um complexo de zinco conforme definido no parágrafo 156 em mistura com uma insulina ou um análogo de insulina que tem início 5 de ação rápido, juntamente com um veículo farmaceuticamente aceitável.

161. Método, de acordo com os parágrafos 138 ou 139 para tratamento pulmonar de diabetes.

162. Uso de um derivado de insulina conforme definido nos parágrafos 1 a 155 ou um complexo de zinco conforme definido no parágrafo 10 156, para a fabricação de uma composição farmacêutica para o uso no tratamento de diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e outros estados que causam hiperglicemia.

163. Uso de um derivado de insulina conforme definido nos parágrafos 1 a 155 ou um complexo de zinco conforme definido no parágrafo 15 156 em mistura com uma insulina ou um análogo de insulina, que tem um início de ação rápido, para a fabricação de uma composição farmacêutica para o uso no tratamento de diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e outros estados que causam hiperglicemia.

164. Mistura de um derivado de insulina conforme definido nos 20 parágrafos 1 a 155 ou um complexo de zinco conforme definido no parágrafo 156 e um análogo de insulina de ação rápida selecionada do grupo que consiste em Insulina humana AspB28; Insulina humana LysB28ProB29 e Insulina humana LysB3GluB29.

165. Derivado de insulina, em que o derivado de insulina é selecionado do grupo que consiste em:

N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30,  
N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-γ-amino-butanoíla insulina humana desB30,  
N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-tetradecanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30,  
N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-tridecanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30,  
30 N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-β-alanila insulina humana desB30,  
N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-γ-L-aspartilamida insulina humana desB30,  
N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-ε-aminoexanoíla insulina humana desB30,

- $N^{eB29}$ - $\omega$ -carboxi-pentadecanoil- $\delta$ -aminopentanoíla insulina humana desB30,  
 $N^{eB29}$ -10-(4-carboxifenóxi)-decanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana desB30,  
 $N^{eB29}$ -4-[11-(4-Carboxifenil)undecanoilamino]butirila insulina humana desB30,  
 $N^{eB29}$ -(3-(3-{4-[3-(7-carboxieptanoilamino)propóxi]butóxi}propilcarbamoil)-  
5 propionil- $\gamma$ -glutamilamida) insulina humana desB30,  
 $N^{eB29}$ - $\omega$ -carbóxi-tridecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,  
 $N^{eB29}$ - $\omega$ -carbóxi-undecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,  
 $N^{eB29}$ - $\omega$ -carbóxi-tetradecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,  
 $N^{eB29}$ -{4-[10-(4-carbóxi-fenóxi)-decanoilamino]-butiril}insulina desB30,  
10  $N^{eB29}$ -{4-[(14-carbóxi-tetradecanoilamino)-metil]-benzoil}insulina desB30,  
 $N^{eB29}$ -[16-(4-carbóxi-fenóxi)-hexadecanoil]insulina desB30,  
 $N^{eB29}$ -{4-[(15-carboxipentadecanoilamino)benzoil]-insulina humana desB30 e  
 $N^{eB29}$ -{4-[(15-carbóxi-pentadecanoilamino)-metil]-benzoil}-insulina desB30.

166. Derivado de insulina conforme descrito nos exemplos.

- 15 A invenção será ainda sumarizada nos seguintes parágrafos:  
1a. Derivado de insulina tendo um substituinte ligado a uma porção insulina parente no grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou em um grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B da porção insulina parente, cujo substituinte compreende pelo menos  
20 uma porção graxa difuncionalizada com cerca de 6 a cerca de 32 átomos de carbono e um ligante não-carregado que liga a porção graxa difuncionalizada à insulina parente, com a condição que o ligante não-carregado não compreenda  $-CO-(CH_2)_{2-6}-NH-CO$ <sub>1-4</sub> se o substituinte de insulina compreender um grupo aromático.

25 2a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 1a, em que o substituinte está ligado ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B da insulina parente.

30 3a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 1a, em que o substituinte está ligado ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia B da insulina parente.

4a. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1a ou 3a, em que o substituinte é ligado ao grupo  $\epsilon$ -amino do resíduo Lys na posição

B29 presente na cadeia B da insulina parente.

5a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 4a, em que o substituinte é ligado ao grupo  $\epsilon$ -amino de resíduo Lys na posição B29 na LysB29insulina humana desB30.

5 6a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a-5a, em que o ligante compreende uma amida ou uma amida N-substituída da fórmula  $-\text{CONR}_7\text{R}_8$ , onde  $\text{R}_7$  e  $\text{R}_8$  podem ser, independentemente um do outro, hidrogênio, metila, etila, propila ou isopropila.

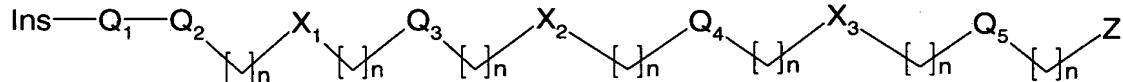
7a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 6a, onde  $\text{R}_7$   
10 e  $\text{R}_8$  são hidrogênio.

8a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 1, em que o ligante compreende uma amida.

9a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a-7a, em que o substituinte compreende um ou mais resíduos de etilenoglicol, propilenoglicol e/ou butilenoglicol contendo, independentemente, em cada um dos terminais, um grupo selecionado de  $-\text{NH}_2$  e  $-\text{COOH}$ .  
15

10a. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 1a-7a, em que o substituinte compreende pelo menos um grupo aromático.

11a. Derivados de insulina, de acordo com o parágrafo 1a, tendo  
20 a fórmula



em que Ins é uma porção insulina parente, que, via o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou um grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia B da porção insulina, é ligada a  $\text{Q}_1$  ou  $\text{Q}_2$  no substituinte;

25 cada n é independentemente 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6;

$\text{Q}_1$  é:

- um resíduo de amida de  $\alpha$ -aminoácido tendo um ácido carboxílico no substituinte, cujo resíduo forma, com um de seus grupos ácido carboxílico, um grupo amida junto com o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-

30 terminal da cadeia B ou junto com o grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys pre-

sente na cadeia B da insulina parente;

- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ligados juntamente através de ligações amida, cuja cadeia – a través de uma ligação amida – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia B da insulina parente, os resíduos de aminoácidos de W sendo selecionados do grupo de resíduos de aminoácido tendo um substituinte neutro e resíduos de aminoácido tendo um grupo ácido carboxílico no substituinte, de modo que W tem pelo menos um resíduo de aminoácido,
- 5      minoácido N-terminal da cadeia B ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia B da insulina parente, os resíduos de aminoácidos de W sendo selecionados do grupo de resíduos de aminoácido tendo um substituinte neutro e resíduos de aminoácido tendo um grupo ácido carboxílico no substituinte, de modo que W tem pelo menos um resíduo de aminoácido,
- 10     que tem um grupo ácido carboxílico no substituinte; ou

- uma ligação

$Q_2$  é:

- -COCH(CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

- 15     • -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- 20     • -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-;
- -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-;
  - -(CO-(C R<sub>9</sub>R<sub>10</sub>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sub>9</sub> e R<sub>10</sub> podem ser, independentemente um do outro, H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou —CONH<sub>2</sub>; ou
- uma ligação

- 25     com a condição de que pelo menos um  $Q_1$  ou  $Q_2$  não seja uma ligação;

$Q_3$ ,  $Q_4$ , e  $Q_5$  podem ser, independentemente um do outro

- -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>- onde m é um número inteiro na faixa de 1 to 32;
  - uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2 ou 3 grupos -CH=CH- e um número de grupos -CH<sub>2</sub>- suficiente para dar um número total de átomos de carbono na faixa de 4 a 32;
- 30     • (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>-; (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>-; (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>-;
- (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>- ou (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>-;

$-(CH_2OCH_2)_y-$  onde  $y$  é 1 a 20;

- $-(CR_3R_4)_{1-6}-(NHCO-(CR_3R_4)_{1-6}-NHCO)_{1-2}-(CR_3R_4)_{1-6}$  ou  $-(CR_3R_4)_{1-6}-(CONH-$

$(CR_3R_4)_{1-6}-CONH)_{1-2}-(CR_3R_4)_{1-6}-$ ,  $-(CR_3R_4)_{1-6}-(NHCO-(CR_3R_4)_{1-6}-CONH)_{1-2}-$

$(CR_3R_4)_{1-6}-$  ou  $-(CR_3R_4)_{1-6}-(CONH-(CR_3R_4)_{1-6}-NHCO)_{1-2}-(CR_3R_4)_{1-6}$  onde  $R_3$

5 e  $R_4$  podem ser, independentemente um do outro, e independentemente pa-  
ra cada carbono H, -COOH ou OH,

- $(CR_5R_6)_{1-6}-$ , onde  $R_5$  e  $R_6$  podem ser independentemente um do outro e  
independentemente para cada carbono H, -COOH,  $(CH_2)_{1-6}COOH$ ;

- $-(CR_1R_2)_{1-6}-NR_{15}-CO)_{1-4}-$ , onde  $R_1$ ,  $R_2$  e  $R_{15}$  podem ser, independen-  
te um do outro, H, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-

10  $PO_3H_2$  ou CONH<sub>2</sub> e  $R_{15}$  pode ser arileno, que pode ser substituído com um  
ou dois grupos de  $R_1$ ,  $R_2$  conforme definidos acima;

- NR<sub>15</sub> onde  $R_{15}$  é como definido acima;

- arileno ou heteroarileno que podem ser substituídos com um ou dois gru-  
pos selecionados do grupo que consiste em -COOH, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>,

15 -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-SO<sub>3</sub>H, -CONR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> ou -SO<sub>2</sub>NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, onde  $R_1$  e  $R_2$  podem ser,  
independentemente um do outro, H, -CH<sub>3</sub>, -(CH)<sub>1-6</sub>-CH<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-  
SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou CONH<sub>2</sub>;

- uma cadeia de hidrocarboneto divalente da fórmula

20  $-(CH_2)_s-Y_1-(C_6H_4)_{v1}-Y_2-(CH_2)_w-Y_3-(C_6H_4)_{v2}-Y_4-(CH_2)_t-Y_5-(C_6H_4)_{v3}-Y_6-(CH_2)_z-$

em que  $Y_1$  –  $Y_6$  podem ser, independentemente um do outro, O; S ou uma  
ligação; onde  $s$ ,  $w$ ,  $t$  e  $z$  são, independentemente um do outro, zero ou um  
número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de  $s$ ,  $w$ ,  $t$  e  $z$  fique na faixa de  
4 a 30, e  $v_1$ ,  $v_2$ , e  $v_3$  podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1

25 com a condição que  $Y_1$  –  $Y_6$  não se liguem um ao outro; ou

- uma ligação;

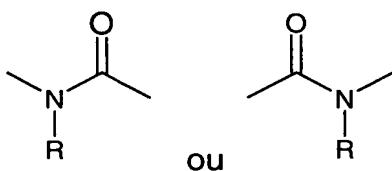
com a condição que Q<sub>3</sub> – Q<sub>5</sub> sejam diferentes;

X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e X<sub>3</sub> são independentemente um do outro:

- O;

30 • -C=O

- uma ligação; ou



onde R é hidrogênio, C<sub>1-3</sub>-alquila, C<sub>2-3</sub>-alquenila ou C<sub>2-3</sub>-alquinila;

e

Z é:

–COOH;

5 –CO–Asp;

–CO–Glu;

–CO–Gly;

–CO–Sar;

–CH(COOH)<sub>2</sub>;

10 –N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>;

–SO<sub>3</sub>H

–OSO<sub>3</sub>H

–OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>

–PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou

15 –tetrazol-5-ila ou

–O–W<sub>1</sub>,

onde W<sub>1</sub> é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em –COOH, –SO<sub>3</sub>H, –(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>–SO<sub>3</sub>H, –CONR<sub>13</sub>R<sub>14</sub> ou –SO<sub>2</sub>NR<sub>12</sub>R<sub>14</sub>, onde R<sub>13</sub> e R<sub>14</sub>, podem ser,

20 independentemente um do outro, H, –SO<sub>3</sub>H, –(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>–SO<sub>3</sub>H, –(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>–O–PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, —CONH<sub>2</sub> ou tetrazo-5-lila;

e qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup> deste.

12a. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 11a, em que Q<sub>1</sub> é um resíduo de amida de aminoácido tendo de 4 a 10 átomos de carbono.

13a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 11a-12a, em que Q<sub>1</sub> é selecionado do grupo que consiste em β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida, γ-L-Glu-amida e γ-D-Glu-amida.

14a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 11a, em

que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de resíduos de amida de aminoácido.

- 15a. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 11a-14a, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de dois resíduos de amida de aminoácidos selecionados do grupo que consiste em β-L-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-D-Asp-amida.

16a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 11a a 15a, em que Q<sub>2</sub> é uma ligação.

- 17a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 11a a 15a, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste em -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4-</sub>; -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4-</sub>.

18a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 17a, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste em -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NH-CO)<sub>1-</sub> ou -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-CO)<sub>1-4-</sub>.

- 19a. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 17a-18a, em que Q<sub>1</sub> é uma ligação.

20a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 11a, em que Q<sub>1</sub> é:

- um resíduo de amida de α-aminoácido tendo um grupo ácido carboxílico no substituinte, cujo resíduo forma, com um de seus grupos ácido carboxílico, um grupo amida junto com o grupo α-amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou junto com o grupo ε-amino de um resíduo Lys presente na cadeia B da insulina parente;
- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de α-aminoácido ligados juntos através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação amida – é ligada ao grupo α-amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou ao grupo ε-amino de um resíduo Lys presente

na cadeia B da insulina parente, em que os resíduos de aminoácidos de W são selecionados do grupo de resíduos de aminoácidos tendo um substituinte neutro e resíduos de aminoácidos tendo um grupo ácido carboxílico no substituinte de modo que W tem pelo menos um resíduo de aminoácido, que

- 5 tem um grupo ácido carboxílico no substituinte; ou

- uma ligação

$Q_2$  é:

- $-\text{COCH}(\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$

- 10 •  $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)$

- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$

- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$

- $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$

- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$

- 15 •  $-(\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2-6}-\text{NH}-\text{CO})_{1-4}-$ ; onde  $R_9$  e  $R_{10}$  podem ser, independentemente um do outro, H,  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$  ou  $-\text{CONH}_2$ ; ou

- uma ligação

com a condição de que pelo menos um de  $Q_1$  ou  $Q_2$  não seja uma ligação;

$Q_3$  é

- 20 •  $-(\text{CH}_2)_m-$  onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32;

- uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2 ou 3 grupos  $-\text{CH}=\text{CH}-$  e um número de grupos  $-\text{CH}_2-$  suficiente para dar um número total de átomos de carbono na cadeia de 4 a 32; ou

- uma cadeia de hidrocarboneto divalente da fórmula  $-(\text{CH}_2)_s\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_2)_w-$

- 25 em que v e w são números inteiros ou um deles é zero de modo que a soma de s e w fica na faixa de 6 a 30;

$X_1$  pode ser  $-\text{C}=\text{O}$  ou uma ligação;

$Q_4$ ,  $Q_5$ ,  $X_2$  e  $X_3$  são ligações; e

todos os valores de n são zero; e

- 30 Z é:

$-\text{COOH};$

$-\text{CO}-\text{Asp};$

- CO-Glu;
  - CO-Gly;
  - CO-Sar;
  - CH(COOH)<sub>2</sub>;
  - 5 -N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>;
  - SO<sub>3</sub>H
  - OSO<sub>3</sub>H
  - OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>
  - PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou
  - 10 -tetrazol-5-ila
- e qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup> deste.
- 21a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 20a, em que Q<sub>1</sub> é um resíduo de amida de aminoácido tendo de 4 a 10 átomos de carbono.
- 15 22a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 20a a 21a, em que Q<sub>1</sub> é selecionado do grupo que consiste em β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida, γ-L-Glu-amida e γ-D-Glu-amida.
- 23a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 20a, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de resíduos de amida de aminoácido.
- 20 24a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 20a ou 23a, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de dois resíduos de amida de aminoácido selecionados do grupo que consiste em β-L-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-D-
- 25 Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-D-Asp-amida.
- 30 25a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 20a a 24a, em que Q<sub>2</sub> é uma ligação.
- 26a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos pa-

rágrafos 21a a 25a, em que X<sub>1</sub> é –C=O.

27a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 20a a 26a, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste em –(CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>–NH–CO)<sub>1</sub>–, –(CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>–NH–CO)<sub>1</sub>–, –(CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>–NH–CO)<sub>1</sub>– ou –(CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>–NH–CO)<sub>1</sub>–.

28a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 20a ou 27a, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste em –(CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>–NH–CO)<sub>1</sub>–, –(CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>–NH–CO)<sub>1</sub>–, –(CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>–NH–CO)<sub>1</sub>– ou –(CO–(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>–NH–CO)<sub>1</sub>–.

29a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 27a ou 28a, em que Q<sub>1</sub> é uma ligação.

30a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 20a a 29a, em que Q<sub>3</sub> é –(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>–, onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32 ou de 8 a 20.

31a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 30a, onde m é 12, 13, 14, 15 ou 16.

32a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 20a a 31a, em que Z é –COOH.

33a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 20a a 31a, em que Z é –CH(COOH)<sub>2</sub>.

34a. Um Derivado de insulina de acordo com qualquer um dos parágrafos 20a a 31a, em que Z é –N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>.

35a. Um Derivado de insulina de acordo com qualquer um dos parágrafos 20a a 31a, em que Z é –SO<sub>3</sub>H.

36a. Um Derivado de insulina de acordo com qualquer um dos parágrafos 20a a 31a, em que Z é –PO<sub>3</sub>H.

37a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos precedentes, selecionado do grupo que consiste em N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30, N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-γ-amino-butanoíla insulina humana desB30, N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-tetradecanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30, N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-tridecanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30, N<sup>εB29</sup>-ω-

carbóxi-pentadecanoil- $\beta$ -alanila insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\gamma$ -L-aspartilamida insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\epsilon$ -aminohexanoíla insulina humana desB30,  
 $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\delta$ -aminopentanoíla insulina humana desB30.

5           38a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 11a, em que Q<sub>1</sub> é:

- um resíduo de amida de  $\alpha$ -aminoácido tendo um grupo ácido carboxílico no substituinte, cujo resíduo forma, com um de seus grupos ácido carboxílico, um grupo junto com o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou juntamente com o grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia B na insulina parente;
- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ligados juntos através de ligações de amida, cuja cadeia – através de uma ligação de amida – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia B da insulina parente, os resíduos de aminoácido de W sendo selecionados do grupos de resíduos de aminoácido tendo um substituinte neutro e resíduos de aminoácido tendo um grupo ácido carboxílico no substituinte de modo que W tem pelo menos um resíduo de aminoácido que tem um grupo ácido carboxílico no substituinte; ou
- uma ligação

Q<sub>2</sub> é:

- -COCH(CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- 30   • -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-;
- -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-;
- -(CO-(C R<sub>9</sub>R<sub>10</sub>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sub>9</sub> e R<sub>10</sub> podem ser, independentemente-

mente um do outro, H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou -CONH<sub>2</sub>; ou

- com a condição de que pelo menos um de Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> não seja uma ligação;

Q<sub>3</sub> é

- -((CR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-NR<sub>15</sub>-CO)<sub>1-4</sub>-, onde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e R<sub>15</sub> podem ser, independentemen-

5 te um do outro, H, -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou CONH<sub>2</sub> e R<sub>15</sub> pode ser arileno, que pode ser substituído com um ou dois grupos R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> conforme definidos acima;

- NR<sub>15</sub> onde R<sub>15</sub> é como definido acima,

- uma ligação

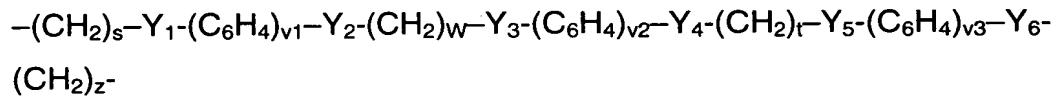
10 Q<sub>4</sub> é

- -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>- onde m é um número inteiro de 4 a 22;

• uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2 ou 3 -CH=CH- grupos e um número de grupos -CH<sub>2</sub>- suficiente para dar um número total de átomos de carbono na cadeia na faixa de 4 a 22;

15 • arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em -COOH, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>p</sub>CH<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-SO<sub>3</sub>H, -CONR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> ou -SO<sub>2</sub>NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, onde R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub>, podem ser, independentemente um do outro, H, -CH<sub>3</sub>, -(CH)<sub>1-6</sub>-CH<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou CONH<sub>2</sub>; ou

20 • uma cadeia de hidrocarboneto divalente da fórmula



em que Y<sub>1</sub> – Y<sub>6</sub> podem ser, independentemente um do outro, O; S ou uma ligação; onde s, w, t e z são, independentemente um do outro, zero ou um

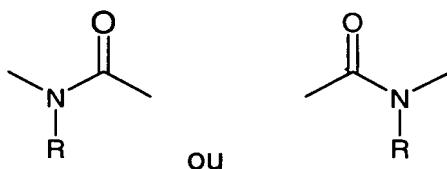
25 número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de s, w, t e z fique na faixa de 4 a 30, e v<sub>1</sub>, v<sub>2</sub>, e v<sub>3</sub> podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1 com a condição que Y<sub>1</sub> – Y<sub>6</sub> não se liguem um ao outro; ou

X<sub>1</sub> é

- O;

30 • -C=O

- uma ligação; ou



onde R é hidrogênio, C<sub>1-3</sub>-alquila, C<sub>2-3</sub>-alquenila ou C<sub>2-3</sub>-alquinila; e

X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub> e Q<sub>5</sub> são ligações;

todos os valores de n são zero; e

• Z é:

5 -COOH;

-CO-Asp;

-CO-Glu;

-CO-Gly;

-CO-Sar;

10 -CH(COOH)<sub>2</sub>;

-N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>;

-SO<sub>3</sub>H

-OSO<sub>3</sub>H

-OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>

15 -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou

-tetrazol-5-ila ou

-O-W<sub>1</sub>,

onde W<sub>1</sub> é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em -COOH, -SO<sub>3</sub>H,

20 -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, -CONR<sub>13</sub>R<sub>14</sub> ou -SO<sub>2</sub>NR<sub>12</sub>R<sub>14</sub>, onde R<sub>13</sub> e R<sub>14</sub> podem ser, independentemente um do outro, H, -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-

PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, -CONH<sub>2</sub> ou tetrazo-5-lila;

e qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup> deste.

39a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 38a, em  
25 que Q<sub>1</sub> é um resíduo de amida de aminoácido tendo de 4 a 10 átomos de carbono.

40a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a a 39a, em que Q<sub>1</sub> é selecionado do grupo que consiste em β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida, γ-L-Glu-amida e γ-D-Glu-amida.

41a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 38a, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de resíduos de amida de aminoácido.

42a. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 38a ou 41a, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de dois resíduos de amida de aminoácido selecionados do grupo que consistem em β-L-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-D-Asp-amida.

43a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a a 42a, em que Q<sub>2</sub> é uma ligação.

44a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a a 42a, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste em CO(CONH<sub>2</sub>)CH-; -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>- e -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-.

45a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 44a, em que Q<sub>1</sub> é uma ligação.

46a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a, 44a ou 45a, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste em -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NH-CO)<sub>1-</sub> ou -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-CO)<sub>1-4-</sub>.

47a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 37a, em que Q<sub>4</sub> é -(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-Y<sub>1</sub>-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)<sub>v1</sub>-Y<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>w</sub>-Y<sub>3</sub>-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)<sub>v2</sub>-Y<sub>4</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>-Y<sub>5</sub>-(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)<sub>v3</sub>-Y<sub>6</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>-, em que Y<sub>1</sub> – Y<sub>6</sub> podem ser, independentemente um do outro, O; S ou uma ligação; onde s, w, t e z são, independentemente um do outro, zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de s, w, t e z fique na faixa de 4 a 30, e v<sub>1</sub>, v<sub>2</sub>, e v<sub>3</sub> podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1 com a condição que Y<sub>1</sub> – Y<sub>6</sub> não se liguem um ao outro.

48a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 37a ou 46a, em que pelo menos dois de v<sub>1</sub>, v<sub>2</sub>, ou v<sub>3</sub> são zero.

49a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos pa-

rágrafos 38a, 47a ou 48a, em que  $Y_1$  –  $Y_6$  são ligações.

50a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a, 47a ou 48a, em que pelo menos um de  $Y_1$  –  $Y_6$  são O ou S.

51a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a, 47a ou 48a, em que  $Y_1$  é O ou S e  $v_1$  é um.

52a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a a 51a, em que Z é  $-COOH$ .

53a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a a 51a, em que Z é  $-CH(COOH)_2$ .

10 54a. Um Derivado de insulina de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a a 51a, em que Z é  $-N(CH_2COOH)_2$ .

55a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a a 51a, em que Z é  $-SO_3H$ .

15 56a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a a 51a, em que Z é  $-PO_3H$ .

57a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 38a a 51a, em que Z é  $O-W_1$ ,

onde  $W_1$  é arileno ou heteroarileno, que pode ser substituído com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em  $-COOH$ ,  $-SO_3H$ ,

20  $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ ,  $-CONR_{13}R_{14}$  ou  $SO_2NR_{12}R_{14}$ , onde  $R_{13}$  e  $R_{14}$  podem ser, independentemente um do outro, H,  $-SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ ,  $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ ,  $-CONH_2$  ou tetrazo-5-ila.

58a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a-19a ou 38a a 57a, em que o derivado de insulina é selecionado 25 do grupo que consiste em  $N^{eB29}-10-(4-carboxifenóxi)-decanoil-\gamma-L-glutamil-amida$  insulina humana desB30,  $N^{eB29}-4-[11-(4-carboxifenil)undecanoilamino]butirila$  insulina humana desB30.

59a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 11a, em que

30 Q<sub>1</sub> é:

- um resíduo de amida de α-aminoácido tendo um grupo ácido carboxílico no substituinte, cujo resíduo forma com um de seus grupos ácido carboxílico,

um grupo amida junto com o grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou junto com o grupo  $\alpha$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia B da insulina;

- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de  $\alpha$ -aminoácido ligados juntos através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação amida – é ligada ao grupo  $\alpha$ -amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B ou ao grupo  $\epsilon$ -amino de um resíduo Lys presente na cadeia B da insulina parente, os resíduos de aminoácidos de W sendo selecionados do grupo de resíduos de aminoácidos tendo um substituinte neutro e resíduos de aminoácido tendo um grupo ácido carboxílico no substituinte de modo que W tem pelo menos um resíduo de aminoácido, que tem um grupo ácido carboxílico no substituinte; ou
- uma ligação

$Q_2$  é:

- 15 • -COCH(CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- 20 • -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-;
- -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-;
- -(CO-(CR<sub>9</sub>R<sub>10</sub>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sub>9</sub> e R<sub>10</sub> podem ser, independentemente um do outro, H, —CH<sub>3</sub>, —(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou —CONH<sub>2</sub>; ou
- 25 • uma ligação

com a condição de que pelo menos um de Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> não seja uma ligação; n é independentemente 2 ou 3;

Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>, e Q<sub>5</sub> podem ser, independentemente um do outro,

- 30 • (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>-; (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>-; (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>-;  
(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>- ou (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>-;  
-(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>- onde y é 1-20;

- $-(CH_2)_m-$  onde m é um número inteiro na faixa de 1 a 32;
  - uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2 ou 3 grupos  $-CH=CH-$  e um número de grupos  $-CH_2-$  suficiente para dar um número total de átomos de carbono na cadeia na faixa de 4 a 32;
- 5     •  $-(CR_3R_4)_{1-6}-(NHCO-(CR_3R_4)_{1-6}-NHCO)_{1-2}-(CR_3R_4)_{1-6}$  ou  $-(CR_3R_4)_{1-6}-(CONH-(CR_3R_4)_{1-6}-CONH)_{1-2}-(CR_3R_4)_{1-6}-$ ,    $-(CR_3R_4)_{1-6}-(NHCO-(CR_3R_4)_{1-6}-CONH)_{1-2}-(CR_3R_4)_{1-6}$  ou  $-(CR_3R_4)_{1-6}-(CONH-(CR_3R_4)_{1-6}-NHCO)_{1-2}-(CR_3R_4)_{1-6}$  onde  $R_3$  e  $R_4$  podem ser, independentemente um do outro, H, -COOH ou OH,
- 10    •  $-(CR_5R_6)_{1-6}-$ , onde  $R_5$  e  $R_6$  podem ser, independentemente um do outro, e independentemente para cada carbono H, -COOH,  $(CH_2)_{1-6}COOH$ ; ou

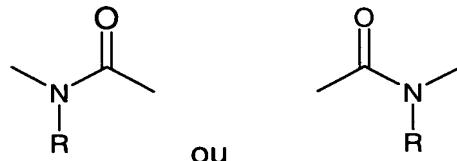
• uma ligação;

com a condição  $Q_3 - Q_5$  sejam diferentes;

$X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  são independentemente

• O;

- 15    •  $-C=O$ ;
- uma ligação; ou



onde R é hidrogênio,  $C_{1-3}$ -alquila,  $C_{2-3}$ -alquenila ou  $C_{2-3}$ -alquinila; e

Z é:

-COOH;

- 20    - $CO-Asp$ ;
- $CO-Glu$ ;
- $CO-Gly$ ;
- $CO-Sar$ ;
- $CH(COOH)_2$ ;
- 25    - $N(CH_2COOH)_2$ ;
- $SO_3H$
- $OSO_3H$
- $OPO_3H_2$
- $PO_3H_2$  ou

-tetrazol-5-ila  
e qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup> deste.

60. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 59a, em que Q<sub>1</sub> é um resíduo de amida de aminoácido tendo de 4 a 10 átomos de carbono.

61a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a a 60a, em que Q<sub>1</sub> é selecionado do grupo que consiste em β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida, γ-L-Glu-amida e γ-D-Glu-amida.

62a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 59a, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de resíduos de amida de aminoácido.

63a. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 59a a 62a, em que Q<sub>1</sub> é uma cadeia de dois resíduos de amida de aminoácidos selecionados do grupo que consiste em β-L-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-L-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-L-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-L-Glu-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-L-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-L-Asp-amida, β-D-Asp-amida-β-D-Asp-amida, β-D-Asp-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-γ-D-Glu-amida, γ-D-Glu-amida-β-D-Asp-amida.

64a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a a 63a, em que Q<sub>2</sub> é uma ligação.

65a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a a 63a, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste em CO(CONH<sub>2</sub>)CH-; -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-; -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-.

66a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a ou 65a, em que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste em -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NH-CO)<sub>1</sub>- ou -(CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-.

67a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 65a ou 66a, em que Q<sub>1</sub> é uma ligação.

68a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a a 67a, em que um de Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub> ou Q<sub>5</sub> é -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>, onde m é um

número inteiro na faixa de 1 a 32 ou 1 a 12.

69a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a a 67a, em que um de Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>, ou Q<sub>5</sub> é (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>–; (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>–; (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>–; (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>– ou 5 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>–; –(CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>– onde y é 1 a 20.

70a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 69a, em que um de Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>, ou Q<sub>5</sub> é (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>– ou (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O) onde y está na faixa de 2 a 12, 2 a 4 ou 2 a 3.

71a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a, 69a ou 70a, em que y é 1. 10

72a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a a 71a, em que Z é –COOH.

73a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a a 71a, em que Z é –CH(COOH)<sub>2</sub>.

74a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a a 71a, em que Z é –N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>. 15

75a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a a 71a, em que Z é –SO<sub>3</sub>H.

76a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 59a a 71a, em que Z é –PO<sub>3</sub>H. 20

77a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 19a ou 59a a 76a, selecionado do grupo que consiste em N<sup>εB29</sup>-(3-(3-{4-[3-(7-carboxieptanoilamino)propóxi]butóxi}propilcarbamoil)-propionil-γ-glutamilamida) insulina humana desB30.

78a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 77a, em que a insulina parente é insulina humana ou insulina de porco. 25

79a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 1a a 77a, em que a insulina parente é um análogo de insulina.

80a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 78a a 79a, em que o resíduo de aminoácido na posição B30 da insulina parente é Lys ou foi deletado. 30

81a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 80a, em que a insulina parente é insulina humana desB30.

82a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 78a a 81a, em que o resíduo de aminoácido na posição B1 da insulina parente foi deletado.

83a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 78a a 82a, em que o resíduo de aminoácido na posição A21 da insulina parente é Gly ou Asn.

84a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 78a a 83a, em que o resíduo de aminoácido na posição B3 da insulina parente é Lys.

85a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 78a a 84a, em que o resíduo de aminoácido na posição B28 da insulina parente é Asp ou Lys.

86a. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos 78a a 85a, em que o resíduo de aminoácido na posição B29 da insulina parente é Pro ou Thr.

87a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 85a, em que a insulina parente é Insulina humana AspB28.

88a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 83a, em que a insulina parente é Insulina humana GlyA21 ou GlyA21insulina humana desB30 ou Insulina humana GlyA21ArgB31ArgB32.

89a. Derivado de insulina, de acordo com o parágrafo 84a, em que a insulina parente é Insulina humana LysB3GluB29.

90a. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 85a a 86a, em que a insulina parente é Insulina humana LysB28ProB29.

91a. Derivado de insulina, de acordo com os parágrafos 80a e 86a, em que a insulina parente é Insulina humana ThrB29LysB30.

92a. Complexo de zinco de um derivado de insulina conforme definido em qualquer um dos parágrafos precedentes, em que cada hexâmero de insulina liga dois íons zinco, três íons zinco ou quatro zinco.

93a. Composição farmacêutica para o tratamento de diabetes

em um paciente que necessite de tal tratamento, compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina conforme definido em qualquer um dos parágrafos precedentes juntamente com um veículo farmaceuticamente aceitável.

5           94a. Composição farmacêutica para o tratamento de diabetes em um paciente que necessite de tal tratamento, compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina conforme definido em qualquer um dos parágrafos precedentes em mistura com uma insulina ou um análogo de insulina, que tem um início de ação rápido, juntamente  
10          com um veículo farmaceuticamente aceitável.

15           95a. Método para tratar diabetes em um paciente que necessite de tal tratamento, compreendendo administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina, conforme definido em qualquer um dos parágrafos 1a a 94a, juntamente com um veículo farmaceuticamente aceitável.

20           94a. Método para tratar diabetes em um paciente que necessite de tal tratamento, compreendendo administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina, conforme definido em qualquer um dos parágrafos 1a a 94a, em mistura com uma insulina ou aná-  
logo de insulina, que tem um início de ação rápido, juntamente com um veí-  
culo farmaceuticamente aceitável.

25           97a. Método, de acordo com os parágrafos 95a ou 96a, para tra-  
tamento pulmonar de diabetes.

              98a. Mistura de um derivado de insulina conforme definido em  
25          qualquer um dos parágrafos 1a a 92a e um análogo de insulina de ação rá-  
pida selecionado do grupo que consiste em Insulina humana AspB28; Insuli-  
na humana LysB28ProB29 e Insulina humana LysB3GluB29.

99a. Derivado de insulina conforme descrito nos exemplos.

30           O produto de partida para a acilação, a insulina parente ou aná-  
logo de insulina ou um precursor destes podem ser produzidos ou por síntese  
de peptídeo bem-conhecida ou por produção recombinante em microrgan-  
ismos transformados adequados. Assim, o produto de partida de insulina

pode ser produzido por um método que compreende cultivar uma célula hospedeira contendo uma seqüência de DNA que codifica o polipeptídeo e é capaz de expressar o polipeptídeo em um meio nutriente adequado, sob condições que permitem a expressão do peptídeo, depois do que o peptídeo 5 resultante é recuperado da cultura.

O meio usado para cultivar as células pode ser qualquer meio convencional adequado para crescer células hospedeiras, tal como meio mínimo ou complexo, contendo suplementos apropriados. Tais meios estão disponíveis de fornecedores comerciais ou podem ser preparados de acordo 10 com receitas publicadas (por exemplo, em catálogos da American Type Culture Collection). O peptídeo produzido pelas células pode ser então recuperado do meio de cultura por procedimentos convencionais, incluindo separar as células hospedeiras do meio por centrifugação ou filtração, precipitar os componentes protéicos do sobrenadante ou do filtrado por meio de um sal, 15 por exemplo, sulfato de amônio, purificação por uma variedade de procedimentos cromatográficos, por exemplo, cromatografia de troca iônica, cromatografia de filtração em gel, cromatografia de afinidade, ou similares, dependendo do tipo de peptídeo em questão.

A seqüência de DNA que codifica a insulina pode ser adequadamente de origem genômica ou cDNA, por exemplo, obtida por preparação 20 de uma biblioteca genômica ou de DNA e selecionar as seqüências de DNA que codificam todo ou parte do polipeptídeo por hibridização, usando sondas de oligonucleotídeos sintéticas, de acordo com técnica padrão (vide, por exemplo, Sambrook, J, Fritsch, EF e Maniatis, T, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nova Iorque, 1989). A seqüência de DNA que codifica a insulina parente pode ser também preparada sinteticamente por métodos-padrão estabelecidos, por exemplo, o método de fosfoamidita descrito por Beaucage e Caruthers, *Tetrahedron Letters* 22 (1981), 1859 – 1869, ou o método descrito por Matthes *et al.*, *EMBO Journal* 3 (1984), 801 – 805. A seqüência de DNA pode ser também preparada por reação em cadeia de polimerase usando iniciadores específicos, 25 por exemplo, conforme descrita na Patente US 4.683.202 ou por Saiki *et al.*,

*Science* 239 (1988), 487 – 491.

A seqüência de DNA pode ser inserida em qualquer vetor, que pode ser convenientemente submetido a procedimentos de DNA recombinante, e a escolha do vetor dependerá, freqüentemente, da célula hospedeira na qual ele é para ser introduzido. Assim, o vetor pode ser um vetor de replicação autônoma, isto é, um vetor que existe como uma entidade extracromossômica, cuja replicação é independente da replicação cromossômica, por exemplo, um plasmídeo. Alternativamente, o vetor pode ser um que, quando introduzido em uma célula hospedeira, é integrado ao genoma da célula hospedeira e replicado junto com o(s) cromossomo(s) no(s) qual(ais) ele foi integrado.

O vetor é, por exemplo, um vetor de expressão no qual a seqüência de DNA que codifica a insulina parente é operavelmente ligado a segmentos adicionais para transcrição do DNA, tal como um promotor. O promotor pode ser qualquer seqüência de DNA que mostra atividade transcracional na célula hospedeira de escolha e pode ser derivado de genes que codificam proteínas, tanto homólogas como heterólogas, para a célula hospedeira. Exemplos de promotores adequados, para direcionar a transcrição do DNA, que codifica a insulina parente em uma variedade de células hospedeiras, são bem-conhecidos da técnica, vide, por exemplo, Sambrook et al., acima.

A seqüência de DNA que codifica a insulina parente pode ser também, se necessário, operavelmente ligada a um terminador adequado, sinais de poliadenilação, seqüências de intensificador transcracional, e seqüência de intensificador traducional. O vetor recombinante da invenção pode compreender ainda uma seqüência de DNA que permite que o vetor se replique na célula hospedeira em questão.

O vetor pode compreender também um marcador selecionável, por exemplo, um gene cujo produto complementa um defeito na célula hospedeira ou um que confira resistência a um fármaco, por exemplo, ampicilina, canamicina, tetraciclina, cloranfenicol, neomicina, higromicina ou metotrexato.

- Para direcionar um peptídeo da presente invenção na via secretora das células hospedeiras, uma seqüência de sinal secretora (também conhecida como uma seqüência líder, seqüência prepro ou seqüência pre) pode ser proporcionada no vetor recombinante. A seqüência de sinal secretora é unida à seqüência de DNA que codifica o peptídeo no quadro de leitura correta. Seqüências de sinal secretoras ficam comumente posicionadas em 5' para a seqüência que codifica o peptídeo. A seqüência de sinal secretora pode ser aquela normalmente associada ao peptídeo ou pode ser de um gene que codifica uma outra proteína secretada.
- Os procedimentos usados para ligar as seqüências de DNA que codificam a insulina parente, o promotor e, opcionalmente, o terminador e/ou seqüência de sinal secretora, respectivamente, e para inserir estas nos vetores adequados contendo a informação necessária para replicação, são bem-conhecidos por aqueles versados na técnica (cf., por exemplo, Sambrook et al., acima).

A célula hospedeira na qual a seqüência de DNA ou o vetor recombinante é introduzido pode ser qualquer célula que seja capaz de produzir o presente peptídeo e inclui bactérias, levedura, fungos e células eucarióticas superiores. Exemplos de células hospedeiras bem-conhecidas e usadas na técnica são, sem limitação, *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, ou cepas de células mamíferas BHK ou CHO.

A molécula de insulina parente é então convertida nos derivados de insulina da invenção por introdução do substituinte relevante ou na posição B1 ou na posição Lys escolhida na cadeia B. O substituinte pode ser introduzido por qualquer método conveniente e muitos métodos estão descritos na técnica anterior para acilação de um grupo amino. Mais detalhes aparecerão nos exemplos a seguir.

Os derivados de insulina, de acordo com a invenção, podem ser proporcionados na forma de compostos essencialmente isentos de zinco ou na forma de complexos de zinco. Quando complexos de zinco de um Derivado de insulina de acordo com a invenção, são proporcionados, dois íons de Zn<sup>2+</sup>, três íon de Zn<sup>2+</sup>, quatro íons de Zn<sup>2+</sup>, cinco íons de Zn<sup>2+</sup>, seis íons

de Zn<sup>2+</sup>, sete íons de Zn<sup>2+</sup>, oito íons de Zn<sup>2+</sup>, nove íons de Zn<sup>2+</sup> ou dez íons de Zn<sup>2+</sup> podem ser ligados por seis moléculas de derivado de insulina. As soluções de complexos de zinco dos derivados de insulina conterão misturas de tais espécies.

5 Em um aspecto, a invenção é relacionada a uma composição farmacêutica que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina ou um complexo de zinco do Derivado de insulina de acordo com a invenção, opcionalmente junto com um veículo farmaceuticamente aceitável e/ou um aditivo farmaceuticamente aceitável, cuja composição pode ser fornecida para o tratamento de diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e outros estados que causam hiperglicemia em pacientes que necessitam de tal tratamento.  
10

Em um aspecto da invenção, é proporcionado um método para tratar diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e outros estados que causam hiperglicemia em um paciente que necessite de tal tratamento, compreendendo administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição farmacêutica que compreende o derivado de insulina ou um complexo de zinco do derivado de insulina de acordo com a invenção, opcionalmente junto com um veículo farmaceuticamente aceitável e/ou aditivos farmaceuticamente aceitáveis.  
15  
20

Em um aspecto da invenção, é proporcionado um método para a fabricação de uma composição farmacêutica para uso no tratamento de diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e outro estados que causam hiperglicemia, a composição compreendendo um derivado de insulina ou um complexo de zinco do Derivado de insulina de acordo com a invenção, opcionalmente junto com um veículo farmaceuticamente aceitável e/ou aditivos farmaceuticamente aceitáveis.  
25

Em um aspecto da invenção, é proporcionada uma composição para tratar diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e outros estados que causam hiperglicemia em um paciente que necessite de tal tratamento, em que a composição compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina ou um complexo de zinco do Derivado de insulina de acordo  
30

com a invenção, em mistura com uma insulina ou análogo de insulina, que tem um início de ação rápido, opcionalmente junto com veículos e/ou aditivos farmaceuticamente aceitáveis.

Em um aspecto da invenção, é proporcionado um método para  
5 tratar diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e outros estados que causam hiperglicemia em um paciente que necessite de tal tratamento, compreendendo administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição farmacêutica que compreende o derivado de insulina ou um complexo de zinco do Derivado de insulina de acordo com a invenção, em  
10 mistura com uma insulina ou um análogo de insulina que tem início de ação rápido, opcionalmente junto com um veículo farmaceuticamente aceitável e/ou aditivos farmaceuticamente aceitáveis.

Em um aspecto da invenção é proporcionado um método para a fabricação de uma composição farmacêutica para uso no tratamento de diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e outros estados que causam hiperglicemia, em  
15 que a composição compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina ou um complexo de zinco do Derivado de insulina de acordo com a invenção, em mistura com uma insulina ou um análogo de insulina que tem início de ação rápido, opcionalmente junto com um veículo  
20 farmaceuticamente aceitável e/ou aditivos farmaceuticamente aceitáveis.

Em um aspecto, a invenção proporciona uma composição farmacêutica que é uma mistura de um derivado de insulina ou um complexo de zinco do Derivado de insulina de acordo com a invenção, e um análogo de insulina de início de ação rápido selecionado do grupo que consiste em  
25 Insulina humana AspB28; Insulina humana LysB28ProB29 e LysB3Glu29 insulina humana.

Um aspecto da invenção está relacionado a uma composição farmacêutica que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina ou um complexo de zinco do Derivado de insulina de acordo com a invenção, opcionalmente junto com um veículo farmaceuticamente aceitável e/ou um aditivo farmaceuticamente aceitável, que pode ser proporcionada para tratamento pulmonar de diabetes tipo 1, diabetes tipo  
30

2 e outros estados que causam hiperglicemia em pacientes que necessitam de tal tratamento.

Em um aspecto, a invenção é relacionada à aplicação de uma composição farmacêutica para o tratamento pulmonar de diabetes tipo 1, 5 diabetes tipo 2, e outros estados que causam hiperglicemia em um paciente que necessite de tal tratamento, em que a composição farmacêutica compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina ou um complexo de zinco do Derivado de insulina de acordo com a invenção, opcionalmente em mistura com uma insulina ou análogo de insulina, 10 que tem início de ação rápido, e opcionalmente junto com veículos e/ou aditivos farmaceuticamente aceitáveis.

Em um aspecto da invenção, é proporcionado um método para a fabricação de uma composição farmacêutica para uso no tratamento de diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, e outros estados que causam hiperglicemia, em 15 que a composição é usada para tratamento pulmonar de diabetes e compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina ou um complexo de zinco do Derivado de insulina de acordo com a invenção, opcionalmente em mistura com uma insulina ou um análogo de insulina, que tem início de ação rápido, e opcionalmente junto com um veículo farmaceuti- 20 camente aceitável e/ou aditivos farmaceuticamente aceitáveis.

O derivado de insulina, de acordo com a invenção e o análogo de insulina de ação rápida podem ser misturados em uma razão de cerca de cerca de 90/10%; cerca de 70/30% ou cerca de 50/50%.

Em um aspecto, a invenção é direcionada a uma composição 25 farmacêutica compreendendo um Derivado de insulina de acordo com a invenção, que é solúvel em valores de pH fisiológico.

Em uma aspecto, a invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende uma Derivado de insulina de acordo com a invenção, que é solúvel em valores de pH no intervalo de cerca de 6,5 a cerca 30 de 8,5.

Em um aspecto, a invenção refere-se a uma composição farmacêutica com um perfil de ação prolongada, que compreende um derivado de

insulina de acordo com a invenção.

Em um aspecto, a invenção refere-se a uma composição farmacêutica, que é uma solução que compreende de cerca de 120 nmols/mL a cerca de 2.400 mols/mL, de cerca de 400 nmols/mL a cerca de 2.400  
5 nmols/mL, de cerca de 400 nmols/mL a cerca de 1.200 nmols/mL, de cerca de 600 nmols/mL a cerca de 2.400 nmols/mL, ou de cerca de 600 nmols/mL a cerca de 1.200 nmols/mL de um derivado de insulina de acordo com a invenção ou de uma mistura do derivado de insulina de acordo com a invenção com um análogo de insulina de ação rápida.

10 Composições Farmacêuticas

Os derivados de insulina desta invenção da fórmula reivindicada podem ser, por exemplo, administrados via subcutânea, oral ou pulmonar.

Para administração subcutânea, os compostos da fórmula são formulados analogamente à formulação de insulinas conhecidas. Além disso,  
15 para administração subcutânea, os compostos da fórmula são administrados de forma análoga à administração de insulinas conhecidas e, geralmente, os médicos estão familiarizados com este procedimento.

Os derivados de insulina desta invenção podem ser administrados por inalação em um modo eficaz de dose para aumentar os níveis de  
20 insulina circulante e/ou para reduzir os níveis de insulina circulante. Tal administração pode ser eficaz para tratar distúrbios tais como diabetes ou hiperglicemia. A obtenção de doses eficazes de insulina requer a administração de uma dose inalada de derivado de insulina desta invenção de mais que cerca de 0,5 µg/kg a cerca de 50 µg/kg. Uma quantidade terapeuticamente eficaz pode ser determinada por um clínico com conhecimento, que levará em conta fatores que incluem nível de insulina, níveis de glicose no sangue, a condição física do paciente, o estado pulmonar do paciente, ou similares.

A administração por inalação pode resultar em farmacocinética  
30 comparável à administração subcutânea de insulinas. Dispositivos de inalação diferentes proporcionam, tipicamente, farmacocinética similar quando tamanhos de partícula similares, e níveis similares de deposição no pulmão

são comparados.

De acordo com a invenção, o derivado de insulina desta invenção pode ser distribuído por qualquer uma de uma variedade de dispositivos conhecida da técnica para administração de um agente terapêutico por inalação. Eses dispositivos incluem inaladores com dosador, nebulizadores, geradores de pó seco, spray e similares. O derivado de insulina desta invenção é distribuído por um inalador de pó seco ou um spray. Existem várias características desejáveis de um dispositivo de inalação para administrar o derivado de insulina desta invenção. Por exemplo, a distribuição através do dispositivo de inalação é vantajosamente confiável, reproduzível, e acurada. O dispositivo de inalação deve distribuir partículas pequenas, por exemplo, menos que cerca de 10 µm, por exemplo, cerca de 1 a 5 µm, por exemplo, para boa respirabilidade. Alguns exemplos específicos de dispositivos de inalação comercialmente disponíveis e adequados para a prática desta invenção são Turbohaler® (Astra), Rotahaler® (Glaxo), Diskus® (Glaxo), inalador Spiros® (Dura), dispositivos comercializados por Inhale Therapeutics, AERx® (Aradigm), o nebulizador Ultravent® (Mallinckrodt), o nebulizador Acorn II® (Marquest Medical Products), o inalador dosador Ventolin® (Glaxo), o inalador de pó Spinhaler® (Fisons), ou similares.

Conforme aqueles versados na técnica reconhecerão, a formulação de derivado de insulina desta a invenção, a quantidade da formulação distribuída, e a duração da administração de uma dose simples dependerão do tipo de dispositivo de inalação empregado. Para alguns sistemas de distribuição de aerosol, tais como nebulizadores, a freqüência de administração e o período de tempo para o qual o sistema é ativado dependerão principalmente da concentração do conjugado de insulina no aerosol. Por exemplo, períodos mais curtos de administração podem ser usados em concentrações mais altas de conjugado de insulina na solução nebulizadora. Dispositivos, tais como inalador com dosador, podem produzir concentrações mais altas no aerosol, e podem ser operados por períodos mais curtos para distribuir a quantidade desejada de conjugado de insulina. Os dispositivos, tais como inaladores de pó, distribuem o agente ativo até uma dada carga de agente

ser expelida do dispositivo. Nesse tipo de inalador, a quantidade do derivado de insulina desta invenção, em uma dada quantidade do pó, determina a dose distribuída em uma administração única.

O tamanho de partícula do derivado de insulina desta invenção  
5 na formulação distribuída pelo dispositivo de inalação é crítica com respeito à capacidade da insulina de chegar aos pulmões, e às vias aéreas inferiores ou alvéolos. O derivado de insulina desta invenção pode ser formulado de modo que pelo menos 10% do conjugado de insulina distribuído sejam depositados no pulmão, por exemplo, cerca de 10 a cerca de 20%, ou mais. É  
10 sabido que a eficiência máxima da deposição pulmonar para humanos respirando pela boca é obtida com tamanhos de partícula de cerca de 2 µm a cerca de 3 µm. Quando os tamanhos de partícula estão acima de cerca 5 µm, a deposição diminui substancialmente. Tamanhos de partículas abaixo de cerca 1µ causam a redução da deposição pulmonar, e fica difícil distribuir  
15 partículas com massa suficiente para serem terapeuticamente eficaz. Assim, as partículas do derivado de insulina distribuídas por inalação têm um tamanho de partículas menor que cerca de 10 µm, por exemplo, na faixa de cerca de 1 µm a cerca de 5 µm. A formulação do derivado de insulina é selecionada para render o tamanho de partícula desejado no dispositivo de inalação  
20 conhecido.

Vantajosamente, para administração como um pó seco, um derivado de insulina desta invenção é preparado em uma forma particulada com um tamanho de partícula menor que cerca de 10 µm, por exemplo, cerca de 1 a cerca de 5 µm. O tamanho de partícula é eficaz para a distribuição aos  
25 aovéolos do pulmão do paciente. O pó seco é amplamente composto de partículas produzidas de modo que a maioria das partículas tenha o tamanho na faixa desejada. Vantajosamente, pelo menos 50% do pó seco são feitos de partículas tendo um diâmetro menor que cerca de 10 µm. Tais formulações podem ser obtidas por secagem com spray, moagem, ou condensação no  
30 ponto crítico de uma solução contendo conjugado de insulina e outros ingredientes desejados. Outros métodos também adequados para gerar partículas úteis na corrente invenção são conhecidos da técnica.

As partículas são usualmente separadas de uma formulação de pó seco em um recipiente e então transportadas para o pulmão de um paciente via uma corrente de ar carreador. Tipicamente, nos inaladores de pó seco atuais, a força para quebrar o sólido é provida somente pela inalação 5 do paciente. Em um outro tipo de inalador, o fluxo de ar gerado pela inalação do paciente ativa um motor impulsor que desaglomera as partículas.

As formulações de derivados de insulina desta invenção, para administração através de um inalador de pó seco, incluem, tipicamente, um pó seco finamente dividido contendo o derivado, mas o pó pode incluir também 10 um agente avolumador, veículo, excipiente, um outro aditivo ou similar. Aditivos podem ser incluídos em uma formulação de pó seco de conjugado de insulina para, por exemplo, diluir o pó conforme requerido para distribuição a partir do inalador de pó particular, para facilitar o processamento da formulação, para proporcionar propriedades vantajosas à formulação, para 15 facilitar a dispersão do pó do dispositivo de inalação, para estabilizar a formulação (por exemplo, antioxidantes ou tampões), para proporcionar sabor à formulação, ou similares. Vantajosamente, o aditivo não afeta adversamente as vias aéreas do paciente. O derivado de insulina pode ser misturado com um aditivo em um nível molecular ou a formulação sólida pode incluir partículas 20 do conjugado de insulina misturado com, ou revestido sobre as partículas do aditivo. Aditivos típicos incluem mono-, di-, e polissacarídeos; álcoolis de açúcar e outros polióis, tais como, por exemplo, lactose, glicose, rafinose, melezitose, lactitol, maltitol, trealose, sacarose, manitol, amido, ou combinações destes; tensoativos, tais como sorbitóis, difosfatidil colina, ou 25 lecitina; ou similares. Tipicamente um aditivo, tal como um agente avolumador, está presente em uma quantidade eficaz para uma finalidade descrita acima, freqüentemente em cerca de 50% a cerca de 90% em peso da formulação. Agentes adicionais conhecidos da técnica para formulação de uma proteína, tal como uma proteína análogo de insulina, podem ser também 30 incluídos na formulação.

Um spray incluindo os derivados de insulina desta invenção pode ser produzido forçando uma suspensão ou solução de conjugado de insu-

lina através de um bocal sob pressão. O tamanho e a configuração do bocal, a pressão aplicada, e a taxa de alimentação de líquido podem ser selecionados para obter o rendimento e o tamanho de partícula, desejados. Um electroespray pode ser produzido, por exemplo, por um campo elétrico em conexão com um capilar ou alimentação de bocal. Vantajosamente, as partículas do conjugado de insulina distribuído por um spray têm um tamanho de partícula menor que cerca de 10 µm, por exemplo, na faixa de cerca de 1 µm a cerca de 5 µm.

As formulações de derivados de insulina, desta invenção, adequadas para uso com um spray, incluirão tipicamente o derivado de insulina em uma solução aquosa em uma concentração de cerca de 1 mg a cerca de 20 mg de conjugado de insulina por mL de solução. A formulação pode incluir agentes, tais como um excipiente, um tampão, um agente de isotonicidade, um conservante, um tensoativo e, por exemplo, zinco. A formulação pode incluir também um excipiente ou agente para estabilização do derivado de insulina, tais como um tampão, um agente redutor, uma proteína mássica, ou um carboidrato. Proteínas mássicas úteis na formulação de conjugados de insulina incluem albumina, protamina ou similares. Carboidratos típicos úteis na formulação de conjugados de insulina incluem sacarose, manitol, lactose, trealose, glicose, ou similares. A formulação de derivado de insulina pode incluir também tensoativo, que pode reduzir ou impedir a agregação induzida na superfície do conjugado de insulina causada por atomização da solução na formulação de um aerosol. Vários tensoativos convencionais podem ser empregados, tais como ésteres e álcoois de ácidos graxos de polioxietileno, e ésteres de ácido graxo de polioxietileno e sorbitol. Quantidades variarão em geral entre cerca de 0,001 e cerca de 4% em peso da formulação.

As composições farmacêuticas contendo um Derivado de insulina de acordo com a presente invenção, podem ser também administradas parenteralmente a pacientes que necessitem de tal tratamento. A administração parenteral pode ser realizada por injeção subcutânea, intramuscular ou intravenosa por meio de uma seringa, opcionalmente uma seringa similar

a uma caneta. Alternativamente, a administração parenteral pode ser realizada por meio de uma bomba de infusão. Outras opções são administrar a insulina via nasal ou pulmonar, por exemplo, em composições, pós, ou líquidos especificamente projetados para o propósito.

5 Composições injetáveis dos derivados de insulina da invenção podem ser preparadas usando as técnicas convencionais da indústria farmacêutica, que envolvem dissolver e misturar os ingredientes, conforme apropriado para dar o produto final desejado. Assim, de acordo com um procedimento, um Derivado de insulina de acordo com a invenção, é dissolvido  
10 em uma quantidade de água que é um pouco menor que o volume final da composição a ser preparada. Um agente isotônico, um conservante e um tampão são adicionados, conforme requeridos, e o valor de pH da solução é ajustado – se necessário – usando um ácido, por exemplo, ácido clorídrico, ou uma base, por exemplo, um hidróxido de sódio aquoso, conforme necessário.  
15 Finalmente, o volume da solução é ajustado com água para dar a concentração desejada dos ingredientes.

Em um outro aspecto da invenção, o tampão é selecionado do grupo que consiste em acetato de sódio, carbonato de sódio, citrato, glicilglicina, histidina, glicina, lisina, arginina, difosfato de sódio, hidrogeno-fosfato  
20 dissódico, fosfato de sódio, e tri(hidroximetil)-aminometano, bicina, tricina, ácido málico, succinato, ácido malélico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido aspártico ou misturas destes. Cada um desses tampões específicos constitui um aspecto alternativo da invenção.

Em um outro aspecto da invenção, a formulação compreende  
25 ainda um conservante farmaceuticamente aceitável, que pode ser selecionado do grupo que consiste em fenol, o-cresol, m-cresol, p-cresol, p-hidroxibenzoato de metila, p-hidroxibenzoato de propila, 2-fenoxietanol, p-hidroxibenzoato de butila, 2-feniletanol, álcool benzílico, clorobutanol, e tio-merosal, bronopol, ácido benzólico, imiduréia, cloroexidina, desidroacetato de sódio, clorocresol, p-hidroxibenzoato de etila, cloreto de benzetônio, clorfenesina (3p-clorefenoxipropano-1,2-diol) ou misturas destes. Em um outro aspecto da invenção, o conservante está presente em uma concentração de

0,1 mg/mL a 20 mg/mL. Em um outro aspecto da invenção, o conservante está presente em uma concentração de 0,1 mg/mL a 5 mg/mL. Em um outro aspecto, o conservante está presente em uma concentração de 5 mg/mL a 10 mg/mL. Em um outro aspecto da invenção, o conservante está presente em uma concentração de 10 mg/mL a 20 mg/mL. Cada um desses conservantes específicos constitui um aspecto da invenção. O uso de um conservante em composições farmacêuticas é bem-conhecido daquele versado na técnica. Por conveniência é feita referência à Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 19<sup>a</sup> Edição, 1995.

Em um outro aspecto da invenção, a formulação compreende ainda um agente isotônico que pode ser selecionado do grupo que consiste em um sal (por exemplo, cloreto de sódio), um açúcar ou álcool de açúcar, um aminoácido (por exemplo, glicina, L-histidina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptofano, treonina), um alditol (por exemplo, glicerol (glicerina), 1,2-propanodiol (propileno glicol), 1,3-propanodiol, 1,3-butanodiol), polietilenoglicol (por exemplo, PEG400), ou misturas destes. Qualquer açúcar, tais como mono-, di-, ou polissacarídeos, ou glicanas solúveis em água, incluindo, por exemplo, frutose, manose, sorbose, xilose, maltose, lactose, sacarose, trealose, dextrana, pululano, ciclodextrina, amido solúvel, hidroxietil amido e carboboximetilcelulose-Na podem ser usados. Em um aspecto, o aditivo de açúcar é sacarose. Álcool de açúcar é definido como um hidrocarboneto C4-C8 tendo pelo menos um grupo -OH e inclui, por exemplo, manitol, sorbitol, inositol, galactitol, dulcitol, xilitol e arabinol. Em um aspecto o aditivo de álcool de açúcar é manitol. Os açúcares e álcoois de açúcar mencionados acima podem ser usados individualmente ou em combinação. Não há limite fixado para a quantidade usada desde que o açúcar ou álcool de açúcar seja solúvel na preparação líquida e não afete adversamente os efeitos estabilizadores usando os métodos da invenção. Em um aspecto, a concentração de açúcar ou de álcool de açúcar está entre cerca de 1 mg/mL e cerca de 150 mg/mL. Em um outro aspecto da invenção, o agente isotônico está presente em uma concentração de 1 mg/mL a 50 mg/mL. Em um outro aspecto da invenção, o agente isotônico está presente em uma concentração de 1

mg/mL a 7 mg/mL. Em um outro aspecto da invenção, o agente isotônico está presente em uma concentração de 8 mg/mL a 24 mg/mL. Em um outro aspecto da invenção, o agente isotônico está presente em uma concentração de 25 mg/mL a 50 mg/mL. Cada um desses agentes isotônicos constitui 5 um aspecto alternativo da invenção. O uso de agente isotônico em composições farmacêuticas é bem-conhecido do versado na técnica. Por conveniência, referência é feita a Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 19<sup>a</sup> Edição, 1995.

Agentes isotônicos típicos são cloreto de sódio, manitol, dimetil 10 sulfona e glicerol, e conservantes típicos são fenol, m-cresol, p-hidroxibenzoato de metila e álcool benzílico.

Exemplos de tampões adequados são acetato de sódio, HEPES ácido (4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanossulfônico) e fosfato de sódio.

Uma composição para administração nasal de um Derivado de 15 insulina de acordo com a presente invenção, pode ser, por exemplo, preparada conforme descrição na Patente EP 272097 (Novo Nordisk A/S).

Composições contendo derivados de insulina desta invenção podem ser usadas no tratamento de estados que são sensíveis à insulina. Assim, ela pode ser usada no tratamento de diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 20 e hiperglicemia, por exemplo, algumas vezes vista em pessoas seriamente lesionadas e pessoas que foram submetidas a uma cirurgia grande. O nível de dose ótima para qualquer paciente dependerá de uma variedade de fatores, inclusive a eficácia do derivado de insulina específico empregado, a idade, peso corpóreo, atividade física, e dieta do paciente, de uma combinação 25 possível com outros fármacos, e da gravidade do estado a ser tratado. É recomendado que a dosagem diária do derivado de insulina desta invenção seja determinada, para cada indivíduo, por aquele versado na técnica, em um modo similar como para as composições de insulina conhecidas.

Quando conveniente, os derivados de insulina desta invenção 30 podem ser usados em mistura com outros tipos de insulina, por exemplo, análogos de insulina com um início de ação mais rápido. Exemplos de tais análogos de insulina são descritos, por exemplo, nos pedidos de patente

europeus publicados como EP 214826 (Novo Nordisk A/S), EP 375437 (Novo Nordisk A/S) e EP 383472 (Eli Lilly & Co.).

A presente invenção é ainda ilustrada pelos seguintes exemplos, que, contudo, não são para serem interpretados como limitativos do escopo  
5 da invenção.

#### Descrição dos Desenhos

Figura 1: cromatografia de exclusão de tamanho do derivado de insulina no exemplo 2 em mistura com a insulina Aspart (B28Asp insulina humana). O teor de insulina, em cada pico individual, é quantificado por  
10 HPLC. O derivado de insulina e Aspart em formulações com 2,1 Zn(II) por hexâmero ou 6 Zn(II) por hexâmero elui como duas porções separadas (insulina de alto peso molecular e insulina de baixo peso molecular, respectivamente). Os experimentos SEC são realizados de acordo com o exemplo  
20.

Figura 2: perfil de ação de gancho (“clamp”) depois da injeção subcutânea do derivado de insulina descrito no exemplo 2, em diferentes concentrações e com diferentes concentrações de Zn(II), demonstrando que o perfil de ação do derivado de insulina é similar se o derivado de insulina for administrado com 2,3 ou 6 Zn(II) por seis insulinas ou como formulações  
20 600 $\mu$ M ou 1.200 $\mu$ M. O experimento de gancho é realizado de acordo com o Exemplo 21.

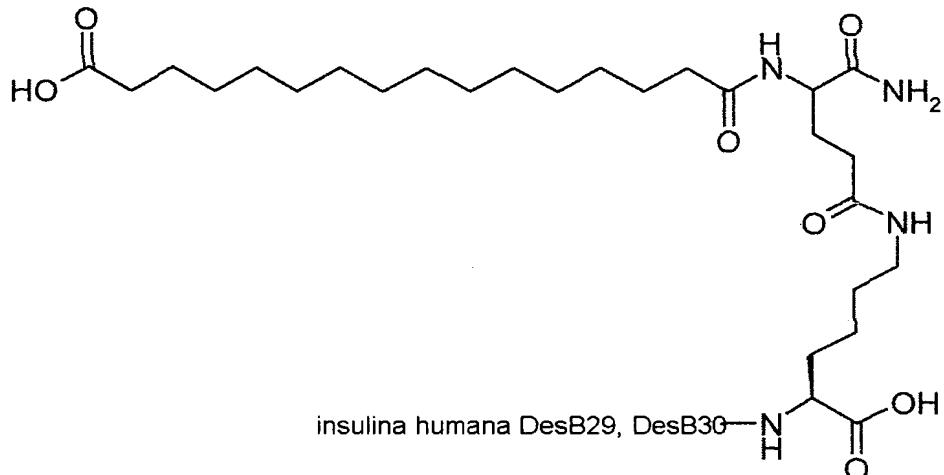
Figura 3: perfil de ação de gancho depois da injeção subcutânea descrito no exemplo 2 em mistura com a insulina Aspart, ou como injeções individuais, demonstrando que não há “blunting” dos perfis de ação de insulina individuais. O experimento de gancho é realizado de acordo com o exemplo 21.

Figura 4: perfil de ação de gancho depois de injeção subcutânea do derivado de insulina no exemplo 2 em três doses demonstrando efeito longo da ação de insulina. O experimento de gancho é realizado de acordo  
30 com o exemplo 21.

## Exemplos

### Exemplo 1

## Síntese de N<sup>eB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30



## 5 Etapa 1: hexadecandoato de mono-terc-butila

Ácido hexanodioíco (40,0 g, 140 mmols) foi suspenso em tolueno (250 mL) e a mistura foi aquecida para refluxo. N,N-dimetilforamamida di-terc-butil acetal (76,3 g, 375 mmols) foi adicionado,gota-a-gota, durante 4 horas. A mistura foi refluxada durante a noite. O solvente foi removido a vácuo a 50°C, e o material bruto foi suspenso em DCM/AcOEt (500 mL, 1:1) e agitado por 15 minutos. Os sólidos foram coletados por filtração e triturados com DCM (200 mL). O filtrado foi evaporado, a vácuo, para dar o hexacandioato de mono-terc-butila bruto, 30 gramas. Esse material foi suspenso em DCM (50 mL), resfriado com gelo por 10 minutos, e filtrado. O solvente foi removido a vácuo para deixar 25 gramas de hexacandioato de mono-terc-butila, que foram recristalizados de heptano (200 mL) para dar hexadecanodioato de mono-terc-butila, 15,9 g (33%).

RMN H<sup>1</sup> (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,35 (t, 2H), 2,20 (t, 2H), 1,65-1,55 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 1,34-1,20 (m, 20H).

#### 20 Etapa 2: Hexadecanoato de mono-terc-butila

O éster mono-terc-butílico (2 g, 5,8 mmols) foi dissolvido em THF (20 mL) e tratado com TSTU (2,1 g, 7,0 mmols) e DIEA (1,2 mL, 7,0

mmols) e agitado durante a noite. A mistura foi filtrada, e o filtrado foi evaporado a vácuo. O resíduo foi dissolvido em AcOET e lavado com HCl gelado e água a 0,1M. Secagem sobre MgSO<sub>4</sub> e evaporação a vácuo deu ter-hexadecандioato de succinimidil terc-butila, 2,02 g (79%).

5 RMN H<sup>1</sup> (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,84 (s, 4H), 2,60 (t, 2H), 2,20 (t, 2H), 1,74 (p, 2H), 1,56 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,40 (m, 2H), 1,30-1,20 (m, 18H).

Etapa 3: ω-terc-butil-carbóxi-pentadecanoil-L-glutamilamida

Hexandecандioato de mono-terc-butil succinimidila (100 mg, 0,277 mmol) foi dissolvido em DMF (2 mL) e tratado com L-glutamilamida (37 mg, 0,25 mmol) e DIEA (58 μL, 0,34 mmol) e a mistura foi agitada durante a noite. O solvente foi evaporado a vácuo, e o produto bruto foi dissolvido em AcOEt, e lavado duas vezes com HCl a 0,2M, com água e salmoura. Secagem sobre MgSO<sub>4</sub> e evaporação a vácuo renderam renderam ω-terc-butil-carbóxi-pentadecanoil-L-glutamilamida, 85 mg (80%).

15 RMN H<sup>1</sup> (CDCl<sub>3</sub>) δ: 6,98 (s, 1H), 6,60 (d, 1H), 5,88 (s, 1H), 4,69 (m, 1H), 2,55-2,41 (m, 2H), 2,25-2,18 (m, 2H), 2,14 (m, 1H), 1,93 (m, 1H), 1,65-1,54 (m, 4H) 1,44 (s, 9H), 1,27 (br, 20H).

Etapa 4: éster γ-succinimidílico de ω-terc-butil-carbóxi-pentadecanoil-L-glutamilamida

20 ω-terc-butil-carbóxi-pentadecanoil-L-glutamilamida (85 g, 0,181 mmol) foi dissolvida em THF (1 mL) e tratado com TSTU (65 g, 0,217 mmol) e DIEA (37 μL, 0,217 mmol) e agitada durante a noite. A mistura foi filtrada, e o filtrado foi evaporado a vácuo. O resíduo foi dissolvido em AcOEt e lavado duas vezes com HCl a 0,1M gelado e água. Secagem sobre MgSO<sub>4</sub> e evaporação a vácuo renderam éster γ-succinimidílico de pentadecanoil-L-glutamilamida, 91 mg (89%).

25 RMN H<sup>1</sup> (CDCl<sub>3</sub>) δ: d: 6,59 (s, 1H), 6,41 (d, 1H), 5,56 (s, 1H), 4,62 (m, 1H), 3,02-2,94 (dd, 2H), 2,84 (s, 4H), 2,71-2,58 (m, 2H), 1,76 (m, 1H), 1,53-1,63 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 1,25 (br, 20H).

30 Etapa 5: N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30

Insulina humana desB30 (500 mg, 0,088 mmol) foi dissolvida em

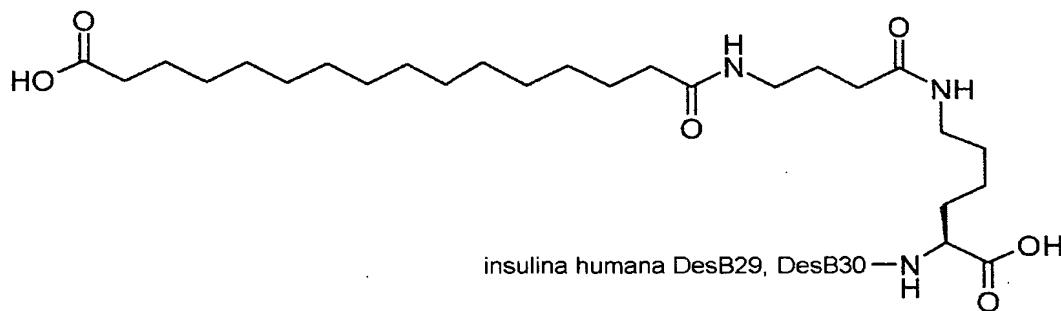
$\text{Na}_2\text{CO}_3$  100Mm (5 mL, pH 10,2), à temperatura ambiente. Éster de  $\gamma$ -succinimidílico de pentadecanoil-L-glutamilamida, (57 mg, 0,105 mmols), foi dissolvido em acetonitrila (5 mL) e, subseqüentemente, adicionado à solução de insulina. Depois de 30 minutos, metilamina a 0,2M (0,5mL) foi adicionada.

- 5 O pH foi ajustado com HCl para 5,5, e o precipitado isoelétrico foi coletado por centrifugação e seco a vácuo para dar 423 mg. O rendimento de aco-  
plamento foi de 42% (RP-HPLC, e, uma coluna C4; Tampão A: 10% de  
MeCN em 0,1% de TFA-água, Tampão B: 80% de MeCN em 0,1% de TFA-  
água; gradiente de 20% a 90% B em 16 minutos). O produto protegido foi  
10 dissolvido em 95% de TFA (12 mL), deixado 30 minutos, e evaporado a vá-  
cuo. O produto bruto foi dissolvido em água e lyophilizado.

<sup>15</sup> N<sup>eB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30 foi purificada por RP-HPCL em coluna C4, tampão A: 20% de EtOH + 0,1%, tampão B: 80% de EtOH + 0,1% de TFA; gradiente de 15% a 60% B, seguido por HPLC em coluna C4, tampão A: 10mM de Tris + 15mM de sulfato de amônio em 20% de EtOH, pH 7,3, tampão B: 80% de EtOH, gradiente de 15 a 60% de B. As porções coletadas foram dessalgadas em Sep-Pak com 70% de acetonitrila + 0,1% de TFA, neutralizadas por adição de amônia e lyophilizadas. O rendimento não-otimizado foi de 50 mg, 12%. A pureza conforme avaliada por HPLC foi >98%; LCMS 6102,8;  
<sup>20</sup> C<sub>274</sub>H<sub>412</sub>N<sub>66</sub>O<sub>80</sub>S<sub>6</sub> requer 6.103,1.

## Exemplo 2

## Síntese de N<sup>ε</sup>B<sup>29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-γ-amino-butanoíla insulina humana desB30



- 25 Este composto foi preparado de ácido hexadecandióico e ácido  $\gamma$ -aminobutírico, em analogia com o Exemplo 1.

Éster succinimidílico de ácido  $\omega$ -t-butil-carbóxi-pentadecanoil- $\gamma$ -amino-butírico

5 RMN H<sup>1</sup> (CDCl<sub>3</sub>) δ: 5,80 (m, 1H), 3,36 (dd, 2H), 2,84 (s, 4H), 2,65 (t, 2H), 2,21-2,13 (m, 4H), 1,99 (p, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,66-1,51(m, 6H), 1,25 (br, 20H).

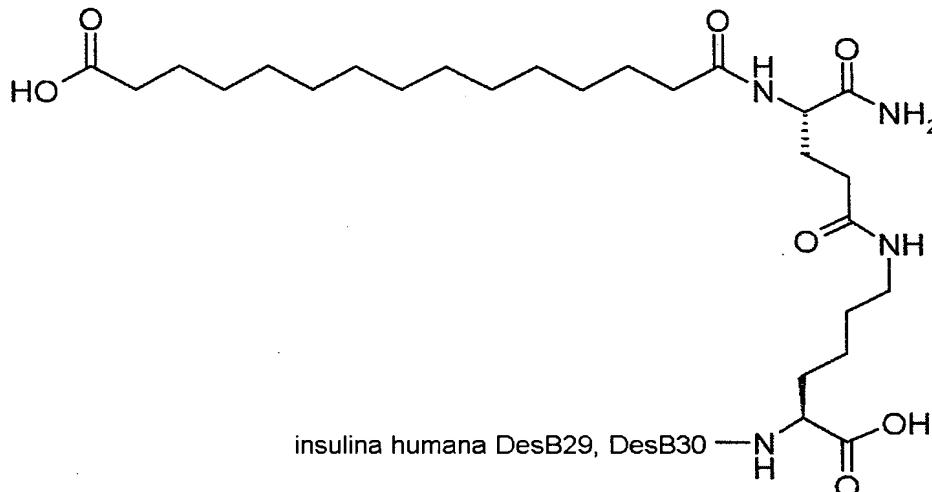
N<sup>εB29</sup>- $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30

LCMS 6059,9; C<sub>273</sub>H<sub>411</sub>N<sub>65</sub>O<sub>79</sub>S<sub>6</sub> requer 6060,1.

Exemplo 3

Síntese de N<sup>εB29</sup>- $\omega$ -carbóxi-tetradecanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana

10 desB30

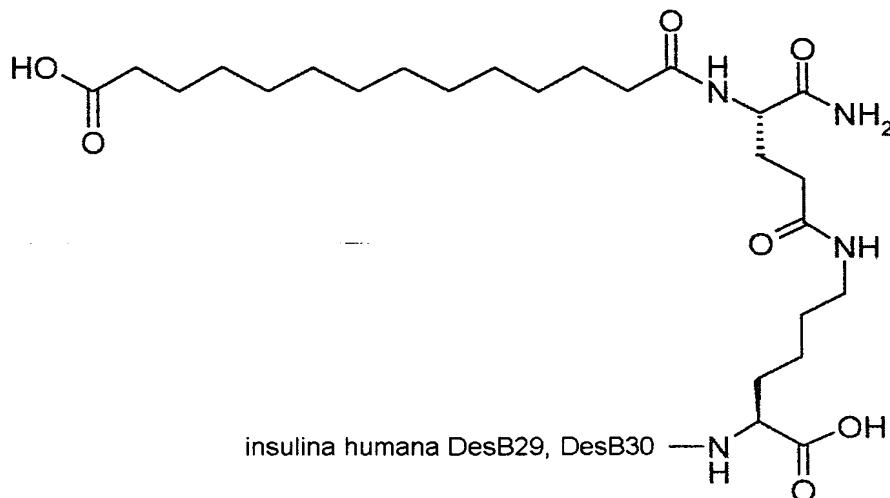


Este composto foi preparado a partir de ácido pentadecandióico e L-glutamilamida em analogia com o Exemplo 1.

LCMS 6088,2; C<sub>273</sub>H<sub>410</sub>N<sub>66</sub>O<sub>80</sub>S<sub>6</sub> requer 6089,1.

Exemplo 4

Síntese de N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-tridecanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30

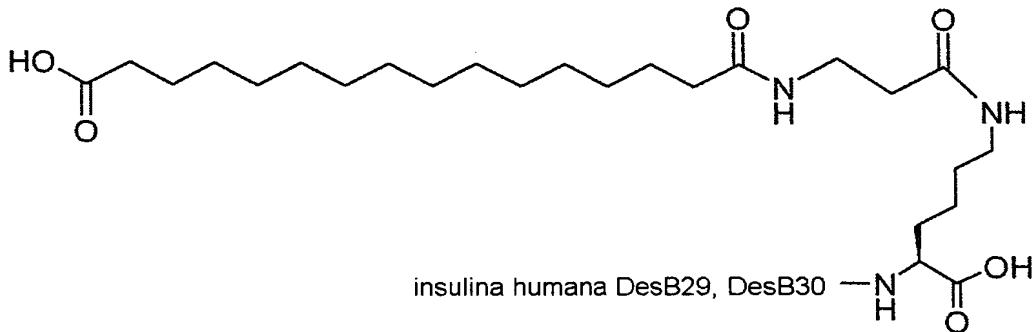


Este composto foi preparado a partir de ácido tetradecandióico  
5 de L-glutamilamida em analogia com o exemplo 1.

LCMS 6075,3; C<sub>272</sub>H<sub>408</sub>N<sub>66</sub>O<sub>80</sub>S<sub>6</sub> requer 6075,1.

Exemplo 5

Síntese de N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-β-alanila insulina humana desB30

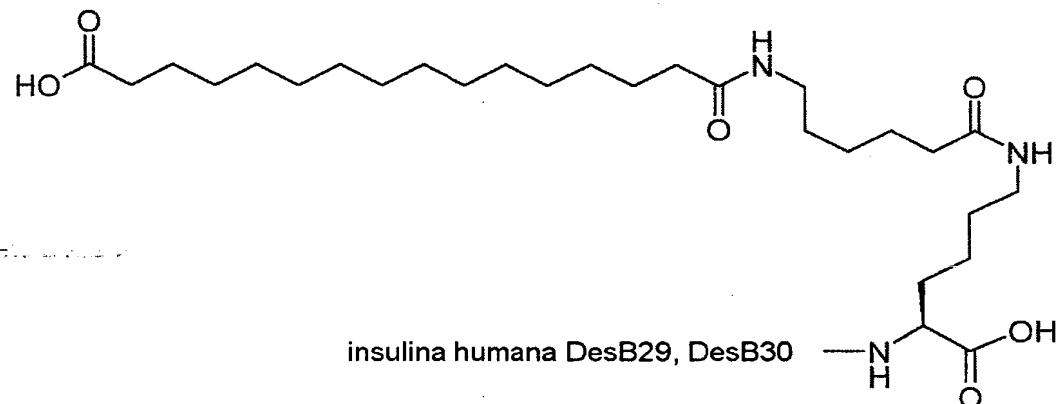


Este composto foi preparado a partir de ácido hexadecandióico e  
10 β-alanina em analogia com o Exemplo 1.

LCMS 6044,8; C<sub>272</sub>H<sub>409</sub>N<sub>65</sub>O<sub>79</sub>S<sub>6</sub> requer 6046,1.

Exemplo 6

Síntese de N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-γ-L-aspartilamida insulina humana desB30



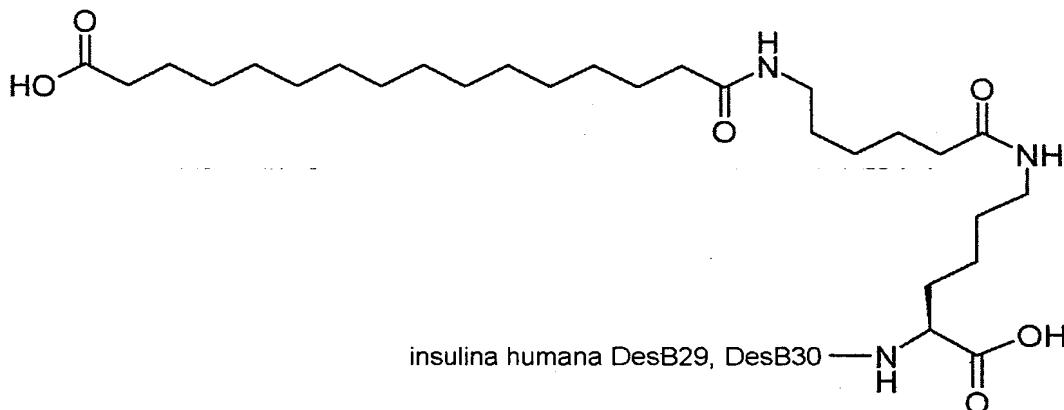
Este composto foi preparado a partir de ácido hexadecandióico e

- 5 L-aspartilamida em analogia com o Exemplo 1.

LCMS 6088,8; C<sub>273</sub>H<sub>410</sub>N<sub>66</sub>O<sub>80</sub>S<sub>6</sub> requer 6089,1.

Exemplo 7

Síntese de N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-ε-aminoexanopila insulina humana desB30

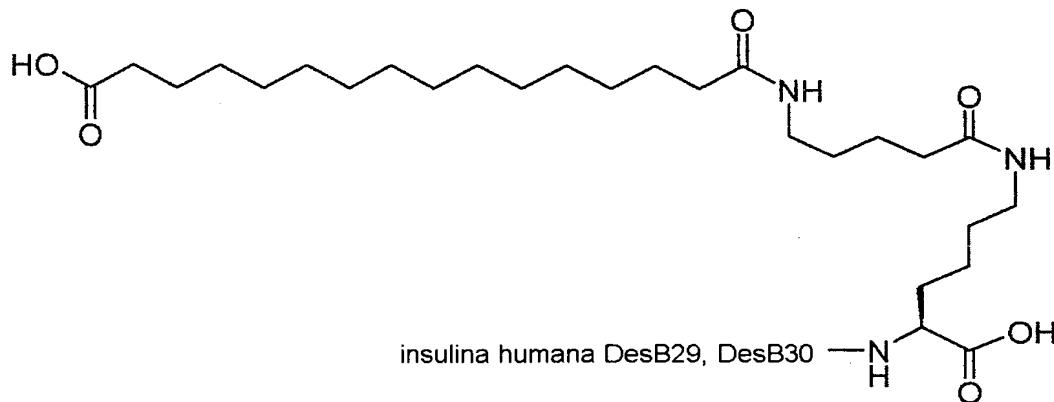


- 10 Este composto foi preparado a partir de ácido hexadecandióico e ácido ε-amino-hexanóico em analogia com o exemplo 1.

LCMS 6086,1; C<sub>275</sub>H<sub>415</sub>N<sub>65</sub>O<sub>79</sub>S<sub>6</sub> requer 6088,1.

Exemplo 8

Síntese de N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-pentadecanoil-δ-aminopentanoila insulina humana desB30



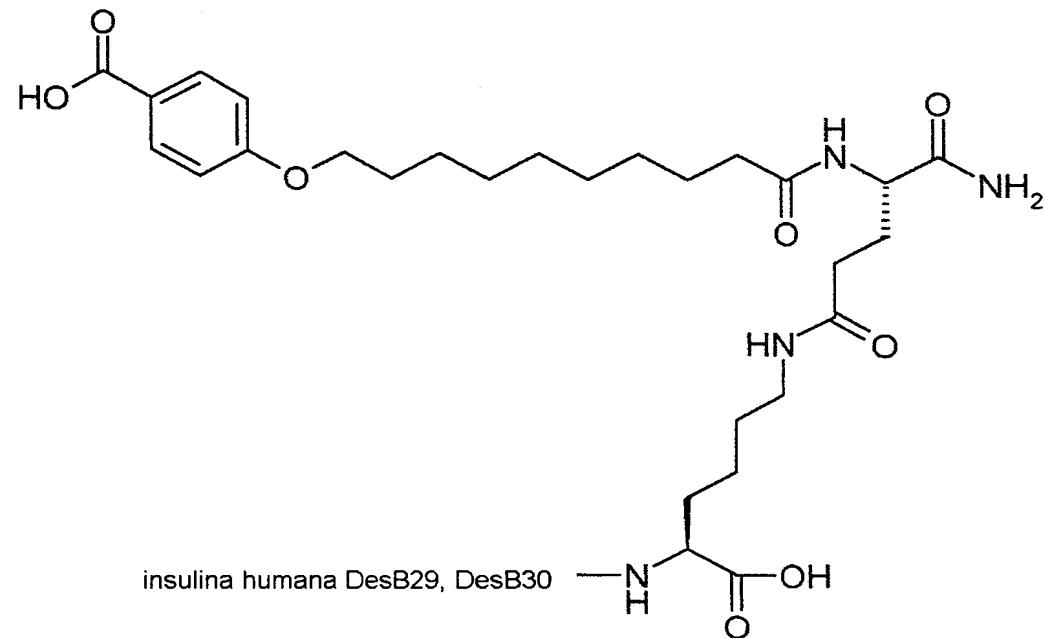
Este composto foi preparado de ácido hexadecandióico e ácido

- 5 δ-amino-pentanóico em analogia com o exemplo 1.

LCMS 6074,2, C<sub>274</sub>H<sub>413</sub>N<sub>65</sub>O<sub>79</sub>S<sub>6</sub> requer 6074,1.

Exemplo 9

Síntese de N<sup>εB29</sup>-10-(4-carboxifenóxi)-decanoil-γ-L-glutamilamida insulina humana desB30



- 10 Etapa 1: éster terc-butílico do ácido 4-hidróxi-benzóico

Ácido 4-hidroxi-benzóico (3 g, 21,7 mmols) foi agitado em tolue-

no (35 mL, seco sobre peneiras moleculares). A solução foi aquecida para 80°C, sob N<sub>2</sub>, e N,N'-dimetilformamida di-terc-butil acetal (10,42 mL, 43,4 mmols) foi adicionado durante cerca de 5 minutos. A mistura foi agitada a 80°C, por 1 hora e 10 minutos, e resfriada à temperatura ambiente. A solução 5 foi lavada com água, duas vezes com NaHCO<sub>3</sub> saturado e NaCl saturado (15 mL, cada), seca sobre MgSO<sub>4</sub>, e concentrada para render um óleo amarelo (2,77 g). O produto foi purificado por cromatografia instantânea (380 g de sílica, eluente: 4:6 de AcOEt/heptano (2 L) e 1:1 de AcOEt/heptano, 700 mL) para render cristais brancos (2,07 g, 49% de rendimento).

10 HPLC-MS m/z: 217 (M+23).

RMN H<sup>1</sup> (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ: 7,90 (d, 2H), 6,85 (d, 2H), 6,10 (s, 1H), 1,59 (s, 9H).

Etapa 2: éster terc-butílico do ácido 4-(9-metoxicarbonilnonilóxi)benzóico

Éster terc-butílico do ácido 4-hidróxi-benzóico (500 mg, 2,57 mmols) e éster metílico do ácido 10-bromodecanóico (683 mg, 2,57 mmols) foram dissolvidos em acetonitrila, e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (712 mg, 5,15 mmols) foi adicionado. A mistura foi refluxada sob nitrogênio por 16 h, e resfriada à temperatura ambiente. Os sólidos foram filtrados, e o filtrado foi concentrado a vácuo. O resíduo resultante foi dissolvido em AcOEt (50 mL) e água (25 mL). As fases foram separadas e a fase orgânica foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada para render um óleo incolor (874 mg, 90% de rendimento).

20 HPLC-MS m/z: 402 (M+23).

RMN H<sup>1</sup> (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 7,92 (d, 2H), 6,87 (d, 2H), 3,99 (t, 2H), 3,67 (s, 3H), 2,31 (t, 2H), 1,72-1,83 (m, 2H), 1,59-1,69 (m, 2H), 1,58 (s, 25 9H), 1,40-1,50 (m, 2H), 1,23-1,40 (br, 8H).

Etapa 3: éster terc-butílico do ácido 4-(9-carboxinonilóxi)benzóico

Éster terc-butílico do ácido 4-(9-metoxicarbonilnonilóxi) (858 mg, 2,27 mmols) foi dissolvido em THF (5 mL), e NaOH a 1N (2,27 mmols) foi adicionado. A mistura foi agitada por 16 horas. AcOEt (40 mL) e HCl a 1N (2,38 mL) em água (25 mL) foram adicionados. As fases foram separadas, e a fase orgânica foi seca sobre MgSO<sub>4</sub>, e concentrada a vácuo para render um sólido branco (781 mg, 95% de rendimento).

HPLC-MS m/z: 387 (M+23).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 7,92 (d, 2H), 6,87 (d, 2H), 3,99 (t, 2H), 2,35 (t, 2H), 1,73-1,84 (m, 2H), 1,60-1,69 (m, 2H), 1,58 (s, 9H), 1,39-1,51 (m, 2H), 1,24-1,39 (br, 8H).

5 Etapa 4: éster terc-butílico do ácido 4-[9-(2,5-dioxopirrolidin-1-iloxicarbonil)nonilóxi]benzóico

Éster terc-butílico do ácido 4-(9-carboxinonilóxi)benzóico (779 mg, 2,14 mmols) foi dissolvido em THF (15 mL), e DIEA (366  $\mu\text{L}$ , 2,14 mmols) foi adicionada. A mistura foi resfriada a 0°C, e colocada sob nitrogênio, e HSTU foi adicionado. A mistura foi agitada a 0°C, por 30 minutos, e à temperatura ambiente por 16 horas. A amostra foi concentrada a vácuo e AcOEt (40 mL) foi adicionado. A mistura foi lavada com HCl a 0,2N (2 x 25 mL), seca sobre  $\text{MgSO}_4$ , e concentrada a vácuo para render um sólido ligeiramente amarelo. O sólido foi recristalizado de AcOEt para render um pó branco (276 mg, 28% de rendimento). O licor-mãe foi concentrado para render o resíduo cristalino (430 mg, 43% de rendimento). Os dados para o pó branco:

HPLC-MS m/z: 484 (M+23).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) 7,93 (d, 2H), 6,88 (d, 2H), 3,99 (t, 2H), 2,83 (s, 4H), 2,61 (t, 2H), 1,67-1,88 (m, 4H), 1,58 (s, 11H, teor. 9H + água), 1,27-1,52 (m, 10H).

Etapa 5: éster terc-butílico do ácido 4-[9-((S)-1-carbamoiil-3-carboxipropilcarbamoiil)nonilóxi]benzóico

Éster terc-butílico do ácido 4-[9-(2,5-dioxopirrolidin-1-iloxicarbonil)nonilóxi]benzóico (200 mg, 0,433 mmol) foi agitado em DMF (2 mL) e H-Glu-NH<sub>2</sub> (63 mg) foi adicionado. A mistura não-homogênea foi agitada à temperatura ambiente por 16 horas. Análise de LC/MS indicou que a reação não havia se completado. H-Glu-NH<sub>2</sub> (20 mg) e mais DMF (2 mL) foram adicionados e a mistura foi agitada por 2 dias à temperatura ambiente. A amostra foi concentrada a vácuo e AcOEt (50 mL) foi adicionada. A solução foi lavada com HCl a 0,2N (2 x 25 mL) e água (25 mL), seca sobre  $\text{MgSO}_4$ , e concentrada a vácuo para render um sólido branco (180 mg, 86% de rendimento).

HPLC-MS m/z: 493 (M+1)

Etapa 6: éster terc-butílico do ácido 4-{9-[(S)-1-carbamoil-3-(2,5-dioxopirrolidin-1-iloxicarbonil)propilcarbamoil]nonilóxi}benzóico

A ativação de HSTU foi realizada de modo similar àquela descrita para éster terc-butílico do ácido 4-[9-(2,5-dioxopirrolidin-1-iloxicarbonil)nonilóxi]benzóico. O produto foi purificado por cromatografia instantânea (1:1 de AcOEt:heptano e AcOEt) para render 18 mg.

HPLC-MS m/z: 590 (M+1).

Etapa 7: N<sup>eB29</sup>-10-(4-carboxifenóxi)decanoil-γ-L-glutamilamida insulina desB30

Insulina DesB30 (126 mg, 0,022 mmol) foi dissolvida por adição de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 100mM (1,5 mL) e acetonitrila (1,5 mL) em um frasco de fundo redondo de 10 mL. Éster terc-butílico do ácido 4-{9-[(S)-1-carbamoil-3-(2,5-dioxopirrolidin-1-iloxicarbonil)propilcarbamoil]nonilóxi}benzóico (14 mg, 0,022 mmol) foi adicionado em acetonitrila (750 µL) e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (750 µL) foi adicionado de modo que a solução final ficou 50:50 de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/acetonitrila a 100mM. A solução foi agitada, à temperatura ambiente, por uma hora. A solução foi transferida para um tubo de centrífuga de 15 mL, lavagem com água Milli-Q (6 mL). A solução foi resfriada em gelo, e o pH foi ajustado para 5,1 por adição de HCl a 1N, que levou à precipitação. O tubo foi centrifugado, a 5.000 rpm, por 10 minutos, a 10°C. O solvente foi decantado do sólido. 95:5 de TFA-água (2,5 mL) foi adicionado ao sólido. A solução foi vertida em um frasco de fundo redondo com mais 95:5 de TFA/água (2,5 mL). A solução foi agitada por 30 minutos, à temperatura ambiente, e concentrada a vácuo. DCM foi adicionado e removido duas vezes, e o frasco foi colocado a vácuo, à temperatura ambiente. O produto foi purificado por HPLC preparativa (coluna C18, acetonitrila/água/0,05% de TFA). As porções relevantes foram agrupadas (duas bateladas) e diluídas para 1:1 com água. A soluções foram resfriadas sobre gelo, e a precipitação foi induzida por ajuste do pH para cerca de 5 com NaOH a 1N. As amostras foram centrifugadas (5.000 rpm, 10 minutos, 5°C). O líquido foi decantado e os precipitados foram liofilizados para render um sólido branco (22 mg + 12 mg).

MALDI-MS (ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico) m/z: 6128,7 (M =

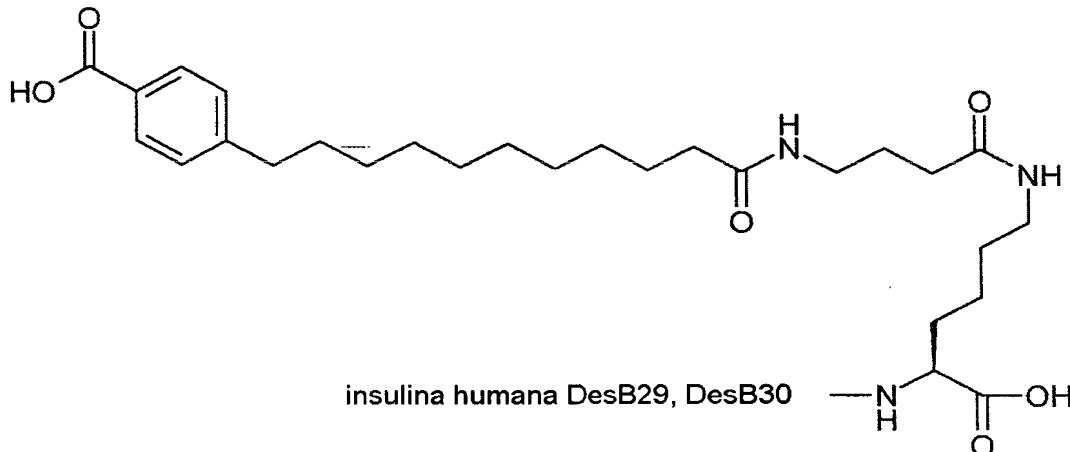
6125,1).

HPLC-MS m/z: 1532,8 ((M+4)/4 = 1532,2).

Exemplo 10

Síntese da N<sup>εB29</sup>-4-[11-(4-Carboxifenil) undecanoilamino] butirila insulina

5    humana desB30



Etapa 1: éster terc-butílico do ácido 4-iodobenzóico

Ácido 4-iodobenzóico (10 g, 40,3 mmols) foi dissolvido em tolueno seco (100 mL, seco sobre peneiras moleculares). A solução foi aquecida para 70°C sob fluxo de nitrogênio. Uma solução de N,N'-dimetilformamida di-terc-butil acetal (25,6 g, 121 mmols) em tolueno (25 mL) foi adicionada por cerca de 30 minutos. A reação foi misturada por 16 horas. Em algum ponto, a unidade de aquecimento falhou, de modo que a reação resfriou de 70°C para a temperatura ambiente. A solução foi aquecida para 70°C e misturada por 5 horas. A amostra foi concentrada a vácuo, e AcOEt (400 mL) foi adicionado. A solução foi então lavada com 1:1 de NaHCO<sub>3</sub> saturado/água (150 mL) e NaHCO<sub>3</sub> saturado, água e NaCl saturado (75 mL cada). A fase orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>) e concentrada a vácuo para render um óleo marrom claro.

HPLC-MS m/z: 327 (M+23).

20                  RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7,77 (d, 2H), 7,69 (d, 2H), 1,58 (s, 9H).

Etapa 2: éster metílico do ácido 11-iodo undecanóico

Éster metílico do ácido 11-bromo undecanóico (20,2 g, 72,3

mmols) foi dissolvido em acetona (200 mL). Iodeto de sódio (54 g, 361 mmols) foi adicionado e a reação foi refluxada sob nitrogênio, por 16 horas. Depois de resfriamento à temperatura ambiente, os sais foram filtrados. O filtrado foi concentrado a vácuo e água (200 mL) foi adicionada. A solução foi extraída com AcOEt (2 x 100 mL) adicionando um pouco de NaCl saturado para auxiliar a separação de fase. Os extratos orgânicos foram agrupados e lavados com água (100 mL), mais um pouco de NaCl saturado, e NaCl saturado (50 mL). Secagem sobre MgSO<sub>4</sub>. A solução era de uma cor laranja avermelhada. Três colheres de chá de carvão ativado foram adicionadas. Depois de misturada, a solução foi filtrada em um leito de Celite. O filtrado foi concentrado a vácuo para render um óleo branco claro (20,96 g, 89%).

HPLC-MS m/z: 327 (M+1).

RMN H<sup>1</sup> (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ 3,67 (s, 3H), 3,19 (t, 2H), 2,30 (t, 2H), 1,74-1,89 (m, 2H), 1,53-1,70 (m, 2H), 1,34-1,46 (m, 2H), 1,28 (br, 10H).

15 Etapa 3: éster terc-butílico do ácido 4-(10-metoxicarbonildecil)benzóico

Toda a vidraria foi seca antes do uso. THF foi seco sobre peneiras moleculares. LiCl foi seco a 150°C, por uma hora, então armazenado em uma garrafa fechada. Todas as soluções reacionais foram preparadas sob nitrogênio, e as soluções foram transferidas via seringa. Éster terc-butílico do ácido 4-iodobenzóico (1,2 g, 3,95 mmols) foi dissolvido em THF (3 mL) e resfriado para -30°C. Cloreto de isopropil magnésio (4,34 mmols, em THF a 2M) foi adicionado por 5 minutos, e a solução foi agitada por uma hora, a uma temperatura entre -18°C e -25°C. A solução foi resfriada para -22°C, e uma mistura de CuCN (0,389 g, 4,34 mmols) e LiCl (0,368 g, 8,68 mmols) em THF (4,2 mL) foi então adicionada. O vaso de reação foi removido do resfriamento e deixado aquecer para a temperatura ambiente (cerca de 10 minutos). Fosfato de trimetila (0,95 mL) foi adicionado, e depois de agitação por 5 minutos à temperatura ambiente, uma solução de éster metílico do ácido 11-iodo-undecanóico (1,0 g, 3,16 mmols) em THF (3 mL) foi adicionada. A solução foi misturada à temperatura ambiente por 16 horas. NH<sub>4</sub>Cl saturado (3 mL) foi adicionado, e a solução foi vertida em água (60 mL). A solução foi extraída com AcOEt (3 x 35 mL). Os extratos orgânicos foram agrupados

e lavados com água (30 mL) usando um pouco de NaCl saturado para auxiliar a separação de fases. O solvente foi removido a vácuo para render um resíduo bifásico. AcOEt (cerca de 2 mL) foi adicionado e o frasco foi girado lentamente. Nem todo o resíduo branco espesso se dissolveu. A porção que

5 se dissolveu foi adicionada a um coluna de sílica (50 g) e eluída com AcO-Et:heptano 1:11. As porções apropriadas foram concentradas a vácuo para render um óleo (1,25 g). O óleo foi dissolvido em acetona (30 mL), e piperidina (1 mL) foi adicionada. NaI (0,8 g) foi adicionado e a mistura foi agitada e refluxada por 16 horas. A mistura foi concentrada a vácuo e particionada

10 entre AcOEt (50 mL) e HCl a 1N (25 mL). A fase orgânica foi lavada com HCl a 1N (2 x 25 mL), seca sobre MgSO<sub>4</sub>, e concentrada a vácuo para render um óleo incolor (1,1 g). O produto foi purificado por cromatografia instantânea (eluente: AcOEt:heptano 1:1, 150 g de sílica) para render um óleo incolor (0,72 g, 61%).

15           HPLC-MS m/z: 399 (M+23).

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ 7,90 (d, 2H), 7,21 (d, 2H), 3,66(s, 3H), 2,64 (t, 2H), 2,70 (t, 2H), 1,8-1,30 (m, 13H), 1,27 (br, 12H).

Etapa 4: éster terc-butílico do ácido 4-(10-carboxidecil)benzóico

O composto foi preparado de um modo análogo ao procedimento usado na preparação do éster terc-butílico do ácido 4-(9-carboxinonilóxi)benzóico para render um sólido branco (0,68 g).

HPLC-MS m/z: 385 (M+23).

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ 7,90 (d, 2H), 7,21 (d, 2H), 2,64 (t, 2H), 2,34 (t, 2H), 1,53-1,71 (m, 13H), 1,28 (br, 12H).

25           Etapa 5: éster terc-butílico do ácido 4-[10-(2,5-dioxopirrolidin-1-iloxicarbonil)decil]benzóico

O composto foi preparado de um modo análogo ao procedimento usado na preparação do éster terc-butílico do ácido 4-[9-(2,5-dioxopirrolidin-1-iloxicarbonil)nonilóxi]benzóico.

30           HPLC-MS m/z: 482 (M+23).

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7,89 (d, 2H), 7,21 (d, 2H), 2,76-2,93 (m, 4H), 2,54-2,68 (m, 2H), 1,67-1,81 (M, 2H), 1,52-1,66 (m, 11H), 1,35-1,43

(M, 2H), 1,19-1,35 (br, 10H).

Etapa 6: éster terc-butílico do ácido 4-[10-(3-carbóxi-propilcarbamoil)-decil]benzóico

- Éster terc-butílico do ácido 4-[10-(2,5-dioxopirrolidin-1-iloxicarbonil)decil]benzóico (300 mg, 0,65 mmol) foi dissolvido em DMF (3 mL) e ácido 4-amino butírico (67 mg, 0,65 mmol). A mistura foi agitada por 16 h sob nitrogênio. O solvente foi removido a vácuo e AcOEt (35 mL) foi adicionado. A solução foi lavada com HCl a 0,2N e água (15 mL cada). NaHCO<sub>3</sub> saturado foi adicionado (não pretendido) à fase orgânica. DCM (50 mL) foi adicionado.
- Um pouco da fase orgânica foi removida e DCM (100 mL) foi adicionado à fase aquosa e deixada repousar durante a noite. A mistura foi resfriada sobre gelo e o pH foi ajustado para 1,9 com HCl a 4N. A fase orgânica foi isolada, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada a vácuo para render um óleo (220 mg, 76% de rendimento).

15 HPLC-MS m/z: 470 (M+23).

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7,89 (d, 2H), 7,21 (d, 2H), 5,79 (br, 1H), 3,27-3,40 (m, 2H), 2,64 (t, 2H), 2,40 (t, 2H), 2,18 (t, 2H), 1,78-1,91 (m, 2H), 1,51-1,61 (m, 13H), 1,35-1,43 (M, 2H), 1,17-1,36 (br, 12H).

Etapa 7: éster terc-butílico do ácido 4-[10-[3-(2,5-dioxo-pirrolidin-1-iloxicarbonil)propilcarbamoil]decil]benzóico

- O composto foi preparado de um modo análogo ao procedimento usado na preparação do éster terc-butílico do ácido 4-[9-(2,5-dioxopirrolidin-1-iloxicarbonil)nonilóxi]benzóico, mas TSTU foi usado no lugar de HSTU. Precipitação (DCM/Heptano) rendeu cristais brancos (180 mg, 70% de rendimento).

HPLC-MS m/z: 568 (M+23).

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 7,89 (d, 2H), 7,21 (d, 2H), 5,83 (br, 1H), 3,30-3,43 (m, 2H), 2,85 (br, 4H), 2,57-2,73 (m, 4H), 2,15 (t, 2H), 1,92-2,07 (m, 2H), 1,56-1,64 (m, 13H), 1,18-1,36 (br, 12H).

30 Etapa 8: N<sup>B29</sup>-4-[11-(4-carboxifenil) undecanoilamino]butirila insulina humana desB30

O composto foi preparado de um modo análogo ao procedimen-

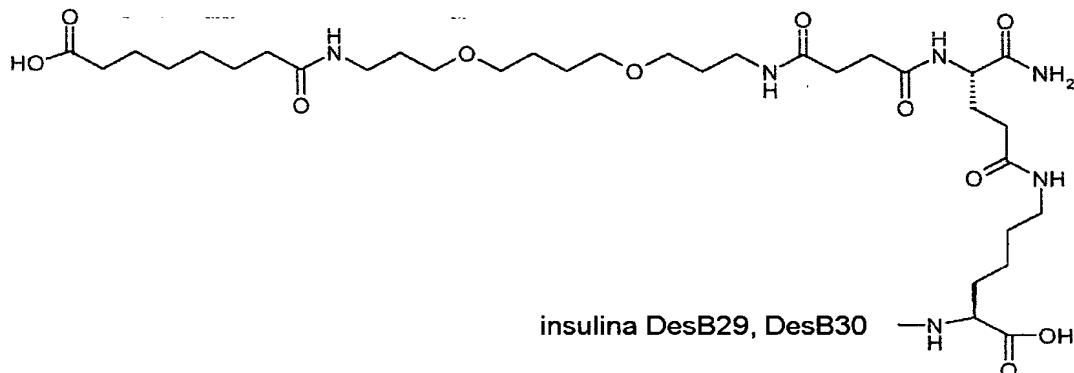
to usado na preparação do exemplo 9 para render 30 mg.

MALDI-MS (ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico) m/z: 6067 ( $M = 6080$ , padrão de referência ( $M=5706$ ) mostrou  $M-13$ ).

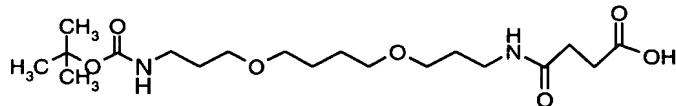
HPLC-MS m/z: 1520,9 (( $M+4$ )/4 = 1521).

**5 Exemplo 11**

Síntese de  $N^{eB29}$ -(3-(3-{4-[3-(7-carboxieptanoilamino)propóxi]butóxi}propilcarbamoil)-propionil- $\gamma$ -glutamil-amida) insulina humana desB30



Etapa 1: Ácido  $N\{3-[4-(3-terc-butoxicarbonilaminopropóxi)-butóxi]propil\}succinâmico$



10 1-(ter-Butoxicarbonilamino)-4,9-dioxa-12-dodecanamina (5,0 g, 16,45 mmols) foi dissolvida em THF (30 mL), anidrido succínico (1,81, g, 18,1 mmols) em acetonitrila (10 mL) foi adicionado e a mistura foi aquecida para 60°C, por 4 horas, e, subseqüentemente, agitada à temperatura ambiente durante a noite.

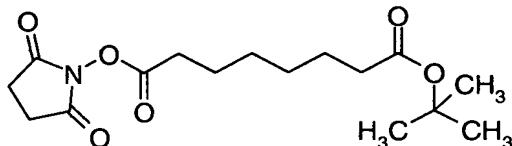
15 A mistura foi evaporada à secura e EtAc (50 mL) foi adicionado.

A fase de EtAc foi lavada com HCl (a 0,1M) três vezes, seca com  $MgSO_4$  e, subseqüentemente, a fase orgânica foi evaporada à secura, que deu 5,86 g (88%) de óleo espesso.

LCMS: Rt 2,86 min; m/z ( $M+1$ ) 405. Calculado: 405.

20 Este produto foi usado sem posterior purificação.

Etapa 2: éster terc-butílico éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ílico do ácido octanodióico



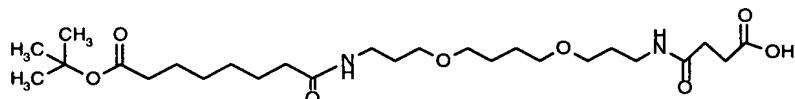
Éster mono-terc-butílico do ácido octanodióico (3,14 g, 13,63 mmols) foi dissolvido em THF (100 mL). TSTU (4,9 g, 16,3 mmols) foi adicionado e o pH foi ajustado para 8,5 com DIPEA (2,85 mL).

A mistura foi agitada sob nitrogênio durante a noite, evaporada à secura, dissolvida em EtAc (50 mL), que foi, subsequentemente, extraída duas vezes com HCl (a 0,1 M). A fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$ , filtrada e evaporada, resultando em um óleo ligeiramente amarelo (5 g, contendo pequenas quantidades de solvente).

LCMS: Rt 6,56 min; m/z (M+1) 328. Calculado: 328.

Etapa 3: éster terc-butílico do ácido 7-(3-[4-[3-(3-carboxipropionilamino)propóxi]butóxi]propilcarbamoyl)heptanóico

123-000-3012



Ácido N-[3-[4-(3-terc-butoxicarbonilaminopropóxi)-butóxi]-propil]succinâmico (4,60 g, 11,37 mmols) foi agitado com TFA (20 mL), à temperatura ambiente, por 60 minutos, depois da evaporação, o resíduo foi extraído com DCM (30 mL x2) e evaporado à secura.

O óleo resultante foi dissolvido em acetonitrila (30 mL) e éster terc-butílico éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ílico do ácido octanodióico (4,46 g, 13,6 mmols) em DMF (20 mL) foi adicionado. O pH foi ajustado para 8,5 com DIPEA e a mistura foi agitada durante a noite sob nitrogênio. A mistura foi subsequentemente evaporada à secura e re-dissolvida em EtOAc (50 mL). A fase de EtOAc foi extraída, três vezes, com HCl (a 0,1M), a camada orgânica seca sobre sulfato de magnésio, filtrada, e evaporada, resultando em um óleo cristalino ligeiramente amarelo (6,5 g, teor de resíduos de solvente).

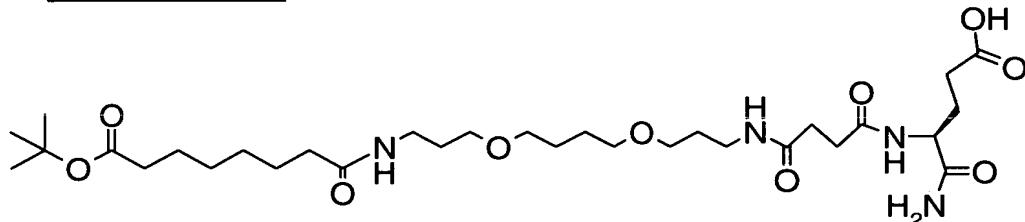
LCMS: Rt 4,31 min; m/z (M+1) 517. Calcualdo: 517

O produto bruto foi usado para posterior reação sem purificação subsequente.

Etapa 4: éster terc-butílico do ácido 7-[3-(4-[3-[3-((S)-1-carbamoil-3-carboxi-

5 propilcarbamoil)propionilamino]propóxi]butóxi]propilcarbamoil]heptanóico

0123-0000-3078



Éster terc-butílico do ácido 7-(3-{4-[3-(3-carboxipropionilamino)-propóxi]butóxi}propilcarbamoil)heptanóico (2,4 g), o produto bruto da etapa

3, foi dissolvido em THF (60 mL), TSTU (2,11 g, 6,97 mmols) foi adicionado juntamente com DMF (10 mL), o pH foi ajustado para 8,2 com DIPEA (0,8 mL). A mistura foi agitada, durante a noite, sob nitrogênio.

A mistura foi evaporada e o resíduo dissolvido em EtOAc, que foi extraído com HCl (a 0,1M), 3 vezes. A camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e o filtrado evaporado para dar 3,2 g de óleo.

15 LCMS: Rt 4,57 min; m/z 614, correspondente ao ácido ativado.

Esse produto bruto foi dissolvido em acetonitrila (40 mL) e amida de ácido L-glutâmico (0,6 g, 4,1 mmols) foi adicionado juntamente com DMF (5 mL), o pH foi ajustado para 8,2 com DIPEA (1,4 mL).

20 A mistura foi agitada à temperatura ambiente, durante a noite; filtração seguida por evaporação produziu um óleo amarelo espesso.

Esse foi extraído entre EtOAc e HCl (a 0,1M) conforme reportado acima, e a camada de EtOAc seca resultante deu 1,66 g de produto bruto mediante evaporação.

LCMS: Rt 3,62 min; m/z (M+1) 645. O produto bruto foi purificado por HPLC preparativa usando acetonitrila/água/0,1% de TFA como eluente em coluna C18 (Jones, Kromasil RP18, 5 µg 15x225 mm) Gradiente: 0,0 a 10,0 min 35% de acetonitrila A; 10,0 – 30,0 min 35-90% A; o produto foi coletado em porções de 16-18 minutos. As porções combinadas foram evapora-

das rendendo o produto desejado (1,0 g). LCMS: Rt 3,59 min; m/z (M+1) 645, calculado: 645.

Etapa 5: N<sup>eB29</sup>-(3-(3-{4-[3-(7-carboxieptanoilamino)propóxi]butóxi}propilcarbamoil)propionil-γ-L-glutamilamida) insulina humana desB30

5        Éster terc-butílico do ácido 7-[3-(4-{3-[3-((S)-1-carbamoil-3-carboxipro-  
pilcarbamoil)propionilamino]propóxi]butóxi)-propilcarbamoil]heptanóico da  
etapa 4 (1,0 g, 1,55 mmol) foi dissolvido em THF (20 mL), TSTU (0,51 g, 1,7  
mmol) foi adicionado e o pH foi ajustado para >8 com DIPEA (0,27 mL).

10      A mistura foi agitada durante a noite sob nitrogênio. Evaporação  
seguida por extração entre EtOAc em HCl (a 0,1M), secagem da fase orgâ-  
nica ( $MgSO_4$ ) seguida por evaporação à secura rendeu 21 mg de óleo,  
LCMS: Rt 4,34 min, m/z 742.

15      Esse produto bruto foi dissolvido em acetonitrila (10 mL), o pH  
ajustado para 8 com  $Na_2CO_3$  (a 0,1M) e adicionado a uma solução de insuli-  
na humana desB30 (1 g) dissolvida em solução de  $Na_2CO_3$  (15 mL, pH  
10,2).

20      A mistura foi agitada sob nitrogênio, à temperatura ambiente, por  
uma hora. Então o pH foi ajustado para 5,4 com HCl (a 2M), resultando em  
precipitação. A mistura foi filtrada, o filtrado liofilizado, e o precipitado seco a  
vácuo durante a noite.

Ambas as porções foram purificadas em Gilson usando acetoni-  
trila/água/0,1% de TFA como eluente em coluna C18 (Jones, Kromasil RP18  
 $5\ \mu m$  15x225 mm).

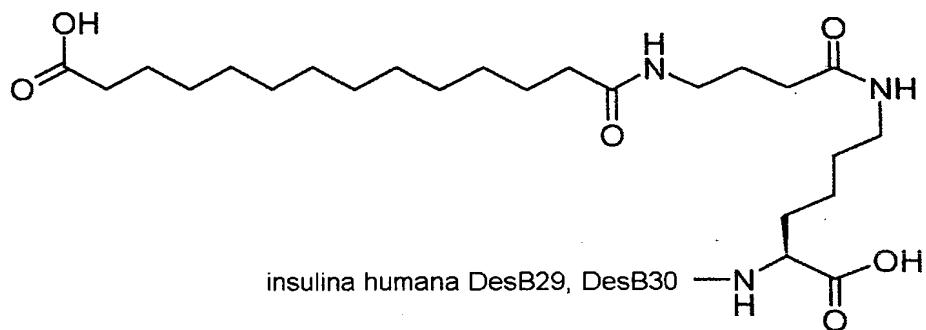
25      Gradiente: 0,0-5,0 min 35% de acetonitrila (A); 5,0 – 25,0 min  
35-90% A; o produto foi coletado em porções de 12-15 min. As porções  
combinadas foram evaporadas, redissolvidas em água e liofilizadas, renden-  
do 27 mg do produto desejado.

LCMS: Rt. 7,76 min, m/z 1570

30      MALDI-MS (ácido sinapínico): 6277;  $C_{280}H_{422}N_{68}O_{84}S_6$  requer  
6277.

Exemplo 12

Síntese de N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-tridecanoil-γ-amino-butanoíla insulina humana desB30

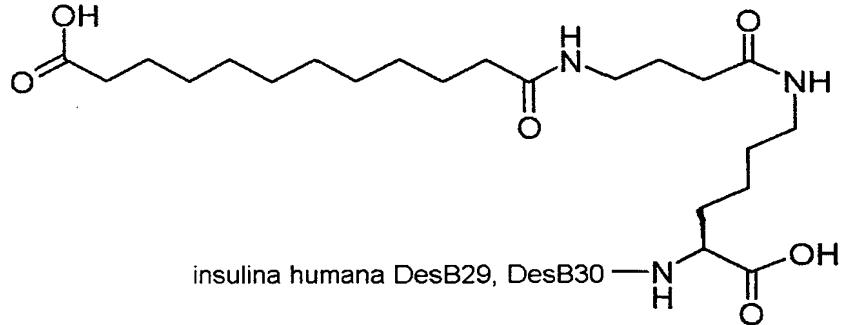


- Este composto foi preparado de ácido tetradecandiôico e ácido  
5 γ-amino-butírico em analogia com o exemplo 1.

LCMS 6032,1, C<sub>271</sub>H<sub>407</sub>N<sub>65</sub>O<sub>79</sub>S<sub>6</sub> requer 6032,0.

Exemplo 13

Síntese de N<sup>εB29</sup>-ω-carbóxi-undecanoil-δ-amino-butanoíla insulina humana desB30

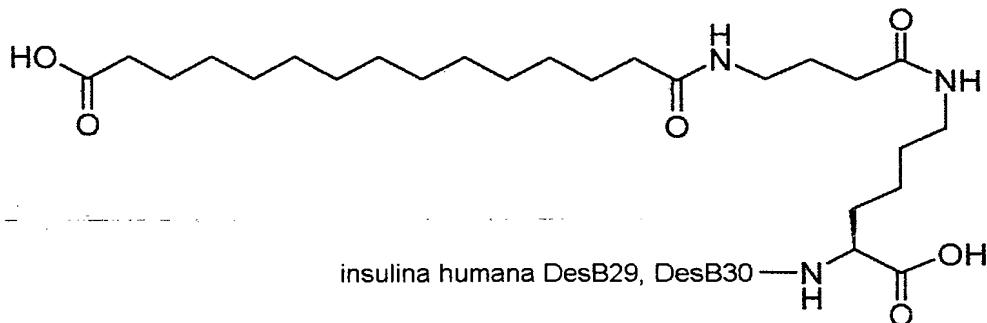


- 10 Este composto foi preparado de ácido dodecandiôico e ácido γ-amino-butírico em analogia com o exemplo 1.

LCMS 6003,8, C<sub>269</sub>H<sub>403</sub>N<sub>65</sub>O<sub>79</sub>S<sub>6</sub> requer 6004,0.

Exemplo 14

Síntese de N<sup>eB29</sup>-ω-carbóxi-tetradecanoil-γ-amino-butanoíla insulina humana desB30

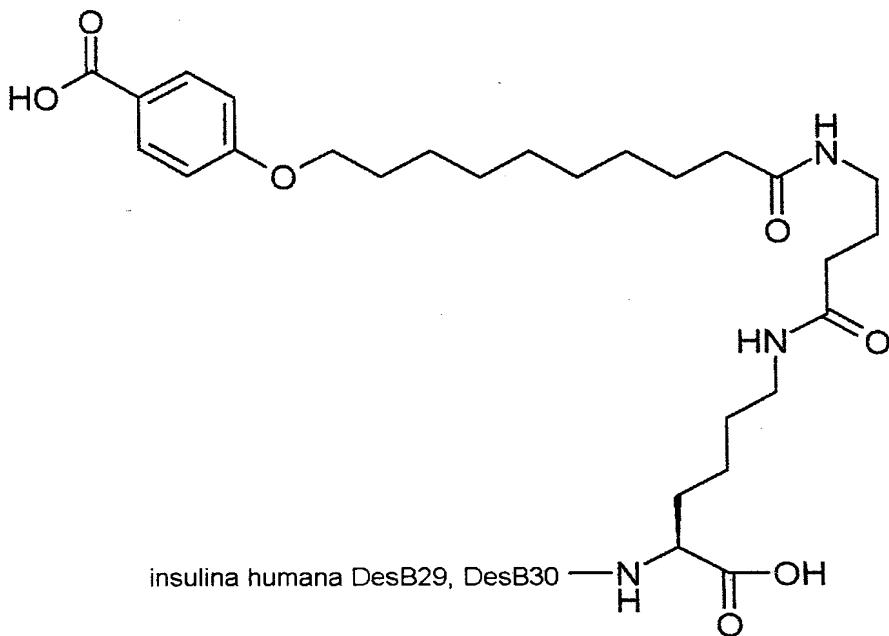


Este composto foi preparado de ácido pentadecândioico e ácido  
5 γ-aminobutírico em analogia com o exemplo 1.

LCMS 6045,6, C<sub>272</sub>H<sub>409</sub>N<sub>65</sub>O<sub>79</sub>S<sub>6</sub> requer 6046,1.

Exemplo 15

Síntese de N<sup>eB29</sup>-{4-[10-(4-Carbóxi-fenóxi)-decanoilamino]-butiril} desB30 insulina

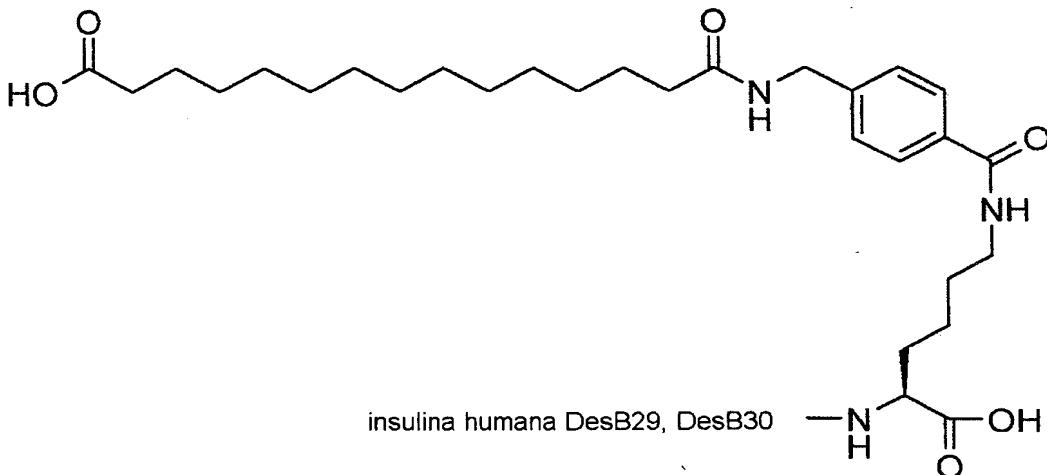


10 Este composto foi preparado do éster terc-butílico do ácido 4-(9-metoxicarbonilnonilóxi) benzóico em analogia com os exemplos 9 e 10.

LCMS: 6095,6, C<sub>276</sub>H<sub>409</sub>N<sub>65</sub>O<sub>79</sub>S<sub>6</sub> requer 6094,1.

Exemplo 16

Síntese de N<sup>εB29</sup>-{4-[(14-Carbóxi-tetradecanoilamino)-metil]-benzoi} desB30 insulina

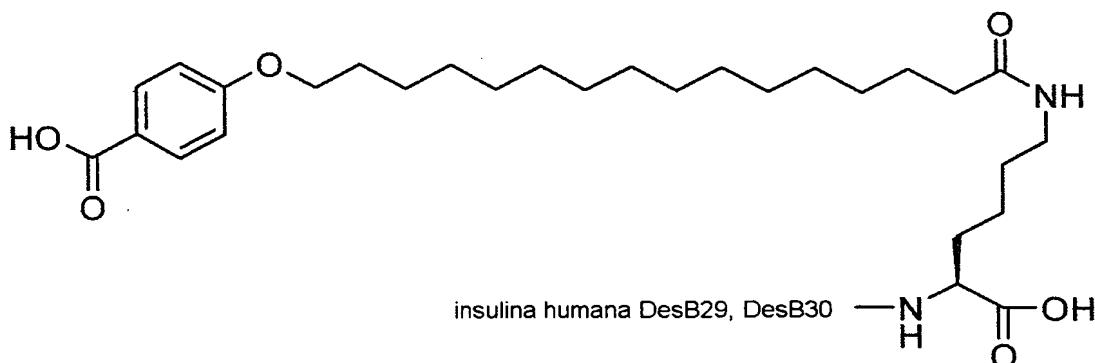


Este composto foi preparado a partir do ácido 4-aminometílico  
5 em analogia com o exemplo 1.

LCMS: 6082,0, C<sub>275</sub>H<sub>406</sub>N<sub>66</sub>O<sub>81</sub>S<sub>6</sub> requer 6082,1.

Exemplo 17

Síntese de N<sup>εB29</sup>-[16-(4-Carbóxi-fenóxi)-hexadecanoil] insulina desB30

Etapa 1: éster metílico do ácido 16-bromoexadecanóico

10 Ácido 6-bromoexadecanóico (6 g, 17,9 mmols) foi dissolvido em metanol (35 mL), tolueno (100 mL) e ortoformiato de trimetila (20 mL). Amberlyst 15 foi adicionado e a mistura foi agitada sob nitrogênio por 16 horas a 55°C. A mistura foi concentrada, e dissolvida em metanol (cerca de 50 mL) e DCM (30 mL). A resina foi filtrada, e o filtrado foi concentrado. O volume foi

aumentado para cerca de 40 mL. Resfriamento produziu cristais que foram filtrados, lavados com metanol gelado e seco para render cristais brancos (5,61 g, 90% de rendimento).

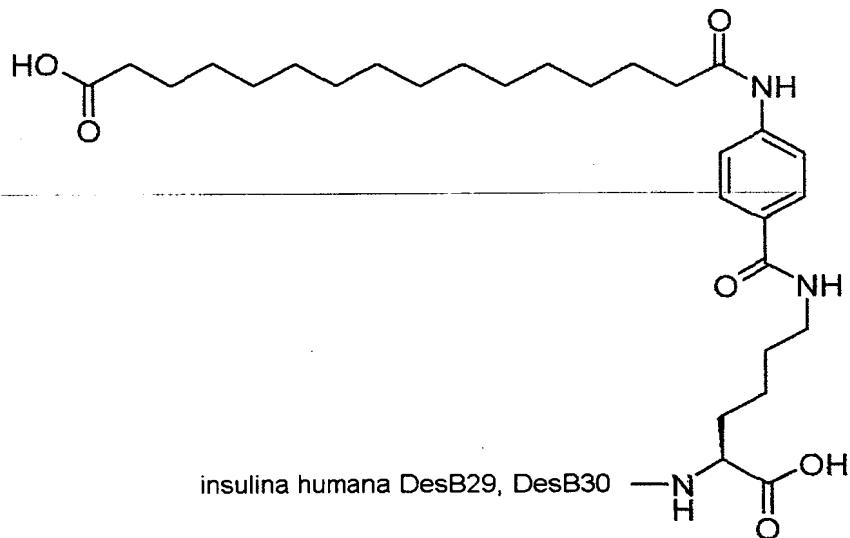
5 RMN  $^1\text{H}$  (DMSO, 300 MHz) 3,57 (s, 3H), 3,52 (t, 2H), 2,28 (t, 2H), 1,78 (m, 2H), 1,50 (m, 2H), 1,37 (m, 2H).

As demais etapas foram realizadas em analogia com o exemplo 9.

LCMS: 6081,2,  $\text{C}_{276}\text{H}_{410}\text{N}_{64}\text{O}_{79}\text{S}_6$  requer 6081,1.

#### Exemplo 18

10 Síntese de  $\text{N}^{29}\text{B}^{29}$ -{4-[{(15-carboxipentadecanoilamino)benzoil]-insulina humana desB30}



#### Etapa 1: Ácido 4-(15-terc-butoxicarbonilpentadecanoilamino)-benzóico

Ácido decadióico do hexadecandioato de mono-terc-butila (400 mg, 1,17 mmol) foi dissolvido em NMP (6 mL). Cloridrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (223 mg, 1,17 mmol) e 1-hidróxi-7-azabenzotriazol (156 mg, 1,17 mmol) foram adicionados e a mistura foi aquecida para 50°C, por 90 minutos. Ácido 4-aminobenzóico (320 mg, 2,34 mmols) e DIEA (0,6 mL, 3,51 mmols) foram adicionados e a mistura foi agitada sob fluxo de nitrogênio, durante a noite. A mistura é transferida, é separada entre  $\text{NaHCO}_3$  aquoso saturado (50 mL) e éter dietílico (100 mL).  $\text{NaHSO}_4$  (50 mL, 10% em água) foi adicionado e a fase orgânica isolada, seca

(MgSO<sub>4</sub>) e o solvente removido a vácuo. O produto bruto foi recristalizado de etanol para dar o ácido 4-(15-terc-butoxipentadecanoilamino)-benzóico.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) d: 10,18 (s, 1H), 7,87 (d, 2H), 7,69 (d, 2H), 2,33 (t, 2H), 2,15 (t, 2H), 1,58 (t, 2H), 1,46 (t, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,31-1,20 (m, 5 20H).

Etapa 2: éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ílico do ácido 4-(15-terc-butoxicarbonil-pentadecanoilamino)-benzóico

Ácido 4-(15-terc-butoxicarbonilpentadecanoilamino)-benzóico (29 mg, 0,063 mmol) foi convertido no éster succinimidílico usando TSTU similar ao descrito acima.

HPLC-MS, m/z = 559 (M+23, M+Na).

Etapa 3: N<sup>εB29</sup>-[4-[(15-carboxipentadecanoilamino)benzoil]-insulina humana desB30

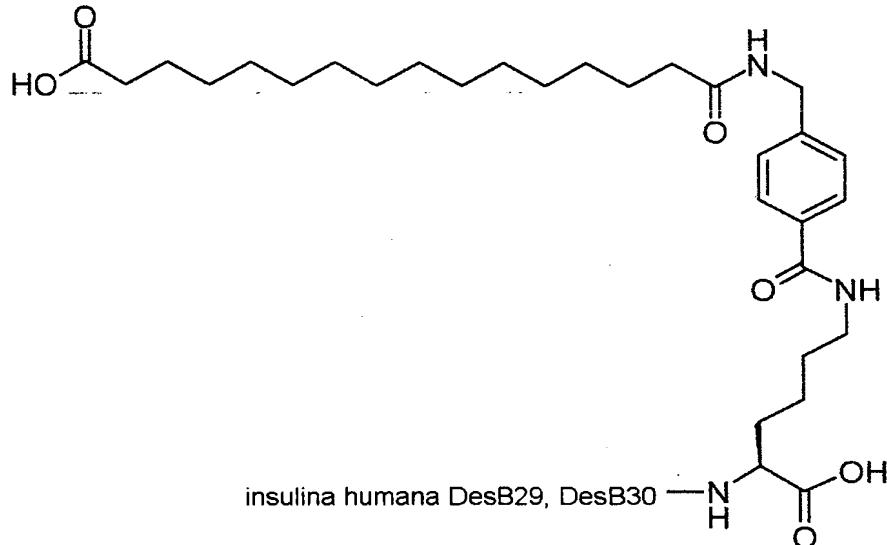
Insulina humana desB30 (355 mg, 0,062 mmol) foi dissolvida em DMSO (3,5 mL), trietilamina (0,622 mmol, 0,087 mL) foi adicionada. Éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ílico do ácido 4-(15-terc-butoxicarbonil-pentadecanoilamino)-benzóico (28,3 mg, 0,051 mmol) foi dissolvido em DMSO (0,5 mL, e adicionado). A mistura foi cuidadosamente agitada por 30 minutos, à temperatura ambiente. A mistura foi congelada por resfriamento em um banco de gelo e água (7 mL) foi adicionada e a mistura deixada em repouso na temperatura ambiente até que a mistura congelada tivesse se dissolvido. O pH foi ajustado para pH = 5,3 usando HCl a 1N e o precipitado isolado por centrífuga, lavado uma vez com água, seguido por centrifugação. Ácido trifluoracético (15 mL) foi adicionado e a mistura foi agitada por 30 minutos, vertida em éter dietílico (50 mL), enquanto o resfriamento era mantido em banho de gelo. O produto bruto foi isolado por centrifugação e dissolvido em Tris a 10mM + (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 15 mM em 20% de EtOH, pH 7,3 e submetido à purificação em um purificador ÄKTA empregando HPLC de fase reversa, Jupiter 5269, C4 250/20 mm, 300 angstroms a 15 µM. O tampão consistiu em um tampão A TRIS a 10 mM + (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 15 mM em 20% de EtOH, pH 7,3 e um tampão B de 80% de EtOH. O produto foi eluído com um gradiente de 15-60% B com 8 mL/min. Porções contendo o produto foram coletadas e o

pH ajustado para pH = 5,2. N<sup>eB29</sup>-{4-[(15-carboxipentadecanoilamino)-benzoi]-insulina humana desB30 foi isolada por centrífuga e liofilizada.

LCMS: 6092,0, C<sub>276</sub>H<sub>409</sub>N<sub>65</sub>O<sub>79</sub>S<sub>6</sub> requer 6094,1.

Exemplo 19

- 5 Síntese de N<sup>eB29</sup>-{4-[(15-carbóxi-pentadecanoilamino)-metil]-benzoi}-insulina desB30



Etapa 1: Ácido 4-[(15-terc-butoxicarbonilpentadecanoilamino)metil]benzóico

Éster terc-butílico de éster 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ílico do ácido hexadecanodióico (370 mg, 0,842 mmol) foi dissolvido em NMP (8 mL), ácido 4-aminometil benzóico (127,2 mg, 0,842 mmol) foi adicionado, a mistura foi agitada à temperatura ambiente, durante a noite, seguido por aquecimento por duas horas, a 50°C. Depois de resfriamento à temperatura ambiente, a mistura foi vertida em água. O produto isolado por filtração, seco e usado na etapa seguinte sem qualquer purificação posterior.

15 RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) (sinais selecionados) δ: 7,88 (d, 2H), 7,34 (d, 2H), 4,31 (d, 2H), 2,15 (m, 4H), 1,47 (m, 4H), 1,38 (s, 9H), 1,23 (br s, 2H), 1,18 (s, 9H).

HPLC-MS: m/z = 498 (M+Na)

20 Etapa 2: N<sup>eB29</sup>-{4-[(15-Carbóxi-pentadecanoilamino)-metil]-benzoi}-insulina desB30

O ácido 4-[(15-terc-butoxicarbonilpentadecanoilamino)metil]-

benzóico foi convertido no éster succinimidílico e reagido com Insulina humana desB30 similar ao descrito acima. O produto foi purificado em um purificador ÄKTA empregando um HPLC de fase reversa, Jupiter 5269, C4 250/20 mm, 15 $\mu$ M, 300 angstrons. O tampão consiste em um tampão A 5 TRIS a 10mM + (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 15mM em 20% de EtOH, pH 7,3 e um tampão B de 80% de EtOH. O produto foi eluído com um gradiente de 15-60% B com 8 mL/min. Seguido por purificação com RP-HPLC em um Waters Prep LC 2000, em 5 cmx20 cm, vazão de 20 mL/min usando acetonitrila/água, 36-42% de gradiente contendo 0,1% de TFA. As porções contendo o produto 10 foram coletadas e liofilizadas. Ao material liofilizado, água foi adicionada (7,2 mL) e o pH ajustado para 8,98 com 1N + 0,1N de NaOH. O pH foi ajustado novamente para 5,2-5,5 com HCl a 0,1N. O produto foi precipitado, isolado em centrífuga e liofilizado para dar o composto do título.

LCMS 6108,0, C<sub>277</sub>H<sub>411</sub>N<sub>65</sub>O<sub>79</sub>S<sub>6</sub> 6108,1

15 Exemplo 20:

Hidrofobicidade, afinidade com albumina, auto-associação e misturabilidade de insulinas de longa ação e de curta ação

Análise das propriedades de auto-associação dos derivados de insulina da invenção

20 A capacidade dos derivados de insulina da invenção de se auto-associarem em complexos grandes, mas solúveis, é analisada usando SEC (cromatografia de exclusão de tamanho):

Coluna:	Superose® 6 PC3,2/30, CV = 2,4 mL (Amerham Biosciences)
Temperatura:	37°C
Tampão de SEC:	140mM de NaCl, 10mM de TrisHCl, 0,01% de NaN <sub>3</sub> , pH 7,5
Volume de injeção:	20 $\mu$ L
Vazão:	0,05 mL/min
Tempo de corrida:	60 min e equilíbrio de 100 min adicionais

Para esta análise, os derivados de insulina da invenção estão em uma solução que consiste em 0,06mM de derivado, 2,1 de 25 Zn<sup>2+</sup>/hexâmero, fenol a 16mM, fosfato a 7mM pH 7,8. O tempo de retenção

do derivado é então comparado aos tempos de retenção das seguintes moléculas padrão: dextrana azul ( $> 5$  Mda,  $K_{AV} 0,0$ ), Tiroglobulina (669 kDa,  $K_{AV} 0,28$ ), Ferritina (440 kDa,  $K_{AV} 0,39$ ), Ovalbumina (44,5 kDa,  $K_{AV} 0,56$ ), Ribonuclease (13,7 kDa,  $K_{av} 0,69$ ) e um segunda referência de Albumina (66 kDa,  $K_{AV} 0,53$ ), Co(III)insulina-hexâmero (35 kDa,  $K_{AV} 0,61$ ), e insulina monomérica X2 (6kDa,  $K_{AV} 0,73$ ).

A seguinte equação é usada para determinar o valor de  $K_{av}$  para o derivado:

$$K_{av} = (t-t_0)/(V_t/(f+t_d-t_0))$$

onde  $t$  é tempo de retenção para um determinado pico,  $t_0$  é o tempo de retenção para a Dextrana azul,  $V_t$  é o volume total da coluna (aqui 2,4 mL),  $f$  é a vazão (aqui 0,04 mL/min), e  $t_d$  é o tempo de retenção para a Dextrana azul sem a coluna no sistema.

O valor de  $K_{AV}$  indica o grau de auto-associação de um derivado, isto é, um  $K_{AV}$  grande similar à  $K_{AV}$  para o Co(III) hexâmero de insulina e X2 monômero de insulina mostra uma baixa ou nenhuma propensão do derivado para formar grandes complexos auto-associados, enquanto  $K_{AV}$  muito pequeno, perto de zero ou mesmo negativo, mostra uma alta propensão do derivado para auto-associação para complexos grandes e solúveis.

Dados de hidrofobicidade dos derivados de insulina de acordo com a inven-  
20 ção

A hidrofobicidade (índice hidrofóbico) dos derivados de insulina da invenção com relação à insulina humana,  $K'_{rel}$ , foi medida em uma coluna de HPLC LiChrosorb RP18 (5 $\mu$ g, 250x4mm) por eluição isocrática, a 40°C, usando misturas de A) tampão de fosfato de sódio a 0,1M, pH 7,3, contendo 25 10% de acetonitrila, e B) 50% de acetonitrila em água como eluentes. A eluição foi monitorada seguindo absorção de UV do eluato em 214 nm. Tempo vazio,  $t_0$ , foi encontrado por injeção de nitrato de sódio a 0,1mM. Tempo de retenção para insulina humana,  $t_{humana}$ , foi ajustado para pelo menos  $2t_0$  por variação de razão entre as soluções A e B.  $K'_{rel} = (t_{derivado}-t_0)/(t_{humana}-t_0)$ .  $K'_{rel}$  30 encontrado para vários derivados de insulina de acordo com a invenção é

dado na Tabela 1.

Ensaio de Afinidade de Albumina Sérica Humana

A constante de ligação relativa do análogo 125I-TyrA14 para albumina sérica humana em partículas Minileak e medida a 23°C (detemir = 1 em tampão de solução salina).

misturabilidade das insulinas de longa ação e de curta ação conforme análise por cromatografia de exclusão de tamanho de misturas de insulina

SEC: Misturabilidade de 30:70 de Insulina Aspart (3 Zn/6 insulina, glicerol 1,6%, fenol a 16mM e m-cresol a 16mM, cloreto de sódio a 10mM, fosfato a 7mM, pH 7,4) e insulina de ação prolongada (2,1 ou 6 Zn/6 insulina), conforme medida por coleta de porções de SEC (conforme descrição acima) e quantificação por HPLC da presença de insulinas de ação prolongada e ação rápida na porção de alto peso molecular (porção 2, MW > HSA) e na porção de baixo peso molecular (porção 3, MW = HSA), respectivamente.

Quatro porções são coletadas no tamanho de 16 min depois da demora, cuja porção 2 [16-32min] (pico 1) contém forma associada maior que a albumina (32 min correspondem ao  $K_{AV}$  0,46) e a porção 3 (pico 2) contém formas diexaméricas, hexaméricas, diméricas e monoméricas de insulina.

HPLC: cromatografia de fase reversa em Zorbax Eclipse XDB-C18 2,1\*15 mm (1,8 µm), gradiente eluído com tampão A: sulfato de sódio a 0,2M, fosfato de sódio a 0,04M, 10% de acetonitrila, pH 7,2 e tampão B: 70% de acetonitrila a 30°C, 19 a 34% de B em 4,5 min lineares, condição inicial rápida aos 5 min, tempo de corrida de 7 min, vazão de 0,5 mL/min, volume de injeção de 14 µL e detecção UV em 276 nm usando a referência insulina Aspart de 609µM para ambos os análogos.

Composto	Hidrofobicidade relativa à insulina humana	Afinidade de receptor de insulina relativa à insulina humana	Afinidade de albumina sérica relativa à insulina detemir	Auto-associação: K <sub>av</sub> (% de área de pico)
Exemplo 1	++ 1,366	++ 37%	++ 1,9	+++ 0,0 (87%) 0,74 (13%)
Exemplo 2	++ 1,933	++ 35%	++ 2,2	+++ 0,0 (94 %) 0,75 (6 %)
Exemplo 3	++ 1,095	++ 30%	+ 0,37	+++ 0,08 (76 %) 0,74 (24 %)
Exemplo 4	+++ 0,716	+++ 52 %	+	++ 0,15 (77 %) 0,74 (23%)
Exemplo 5	++ 1,75	++ 30 %	++ 1,93	+++ 0,02 (93%) 0,76 (7%)
Exemplo 6	++ 1,617	++ 33%	++ 1,36	+++ 0,01 (90 %)
Exemplo 7	++ 2,936	++ 37%	+++ 2,62	+++ 0,01 (90 %),
Exemplo 8	++ 2,461	++ 38%	++ 1,95	n.a,
Exemplo 9	+++ 0,738	++ 58%	+	+++ 0,05 (90 %) 0,75 (10%)
Exemplo 10	++ 1,803	++ 43%	+	++ 0,26 (48%)
Exemplo 11	+++	++		

	0,435	43%	n.a.	n.a.
Exemplo 12	+++ 0,989	+++ 49%	+	++ 0,17 (44 %) 0,7 (56%)
Exemplo 13	+++ 0,552	+++ 59%	+	+ 0,69 (100%)
Exemplo 14	++ 1,61	++ 48%	n.a.	n.a.
Exemplo 15	++ 1,09	++ 47%	+	++ 0,28 (42%) 0,72 (58%)
Exemplo 16	++ 2,21	+++ 88%	++ 1,9	++ 0,3 (28%) 0,52 (72%)
Exemplo 17	+	++ 15,9	+++ 2,97	++ 0,12 (87 %) 0,79 (13%)
Exemplo 18	++ 4,16	++ 36%	+++ 5,83	++ 0,33 (24%) 0,5 (76%)
Exemplo 19	++ 3,73	++ 42%	+++ 5,27	++ 0,33 (24%) 0,51 (76%)

**Legenda da Tabela:**

Hidrofobicidade relativa à insulina humana:  $k'_{\text{rel}} < 1$ : +++, 1-10: ++,  $> 10$ : + (HI = 1)

Afinidade de receptor de insulina relativa à insulina humana: <5%: +, 5-50%:

5 ++, >50%: +++

Afinidade da albumina sérica humana relativa à insulina detemir: <0,5: +, 0,5-2: ++, >2: +++

Auto=associação:  $K_{AV} < 0,1$ : +++,  $K_{AV} < 0,55$ : ++ e  $K_{AV} \geq 0,55$ :

$K_{AV} = 0,55$  para albumina sérica humana,  $K_{AV} = 0,63$  para insulina humana Co(III) hexâmero,

$K_{AV} = 0,72$  para o análogo de insulina monomérica X2

Exemplo 21:

- 5 Gancho de glicose euglicêmica depois da administração s.c. de preparações de insulina a porcos

Porcas, com 60 a 90 kg, jejuadas por 18 horas. Durante os experimentos, as porcas ficam livres para se movimentarem em seus currais. Uma dose de insulina é administrada s.c., dependendo do tamanho da dose 10 freqüentemente se dividiam em dois depósitos. Cada porca foi mantida euglicêmica em seus níveis de jejum individuais por até 24 horas, por uma infusão intravenosa de taxa variável de uma solução de glicose a 20%. A infusão é dada através de um cateter inserido na veia jugular. Dependendo das alterações das concentrações de glicose no plasma observada durante o 15 monitoramento da glicose no plasma, os ajustes necessários da infusão de glicose são feitos empiricamente. Amostras de sangue são coletadas em tubos de vidro com EDTA a cada 15-30 minutos, plasma é separado para medições de glicose e insulina. Glicose é determinada dentro de 1,5 min de amostragem do sangue com um analisador de glicose YSI (Yellow Spring 20 Instruments) (método de glicose oxidase). Os perfis médios de taxas de infusão de glicose (GIR) e perfis médios de insulina no plasma são feitos para cada preparação de insulina. (Figuras 2-4 mostram a média  $\pm$  SEM).

Métodos Farmacêuticos

Ensaio (I)

- 25 Ligação de receptor de insulina dos derivados de insulina da invenção

A afinidade dos análogos de insulina da invenção para o receptor de insulina foi determinada por ensaio SPA (Ensaio de Proximidade de Cintilação), ensaio de captura de anticorpos em microplacas de titulação. Contas de ligação a anticorpo SPA-PVT, reagente anti-camundongo (Amer-30 sham Biosciences, Cat. N° PRNQ007) foram misturados com 25 mL de tam-pão de ligação (HEPES a 100mM pH 7,8; cloreto de sódio a 100mM, MgSO<sub>4</sub> a 10mM, 0,025% de Tween-20). Mistura reagente para um Packard Optiplate

simples (Packard Nº 6005190) é composta de 2,4 $\mu$ L de uma diluição 1:5.000 de receptor de insulina humana recombinante purificado – exon 11, uma quantidade de solução de estoque de A14Tyr[<sup>125</sup>]-insulina humana correspondente a 5.000 cpm por 100  $\mu$ L de mistura reagente, 12  $\mu$ L de uma diluição 1:1.000 de anticorpo F12, 3 mL de contas para SPA e tampão de ligação para um total de 12 mL. Um total de 100  $\mu$ L foi então adicionado e uma série de diluições é feita de amostras apropriadas. Para a série de diluições, foram então adicionados 100  $\mu$ L da mistura reagente e as amostras foram incubadas por 16 horas, com agitação suave. As fases foram então separadas por centrifugação por 1 min e as placas contadas em um Topcounter. Os dados de ligação foram ajustados usando algoritmo de regressão não-linear no GraphPad Prism 2.01 (GraphPad Software, San Diego, CA).

#### Ensaio (II)

##### Potência dos derivados de insulina da invenção relativa à insulina humana

Ratos machos Sprague Dawley pesando de 238 a 383 g no dia experimental são usados para o experimento de gancho. Os ratos têm acesso livre à alimentação sob condições ambientais controladas de jejum durante a noite (a partir das 15 horas) antes do experimento de gancho.

#### Protocolo de Experimento

Os ratos são aclimatizados nas unidades para animais por pelo menos 1 semana antes do procedimento cirúrgico. Aproximadamente 1 semana antes do experimento de gancho, cateteres Tygon são inseridos sob anestesia com halotano na veia jugular (para infusão) e a artéria carótida (para amostragem de sangue) e exteriorizados e fixados na nuca. Aos ratos é dada estreptocilina veterinária (Boeringer Ingelheim; 0,15 mL/rato, i.m.), pós-cirurgicamente e colocados em uma unidade de cuidado animal (25°C) durante o período de recuperação. De modo a obter analgesia, Anorfina (0,06 mg/rato, s.c.) é administrada durante a anestesia e Rimadil (1,5 mg/kg, s.c.) é administrado depois da recuperação completa da anestesia (2 a 3 h) e de novo uma vez diariamente por 2 dias.

A técnica de gancho empregada é adaptada de (1). Às 7 horas da manhã do dia experimental, os ratos jejuados durante a noite (a partir das

15 horas do dia anterior) são pesados e conectados às seringas de amostragem e sistema de infusão (bombas Harvard 22 Basic, Harvard, e seringas de vidro hipodérmicas Perfectum, Aldrich) e então colocados em gaiolas de gancho individuais, onde eles descansaram por cerca de 45 minutos antes  
5 do início do experimento. Os ratos são capazes de se moverem livremente nos forros das instalações durante todo o experimento e tiveram acesso livre à água de beber. Depois de um período basal de 30 minutos, durante o qual os níveis de glicose no plasma foram medidos em intervalos de 10 minutos, o derivado de insulina a ser testado e a insulina humana (um nível de dose  
10 por rato, n= 6-7 por nível de dose) foram infundidos (i.v.) em uma taxa constante por 300 minutos. Níveis de glicose do plasma são medidos em intervalos de 10 minutos e a infusão de glicose aquosa a 20% é, por conseguinte, ajustada de modo a manter a euglicemia. Amostras de eritrócitos ressuspensos foram agrupadas de cada rato e retornaram em cerca de volumes de ½  
15 mL via o cateter na carótida.

Em cada dia experimental, as amostras das soluções dos derivados de insulina individuais a serem testados e a solução de insulina humana são tiradas antes e no final dos experimentos de gancho e as concentrações dos peptídeos foram confirmadas por HPLC. Concentrações plasmáticas da insulina do rato e do C-peptídeo, bem como do derivado de insulina a ser testado e da insulina humana são medidas em pontos de tempo relevantes, antes e no final dos estudos. Os ratos são mortos no final do experimento usando uma superdosagem de pentobarbital.

Compostos e dose de teste: as insulinas a serem testadas são  
25 diluídas de uma solução de estoque contendo 97 $\mu$ M do derivado de insulina em fosfato a 5mM pH 7,7. A concentração final na solução pronta para uso é de 0,45 $\mu$ M do derivado de insulina, 5mM de fosfato, 100mM de cloreto de sódio, 0,007% de polissorbato 20. O pH era de 7,7 e a taxa de infusão era de 15 e 20 pmol.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>.

30 Uma solução de estoque de insulina humana que é usada como composto de referência foi formulada em um meio similar e infundida i.v., em 6, 15 ou 30 pmol.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>.

Ambas as soluções de estoque são armazenadas a -20°C e descongeladas durante a noite a 4°C, antes do uso. As soluções são giradas gentilmente de cabeça para baixo, várias vezes, 15 minutos antes de serem transferidas para as seringas de infusão.

5     Ensaio (III)

Determinação em porcos de T<sub>50%</sub> dos derivados de insulina da invenção

T<sub>50%</sub> é o tempo em que 50% de uma quantidade injetada do derivado de insulina marcado com A14Tyr[<sup>125</sup>] a ser testado desapareceram do sítio de injeção conforme medido com um contador gama externo.

10       Os princípios de cuidado com animais de laboratório são seguidos, LYYD livre de patógeno específico, porcas não diabéticas, híbridas de Danish Landrace, Yorkshire e Duroc, são usadas (Holmenlund, Haarloev, Dinamarca) para estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos. As porcas estão conscientes, têm de 4 a 5 meses de idade e pesam de 70-95 kg. Os  
15      animais jejucaram durante a noite por 18 horas antes do experimento.

As preparações formuladas de derivados de insulina marcadas em Tyr<sup>A14</sup> com <sup>125</sup>I são injetadas s.c. nas porcas como previamente descrito (Ribel, U., Jørgensen, K., Brange, J, e Henriksen, U. *The pig as a model for subcutaneous insulin absorption in man*. Serrano-Rios, M e Lefèvre, P. J.  
20      891-896. 1985. Amsterdam; Nova Iorque; Oxford, Elsevier Science Publishers. 1985 (Conference Proceeding)).

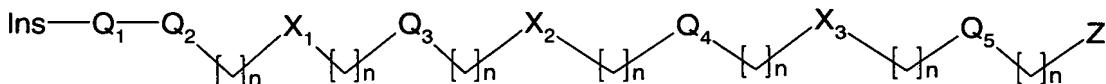
No início dos experimentos, uma dose de 60 nmols do derivado de insulina de acordo com a invenção (composto de teste) e uma dose de 60 nmols de insulina detemir (ambas marcadas com <sup>125</sup>I em TyrA14) são injetadas em dois sítios separados no pescoço de cada porca.

O desaparecimento da marcação radiativa do sítio de injeção s.c. é monitorado usando uma modificação do método de contagem gama externa, tradicional (Ribel, U. *Subcutaneous absorption of insulin analogues*. Berger, M. e Gries, F. A. 70-77 (1993). Stuttgart; Nova Iorque, Georg Thime  
30      Verlag (Conference Proceeding)). Com esse método modificado é possível medir continuamente o desaparecimento da radioatividade de um depósito subcutâneo por vários dias usando um dispositivo portátil sem fio (Scancys

Laboratorieteknik, Værløse, DK-3500, Dinamarca). As medições são realizadas em intervalos de 1 minuto, e os valores contados são corrigidos quanto à atividade residual.

## REIVINDICAÇÕES

### 1. Derivado de insulina tendo a fórmula



em que Ins é uma porção de insulina parente e  
Q<sub>1</sub>—Q<sub>2</sub>—[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>—X<sub>1</sub>—[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>—Q<sub>3</sub>—[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>—X<sub>2</sub>—[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>—Q<sub>4</sub>—[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>

5 —X<sub>3</sub>—[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>—Q<sub>5</sub>—[CH<sub>2</sub>]<sub>n</sub>—Z é um substituinte e onde Ins é ligado ao substituinte via uma ligação de amida entre o grupo α-amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou um grupo ε-amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins e um grupo CO em Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> do substituinte;

10 cada n é independentemente 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6;

Q<sub>1</sub> é:

- uma amida de aminoácido de um aminoácido com um ácido carboxílico na cadeia lateral, ou um aminoácido com uma cadeia lateral não-carregada, cujo resíduo forma, com seu grupo ácido carboxílico, um grupo amida junto

15 com o grupo α-amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou junto com o grupo ε-amino de um resíduo Lys presente na cadeia A ou B de Ins, ou

- uma cadeia composta de dois, três ou quatro resíduos de amida de α-aminoácido ou de aminoácido conforme especificados, acima ligados juntas-

20 mente através de ligações amida, cuja cadeia – através de uma ligação amida – é ligada ao grupo α-amino do resíduo de aminoácido N-terminal da cadeia B de Ins ou ao grupo ε-amino de um resíduo Lys na cadeia A ou B de Ins, ou

- uma ligação

25 Q<sub>2</sub> é:

- -COCH(CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-
- -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)
- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-

- -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-;
  - -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-;
  - -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-;
  - -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-;
- 5     • -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)<sub>1-4</sub>-;
- -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H, —CH<sub>3</sub>, —(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou —CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, —CH<sub>3</sub>, —(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>; ou
  - uma ligação
- 10    com a condição que
- pelo menos um de Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> na seja uma ligação, e
  - que Q<sub>2</sub> não seja —CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CO-NH- quando n for 0 ou 1, X<sub>1</sub> for uma ligação e Q<sub>3</sub> for (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>—, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>— ou (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)— e
- 15    - que se uma amina em Q<sub>1</sub> ou Q<sub>2</sub> formar uma ligação com o resto do substituinte, a amina deve ser ligada ao resto do substituinte via um grupo carbonila;
- Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>, e Q<sub>5</sub> podem ser, independentemente um do outro,
- -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>— onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32;
- 20    • uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2, ou 3 grupos —CH=CH— e um número de grupos -CH<sub>2</sub>- suficiente para dar um número total de átomos de carbono na cadeia na faixa de 4 to 32;
- -CO-((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-NH-CO)-;
  - -(CO-(CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>-CO-NH)<sub>1-4</sub>-, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H,
- 25    -CH<sub>3</sub>, —(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou —CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> pode ser independentemente H, —CH<sub>3</sub>, —(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>;
- -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-Ar-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>- onde Ar pode ser arileno ou heteroarileno, que pode ser substituído com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>, -CONR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> ou -SO<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, onde R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup>, podem ser, independentemente um do outro, H, -CH<sub>3</sub> ou -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>;
- 30    • (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>—; (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>—; (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>—; (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>— ou (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>y</sub>—;

$-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_y-$  onde  $y$  é 1-20;

- arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em  $-\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ,  $-\text{CONR}^1\text{R}^2$  ou  $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , onde  $\text{R}^1$  e  $\text{R}^2$  podem ser, independentemente um do outro,

5 H,  $-\text{CH}_3$  ou  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ;

- uma cadeia da fórmula

$-(\text{CH}_2)_s-\text{Y}_1-(\text{Ar})_{v_1}-\text{Y}_2-(\text{CH}_2)_w-\text{Y}_3-(\text{Ar})_{v_2}-\text{Y}_4-(\text{CH}_2)_t-\text{Y}_5-(\text{Ar})_{v_3}-\text{Y}_6-(\text{CH}_2)_z-$  em que Ar é definido como acima,  $\text{Y}_1$  -  $\text{Y}_6$  podem ser, independentemente um do outro, O, S, S=O, SO<sub>2</sub> ou uma ligação; onde s, w, t e z, independentemente um do outro, são zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de s, w, t e z fica na faixa de 4 a 30, e  $v_1$ ,  $v_2$ , e  $v_3$  podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1 com a condição que  $\text{Y}_1$  -  $\text{Y}_6$  não se liguem um ao outro e que a estrutura  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_1-\text{O}-$  não ocorra; ou

- uma ligação;

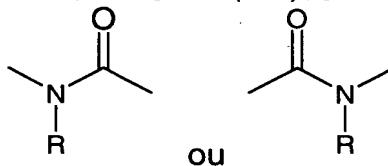
15 com a condição de que pelo menos um de  $\text{Q}_3$  -  $\text{Q}_5$  não seja uma ligação;  $\text{X}_1$ ,  $\text{X}_2$  e  $\text{X}_3$  são independentemente um do outro,

- O;

- $-\text{C}=\text{O}$

- uma ligação;

20 • NCOR<sup>1</sup>, onde R<sup>1</sup> pode ser H,  $-\text{CH}_3$  ou  $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$ ; ou



onde R é hidrogênio, C<sub>1-3</sub>-alquila, C<sub>2-3</sub>-alquenila ou C<sub>2-3</sub>-alquinila;

com a condição que

-  $\text{X}_1$ ,  $\text{X}_2$  e  $\text{X}_3$  não possam se ligar a Z e

- quando  $\text{X}_1$ ,  $\text{X}_2$  e  $\text{X}_3$  forem O, então  $\text{X}_1$ ,  $\text{X}_2$  e  $\text{X}_3$  não se ligam diretamente a O

25 em Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>, e Q<sub>5</sub>

e

Z é

-COOH;

-CO-Asp;

- CO–Glu;  
 –CO–Gly;  
 –CO–Sar;  
 –CH(COOH)<sub>2</sub>;  
 5 –N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>;  
 –SO<sub>3</sub>H  
 –OSO<sub>3</sub>H  
 –OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>  
 –PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou  
 10 –tetrazol-5-ila ou  
 –O–W<sub>1</sub>,  
 onde W<sub>1</sub> é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em tetrazo-5-lila, -COOH,  
 –SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>–SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>–O–PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, –CONR<sup>3</sup>R<sup>4</sup> ou –SO<sub>2</sub>NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, on-  
 15 de R<sup>3</sup> e R<sup>4</sup> podem ser, independentemente um do outro, H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>–SO<sub>3</sub>H,  
 ou -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>–O–PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>; com a condição que quando Z for –O–W<sub>1</sub> então Q<sub>1</sub>  
 deve estar presente e  
 qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup> deste.  
 2. Derivado de insulina, de acordo com a reivindicação 1, em  
 20 que Q<sub>2</sub> é selecionado do grupo que consiste em  
 • -COCH(CONH<sub>2</sub>)-  
 • -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-  
 • -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)  
 • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-  
 25 • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-  
 • -COCH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-  
 • -COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)-  
 • -COCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CONH-;  
 • –CO–((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>–NH–CO)–; ou  
 30 • –CO–((CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>1-6</sub>–CO–NH)–, onde R<sup>5</sup> pode ser independentemente H,  
 –CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub> ou –CONH<sub>2</sub> e R<sup>6</sup> podem ser, independentemente, H,  
 -CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>CH<sub>3</sub>.

3. Derivado de insulina, de acordo com qualquer um dos parágrafos de 1 a 9, em que  $Q_3$  é  $-(CH_2)_m-$ , onde m é um número inteiro na faixa de 6 a 32 ou de 8 a 20 ou m é 12, 13, 14, 15 ou 16.

4. Derivado de insulina, de acordo com as reivindicações de 1 a 5 3, em que  $Q_1$ ,  $Q_4$ ,  $Q_5$ ,  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$  são ligações e n é zero.

5. Derivado de insulina, de acordo com a reivindicação 1, em que um de  $Q_3$ ,  $Q_4$ , ou  $Q_5$  é  $(CH_2CH_2O)_y-$ ;  $(CH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;  $(CH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;  $(CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2O)_y-$  ou  $(CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2O)_y-$ ;  $-(CH_2OCH_2)_y-$  onde y é 1-20.

10 6. Derivado de insulina, de acordo com a reivindicação 1, em que

$Q_3$  é

- $-CO-((CR^5R^6)_{1-6}-NH-CO)-;$

•  $-(CO-(CR^5R^6)_{1-6}-CO-NH)_{1-4}-$ , onde  $R^5$  pode ser independentemente H,

15 - $CH_3$ , -( $CH_2$ )<sub>1-6</sub> $CH_3$  ou — $CONH_2$  e  $R^6$  pode ser independentemente H, — $CH_3$ , —( $CH_2$ )<sub>1-6</sub> $CH_3$ ;

•  $-CO-(CH_2)_{0-3}-Ar-(CH_2)_{0-3}-$  onde Ar pode ser arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em  $-CH_3$ , -( $CH$ )<sub>1-6</sub> $CH_3$ , - $CONR^1R^2$  ou  $-SO_2NR^1R^2$ , onde  $R^1$  e  $R^2$ ,

20 podem ser, independentemente um do outro, H,  $-CH_3$  ou -( $CH$ )<sub>1-6</sub> $CH_3$ ; ou • uma ligação

$Q_4$  é

- $-(CH_2)_m-$  onde m é um número inteiro de 4 a 22;

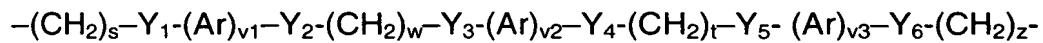
• uma cadeia de hidrocarboneto divalente compreendendo 1, 2 ou 3 grupos

25  $-CH=CH-$  e um número de grupos  $-CH_2-$  suficiente para dar um número total de átomos de carbono na cadeia na faixa de 4 a 22;

• arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em  $CH_3$ , -( $CH$ )<sub>1-6</sub> $CH_3$ , - $CONR^1R^2$  ou  $-SO_2NR^1R^2$ , onde  $R^1$  e  $R^2$  podem ser, independentemente um do outro,

30 H,  $-CH_3$  ou -( $CH$ )<sub>1-6</sub> $CH_3$ ; ou

• uma cadeia da fórmula

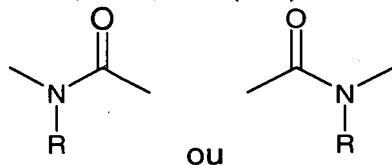


onde Ar é definido como acima,  $Y_1$  -  $Y_6$  podem ser independentemente um do outro, O, S, S=O, SO<sub>2</sub> ou uma ligação; onde s, w, t e z são independentemente um do outro zero ou um número inteiro de 1 a 10 de modo que a soma de s, w, t e z está na faixa de 4 a 30, e  $v_1$ ,  $v_2$ , e  $v_3$  podem ser, independentemente um do outro, zero ou 1 com a condição que  $Y_1$  -  $Y_6$  não se liguem um ao outro e que a estrutura  $-O-(CH_2)_1-O-$  não ocorra;

5       $X_1$  é

- O;
- -C=O

10     • NCOR<sup>1</sup>, onde R<sup>1</sup> pode ser H, -CH<sub>3</sub> ou -(CH)<sub>1-6</sub>-CH<sub>3</sub>; ou



onde R é hidrogênio, C<sub>1-3</sub>-alquila, C<sub>2-3</sub>-alquenila ou C<sub>2-3</sub>-alquinila;

com a condição que quando  $X_1$  for O, então  $X_1$  não se ligará diretamente a O em Q<sub>4</sub>;

$X_2$ ,  $X_3$  e Q<sub>5</sub> são ligações;

15     todos os valores de n são zero; e

Z é:

-COOH;

-CO-Asp;

-CO-Glu;

20     -CO-Gly;

-CO-Sar;

-CH(COOH)<sub>2</sub>;

-N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub>;

-SO<sub>3</sub>H

25     -OSO<sub>3</sub>H

-OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>

-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ou

-tetrazol-5-ila ou

-O-W<sub>1</sub>,

onde W<sub>1</sub> é arileno ou heteroarileno, que podem ser substituídos com um ou dois grupos selecionados do grupo que consiste em tetrazo-5-lila, -COOH, -SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, -CONR<sup>3</sup>R<sup>4</sup> ou -SO<sub>2</sub>NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, onde R<sup>3</sup> e R<sup>4</sup>, podem ser, independentemente um do outro, H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-SO<sub>3</sub>H,  
5 ou -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>;  
e qualquer complexo de Zn<sup>2+</sup> deste.

7. Derivado de insulina, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, em que Z é -COOH.

8. Derivado de insulina, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 7, em que a insulina parente é um análogo de insulina.  
10

9. Derivado de insulina, de acordo com a reivindicação 8, em que a insulina parente é selecionada do grupo que consiste em: insulina humana desB30, insulina humana GlyA21, insulina humana GlyA21desB30, insulina humana GlyA21ArgB31ArgB32, insulina humana LysB3GluB29, insulina humana LysB28ProB29 e insulina humana ThrB29LysB30.  
15

10. Composição farmacêutica para o tratamento de diabetes em um paciente que necessita de tal tratamento, compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina como definido em qualquer uma das reivindicações precedentes, juntamente com um veículo farmaceuticamente aceitável.  
20

11. Método para produzir uma composição farmacêutica como definida na reivindicação 10, em que até cerca de 10 átomos de zinco por 6 moléculas de derivado de insulina são adicionados à composição farmacêutica.

25 12. Método para tratar diabetes em um paciente que necessita de tal tratamento, compreendendo administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um derivado de insulina como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 10.

30 13. Método, de acordo com a reivindicação 12, para o tratamento pulmonar de diabetes.

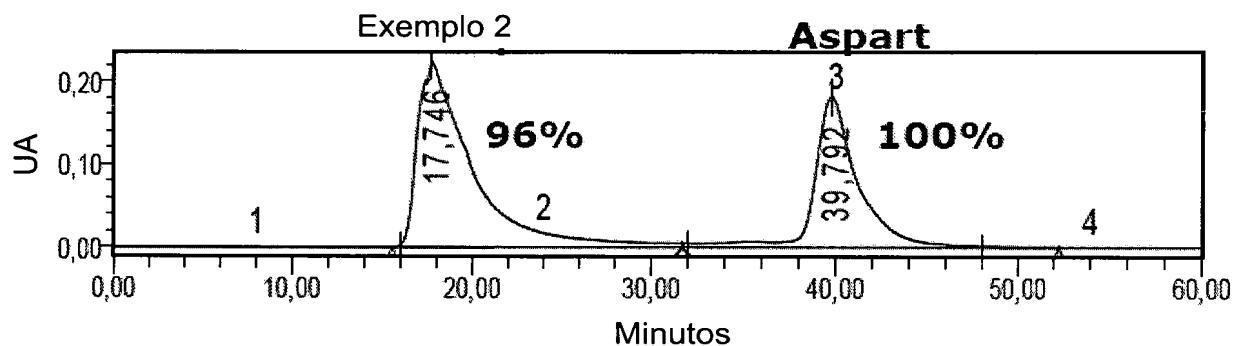
14. Mistura de um derivado de insulina como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9 e um análogo de insulina de ação rápida

selecionado do grupo que consiste em insulina humana AspB28; insulina humana LysB28ProB29 e insulina humana LysB3GluB29.

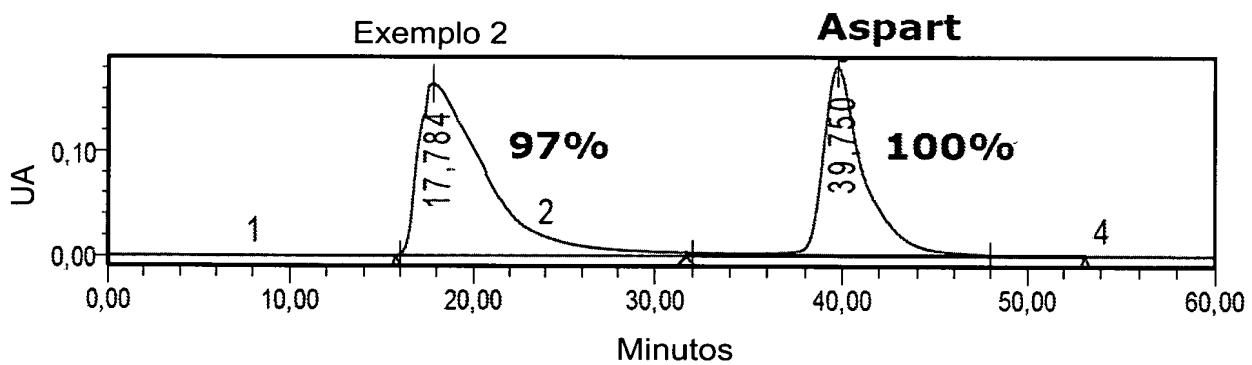
15. Derivado de insulina, em que o derivado de insulina é selecionado do grupo que consiste em:

- 5       $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-tetradecanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-tridecanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida insulina humana desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\beta$ -alanil insulina humana desB30,
- 10      $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\gamma$ -L-aspartilamida insulina humana desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\epsilon$ -aminoexanoil insulina humana desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-pentadecanoil- $\delta$ -aminopentanoíla insulina humana desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ -10-(4-carboxifenóxi)-decanoil- $\gamma$ -L-glutamilamida      insulina      humana  
desB30,
- 15      $N^{\epsilon B29}$ -4-[11-(4-carboxifenil)undecanoilamino]butirila insulina humana desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ -(3-(3-{4-[3-(7-carboxieptanoilamino)propóxi]butóxi}propilcarbamoil)-  
propionil- $\gamma$ -glutamilamida) insulina humana desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-tridecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-undecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,
- 20      $N^{\epsilon B29}$ - $\omega$ -carbóxi-tetradecanoil- $\gamma$ -amino-butanoíla insulina humana desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ -{4-[10-(4-carbóxi-fenóxi)-decanoilamino]-butiril} insulina, desB30
- $N^{\epsilon B29}$ -{4-[(14-carbóxi-tetradecanoilamino)-metil]-benzoil} insulina desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ -[16-(4-carbóxi-fenóxi)-hexadecanoil] insulina desB30,
- $N^{\epsilon B29}$ -{4-[(15-carboxipentadecanoilamino)benzoil]- insulina humana desB30 e
- 25      $N^{\epsilon B29}$ -{4-[(15-carbóxi-pentadecanoilamino)-metil]-benzoil}- insulina desB30.

Análise SEC de uma mistura do derivado de insulina do exemplo 2 com insulina aspart em uma razão de 70/30 com 2,1 Zn(II) por 6 derivados de insulina



Análise SEC de uma mistura do derivado de insulina do exemplo 2 com insulina aspart em uma razão de 70/30 com 6 Zn(II) por 6 derivados de insulina



**FIG. 1**

Perfil de ação do derivado de insulina do exemplo 2 em diferentes concentrações e formulações de Zn

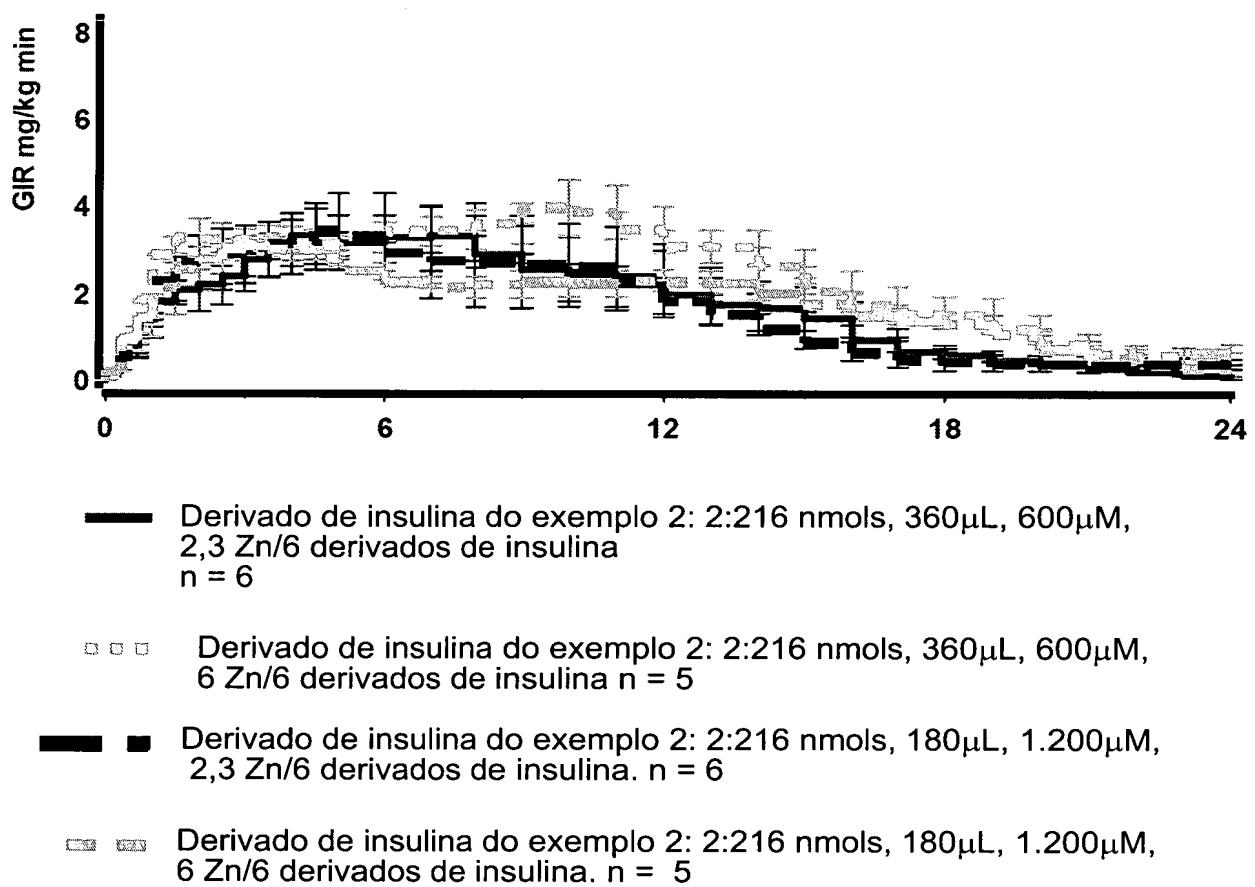


FIG. 2

Gancho depois da injeção subcutânea em porcos de insulina aspart misturada com um derivado de insulina do exemplo 2, ou insulina aspart e o derivado de insulina do exemplo 2 injetados separadamente.

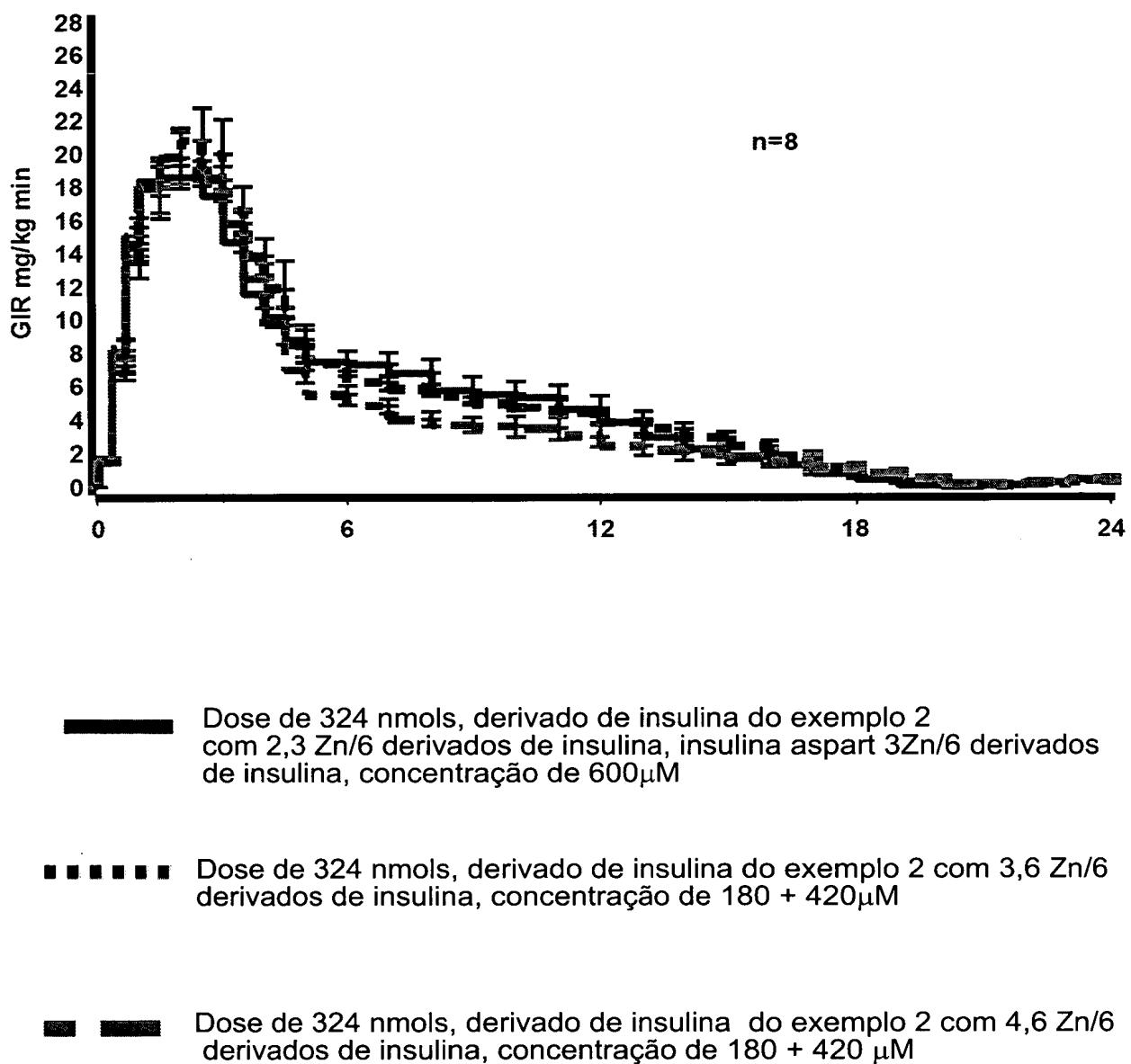
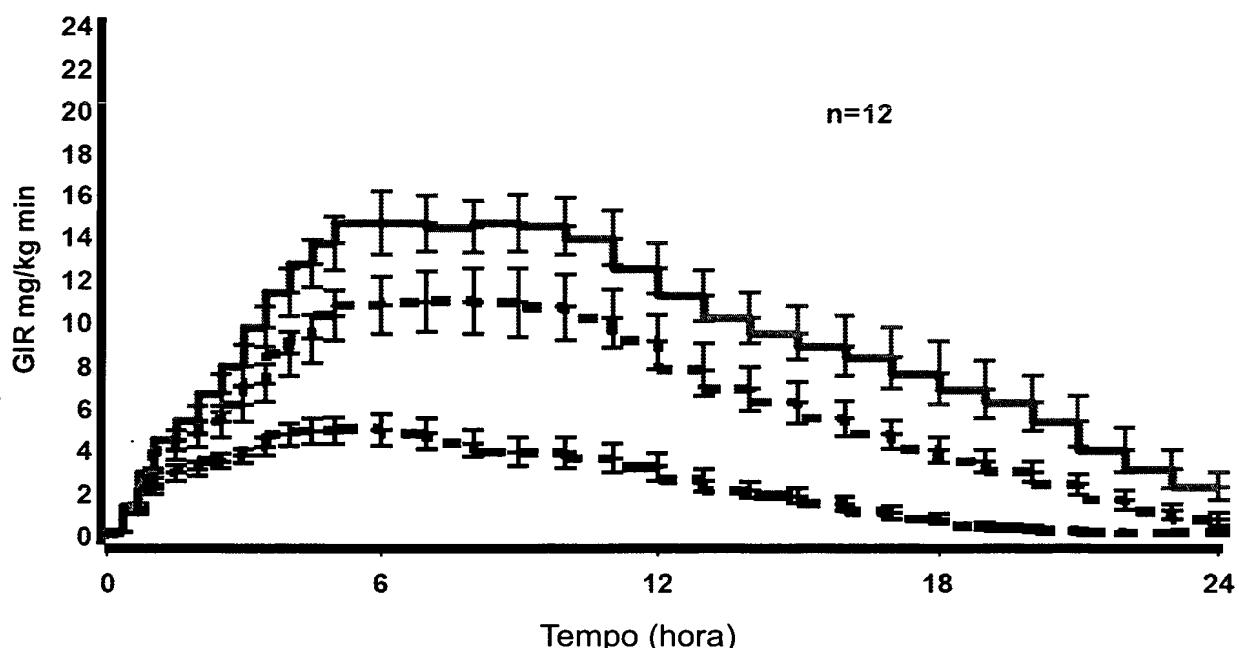


FIG. 3

Gancho depois da injeção subcutânea em porcos do exemplo 2, em três doses diferentes



■ Dose de 648 nmols, concentração de 1.200 $\mu$ M, derivado de insulina do exemplo 2 com 3 Zn/6 derivados de insulina

■■■■ Dose de 432 nmols, concentração de 1.200 $\mu$ M, derivado de insulina do exemplo 2 com 3 Zn/6 derivados de insulina

■■■ Dose de 216 nmols, concentração de 1.200 $\mu$ M, 3 Zn/6 derivados de insulina

FIG. 4

## RESUMO

Patente de Invenção: "**DERIVADO DE INSULINA**".

A presente invenção refere-se a novos derivados de insulina humana, que são solúveis em valores de pH fisiológico e têm um perfil de ação prolongada. A invenção também refere-se a métodos para proporcionar tais derivados, a composições farmacêuticas contendo os mesmos, a métodos para tratar diabetes e hiperglicemia usando os derivados de insulina da invenção e ao uso de tais derivados de insulina no tratamento de diabetes e hiperglicemia.