

R U 2 4 5 1 0 2 9 C 2



(19) RU (11) 2 451 029 (13) C2

(51) МПК
C07K 14/62 (2006.01)
A61K 38/28 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

R U 2 4 5 1 0 2 9 C 2

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2008143668/04, 08.05.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.05.2007

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
09.05.2006 EP 06113709.7
01.08.2006 EP 06118260.6

(43) Дата публикации заявки: 20.06.2010 Бюл. № 17

(45) Опубликовано: 20.05.2012 Бюл. № 14

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 2005012347 A2, 10.02.2005. RU 2160118 C2, 10.12.2000. WO 9507931 A1, 23.03.1995. WO 03013573 A1, 20.02.2003. WO 9731022 A1, 28.08.1997. WO 9629344 A1, 26.09.1996. WO 2005005477 A2, 20.01.2005. WO 9802460 A1, 22.01.1998. WO 2005012346 A1, 10.02.2005. US 5359030 A, 25.10.1994.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 09.12.2008

(86) Заявка РСТ:
EP 2007/054444 (08.05.2007)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2007/128817 (15.11.2007)

Адрес для переписки:
191186, Санкт-Петербург, а/я 230,
И.И.Липатовой, рег.№ 554

(54) ПРОИЗВОДНОЕ ИНСУЛИНА

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к новым производным человеческого инсулина, которые являются растворимыми при физиологических значениях pH и обладают пролонгированным профилем действия. Изобретение также относится к способам получения таких

(72) Автор(ы):

ХУБАЛЕК Франтишек (DK),
ХОЕГ-ЙЕНСЕН Томас (DK),
ЙОНАССЕН Иб (DK),
ГЭРИБЭЙ Патрик Уильям (DK),
ЯКОБСЕН Палле (DK),
ХАВЕЛУНД Свенд (DK),
КОДРА Янош Tibor (DK)

(73) Патентообладатель(и):
НОВО НОРДИСК А/С (DK)

производных, к фармацевтическим композициям, содержащим их, к способам лечения диабета и гипергликемии с применением производных инсулина по изобретению и к применению таких производных инсулина при лечении диабета и гипергликемии. 4 н. и 12 з.п. ф-лы, 21 пр., 4 ил.

R U 2 4 5 1 0 2 9 C 2

RUSSIAN FEDERATION



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) RU (11) 2 451 029 (13) C2

(51) Int. Cl.
C07K 14/62 (2006.01)
A61K 38/28 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2008143668/04, 08.05.2007

(24) Effective date for property rights:
08.05.2007

Priority:

(30) Convention priority:
09.05.2006 EP 06113709.7
01.08.2006 EP 06118260.6

(43) Application published: 20.06.2010 Bull. 17

(45) Date of publication: 20.05.2012 Bull. 14

(85) Commencement of national phase: 09.12.2008

(86) PCT application:
EP 2007/054444 (08.05.2007)

(87) PCT publication:
WO 2007/128817 (15.11.2007)

Mail address:

191186, Sankt-Peterburg, a/ja 230, I.I.Lipatovoj,
reg.№ 554

(72) Inventor(s):

**KhUBALEK Frantishek (DK),
KhOEG-JENSEN Tomas (DK),
JONASSEN Ib (DK),
GEhRIBEHJ Patrik Uill'jam (DK),
JaKOBSEN Palle (DK),
KhVELUND Svend (DK),
KODRA Janosh Tibor (DK)**

(73) Proprietor(s):

NOVO NORDISK A/S (DK)

(54) INSULIN DERIVATIVE

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to new human insulin derivatives which are soluble at physiological pH values. The invention also refers to methods for preparing such derivatives, to pharmaceutical compositions containing them, to

methods of treating diabetes and hyperglycaemia with using insulin derivatives under the invention and to the use such insulin derivatives in treating diabetes and hyperglycaemia.

EFFECT: prolonged profile of derivative action.

16 cl, 21 ex, 4 dwg

R U 2 4 5 1 0 2 9 C 2

Текст описания приведен в факсимильном виде.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к новым производным человеческого инсулина, которые растворимы при физиологических значениях рН и обладают пролонгированным профилем действия. Изобретение также относится к способам получения таких производных, к фармацевтическим композициям, содержащим их, к способам лечения диабета и гипергликемии с применением производных инсулина по изобретению и к применению таких производных инсулина при лечении диабета и гипергликемии.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

В настоящее время лечение диабета, как диабета типа 1, так и диабета типа 2, основано на возрастающей степени так называемой интенсивной инсулинотерапии. В соответствии с данным режимом пациентов лечат многократными ежесуточными инъекциями инсулина, включая одну или две инъекции в сутки инсулина длительного действия, чтобы покрыть базовую потребность в инсулине, с добавлением болясных инъекций инсулина быстрого действия для покрытия потребности в инсулине, связанной с приемами пищи.

Композиции инсулина длительного действия хорошо известны в данной области техники. Так, один из основных типов композиций инсулина длительного действия включает инъекционные водные суспензии кристаллов инсулина или аморфного инсулина. В этих композициях типично используемыми соединениями инсулина являются протамин-инсулин, цинк-инсулин или протамин-цинк-инсулин.

Некоторые недостатки связаны с применением суспензий инсулина. Так, в целях гарантии точного дозирования частицы инсулина должны быть сусpendированы гомогенно путем мягкого встряхивания перед тем, как определенный объем суспензии набирают из ампулы или выталкивают из картриджа. Таюке, для хранения суспензий инсулина температура должна поддерживаться в более узких пределах, чем для растворов инсулина, во избежание образования комков или коагуляции.

Хотя ранее считали, что протамины не являются иммуногенными, в настоящее время оказалось, что протамины могут быть иммуногенными у человека, и что их применение в медицинских целях может привести к образованию антител. Таюке получены данные, что сам комплекс протамин-инсулин является иммуногенным. Следовательно, у некоторых пациентов необходимо избегать применения композиций инсулина длительного действия, содержащих протамины.

Другим типом композиций инсулина длительного действия являются растворы, имеющие значение pH ниже физиологического pH, при котором инсулин выпадет в осадок в связи с подъемом значения pH при инъекции раствора.

Недостаток этих растворов состоит в том, что распределение частиц по размеру осадка, образовавшегося в ткани при инъекции, и, следовательно, профиль высвобождения лекарства, несколько непредсказуемо зависит от кровотока в месте инъекции и от других параметров. Следующий недостаток состоит в том, что твердые частицы инсулина могут действовать в качестве локального имплантата, вызывающего воспаление ткани в месте инъекции.

Международная патентная заявка, опубликованная под номером WO 2005/012347 (Novo Nordisk A/S), относится к производным инсулина, которые имеют боковую цепь, присоединенную либо к α -аминогруппе N-концевого аминокислотного остатка B-цепи, либо к ϵ -аминогруппе остатка Lys, присутствующего в B-цепи.

В Международной патентной заявке № EP2006/050593 (Novo Nordisk A/S) раскрыты производные инсулина, имеющие ароматическую группу в боковой цепи.

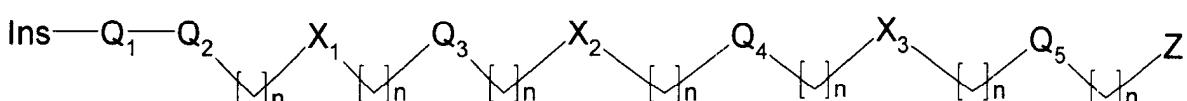
В патентной заявке № EP2006/050594 (Novo Nordisk A/S) раскрыты производные инсулина, имеющие ПЭГ в боковой цепи.

Другие производные инсулина раскрыты в японской выложенной патентной заявке № 1-254699 (Kodama Co., Ltd.) и в WO 95/07931 (Novo Nordisk A/S).

Однако все еще существует необходимость в инсулине, обладающем более пролонгированным профилем действия, чем известные к настоящему времени производные инсулина.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном аспекте изобретения производное инсулина имеет формулу



где Ins представляет собой исходную инсулиновую группировку, и $\text{Q}_1 - \text{Q}_2 - [\text{CH}_2]_n - \text{X}_1 - [\text{CH}_2]_n - \text{Q}_3 - [\text{CH}_2]_n - \text{X}_2 - [\text{CH}_2]_n - \text{Q}_4 - [\text{CH}_2]_n - \text{X}_3 - [\text{CH}_2]_n - \text{Q}_5 - [\text{CH}_2]_n - \text{Z}$ представляет собой заместитель, и где Ins присоединен к заместителю через амидную связь между α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка B-цепи Ins или ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в A- или B-цепи Ins, и группой CO в Q₁ или Q₂ заместителя;

каждое n независимо представляет собой 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

Q₁ представляет собой:

- аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где этот остаток образует с его карбоново-кислотной группой амидную группу вместе с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка в В-цепи Ins или вместе с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А- или В-цепи Ins, либо

- 10
- цепь, состоящую из двух, трех или четырех амидных или аминокислотных остатков α -аминокислоты, как указано выше, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка в В-цепи Ins или вместе с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А- или В-цепи Ins, либо

- 15
- связь;

Q₂ представляет собой:

- 20
- -COCH(CONH₂)-
 - -COCH₂N(CH₂CONH₂)-
 - -COCH₂N(CH₂CONH₂)COCH₂N(CH₂CONH₂)-
 - -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-

25

 - -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
 - -COCH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
 - -COCH₂CH₂N(CH₂CONH₂)-

30

 - -COCH₂OCH₂CONH-
 - -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-NH-CO)₁₋₄-;
 - -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R⁵ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃; либо

- 35
- связь

при условии, что

- 40
- по меньшей мере один из Q₁ или Q₂ представляет собой не связь, и
 - что Q₂ представляет собой не —CO—(CH₂)₂—CO—NH—, когда n равно 0 или 1, X₁ представляет собой связь и Q₃ представляет собой (CH₂CH₂O)₂—, (CH₂CH₂O)₃— или (CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂O)—, и

45

 - что, если амин в Q₁ или Q₂ образует связь с остальной частью заместителя, этот амин должен быть связан с остальной частью заместителя через карбонильную группу;

50

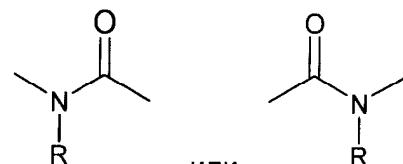
Q₃, Q₄, и Q₅ независимо друг от друга могут представлять собой

- $-(CH_2)_m-$, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до 32;
- двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы $-CH=CH-$ и достаточное число групп $-CH_2-$ для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 32;
- $-CO-((CR^5R^6)_{1-6}-NH-CO)-$;
- $-(CO-(CR^5R^6)_{1-6}-CO-NH)_{1-4}-$, где R^5 независимо может представлять собой H, $-CH_3$, $-(CH_2)_{1-6}CH_3$ или $-CONH_2$ и R^6 независимо может представлять собой H, $-CH_3$, $-(CH_2)_{1-6}CH_3$;
- $-CO-(CH_2)_{0-3}-Ar-(CH_2)_{0-3}-$, где Ar может представлять собой арилен или гетероарилен, который может быть замещен одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-CH_3$, $-(CH)_{1-6}-CH_3$, $-CONR^1R^2$ или $-SO_2NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо друг от друга могут представлять собой H, $-CH_3$ или $-(CH)_{1-6}-CH_3$;
- $(CH_2CH_2O)_y-$; $(CH_2CH_2CH_2O)_y-$; $(CH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$; $(CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$ или $(CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2O)_y-$; $-(CH_2OCH_2)_y-$, где y равно 1-20;
- арилен или гетероарилен, который может быть замещен одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-CH_3$, $-(CH)_{1-6}-CH_3$, $-CONR^1R^2$ или $-SO_2NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо друг от друга могут представлять собой H, $-CH_3$ или $-(CH)_{1-6}-CH_3$;
- цепь формулы $-(CH_2)_s-Y_1-(Ar)_{v1}-Y_2-(CH_2)_w-Y_3-(Ar)_{v2}-Y_4-(CH_2)_t-Y_5-(Ar)_{v3}-Y_6-(CH_2)_z-$ где Ar является таким, как определено выше, Y_1 - Y_6 независимо друг от друга могут представлять собой O, S, S=O, SO₂ или связь; где s, w, t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s, w, t и z находится в интервале от 4 до 30, и v₁, v₂ и v₃ независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y₁ - Y₆ не связаны друг с другом, и что структура $-O-(CH_2)_1-O-$ не встречается; либо
 - связь;
 при условии, что по меньшей мере один из Q₃ – Q₅ представляет собой не связь;
- X₁, X₂ и X₃ независимо друг от друга представляют собой
 - O;
 - $-C=O$;

- СВЯЗЬ;
- NCOR¹, где R¹ может представлять собой H, -CH₃ или -(CH)₁₋₆-CH₃;

либо

5



- или

10

где R представляет собой атом водорода, C₁₋₃-алкил, C₂₋₃-алкенил или C₂₋₃-алкинил;

15

при условии, что X₁, X₂ и X₃ не могут связываться с Z, и, когда X₁, X₂ и X₃ представляют собой O, тогда X₁, X₂ и X₃ не связаны прямой связью с O в Q₃, Q₄ и Q₅

и

20

Z представляет собой:

-COOH;

-CO-Asp;

-CO-Glu;

25

-CO-Gly;

-CO-Sar;

-CH(COOH)₂;

-N(CH₂COOH)₂;

30

-SO₃H;

-OSO₃H;

-OP(OH)₂;

35

-PO₃H₂ или

-тетразол-5-ил или

-O-W₁,

40

где W₁ представляет собой арилен или гетероарилен, который может быть замещен одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из тетразол-5-лила, -COOH, -SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂, -CONR³R⁴ или -SO₂NR³R⁴, где R³ и R⁴ независимо друг от друга могут представлять собой H, -(CH₂)₁₋₆-SO₃H или -(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂; при условии, что, когда Z представляет собой -O-W₁, тогда Q₁ должен присутствовать,

45

и любой его комплекс с Zn²⁺.

50

В одном аспекте изобретения Q₂ производного инсулина выбран из группы, состоящей из

- -COCH(CONH₂)-;
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)-;
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)COCH₂N(CH₂CONH₂);
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-;
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-;
- -COCH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-;
- -COCH₂CH₂N(CH₂CONH₂)-;
- -COCH₂OCH₂CONH-;
- -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-NH-CO)₁₋₄- или
- -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R⁵ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃

В одном аспекте изобретения Q₃ представляет собой -(CH₂)_m-, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до 32 или от 8 до 20, либо m равно 12, 13, 14, 15 или 16.

В одном аспекте изобретения Q₁, Q₄, Q₅, X₁, X₂ и X₃ представляют собой связи и p равно нулю.

В одном аспекте изобретения Q₃ представляет собой -(CH₂)_m-, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до 32 или от 8 до 20, либо m равно 12, 13, 14, 15 или 16, Q₁, Q₄, Q₅, X₁, X₂ и X₃ представляют собой связи, p равно нулю и Z представляет собой -COOH.

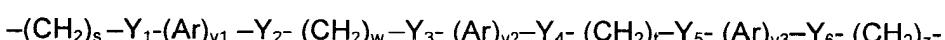
В одном аспекте изобретения один из Q₃, Q₄ или Q₅ представляет собой (CH₂CH₂O)_y-; (CH₂CH₂CH₂O)_y-; (CH₂CH₂CH₂CH₂O)_y-; (CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂CH₂O)_y- или (CH₂CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂CH₂O)_y-; -(CH₂OCH₂)_y-, где y равно 1-20.

В одном аспекте изобретения Q₃ представляет собой

- -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-NH-CO)-;
- -(CO-(CR⁵R⁶)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R⁵ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃;
- -CO-(CH₂)₀₋₃-Ar-(CH₂)₀₋₃-, где Ar может представлять собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из -CH₃, -(CH)₁₋₆-CH₃, -CONR¹R² или -SO₂NR¹R², где R¹ и R² независимо друг от друга могут представлять собой H, -CH₃ или -(CH)₁₋₆-CH₃; либо
- СВЯЗЬ

Q₄ представляет собой

- $-(CH_2)_m-$ где m представляет собой целое число от 4 до 22;
- двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы $-CH=CH-$ и достаточное число групп $-CH_2-$, достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 22;
- арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-CH_3$, $-(CH)_{1-6}CH_3$, $-CONR^1R^2$ или $-SO_2NR^1R^2$, где R¹ и R² независимо друг от друга могут представлять собой H, $-CH_3$ или $-(CH)_{1-6}CH_3$; либо
- цепь формулы

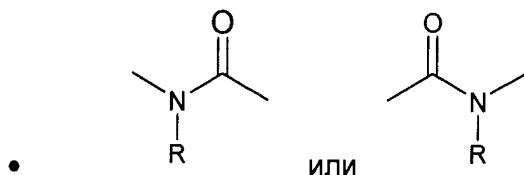


где Ar является таким, как определено выше, Y₁ - Y₆ независимо друг от друга могут представлять собой O, S, S=O, SO₂ или связь; где s, w, t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s, w, t и z находится в интервале от 4 до 30, и v₁, v₂, и v₃ независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y₁ - Y₆ не связаны друг с другом, и что структура $-O-(CH_2)_1-O-$ не встречается;

X₁ представляет собой

- O;
- $-C=O$;
- NCOR¹, где R¹ может представлять собой H, $-CH_3$ или $-(CH)_{1-6}CH_3$;

либо



где R представляет собой атом водорода, C₁₋₃-алкил, C₂₋₃-алкенил или C₂₋₃-алкинил;

40 при условии, что, когда X₁ представляет собой O, тогда X₁ не связан прямой связью с O в Q₄;

X₂, X₃ и Q₅ представляют собой связи;

45 все значения n равны нулю; и

Z представляет собой:

- COOH;
- CO-Asp;
- CO-Glu;

–CO–Gly;
 –CO–Sar;
 –CH(COOH)₂;
 5 –N(CH₂COOH)₂;
 –SO₃H;
 –OSO₃H;
 10 –OPO₃H₂;
 –PO₃H₂ или
 –тетразол-5-ил или
 –O–W₁,

15 где W₁ представляет собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами выбранными из группы, состоящей из тетразо-5-лила, –COOH, –SO₃H, –(CH₂)₁₋₆–SO₃H, –(CH₂)₁₋₆—O—PO₃H₂, –CONR³R⁴
 20 или –SO₂NR³R⁴, где R³ и R⁴ независимо друг от друга могут представлять собой H, –(CH₂)₁₋₆–SO₃H или –(CH₂)₁₋₆—O—PO₃H₂;
 25 и любой его комплекс с Zn²⁺.

В одном аспекте изобретения Z представляет собой –COOH.

25 В одном аспекте изобретения исходный производного инсулина представляет собой аналог инсулина.

30 В одном аспекте изобретения исходный инсулин выбран из группы, состоящей из: дезB30 человеческого инсулина, GlyA21 человеческого инсулина, GlyA21дезB30 человеческого инсулина, GlyA21ArgB31ArgB32 человеческого инсулина, LysB3GluB29 человеческого инсулина, LysB28ProB29 человеческого инсулина и ThrB29LysB30 человеческого инсулина.

35 В одном аспекте изобретения предложена фармацевтическая композиция для лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, содержащая терапевтически эффективное количество производного инсулина по настоящему изобретению.

40 В одном аспекте изобретения предложен способ изготовления фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество производного инсулина по настоящему изобретению, при котором в фармацевтическую композицию добавляют вплоть до примерно 10 атомов цинка на 6 молекул инсулина.

45 В одном аспекте изобретения предложен способ лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, при котором этому пациенту вводят терапевтически эффективное количество производного инсулина по настоящему изобретению.

В одном аспекте изобретения производное инсулина вводят легочным путем.

В одном аспекте изобретения предложена смесь производного инсулина согласно изобретению и аналог инсулина быстрого действия, выбранный из группы, состоящей из AspB28 человеческого инсулина; LysB28ProB29 человеческого инсулина и LysB3GluB29 человеческого инсулина.

В одном аспекте изобретения производное инсулина выбрано из группы, состоящей из:

N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- γ -L-глутамиламид дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- γ -аминобутоаноил дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} - ω -карбокситетрадеканоил- γ -L-глутамиламид дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} - ω -карбокситридеканоил- γ -L-глутамиламид дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- β -аланил дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- γ -L-аспартиламида дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- ϵ -аминогексаноил дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- δ -аминопентаноил дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} -10-(4-карбоксифенокси)-деканоил- γ -L-глутамиламида дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} -4-[11-(4-карбоксифенил)ундеканоиламино]бутирил дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} -(3-(3-{4-[3-(7-карбоксигептаноиламино)пропокси]бутокси}пропилкарбамоил)-пропионил- γ -глутамиламида дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} - ω -карбокситридеканоил- γ -аминобутоаноил дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} - ω -карбокси-ундеканоил- γ -аминобутоаноил дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} - ω -карбокситетрадеканоил- γ -аминобутоаноил дезВ30 человеческого инсулина,

N^{eB29} -{4-[10-(4-карбоксифенокси)-деканоиламино]-бутирил} дезВ30 инсулина,

N^{eB29} -{4-[(14-карбокситетрадеканоиламино)-метил]-бензоил} дезВ30

инсулина,

N^{eB29} -[16-(4-карбоксифенокси)-гексадеканоил] дезВ30 инсулина,

N^{eB29} -{4-[(15-карбоксипентадеканоиламино)бензоил]-дезВ30 человеческого инсулина и

N^{eB29} -{4-[(15-карбокси-пентадеканоиламино)-метил]-бензоил}-дезВ30

инсулина.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Под "аналогом инсулина", как используют здесь, понимают полипептид,

который имеет молекулярную структуру, которая формально может быть выведена из структуры встречающегося в природе инсулина, например, из структуры человеческого инсулина, посредством делетирования и/или замены по меньшей мере одного аминокислотного остатка, встречающегося в природном инсулине, и/или добавления по меньшей мере одного аминокислотного остатка. Добавленные и/или замененные аминокислотные остатки могут представлять собой либо кодируемые аминокислотные остатки, либо другие встречающиеся в природе остатки, либо полностью синтетические аминокислотные остатки.

В аспектах изобретения максимум 17 аминокислот модифицированы. В аспектах изобретения максимум 15 аминокислот модифицированы. В аспектах изобретения максимум 10 аминокислот модифицированы. В аспектах изобретения максимум 8 аминокислот модифицированы. В аспектах изобретения максимум 7 аминокислот модифицированы. В аспектах изобретения максимум 6 аминокислот модифицированы. В аспектах изобретения максимум 5 аминокислот модифицированы. В аспектах изобретения максимум 4 аминокислоты модифицированы. В аспектах изобретения максимум 3 аминокислоты модифицированы. В аспектах изобретения максимум 2 аминокислоты модифицированы. В аспектах изобретения максимум 1 аминокислота модифицирована.

Под "дезВ30 инсулином", "дезВ30 человеческим инсулином" понимают природный инсулин или его аналог, в котором отсутствует аминокислотный остаток В30. Подобным образом, "дезВ29дезВ30 инсулин" или "дезВ29дезВ30 человеческий инсулин" означает природный инсулин или его аналог, в котором отсутствуют аминокислотные остатки В29 и В30.

Под “**B1**”, “**A1**” и т.д. понимают аминокислотный остаток в положении 1 в В-цепи инсулина (считая от N-конца) и аминокислотный остаток в положении 1 в А-цепи инсулина (считая от N-конца), соответственно. Аминокислотный остаток в конкретном положении может быть также обозначен как, например, PheB1, что означает, что аминокислотный остаток в положении B1 представляет собой остаток фенилаланина.

Под “**инсулином**”, как используют здесь, понимают человеческий инсулин, свиной инсулин или бычий инсулин с дисульфидными мостиками между CysA7 и CysB7 и между CysA20 и CysB19 и внутренним дисульфидным мостиком между CysA6 и CysA11.

Под “**исходным инсулином**” понимают встречающийся в природе инсулин, такой как человеческий инсулин или свиной инсулин. Альтернативно исходный инсулин может представлять собой аналог инсулина.

Выражение “**незаряженный**” означает, что ни одна группа или группы, которые придавали бы заряд в интервале pH от 4 до 9, не присутствует. Например, свободные карбоновые кислоты не присутствуют.

Под “**бифункциональной алифатической группировкой**” подразумевают углеродную цепь из атомов углерода в количестве от 6 до 32, содержащую две функциональные группы, выбранные из карбокси, амино или гидроксила.

Термин “**несвязывающий амид**” подразумевают как описывающий амидную функциональную группу, присутствующую в боковой цепи или боковой группе остатка, присутствующего в заместителе, так что указанная амидная связь не использована для соединения остатков заместителя вместе. Должно быть понятно, что остаток заместителя в дополнение к несвязывающему амиду может содержать дополнительные амидные группы, например, амиды, которые связываются с другими остатками заместителя.

“**Остаток амида аминокислоты**” означает альфа-карбоксиамид аминокислоты или, если аминокислота содержит карбоновую кислоту в боковой цепи, “**амид аминокислоты**” означает амид либо альфа-карбоксигруппы, либо амид карбоксигруппы боковой цепи, как указано.

Когда производное инсулина по изобретению указано как “**растворимое при физиологических значениях pH**”, это означает, что производное инсулина может быть использовано для изготовления композиций инсулина, которые полностью растворяются при физиологических значениях pH. Такая благоприятная растворимость может быть либо следствием собственных свойств одного производного инсулина, либо результатом благоприятного взаимодействия между

производным инсулина и одним или более чем одним ингредиентом, содержащимся в носителе.

5 Термин “**без притупления**”, как используют здесь, означает, что при включении в один препарат как инсулин быстрого действия, так и ацилированный инсулин имеет профиль действия, идентичный или по существу идентичный профилю действия при введении инсулина быстрого действия и ацилированного инсулина в отдельных препаратах.

10 Выражение “**инсулин высокой молекулярной массы**” или “**вмм**” означает, что молекулярная масса комплекса человеческого инсулина, аналога инсулина или производного инсулина выше человеческого сывороточного альбумина, выше 15 додекамерного комплекса аналога инсулина или производного инсулина или больше, чем примерно 72 кДальтон.

20 Выражение “**инсулин средней молекулярной массы**” или “**смм**” означает, что молекулярная масса комплекса человеческого инсулина, аналога инсулина или производного инсулина соответствует молекулярной массе от примерно гексамиера инсулина до примерно додекамиера инсулина между 24 и 80 кДальтон.

25 Выражение “**инсулин низкой молекулярной массы**” или “**нмм**” означает, что молекулярная масса человеческого инсулина, аналога инсулина или производного инсулина составляет ниже 24 кДальтон.

Приведенные ниже сокращения использованы в описании и в примерах:

30 ОК объем колонки

ВЭЖХ высокоеффективная жидкостная хроматография

ЧСА человеческий сывороточный альбумин

ЖХ жидкостная хроматография

35 МАЛДИ матрично-активированная лазерная
десорбция/ионизация

MC масс-спектрометрия

КТ комнатная температура

40 ЭХ эксклюзионная хроматография

SPA Scintillation Proximity Assay

Трис три(гидроксиметил)аминометан

45 О.Д. оптическая плотность = поглощение

мономер X2 AspB9 GluB27 человеческий инсулин

ДИЭА: N,N-дизопропилэтиламин

ДМФ: N,N-диметилформамид

50 Sar: сарказин (N-метилглицин)

5	tBu:	трет-бутил
	TSTU:	O-(N-сукцинимидил)-1,1,3,3-тетраметилурония тетрафторборат
	ТГФ:	тетрагидрофуран
	EtOAc:	этилацетат
	ДИПЭА:	дизопропилэтиламин ТЭА: триэтиламин
10	ТФУ:	трифтормукусная кислота
	ДХМ:	дихлорметан
	КТ:	комнатная температура
	ПЭГ:	полиэтиленгликоль
	СВГ:	скорость введения глюкозы

15

Все ссылки, включая публикации, патентные заявки и патенты, цитируемые здесь, включены здесь путем ссылки в их полном объеме и до такой степени, как если бы каждая ссылка была индивидуально и конкретно указана как включенная путем ссылки и была изложена здесь в полном объеме (до максимальной степени, допустимой законом).

25

Все заголовки и подзаголовки использованы здесь только для удобства и никоим образом не должны быть рассмотрены как ограничивающие изобретение.

30

Использование любого примера и всех примеров или примерного языка (например, "такой как"), приведенных здесь, предназначено исключительно для лучшего освещения изобретения и не налагает ограничения на объем изобретения, если не заявлено иное. Никакой язык в описании не следует истолковывать как указывающий на какой-либо не заявленный элемент как существенный для практики изобретения.

35

Цитирование и включение патентных документов здесь сделано только для удобства и не отражает какую-либо точку зрения на действительность, патентоспособность и/или правовое обеспечение таких патентных документов.

40

Данное изобретение включает все модификации и эквиваленты сущности изобретения, изложенной в прилагаемой здесь формуле изобретения, как допустимо действующим законодательством.

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

45

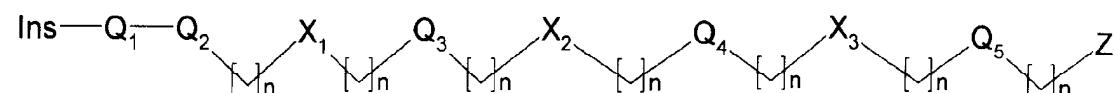
Настоящее изобретение основано на признании того, что наличие заместителя в молекуле производного инсулина, где только концевая группа заряжена, играет важную роль для продолжительности действия инсулинов пролонгированного действия *in vivo* и для смешиваемости инсулина пролонгированного действия с инсулином быстрого действия без притупления.

5 Преимущественно производные инсулина согласно изобретению растворимы при физиологических значениях pH, обладают эффективностью, сравнимой с таковой человеческого инсулина, и смешиваются с инсулинами быстрого действия без притупления. Индивидуальные профили действия смешанного базального и болюсного инсулинов сохраняются в препаратах, содержащих концентрации Zn (II) вплоть до или менее чем примерно 3 Zn (II) на гексамер инсулина, что ограничивает риск осаждения в препарате по сравнению с препаратами, содержащими более чем 3 Zn (II) на гексамер инсулина.

10

Изобретение суммировано в приведенных ниже параграфах:

1. Производное инсулина, имеющее формулу



где Ins представляет собой исходную группировку инсулина и Q₁-Q₂-[CH₂]_n-X₁-[CH₂]_n-Q₃-[CH₂]_n-X₂-[CH₂]_n-Q₄-[CH₂]_n-X₃-[CH₂]_n-Q₅-[CH₂]_n-Z представляет собой заместитель, и где Ins присоединен к заместителю 20 через амидную связь между α-аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins, и группой CO в Q₁ или Q₂ заместителя;

25 каждое n независимо равно 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

Q₁ представляет собой:

- аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где этот остаток образует с его карбоново-кислотной группой амидную группу вместе с α-аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка в В-цепи Ins или вместе с ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А- или В-цепи Ins, либо

- цепь, состоящую из двух, трех или четырех амидных или аминокислотных остатков α-аминокислоты, как указано выше, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α-аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка в В-цепи Ins или вместе с ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А- или В-цепи Ins, либо

- связь;

Q₂ представляет собой

- -COCH(CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)COCH₂N(CH₂CONH₂)

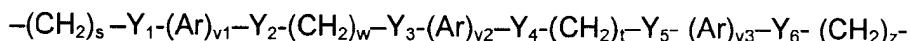
- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)\text{-COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CONH}-$
 - $-\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{-NH-CO})_{1-4}-;$
 - $-\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{-CO-NH})_{1-4}-$, где R^5 независимо может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ или $-\text{CONH}_2$ и R^6 независимо может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$; либо
- 15 • **СВЯЗЬ**
 при условии, что
- по меньшей мере один из Q_1 или Q_2 представляет собой не связь, и
 - что Q_2 представляет собой не $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{-CO-NH}-$, когда n равно 0 или 1, X_1 представляет собой связь и Q_3 представляет собой $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-$ или $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})-$ и
 - что, если амин в Q_1 или Q_2 образует связь с остальной частью заместителя, этот амин должен быть связан с остальной частью заместителя через карбонильную группу;
- 20 Q_3 , Q_4 , и Q_5 независимо друг от друга могут представлять собой
- 25 • $-(\text{CH}_2)_m-$, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до 32;
- 30 • двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы $-\text{CH}=\text{CH}-$ и число групп $-\text{CH}_2-$, достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 32;
- 35 • $-\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{-NH-CO})-$;
- 40 • $-(\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{-CO-NH})_{1-4}-$, где R^5 независимо может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ или $-\text{CONH}_2$ и R^6 независимо может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$;
- 45 • $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{0-3}\text{-Ar-}(\text{CH}_2)_{0-3}-$, где Ar может представлять собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$, $-\text{CONR}^1\text{R}^2$ или $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$, где R^1 и R^2 независимо друг от друга могут представлять собой H , $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$;

50

- $(CH_2CH_2O)_y-$; $(CH_2CH_2CH_2O)_y-$; $(CH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$;
 $(CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$ или $(CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$; $-(CH_2OCH_2)_y-$,
где y равно 1-20;

5 • арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-CH_3$, $-(CH)_{1-6}CH_3$, $-CONR^1R^2$ или $-SO_2NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо друг от друга могут представлять собой H , $-CH_3$ или $-(CH)_{1-6}CH_3$; либо

- цепь формулы



где Ar является таким, как определено выше, Y_1 - Y_6 независимо друг от

10 друга могут представлять собой O , S , $S=O$, SO_2 или связь; где s , w , t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s , w , t и z находится в интервале от 4 до 30, и v_1 , v_2 и v_3 независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y_1 - Y_6 не связаны друг с другом, и что структура $-O-(CH_2)_1-O-$ не встречается; либо

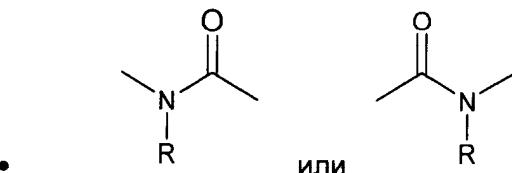
- связь;

15 при условии, что по меньшей мере один из Q_3 – Q_5 представляет собой не связь;

20 X_1 , X_2 и X_3 независимо друг от друга представляют собой

- O ;
- $-C=O$;
- связь;
- $NCOR^1$, где R^1 может представлять собой H , $-CH_3$ или $-(CH)_{1-6}CH_3$;

либо



40 где R представляет собой атом водорода, C_{1-3} -алкил, C_{2-3} -алкенил или C_{2-3} -алкинил;

45 при условии, что

- X_1 , X_2 и X_3 не могут быть связаны с Z и
- когда X_1 , X_2 и X_3 представляют собой O , тогда X_1 , X_2 и X_3 не связаны прямой связью с O в Q_3 , Q_4 и Q_5

и

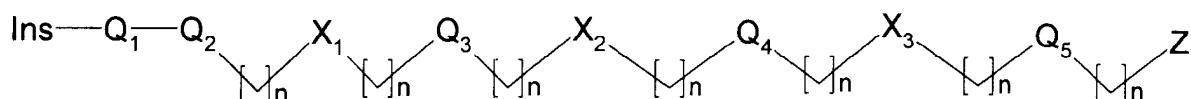
50 Z представляет собой:

-COOH;
 -CO-Asp;
 -CO-Glu;
 5 -CO-Gly;
 -CO-Sar;
 -CH(COOH)₂;
 10 -N(CH₂COOH)₂;
 -SO₃H;
 -OSO₃H;
 -OPO₃H₂;
 15 -PO₃H₂ или
 -тетразол-5-ил или
 -O-W₁,

20 где W₁ представляет собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из тетразо-5-лила, -COOH, -SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂, -CONR³R⁴ или -SO₂NR³R⁴, где R³ и R⁴ независимо друг от друга могут представлять собой H, -(CH₂)₁₋₆-SO₃H или -(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂; при условии, что, когда Z представляет собой -O-W₁, тогда Q₁ должен присутствовать;

и любой его комплекс с Zn²⁺.

2. Производное инсулина, имеющее формулу



30 где Ins представляет собой исходную группировку инсулина и Q₁-Q₂-[CH₂]_n-X₁-[CH₂]_n-Q₃-[CH₂]_n-X₂-[CH₂]_n-Q₄-[CH₂]_n-X₃-[CH₂]_n-Q₅-[CH₂]_n-Z представляет собой заместитель, и где Ins присоединен к заместителю 35 через амидную связь между аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка С в цепи Ins или ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins, и группой CO в Q₁ или Q₂ заместителя;

40 каждое n независимо равно 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

каждое Q_i представляет собой:

- 45 • аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где этот остаток образует с его карбоново-кислотной группой амидную группу вместе с а-

аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка в В-цепи Ins или вместе с ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А- или В-цепи Ins, либо

5 • цепь, состоящую из двух, трех или четырех амидных или аминокислотных остатков α-аминокислоты, как указано выше, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α-аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка в В-цепи Ins или вместе с ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А- или В-цепи Ins, либо

- 10 • связь

Q₂ представляет собой:

- 15 • -COCH(CONH₂)-
 • -COCH₂N(CH₂CONH₂)-
 • -COCH₂N(CH₂CONH₂)COCH₂N(CH₂CONH₂)-
 • -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
 • -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
 • -COCH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
 • -COCH₂CH₂N(CH₂CONH₂)-
 • -COCH₂OCH₂CONH-
 • -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-NH-CO)₁₋₄-;
 • -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R⁵ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃, либо

- 25 • связь

при условии, что

30 - по меньшей мере один из Q₁ или Q₂ представляет собой не связь, и

35 - что Q₂ представляет собой не —CO—(CH₂)₂—CO—NH—, когда n равно 0 или 1, X₁ представляет собой связь и Q₃ представляет собой (CH₂CH₂O)₂—, (CH₂CH₂O)₃— или (CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂O)— и

40 - что, если амин в Q₁ или Q₂ образует связь с остальной частью заместителя, этот амин должен быть связан с остальной частью заместителя через карбонильную группу;

45 Q₃, Q₄ и Q₅ независимо друг от друга могут представлять собой

• -(CH₂)_m—, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до 32;

• двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы $-\text{CH}=\text{CH}-$ и число групп $-\text{CH}_2-$, достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 32;

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

10 • $-(\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{CO}-\text{NH})_{1-4}-$, где R^5 независимо может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ или $-\text{CONH}_2$ и R^6 независимо может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$;

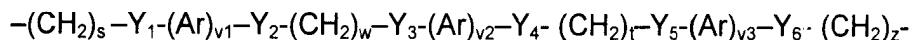
15 • $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{0-3}\text{Ar}-(\text{CH}_2)_{0-3}-$, где Ar может представлять собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$, $-\text{CONR}^1\text{R}^2$ или $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$, где R^1 и R^2 независимо друг от друга могут представлять собой H , $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$;

- 20 • $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$; $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$; $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$;

25 • $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ или $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$; $-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_y-$, где y равно 1-20;

30 • арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$, $-\text{CONR}^1\text{R}^2$ или $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$, где R^1 и R^2 независимо друг от друга могут представлять собой H , $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$; либо

- 35 • цепь формулы



40 где Ar является таким, как определено выше, Y_1 - Y_6 независимо друг от друга могут представлять собой O , S , S=O , SO_2 или связь; где s , w , t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s , w , t и z находится в интервале от 4 до 30, и v_1 , v_2 и v_3 независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y_1 - Y_6 не связаны друг с другом, и что структура $-\text{O}-(\text{CH}_2)_1-\text{O}-$ не встречается; либо

- 45 • связь;

50 при условии, что

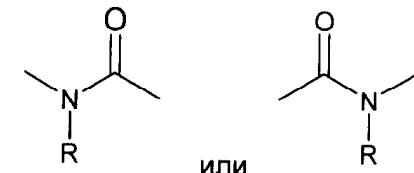
- по меньшей мере один Q_3 – Q_5 представляет собой не связь и
- Q_2 представляет собой не $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{NH}-\text{CO}-$, когда один из Q_3 – Q_5 представляет собой арилен или гетероарилен или цепь формулы $-(\text{CH}_2)_s-\text{Y}_1-(\text{C}_6\text{H}_4)_{v1}-\text{Y}_2-(\text{CH}_2)_w-\text{Y}_3-(\text{C}_6\text{H}_4)_{v2}-\text{Y}_4-(\text{CH}_2)_t-\text{Y}_5-(\text{C}_6\text{H}_4)_{v3}-\text{Y}_6-(\text{CH}_2)_z-$;

X_1 , X_2 и X_3 независимо друг от друга представляют собой

- 55 • O ;

- $-C=O;$
- связь;
- $NCOR^1$, где R^1 может представлять собой H , $-CH_3$ или $-(CH)_{1-6}-CH_3$;

5 либо



где R представляет собой атом водорода, C_{1-3} -алкил, C_{2-3} -алкенил или C_{2-3} -алкинил;

15 при условии, что

- X_1 , X_2 и X_3 не могут быть связаны с Z и
- когда X_1 , X_2 и X_3 представляют собой O , тогда X_1 , X_2 и X_3 не связаны прямой связью с O в Q_3 , Q_4 и Q_5

20 и

Z представляет собой:

- COOH;
- CO-Asp;
- CO-Glu;
- CO-Gly;
- CO-Sar;
- CH(COOH)₂;
- N(CH₂COOH)₂;
- SO₃H;
- OSO₃H;
- OPO₃H₂;
- PO₃H₂ или
- тетразол-5-ил или
- O-W₁,

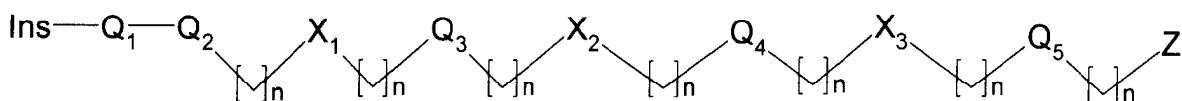
40

где W_1 представляет собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из тетразо-5-лила, -COOH, -SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂, -CONR³R⁴ или -SO₂NR³R⁴, где R^3 и R^4 независимо друг от друга могут представлять собой H , -(CH₂)₁₋₆-SO₃H или -(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂; при условии, что, когда Z представляет собой -O-W₁, тогда Q_1 должен присутствовать;

45

50 и любой его комплекс с Zn^{2+} .

3. Производное инсулина, имеющее формулу



где Ins представляет собой исходную группировку инсулина и Q₁—Q₂—[CH₂]_n—X₁—[CH₂]_n—Q₃—[CH₂]_n—X₂—[CH₂]_n—Q₄—[CH₂]_n—X₃—[CH₂]_n—Q₅—[CH₂]_n—Z представляет собой заместитель, и где Ins присоединен к заместителю через амидную связь между α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins, и группой CO в Q₁ или Q₂ заместителя;

каждое n независимо равно 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

Q₁ представляет собой:

- аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где этот остаток образует с его карбоново-кислотной группой амидную группу вместе с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка в В-цепи Ins или вместе с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А- или В-цепи Ins, либо
- цепь, состоящую из двух, трех или четырех амидных или аминокислотных остатков аминокислоты, как указано выше, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка в В-цепи Ins или вместе с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А- или В-цепи Ins, либо

• СВЯЗЬ

Q₂ представляет собой:

- -COCH(CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)COCH₂N(CH₂CONH₂)
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂OCH₂CONH-
- -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-NH-CO)₁₋₄-;
- -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R⁵ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃; либо

- СВЯЗЬ

при условии, что

- по меньшей мере один из Q₁ или Q₂ представляет собой не

5 СВЯЗЬ, И

- что Q₂ представляет собой не –CO–(CH₂)₂–CO–NH–, когда n равно 0 или 1, X₁ представляет собой связь и Q₃ представляет собой (CH₂CH₂O)₂–, (CH₂CH₂O)₃– или (CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂O)– и

10

- что, если амин в Q₁ или Q₂ образует связь с остальной частью заместителя, этот амин должен быть связан с остальной частью заместителя через карбонильную группу;

15

Q₃, Q₄ и Q₅ независимо друг от друга могут представлять собой

- –(CH₂)_m–, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до 32;

20

- двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы –CH=CH– и число групп –CH₂–, достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 32;

- –CO–((CR⁵R⁶)₁₋₆–NH–CO)–;

25

- –(CO–(CR⁵R⁶)₁₋₆–CO–NH)₁₋₄–, где R⁵ независимо может представлять собой H, –CH₃, –(CH₂)₁₋₆CH₃ или –CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, –CH₃, –(CH₂)₁₋₆CH₃;

30

- –CO–(CH₂)₀₋₃–Ar–(CH₂)₀₋₃–, где Ar может представлять собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из –CH₃, -(CH)₁₋₆–CH₃, –CONR¹R² или –SO₂NR¹R², где R¹ и R² независимо друг от друга могут представлять собой H, –CH₃ или -(CH)₁₋₆–CH₃;

35

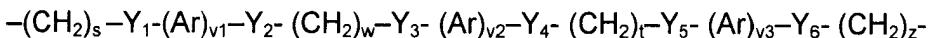
- (CH₂CH₂O)_y–; (CH₂CH₂CH₂O)_y–; (CH₂CH₂CH₂CH₂O)_y–; (CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂CH₂O)_y– или (CH₂CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂CH₂O)_y–; –(CH₂OCH₂)_y–, где y равно 1-20;

40

- арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из –CH₃, -(CH)₁₋₆–CH₃, –CONR¹R² или –SO₂NR¹R², где R¹ и R² независимо друг от друга могут представлять собой H, –CH₃ или -(CH)₁₋₆–CH₃; либо

45

- цепь формулы



50

где Ar является таким, как определено выше, Y₁ - Y₆ независимо друг от друга могут представлять собой O, S, S=O, SO₂ или связь; где s, w, t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s, w, t и z находится в интервале от 4 до 30, и v₁, v₂ и v₃ независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y₁ - Y₆ не связаны друг с другом, и что структура –O–(CH₂)₁–O– не встречается; либо

- 10 • свя́зь;

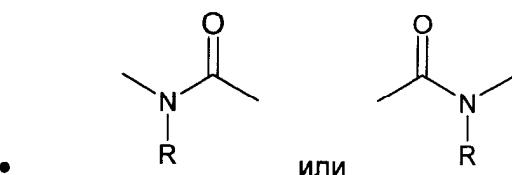
при условии, что

- по меньшей мере один из Q₃ – Q₅ представляет собой не связь и
- что Q₁ или Q₂ содержит несвязывающий амид, когда один из Q₃ – Q₅ представляет собой арилен, гетероарилен или цепь формулы -(CH₂)_s–Y₁–(C₆H₄)_{v1}–Y₂–(CH₂)_w–Y₃–(C₆H₄)_{v2}–Y₄–(CH₂)_t–Y₅–(C₆H₄)_{v3}–Y₆–(CH₂)_z–.

15 X₁, X₂ и X₃ независимо друг от друга представляют собой

- 20 • O;
- –C=O;
- свя́зь;
- NCOR¹, где R¹ может представлять собой H, -CH₃ или -(CH)₁₋₆-CH₃;

25 либо



где R представляет собой атом водорода, C₁₋₃-алкил, C₂₋₃-алкенил или C₂₋₃-алкинил;

35 при условии, что

- X₁, X₂ и X₃ не могут быть связаны с Z и
- когда X₁, X₂ и X₃ представляют собой O, тогда X₁, X₂ и X₃ не связаны прямой связью с O в Q₃, Q₄ и Q₅

40 И

Z представляет собой:

- 45 –COOH;
- CO–Asp;
- CO–Glu;
- CO–Gly;
- CO–Sar;
- CH(COOH)₂;

5 $-N(CH_2COOH)_2;$

$-SO_3H;$

$-OSO_3H;$

$-OPO_3H_2;$

$-PO_3H_2$ или

$-tetrazol-5-il$ или

$-O-W_1,$

10

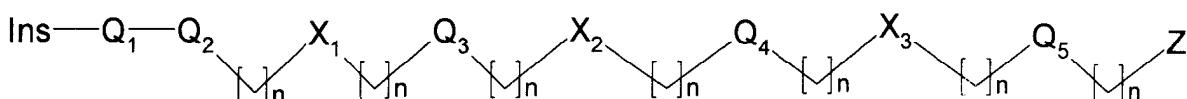
где W_1 представляет собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из тетразо-5-лила, $-COOH$, $-SO_3H$, $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$, $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$, $-CONR^3R^4$ 15 или $-SO_2NR^3R^4$, где R^3 и R^4 независимо друг от друга могут представлять собой H , $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ или $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$; при условии, что, когда Z представляет собой $-O-W_1$, тогда Q_1 должен присутствовать,

20

и любой его комплекс с Zn^{2+} .

4. Производное инсулина, имеющее формулу

25



30

где Ins представляет собой исходную группировку инсулина и $Q_1-Q_2-[CH_2]_n-X_1-[CH_2]_n-Q_3-[CH_2]_n-X_2-[CH_2]_n-Q_4-[CH_2]_n-X_3-[CH_2]_n-Q_5-[CH_2]_n-Z$ представляет собой заместитель, и где Ins присоединен к заместителю через амидную связь между α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или ϵ -аминогруппой остатка Lys , присутствующего в А или В цепи Ins , и группой CO в Q_1 или Q_2 заместителя;

35

каждое n независимо равно 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

Q_1 представляет собой:

40

- аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где этот остаток образует с его карбоново-кислотной группой амидную группу вместе с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В-цепи Ins или вместе с ϵ -аминогруппой остатка Lys , присутствующего в А- или В-цепи Ins , либо

45

- цепь, состоящую из двух, трех или четырех амидных или аминокислотных остатков аминокислоты, как указано выше, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α -аминогруппой

50

N-концевого аминокислотного остатка В-цепи Ins или вместе с ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А- или В-цепи Ins, либо

- связь

5 Q₂ представляет собой:

- -COCH(CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)COCH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂OCH₂CONH-
- -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R⁵ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃; либо

- связь

25 при условии, что

- по меньшей мере один из Q₁ или Q₂ представляет собой не связь, и

- что Q₂ представляет собой не —CO—(CH₂)₂—CO—NH—, когда n равно 0 или 1, X₁ представляет собой связь и Q₃ представляет собой (CH₂CH₂O)₂—, (CH₂CH₂O)₃— или (CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂O)— и

- что, если амин в Q₁ или Q₂ образует связь с остальной частью заместителя, этот амин с остальной частью заместителя через карбонильную группу;

Q₃, Q₄ и Q₅ независимо друг от друга могут представлять собой

- —(CH₂)_m—, где m представляет собой целое число в интервале от 6

40 до 32;

• двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы —CH=CH— и число групп —CH₂—, достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 32;

- —CO—((CR⁵R⁶)₁₋₆-NH-CO)-;

• —(CO—(CR⁵R⁶)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R⁵ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃;

- $\text{-CO-(CH}_2\text{)}_{0-3}\text{-Ar-(CH}_2\text{)}_{0-3}\text{-}$, где Ar может представлять собой арилен

или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH})_{1-6}-\text{CH}_3$, $-\text{CONR}^1\text{R}^2$ или $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$, где R^1 и R^2 независимо друг от друга могут представлять собой H , $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH})_{1-6}-\text{CH}_3$;

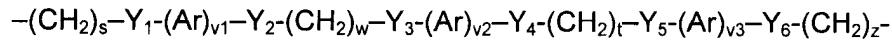
- $(CH_2CH_2O)_y^-$; $(CH_2CH_2CH_2O)_y^-$; $(CH_2CH_2CH_2CH_2O)_y^-$

$(CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2CH_2O)_y$ – или $(CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2CH_2O)_y$; $-(CH_2OCH_2)_y$, где y равно 1-20;

- арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или

двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$, $-\text{CONR}^1\text{R}^2$ или $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$, где R^1 и R^2 независимо друг от друга могут представлять собой H , $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$; либо

- цепь формулы



где Ar является таким, как определено выше, Y_1 - Y_6 независимо друг от друга могут представлять собой O, S, S=O, SO₂ или связь; где s, w, t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s, w, t и z находится в интервале от 4 до 30, и v₁, v₂ и v₃ независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y_1 - Y_6 не связаны друг с другом, и что структура -O-(CH₂)₁-O- не встречается; либо

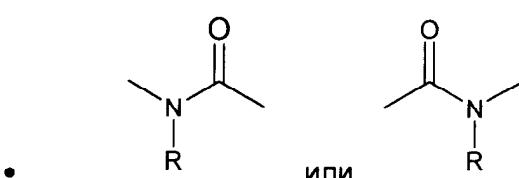
- СВЯЗЬ;

при условии, что по меньшей мере один из $Q_3 - Q_5$ представляет собой не связь:

X_1 , X_2 и X_3 независимо друг от друга представляют собой

- O;
 - -C=O;
 - связь;
 - NCOR¹, где R¹ может представлять собой H, -CH₃ или -(CH₂)₁₋₆-CH₃;

пнб



где R представляет собой атом водорода, C₁₋₃-алкил, C₂₋₃-алкенил или C₂₋₃-алкинил;

при условии, что

- X_1 , X_2 и X_3 не могут быть связаны с Z и
- когда X_1 , X_2 и X_3 представляют собой О, тогда X_1 , X_2 и X_3 не
связаны прямой связью с О в Q_3 , Q_4 и Q_5

и

Z представляет собой:

10 -COOH;

-CO-Asp;

-CO-Glu;

-CO-Gly;

15 -CO-Sar;

-CH(COOH)₂;

-N(CH₂COOH)₂;

20 -SO₃H;

-OSO₃H;

-OPO₃H₂;

-PO₃H₂ или

25 -тетразол-5-ил или

-O-W₁,

где W_1 представляет собой арилен или гетероарилен, которые могут быть

30 замещены одной или двумя группами выбранными из группы, состоящей из тетразо-5-лила, -COOH, -SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂, -CONR³R⁴

или -SO₂NR³R⁴, где R³ и R⁴ независимо друг от друга могут представлять собой H,

-(CH₂)₁₋₆-SO₃H или -(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂; при условии, что, когда Z представляет

35 собой -O-W₁, тогда Q_1 должен присутствовать,

и любой его комплекс с Zn²⁺.

5. Производное инсулина согласно параграфу 1-4, где Q_1 представляет собой аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где остаток аминокислотного амида или аминокислотный остаток имеет от 2 до 10 атомов углерода.

6. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1-5, где Q_1 выбран из группы, состоящей из β -D-Asp-амида, β -L-Asp-амида, γ -L-Glu-амида и γ -D-Glu-амида.

7. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1-4, где Q_1 представляет собой цепь, состоящую из двух, трех или четырех остатков амида α -аминокислоты или аминокислотных остатков с незаряженной боковой цепью.

8. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1-4 или 7, где Q₁ представляет собой цепь из двух остатков амида аминокислоты, выбранных из группы, состоящей из β -L-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -D-Glu-амида.

9. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1-8, где Q₂ представляет собой связь.

10. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1-3 или 5-8, где Q₂ представляет собой $-\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{NH}-\text{CO}-$.

11. Производное инсулина в соответствии с параграфом 10, где Q₂ выбран из группы, состоящей из $-\text{CO}-(\text{(CH}_2)_2-\text{NH}-\text{CO})_1-$, $-\text{CO}-(\text{(CH}_2)_3-\text{NH}-\text{CO})_1-$ и $-\text{CO}-(\text{(CH}_2)_4-\text{NH}-\text{CO})_1-$, $-\text{CO}-(\text{(CH}_2)_5-\text{NH}-\text{CO})_1-$.

12. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1, 3 или 10-11, где Q₁ представляет собой связь.

13. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1-3, где Q₁ представляет собой:

- аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где этот остаток образует с его карбоново-кислотной группой амидную группу вместе с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или вместе с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins, либо

- цепь, состоящую из двух, трех или четырех остатков амида аминокислоты или аминокислотных остатков, как указано выше, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins, либо

- связь

Q₂ представляет собой:

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

- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)\text{-COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CONH}-$
- $-\text{CO}-((\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{-NH-CO})_{1-4}-$
- $-(\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{-CO-NH})_{1-4}-$, где R^5 может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ или $-\text{CONH}_2$ и R^6 может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$; либо

15 • **связь**

при условии, что по меньшей мере один из Q_1 или Q_2 представляет собой не связь, и что, если амин в Q_1 или Q_2 образует связь с остальной частью заместителя, этот амин должен быть связан с остальной частью заместителя через карбонильную группу;

20 Q_3 представляет собой

- $-(\text{CH}_2)_m-$, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до 32;
- двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы $-\text{CH}=\text{CH}-$ и число групп $-\text{CH}_2-$, достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 32; либо
- двухвалентную углеводородную цепь формулы $-(\text{CH}_2)_s\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_2)_w-$, где v и w представляют собой целые числа или одно из них равно нулю, так что сумма s и w находится в интервале от 6 до 30;

30 X_1 может представлять собой $-\text{C=O}$ или связь;

35 Q_4 , Q_5 , X_2 и X_3 представляют собой связи;

все значения n равны нулю; и

Z представляет собой:

40 $-\text{COOH};$

$-\text{CO-Asp};$

$-\text{CO-Glu};$

$-\text{CO-Gly};$

45 $-\text{CO-Sar};$

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

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

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

50

5 –OSO₃H;
 –OPO₃H₂;
 –PO₃H₂ или
 –тетразол-5-ил
 и любой его комплекс с Zn²⁺.

10 14. Производное инсулина в соответствии с параграфом 13, где Q₁ представляет собой аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где этот остаток амида аминокислоты или аминокислотный остаток имеет от 2 до 10 атомов углерода.

15 15. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 13-14, где Q₁ выбран из группы, состоящей из β-D-Asp-амида, β-L-Asp-амида, γ-L-Glu-амида и γ-D-Glu-амида.

20 16. Производное инсулина в соответствии с параграфом 13, где Q₁ представляет собой цепь, состоящую из двух, трех или четырех остатков амида α-аминокислоты и/или аминокислотных остатков с незаряженной боковой цепью.

25 17. Производное инсулина в соответствии с параграфами 13 или 16, где Q₁ представляет собой цепь из двух остатков амида аминокислоты, выбранных из группы, состоящей из β-L-Asp-амид-β-L-Asp-амида, β-L-Asp-амид-γ-L-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-γ-L-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-β-L-Asp-амида, β-L-Asp-амид-β-D-Asp-амида, β-L-Asp-амид-γ-D-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-γ-D-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-β-D-Asp-амида, β-D-Asp-амид-β-L-Asp-амида, β-D-Asp-амид-γ-L-Glu-амида, γ-D-Glu-амид-γ-L-Glu-амида, γ-D-Glu-амид-β-L-Asp-амида, β-D-Asp-амид-β-D-Asp-амида, β-D-Asp-амид-γ-D-Glu-амида, γ-D-Glu-амид-γ-D-Glu-амида, γ-D-Glu-амид-β-D-Asp-амида.

30 18. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 13-17, где Q₂ представляет собой связь.

35 19. Производное инсулина в соответствии с параграфами 13-17, где Q₂ выбран из группы, состоящей из

- –COCH(CONH₂)-
- –COCH₂N(CH₂CONH₂)-
- –COCH₂N(CH₂CONH₂)COCH₂N(CH₂CONH₂)-
- –COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- –COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- –COCH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-

50

- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CONH}-;$
- $-\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{NH}-\text{CO})_{1-4}-$; или
- $-\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{CO-NH})_{1-4}-$, где R^5 независимо может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ или $-\text{CONH}_2$ и R^6 независимо может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$.

10 20. Производное инсулина в соответствии с параграфом 19, где Q_2 выбран из группы, состоящей из $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CONH}-$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{NH}-\text{CO})_1-$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_3\text{NH}-\text{CO})_1-$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_4\text{NH}-\text{CO})_1-$ и $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_5\text{NH}-\text{CO})_1-$.

15 21. Производное инсулина в соответствии с параграфами 13 или 19-21, где Q_1 представляет собой связь.

22. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 13-21, где X_1 представляет собой $-\text{C=O}$.

20 23. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 13-22, где Q_3 представляет собой $-(\text{CH}_2)_m-$, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до 32 или от 8 до 20.

25 24. Производное инсулина в соответствии с параграфом 23, где m равно 12, 13, 14, 15 или 16.

30 25. Производное инсулина в соответствии с параграфами 13-22, где Q_3 представляет собой двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы $-\text{CH}=\text{CH}-$ и число $-\text{CH}_2-$, достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 32.

35 26. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 13-25, где Z представляет собой $-\text{COOH}$.

27. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 13-25, где Z представляет собой $-\text{CH}(\text{COOH})_2$.

40 28. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 13-25, где Z представляет собой $-\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_2$.

45 29. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 13-25, где Z представляет собой $-\text{SO}_3\text{H}$.

30 30. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 13-25, где Z представляет собой $-\text{PO}_3\text{H}$.

45 31. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 13-30, где производное инсулина выбрано из группы, состоящей из

5 N^{eB29} - ω -карбокси-пентадеканоил- γ -L-глутамиламид дезВ30 человеческого
инсулина,

10 N^{eB29} - ω -карбокси-пентадеканоил- γ -амино-бутаноил дезВ30 человеческого
инсулина,

15 N^{eB29} - ω -карбокси-тетрадеканоил- γ -L-глутамиламид дезВ30 человеческого
инсулина,

20 N^{eB29} - ω -карбокси-тридеканоил- γ -L-глутамиламид дезВ30 человеческого
инсулина,

25 N^{eB29} - ω -карбокси-пентадеканоил- ϵ -аминогексаноил дезВ30 человеческого
инсулина,

30 N^{eB29} - ω -карбокси-пентадеканоил- δ -аминопентаноил дезВ30 человеческого
инсулина,

35 N^{eB29} - ω -карбокси-тридеканоил- γ -аминобутаноил дезВ30 человеческого
инсулина,

40 N^{eB29} - ω -карбокси-ундеканоил- δ -аминобутаноил дезВ30 человеческого
инсулина и

45 N^{eB29} - ω -карбокси-тетрадеканоил- γ -амино-бутаноил дезВ30 человеческого
инсулина.

32. Производное инсулина в соответствии с параграфом 2 или 4, где

Q_3 представляет собой:

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

35 • $-(CO-(CR^5R^6)_{1-6}-CO-NH)_{1-4}-$, где R^5 независимо может представлять собой H , $-CH_3$, $-(CH_2)_{1-6}CH_3$ или $-CONH_2$ и R^6 независимо может представлять собой H , $-CH_3$, $-(CH_2)_{1-6}CH_3$;

40 • $-CO-(CH_2)_{0-3}-Ar-(CH_2)_{0-3}-$, где Ar может представлять собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-CH_3$, $-(CH)_{1-6}CH_3$, $-CONR^1R^2$ или $-SO_2NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо друг от друга могут представлять собой H , $-CH_3$ или $-(CH)_{1-6}CH_3$; либо

- связь

45 Q_4 представляет собой:

- $-(CH_2)_m-$, где m представляет собой целое число от 4 до 22;

- двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы $-\text{CH}=\text{CH}-$ и число $-\text{CH}_2-$, достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 22;

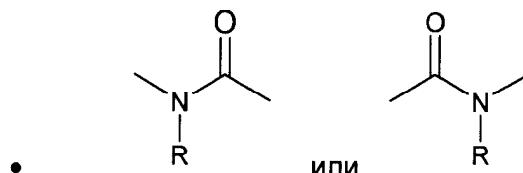
- 5
- арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$, $-\text{CONR}^1\text{R}^2$ или $-\text{SO}_2\text{NR}^1\text{R}^2$, где R^1 и R^2 независимо друг от друга могут представлять собой H , $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$; либо

- 10
- цепь формулы
 $-(\text{CH}_2)_s-\text{Y}_1-(\text{Ar})_{v_1}-\text{Y}_2-(\text{CH}_2)_w-\text{Y}_3-(\text{Ar})_{v_2}-\text{Y}_4-(\text{CH}_2)_t-\text{Y}_5-(\text{Ar})_{v_3}-\text{Y}_6-(\text{CH}_2)_z-$
где Ar является таким, как определено выше, Y_1 - Y_6 независимо друг от друга могут представлять собой O , S , S=O , SO_2 или связь; где s , w , t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s , w , t и z находится в интервале от 4 до 30, и v_1 , v_2 и v_3 независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y_1 - Y_6 не связаны друг с другом, и что структура $-\text{O}-(\text{CH}_2)_1-\text{O}-$ не встречается;

20 X_1 представляет собой:

- 25
- O ;
 - $-\text{C=O}$;
 - NCOR^1 , где R^1 может представлять собой H , $-\text{CH}_3$ или $-(\text{CH})_{1-6}\text{CH}_3$;

либо



35 где R представляет собой атом водорода, C_{1-3} -алкил, C_{2-3} -алкенил или C_{2-3} -алкинил;

40 при условии, что, когда X_1 представляет собой O , тогда X_1 не связан прямой связью с O в Q_4 ;

X_2 , X_3 и Q_5 представляют собой связи;

все значения n равны нулю; и

Z представляет собой:

45 $-\text{COOH}$;

$-\text{CO-Asp}$;

$-\text{CO-Glu}$;

$-\text{CO-Gly}$;

50 $-\text{CO-Sar}$;

–CH(COOH)₂;
 –N(CH₂COOH)₂;
 –SO₃H;
 5 –OSO₃H;
 –OPO₃H₂;
 –PO₃H₂ или

10 –тетразол-5-ил или
 –O-W₁,

где W₁ представляет собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из тетразо-5-лила, -COOH, –SO₃H, -(CH₂)₁₋₆—SO₃H, -(CH₂)₁₋₆—O—PO₃H₂, –CONR³R⁴ или –SO₂NR³R⁴, где R³ и R⁴ независимо друг от друга могут представлять собой H, –(CH₂)₁₋₆—SO₃H или -(CH₂)₁₋₆—O—PO₃H₂;

20 и любой его комплекс с Zn²⁺.

33. Производное инсулина в соответствии с параграфами 2, 4 или 32, где Q₁ представляет собой аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где остаток амида аминокислоты или аминокислотный остаток имеет от 2 до 10 атомов углерода.

34. Производное инсулина в соответствии с параграфами 2, 4 или 33, где Q₁ выбран из группы, состоящей из β-D-Asp-амида, β-L-Asp-амида, γ-L-Glu-амида и γ-D-Glu-амида.

35. Производное инсулина в соответствии с параграфом 2, 4 или 34, где Q₁ представляет собой цепь, состоящую из двух, трех или четырех остатков амида аминокислоты или аминокислотных остатков с незаряженной боковой цепью.

36. Производное инсулина в соответствии с параграфами 2, 4 или 35, где Q₁ представляет собой цепь из двух остатков амида аминокислоты, выбранных из группы, состоящей из β-L-Asp-амид-β-L-Asp-амида, β-L-Asp-амид-γ-L-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-γ-L-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-β-L-Asp-амида, β-L-Asp-амид-β-D-Asp-амида, β-L-Asp-амид-γ-D-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-γ-D-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-β-D-Asp-амида, β-D-Asp-амид-β-L-Asp-амида, β-D-Asp-амид-γ-L-Glu-амида, γ-D-Glu-амид-γ-L-Glu-амида, γ-D-Glu-амид-β-L-Asp-амида, β-D-Asp-амид-β-D-Asp-амида, β-D-Asp-амид-γ-D-Glu-амида, γ-D-Glu-амид-γ-D-Glu-амида, γ-D-Glu-амид-β-D-Asp-амида.

37. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 2, 4 или 32-36, где Q₂ представляет собой связь.

50

38. Производное инсулина в соответствии с параграфами 2, 4 или 32-36, где

Q_2 представляет собой $-\text{CO}-\text{CH}_2-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO};$
 $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO})-$ или
 $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_3-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO})-$.

39. Производное инсулина в соответствии с параграфом 2, 4 или 38, где Q_1 представляет собой связь.

40. Производное инсулина в соответствии с параграфами 32-39, где Q_3 представляет собой

$-(\text{CH}_2)_s-\text{Y}_1-(\text{Ar})_{v_1}-\text{Y}_2-(\text{CH}_2)_w-\text{Y}_3-(\text{Ar})_{v_2}-\text{Y}_4-(\text{CH}_2)_t-\text{Y}_5-(\text{Ar})_{v_3}-\text{Y}_6-(\text{CH}_2)_z-$

где Ar является таким, как определено выше, $\text{Y}_1 - \text{Y}_6$ независимо друг от друга могут представлять собой O, S, S=O, SO₂ или связь; где s, w, t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s, w, t и z находится в интервале от 4 до 30, и v_1 , v_2 и v_3 независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что $\text{Y}_1 - \text{Y}_6$ не связаны друг с другом, и что структура $-\text{O}-(\text{CH}_2)_1-\text{O}-$ не встречается.

41. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 40, где по меньшей мере два из v_1 , v_2 или v_3 равны нулю.

42. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 40-41, где $\text{Y}_1 - \text{Y}_6$ представляют собой связи.

43. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 40-41, где по меньшей мере один из $\text{Y}_1 - \text{Y}_6$ представляет собой O или S.

44. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 40-41 или 43, где Y_1 представляет собой O или S и v_1 равно одному.

45. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 40-44, где s равно 6, 7, 8, 9 или 10.

46. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 40-45, где X_1 , X_2 , X_3 , Q_4 и Q_5 представляют собой связи и Ar представляет собой C₆H₄.

47. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 32-46, где n равно нулю.

48. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 32-47, где Z представляет собой -COOH.

49. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 32-47, где Z представляет собой -CH(COOH)₂.

50. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 32-47, где Z представляет собой -N(CH₂COOH)₂.

51. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 32-47, где Z представляет собой $-\text{SO}_3\text{H}$.

52. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 32-47, где Z представляет собой $-\text{PO}_3\text{H}$.

53. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 32-47, где Z представляет собой $-O-W$.

где W_1 представляет собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из тетразо-5-лила, $-COOH$, $-SO_3H$, $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$, $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$, $-CONR^{13}R^{14}$ или $-SO_2NR^{13}R^{14}$, где R^{13} и R^{14} независимо друг от друга могут представлять собой H , $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$, или $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$.

54. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 32-53, где производное инсулина представляет собой N^{εB29}-10-(4-карбоксифенокси)-деканоил-γ-L-глутамиламид дезB30 человеческий инсулин.

55. Производное инсулина в соответствии с параграфом 1, где Q₁ представляет собой аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где остаток амида аминокислоты или аминокислотный остаток имеет от 2 до 10 атомов углерода.

56. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1 или 55, где Q₁ выбран из группы, состоящей из β-D-Asp-амида, β-L-Asp-амида, γ-L-Glu-амида и γ-D-Glu-амида.

57. Производное инсулина в соответствии с параграфом 1, где Q₁ представляет собой цепь, состоящую из двух, трех или четырех остатков амида α-аминокислоты или аминокислотных остатков с незаряженной боковой цепью.

58. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1 или 57, где Q₁ представляет собой цепь из двух остатков амида аминокислоты, выбранных из группы, состоящей из β -L-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -D-Asp-амида.

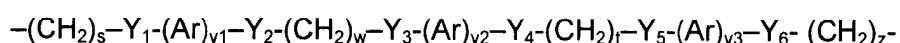
59. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1 или 55-58, где Q₂ представляет собой связь.

60. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1 или 55-58, где Q₂ выбран из группы, состоящей из $-\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{NH}-\text{CO}-$ и $-(\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{CO}-\text{NH})_{1-4}-$, где R⁵ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃.

61. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1 или 60, где Q₂ представляет собой $-\text{CO}-((\text{CH}_2)_3-\text{NH}-\text{CO})-$, $-\text{CO}-\text{CH}_2-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO}$; $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO}-$ или $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_3-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO}-$.

62. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1 или 60-61, где Q₁ представляет собой связь.

63. Производное инсулина в соответствии с параграфом 55-62, где Q₃ представляет собой



где Ar является таким, как определено выше, Y₁ - Y₆ независимо друг от друга могут представлять собой O, S, S=O, SO₂ или связь; где s, w, t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s, w, t и z находится в интервале от 4 до 30, и v₁, v₂ и v₃ независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y₁ - Y₆ не связаны друг с другом, и что структура $-\text{O}-(\text{CH}_2)_1-\text{O}-$ не встречается.

64. Производное инсулина в соответствии с параграфом 63, где по меньшей мере два из v₁, v₂ или v₃ равны нулю.

65. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 63-64, где Y₁ - Y₆ представляют собой связи.

66. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 63-64, где по меньшей мере один из Y₁ - Y₆ представляет собой O или S.

67. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 63-64 или 66, где Y₁ представляет собой O или S и v₁ равно одному.

68. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 63-67, где s равно 6, 7, 8, 9 или 10.

69. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 55-68, где X₁, X₂, X₃, Q₄ и Q₅ представляют собой связи и Ar представляет собой C₆H₄.

70. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 55-69, где n равно нулю.

71. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 55-70, где Z представляет собой $-\text{COOH}$.

72. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 55-70, где Z представляет собой $-\text{CH}(\text{COOH})_2$.

5 73. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 55-70, где Z представляет собой $-\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_2$.

10 74. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 55-70, где Z представляет собой $-\text{SO}_3\text{H}$.

15 75. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 55-70, где Z представляет собой $-\text{PO}_3\text{H}$.

76. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 55-70, где Z представляет собой $-\text{O}-\text{W}_1$,

20 15 где W_1 представляет собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из тетразо-5-лила, $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{O}-\text{PO}_3\text{H}_2$, $-\text{CONR}^{13}\text{R}^{14}$ или $-\text{SO}_2\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$, где R^{13} и R^{14} независимо друг от друга могут представлять собой H , $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{SO}_3\text{H}$ или $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{O}-\text{PO}_3\text{H}_2$.

25 77. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1 или 55-70, где производное инсулина выбрано из группы, состоящей из $\text{N}^{\varepsilon\text{B}29}-10-(4-$
20 карбоксифенокси)-деканоил- γ -L-глутамиламида дезВ30 человеческого инсулина, $\text{N}^{\varepsilon\text{B}29}-4-[11-(4-карбоксифенил)ундеканоиламино]бутирил дезВ30 человеческого
25 инсулина.$

30 78. Производное инсулина в соответствии с параграфом 3, где Q_1 представляет собой аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи, имеющий от 2 до 10 атомов углерода.

35 79. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 3 или 77, где Q_1 выбран из группы, состоящей из β -D-Asp-амида, β -L-Asp-амида, γ -L-Glu-амида и γ -D-Glu-амида.

40 80. Производное инсулина в соответствии с параграфом 3, где Q_1 представляет собой цепь из двух остатков амида аминокислоты, выбранных из группы, состоящей из β -L-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -D-Asp-амида.

45 50

81. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 3 или 77-79, где Q₂ представляет собой связь.

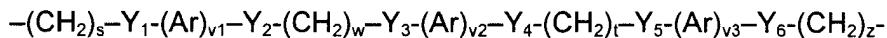
82. Производное инсулина в соответствии с параграфами 3 или 77-80, где Q₂ выбран из группы, состоящей из

- -COCH(CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)COCH₂N(CH₂CONH₂)
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂OCH₂CONH-;
- -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-NH-CO)₁₋₄-; или
- -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R⁵ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃

при условии, что Q₂ включает несвязывающий амид, если Q₁ представляет собой связь.

83. Производное инсулина в соответствии с параграфами 3 или 82, где Q₁ представляет собой связь.

84. Производное инсулина в соответствии с параграфом 78-83, где Q₃ представляет собой



где Ar является таким, как определено выше, Y₁ - Y₆ независимо друг от друга могут представлять собой O, S, S=O, SO₂ или связь; где s, w, t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s, w, t и z находится в интервале от 4 до 30, и v₁, v₂ и v₃ независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y₁ - Y₆ не связаны друг с другом, и что структура —O—(CH₂)₁—O— не встречается.

85. Производное инсулина в соответствии с параграфом 84, где по меньшей мере два из v₁, v₂ или v₃ равны нулю.

86. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 84-85, где Y₁ - Y₆ представляют собой связи.

87. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 84-85, где по меньшей мере один из Y₁ - Y₆ представляют собой O или S.

88. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 84-85 или 87, где Y_1 представляет собой О или S и v_1 равно одному.

5 89. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 84-88, где s равно 6, 7, 8, 9 или 10.

10 90. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78-89, где X_1 , X_2 , X_3 , Q_4 и Q_5 представляют собой связи и Ar представляет собой C_6H_4 .

15 91. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78-90, где n равно нулю.

92. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78-91, где Z представляет собой $-COOH$.

15 93. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78-91, где Z представляет собой $-CH(COOH)_2$.

20 94. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78-91, где Z представляет собой $-N(CH_2COOH)_2$.

25 95. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78-91, где Z представляет собой $-SO_3H$.

96. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78-91, где Z представляет собой $-PO_3H$.

97. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78-91, где Z представляет собой $-O-W_1$,

30 где W_1 представляет собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из тетразо-5-лила, $-COOH$, $-SO_3H$, $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$, $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$, $-CONR^{13}R^{14}$ или $-SO_2NR^{13}R^{14}$, где R^{13} и R^{14} независимо друг от друга могут представлять собой H, $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ или $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$.

35 98. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 3 или 78-97, где производное инсулина выбрано из группы, состоящей из:

40 $N^{eB29}-10-(4\text{-карбоксифенокси})\text{-деканоил-}\gamma\text{-L\text{-глутамиламид}}$ дезВ30

человеческого инсулина,

$N^{eB29}\text{-4-[11-(4\text{-карбоксифенил})ундеканоиламино]бутирил}$ дезВ30

человеческого инсулина и

45 $N^{eB29}\text{-}\{4\text{-[10-(4\text{-карбоксифенокси})\text{-деканоиламино]-бутирил}\}$ дезВ30 инсулина.

99. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1 или 2, где Q_1 представляет собой аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в

боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где остаток амида аминокислоты или аминокислотный остаток имеет от 2 до 10 атомов углерода.

5 100. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1, 2 или 99, где Q₁ выбран из группы, состоящей из β -D-Asp-амида, β -L-Asp-амида, γ -L-Glu-амида и γ -D-Glu-амида.

10 101. Производное инсулина в соответствии с параграфом 1 или 2, где Q₁ представляет собой цепь, состоящую из двух, трех или четырех остатков амида аминокислоты или аминокислотных остатков с незаряженными боковыми цепями.

15 102. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1, 2 или 101, где Q₁ представляет собой цепь из двух остатков амида аминокислоты, выбранных из группы, состоящей из β -L-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -D-Glu-амида.

20 25 103. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 99-102, где Q₂ представляет собой связь

30 35 104. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1, 2 или 99-102, где Q₂ выбран из группы, состоящей из $-\text{CO}-(\text{C R}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{NH}-\text{CO}-$ и $-(\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{CO-NH})_{1-4}-$, где R⁵ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃.

40 45 105. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1, 2 или 99-104, где Q₂ представляет собой $-\text{CO}-\text{CH}_2-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO}$; $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO}-$ или $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_3-(\text{CHCONH}_2)-\text{NH}-\text{CO}-$.

106. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1, 2 или 104-105, где Q₁ представляет собой связь.

40 45 107. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 99-106, где один из Q₃, Q₄ или Q₅ представляет собой $-(\text{CH}_2)_m-$, где m представляет собой целое число в интервале от 1 до 32 или 1-12.

108. Производное инсулина в соответствии с параграфом 107, где m равно 4, 5, 6, 8, 9, 10 или 11.

50 109. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 99-108, где один из Q₃, Q₄ или Q₅ представляет собой (CH₂CH₂O)_y—; (CH₂CH₂CH₂O)_y—;

$(CH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$; $(CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2O)_y-$ или
 $(CH_2CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2CH_2O)_y-$; $-(CH_2OCH_2)_y-$, где y равно 1-20.

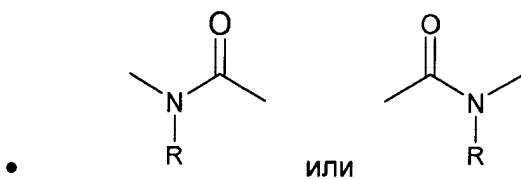
5 110. Производное инсулина в соответствии с параграфом 109, где один из Q_3 , Q_4 или Q_5 представляет собой $(CH_2CH_2O)_y-$ или $(CH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2O)_y$, где y находится в интервале от 1-12, 2-4 или 2-3.

10 111. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 109-110, где y равно 1.

112. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 99-111, где X_1 , X_2 и X_3 независимо друг от друга представляют собой

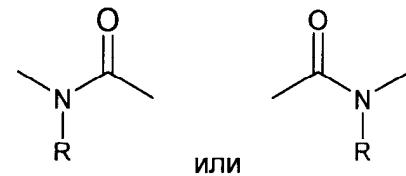
- O ;
- 15 • $-C=O$;
- связь;
- $NCOR^1$, где R^1 может представлять собой H , $-CH_3$ или $-(CH_2)_{1-6}-CH_3$;

20 либо



где R представляет собой атом водорода, C_{1-3} -алкил, C_{2-3} -алкенил или C_{2-3} -алкинил.

30 113. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 99-112, где X_1 , X_2 и X_3 представляют собой:



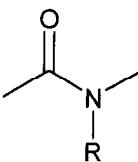
где R представляет собой атом водорода, C_{1-3} -алкил, C_{2-3} -алкенил или C_{2-3} -алкинил.

40

45

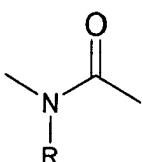
50

114. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 99-113,



5

где X_1 представляет собой



10

представляет собой , где R представляет собой H, и где X_2

15

где n равно 0, 1, 2 или 3.

20

116. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 99-115, где Z представляет собой $-COOH$.

25

117. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 99-115, где Z представляет собой $-CH(COOH)_2$.

30

118. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 99-115, где Z представляет собой $-N(CH_2COOH)_2$.

35

119. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 99-115, где Z представляет собой $-SO_3H$.

120. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 99-115, где Z представляет собой $-PO_3H$.

40

121. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1-2 или 99-120, где производное инсулина представляет собой

$N^{cB29}-\left(3-\left(3-\{4-\left[3-\left(7-$

45

карбоксигептеноиламино)пропокси]бутокси}пропилкарбамоил)-пропионил- γ -глутамиламид) дезВ30 человеческий инсулин.

50

В одном аспекте изобретения Q_1 представляет собой аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где остаток амида аминокислоты или аминокислотный остаток имеет от 2 до 10 атомов углерода.

Q_1 также может представлять собой цепь, состоящую из двух, трех или четырех аминокислотных амидов аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи и/или аминокислот с незаряженной боковой цепью. Эта цепь аминокислот может включать по меньшей мере одну аминокислоту, содержащую амид. Таким образом, Q_1 может быть, например, выбран из группы, включающей β -L-Asp-амид, β -D-Asp-амид, γ -L-Glu-амид и γ -D-Glu-амид.

В одном аспекте Q₁ представляет собой цепь, состоящую из двух незаряженных аминокислотных остатков, которая имеет от 4 до 10 атомов углерода. Аминокислоты могут включать амид. Примерами таких аминокислотных остатков являются β -L-Asp-амид- β -L-Asp-амид, β -L-Asp-амид- γ -L-Glu-амид, γ -L-Glu-амид- γ -L-Glu-амид, γ -L-Glu-амид- β -L-Asp-амид, β -L-Asp-амид- β -D-Asp-амид, β -L-Asp-амид- γ -D-Glu-амид, γ -L-Glu-амид- γ -D-Glu-амид, γ -L-Glu-амид- β -D-Asp-амид, β -D-Asp-амид- β -L-Asp-амид, β -D-Asp-амид- γ -L-Glu-амид, γ -D-Glu-амид- γ -L-Glu-амид, γ -D-Glu-амид- β -L-Asp-амид, β -D-Asp-амид- β -D-Asp-амид, β -D-Asp-амид- γ -D-Glu-амид, γ -D-Glu-амид- β -D-Asp-амид.

В одном аспекте изобретения Q₁ представляет собой цепь, состоящую из трех аминокислотных остатков, независимо имеющих от 4 до 10 атомов углерода, где по меньшей мере один из аминокислотных остатков цепи выбран из группы остатков, имеющих амид. Комбинация трех аминокислотных амидов может представлять собой любую комбинацию β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амида, γ -L-Glu-амида и γ -D-Glu-амида, что означает, что возможны 64 различные комбинации.

В следующем аспекте Q₁ представляет собой цепь, состоящую из четырех аминокислотных остатков, независимо имеющих от 4 до 10 атомов углерода, где по меньшей мере один где по меньшей мере один из аминокислотных остатков цепи выбран из группы остатков, имеющих амид. Комбинация четырех аминокислотных амидов может представлять собой любую комбинацию β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амида, γ -L-Glu-амида и γ -D-Glu-амида, что означает, что возможно 256 различные комбинаций.

122. Производное инсулина, имеющее заместитель, присоединенный к дезB30 человеческому инсулину либо при α -аминогруппе N-концевого аминокислотного остатка В цепи, либо при ϵ -аминогруппе остатка Lys, присутствующего в А или В цепи дезB30 человеческого инсулина, где этот заместитель содержит по меньшей мере одну бифункциональную алифатическую группировку примерно с 6 - примерно 32 атомами углерода и незаряженный линкер формулы $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{NH}-\text{CO}$ ₁₋₄, который связывает бифункциональную алифатическую группировку с дезB30 человеческим инсулином, где бифункциональная алифатическая группировка содержит ароматическую группу.

123. Производное инсулина в соответствии с параграфом 122, где незаряженный линкер выбран из группы, состоящей из: $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\text{CO}$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-\text{CO}$ и $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_1-\text{NH}-\text{CO}$.

124. Производное инсулина в соответствии с параграфами 122 или 123, где бифункциональная алифатическая группировка представляет собой

T-(CH₂)_s-Y₁-(Ar)_{v1}-Y₂-(CH₂)_w-Y₃-(Ar)_{v2}-Y₄-(CH₂)_t-Y₅-(Ar)_{v3}-Y₆-(CH₂)_z-T

где

- Ar может представлять собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из -CH₃, -(CH)₁₋₆-CH₃, -CONR¹R² или -SO₂NR¹R², где R¹ и R² независимо друг от друга могут представлять собой H, -CH₃ или -(CH)₁₋₆-CH₃;
- Y₁ - Y₆ независимо друг от друга могут представлять собой O, S, S=O, SO₂ или связь;
- s, w, t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s, w, t и z находится в интервале от 4 to 30,
- v₁, v₂ и v₃ независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y₁ - Y₆ не связаны друг с другом, и что структура -O-(CH₂)₁-O- не встречается; и
- T представляет собой функциональную группу, выбранную из групп карбокси, амино или гидроксил.

125. Производное инсулина в соответствии с параграфами 122-124, где производное инсулина представляет собой N^{εB29}-4-[11-(4-карбоксифенил)ундеканоиламино]бутирил дезB30 человеческий инсулин.

126. Производное инсулина, имеющее заместитель, присоединенный к исходной группировке инсулина либо при α-аминогруппе N-концевого аминокислотного остатка В цепи, либо при ε-аминогруппе остатка Lys, присутствующего в А или В цепи исходной группировки инсулина, где этот заместитель включает по меньшей мере одну бифункциональную алифатическую группировку примерно с 6 - примерно 32 атомами углерода и незаряженный линкер, который связывает бифункциональную алифатическую группировку с исходным инсулином, при условии, что незаряженный линкер не содержит -(CO-(CH₂)₁₋₆-NH-CO)₁₋₄-, если заместитель инсулина содержит ароматическую группу, и что заместитель не содержит один или более чем один остаток, выбранный из группы -CO-(CH₂)₂-CO-NH-(CH₂CH₂O)₂-, -CO-(CH₂)₂-CO-NH-CH₂-(CH₂CH₂O)₂-, -CO-(CH₂)₂-CO-NH-(CH₂CH₂O)₃- и -CO-(CH₂)₂-CO-NH-CH₂-(CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂O)- .

127. Производное инсулина, имеющее заместитель, присоединенный к исходной группировке инсулина либо при α-аминогруппе N-концевого аминокислотного остатка В цепи, либо при ε-аминогруппе остатка Lys, присутствующего в А или В цепи исходной группировки инсулина, где этот

заместитель включает по меньшей мере одну бифункциональную алифатическую группировку примерно с 6 - примерно 32 атомами углерода и незаряженный линкер, который связывает бифункциональную алифатическую группировку с исходным инсулином, при условии, что заместитель не содержит один или более чем один остаток, выбранный из группы $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-$ и $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})-$.

128. Производное инсулина, имеющее заместитель, присоединенный к исходной группировке инсулина либо при α -аминогруппе N-концевого аминокислотного остатка В цепи, либо при ϵ -аминогруппе остатка Lys, присутствующего в А или В цепи исходной группировки инсулина, где этот заместитель включает по меньшей мере одну бифункциональную алифатическую группировку примерно с 6 - примерно 32 атомами углерода и незаряженный линкер, который связывает бифункциональную алифатическую группировку с исходным инсулином, при условии, что заместитель не содержит один или более чем один остаток, выбранный из группы $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-$ и $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})-$, характеризующееся тем, что незаряженный линкер выбран из группы, состоящей из

- аминокислотного амида аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоты с незаряженной боковой цепью, где этот остаток образует с его карбоново-кислотной группой амидную группу вместе с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или вместе с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins, либо
- цепи, состоящей из двух, трех или четырех остатков амида аминокислоты или аминокислотных остатков, как указано выше, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins
 - $-\text{COCH}(\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)$
 - $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$

- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CONH}-$; либо
- $-\text{CO}-(\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{CO-NH}-$, где R^5 независимо может представлять

5 собой Н, — CH_3 , — $(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ или — CONH_2 и R^6 независимо может представлять собой Н, — CH_3 , — $(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$

10 при условии, что, если амин в незаряженном линкере образует связь с остальной частью заместителя, этот амин должен быть связан с остальной частью заместителя через карбонильную группу.

15 129. Производное инсулина, имеющее заместитель, присоединенный к исходной группировке инсулина либо при α -аминогруппе N-концевого аминокислотного остатка В цепи, либо при ϵ -аминогруппе остатка Lys, присутствующего в А или В цепи исходной группировки инсулина, где этот заместитель включает по меньшей мере одну бифункциональную алифатическую группировку примерно с 6 - примерно 32 атомами углерода и незаряженный линкер, который связывает бифункциональную алифатическую группировку с исходным инсулином, при условии, что незаряженный линкер не содержит $-(\text{CO}-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{NH-CO})_{1-4}-$, если заместитель инсулина содержит ароматическую группу, и что заместитель не содержит один или более чем один остаток, выбранный из группы $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{CO-NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{CO-NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{CO-NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-$ и $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{CO-NH-CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})-$, характеризующееся тем, что незаряженный линкер 20 25 30 35 40 45 50 выбран из группы, состоящей из

- аминокислотного амида аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоты с незаряженной боковой цепью, где этот остаток образует с его карбоново-кислотной группой амидную группу вместе с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или вместе с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins, либо

- цепи, состоящей из двух, трех или четырех остатков амида аминокислоты или аминокислотных остатков, как указано выше, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins,

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

- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂OCH₂CONH-
- -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-NH-CO)₁₋₄-; либо
- -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R⁵ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂ и R⁶ независимо может представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃,

5 при условии, что, если амин в незаряженном линкере образует связь с остальной частью заместителя, этот амин должен быть связан с остальной частью заместителя через карбонильную группу.

10

15 130. Производное инсулина, имеющее заместитель, присоединенный к исходной группировке инсулина либо при α-аминогруппе N-концевого аминокислотного остатка В цепи, либо при ε-аминогруппе остатка Lys, присутствующего в А или В цепи исходной группировки инсулина, где этот заместитель включает по меньшей мере одну бифункциональную алифатическую группировку примерно с 6 - примерно 32 атомами углерода и незаряженный линкер, который связывает бифункциональную алифатическую группировку с исходным инсулином, при условии, что заместитель не содержит один или более 20 чем один остаток, выбранный из группы —CO-(CH₂)₂-CO-NH-(CH₂CH₂O)₂- , —CO-(CH₂)₂-CO-NH-CH₂-(CH₂CH₂O)₂- , —CO-(CH₂)₂-CO-NH-(CH₂CH₂O)₃- и —CO-(CH₂)₂-CO-NH-CH₂-(CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂O)-, характеризующееся тем, что 25 незаряженный линкер выбран из группы, состоящей из

30

35

40

45

50

• аминокислотного амида аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоты с незаряженной боковой цепью, где этот остаток образует с его карбоново-кислотной группой амидную группу вместе с α-аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или вместе с ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins, либо

• цепи, состоящей из двух, трех или четырех остатков амида аминокислоты или аминокислотных остатков, как указано выше, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α-аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или с ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins,

- -COCH(CONH₂)-

- $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)$
- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
- $-\text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{CONH}-$
- $-\text{CO}-((\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{NH}-\text{CO})_{1-4}-$; либо
- $-\text{CO}-((\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}-\text{CO}-\text{NH})_{1-4}-$, где R^5 независимо может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ или $-\text{CONH}_2$ и R^6 независимо может представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$

при условии, что, если амин в незаряженном линкере образует связь с остальной частью заместителя, этот амин должен быть связан с остальной частью заместителя через карбонильную группу.

131. Производное инсулина имеющее заместитель, присоединенный к исходной группировке инсулина либо при α -аминогруппе N -концевого аминокислотного остатка В цепи, либо при ϵ -аминогруппе остатка Lys, присутствующего в А или В цепи исходной группировки инсулина, где этот заместитель включает по меньшей мере одну бифункциональную алифатическую группировку примерно с 6 - примерно 32 атомами углерода и незаряженный линкер, который связывает бифункциональную алифатическую группировку с исходным инсулином, при условии, что несвязывающий амид присутствует в линкере, если заместитель включает ароматическую группу, и что заместитель не содержит один или более чем один остаток, выбранный из группы $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$, $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-$ и $-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})-$.

132. Производное инсулина, имеющее заместитель, присоединенный к исходной группировке инсулина либо при α -аминогруппе N -концевого аминокислотного остатка В цепи, либо при ϵ -аминогруппе остатка Lys, присутствующего в А или В цепи исходной группировки инсулина, где этот заместитель включает по меньшей мере одну бифункциональную алифатическую группировку с примерно от 6 до примерно 32 атомами углерода и незаряженный линкер, который связывает бифункциональную алифатическую группировку с исходным инсулином, при условии, что бифункциональная алифатическая

группировка представляет собой алифатическую цепь, не связывающий амид присутствует в линкере.

5 133. Производное инсулина в соответствии с параграфом 121-129, где заместитель присоединен к α -аминогруппе N-концевого аминокислотного остатка В цепи исходного инсулина.

10 134. Производное инсулина в соответствии с параграфом 121-129, где заместитель присоединен к ϵ -аминогруппе остатка Lys, присутствующего в А или В цепи исходного инсулина.

15 135. Производное инсулина в соответствии с параграфами 121-129 или 131, где заместитель присоединен в положении B29 к ϵ -аминогруппе остатка Lys, присутствующего в В цепи исходного инсулина.

20 136. Производное инсулина в соответствии с параграфом 132, где заместитель присоединен к ϵ -аминогруппе остатка Lys в положении B29 в дезВ30 человеческом инсулине.

25 137. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 121-129, где линкер содержит амид или N-замещенный амид формулы $-\text{CONR}^7\text{R}^8$, где R^7 и R^8 независимо друг от друга могут представлять собой атом водорода, метил, этил, пропил или изопропил.

138. Производное инсулина в соответствии с параграфом 134, где R^7 и R^8 представляют собой атом водорода.

30 139. Производное инсулина в соответствии с параграфом 121-129, где линкер содержит несвязывающий амид.

35 140. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 121-129, где заместитель включает один или более чем один остаток этиленгликоля, пропиленгликоля и/или бутиленгликоля, содержащий независимо на каждом конце группу, выбранную из $-\text{NH}_2$ и $-\text{COOH}$, которую используют для соединения индивидуальных компонентов заместителя.

40 141. Производное инсулина в соответствии с параграфами 121-129, где заместитель включает по меньшей мере одну ароматическую группу.

45 142. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1-141, где исходный инсулин представляет собой человеческий инсулин или свиной инсулин.

143 Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1-141, где исходный инсулин представляет собой аналог инсулина.

144. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 143, где аминокислотный остаток в положении В30 исходного инсулина представляет собой Lys или делетирован.

5 145. Производное инсулина в соответствии с параграфами 143-44, где исходный инсулин представляет собой дезВ30 человеческий инсулин.

10 146. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 143-145, где аминокислотный остаток в положении В1 исходного инсулина делетирован.

147. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 143-146, где аминокислотный остаток в положении А21 исходного инсулина представляет собой Gly или Asn.

15 148. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 143-147, где аминокислотный остаток в положении В3 исходного инсулина представляет собой Lys.

20 149. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 143-148, где аминокислотный остаток в положении В28 исходного инсулина представляет собой Asp или Lys.

25 150. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 143-149, где аминокислотный остаток в положении В29 исходного инсулина представляет собой Pro или Thr.

30 151. Производное инсулина в соответствии с параграфом 149, где исходный инсулин представляет собой AspB28 человеческий инсулин.

152. Производное инсулина в соответствии с параграфом 147, где исходный инсулин представляет собой GlyA21 человеческий инсулин или GlyA21дезВ30 человеческий инсулин или GlyA21ArgB31ArgB32 человеческий инсулин.

35 153. Производное инсулина в соответствии с параграфом 148, где исходный инсулин представляет собой LysB3GluB29 человеческий инсулин.

154. Производное инсулина в соответствии с параграфом 149-150, где исходный инсулин представляет собой LysB28ProB29 человеческий инсулин.

40 155. Производное инсулина в соответствии с параграфом 144 и 150, где исходный инсулин представляет собой ThrB29LysB30 человеческий инсулин.

45 156. Комплекс с цинком производного инсулина в соответствии с любым из параграфов 1-155, где связаны два иона цинка, три иона цинка, четыре иона цинка, пять ионов цинка, шесть ионов цинка, семь ионов цинка, восемь ионов цинка, девять ионов цинка или десять ионов цинка на шесть молекул производного инсулина.

50

5 157. Фармацевтическая композиция для лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, содержащая терапевтически эффективное количество производного инсулина в соответствии с параграфами 1-155 или комплекс с цинком в соответствии с параграфом 156 вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

10 158. Фармацевтическая композиция для лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, содержащая терапевтически эффективное количество производного инсулина в соответствии с параграфами 1-155 или комплекс с цинком в соответствии с параграфом 156 в смеси с инсулином или аналогом инсулина, который обладает быстрым началом действия, вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

15 159. Способ лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, при котором пациенту вводят терапевтически эффективное количество производного инсулина в соответствии с параграфами 1-155 или комплекс с цинком в соответствии с параграфом 156 вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

20 160. Способ лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, при котором пациенту вводят терапевтически эффективное количество производного инсулина в соответствии с параграфами 1-155 или комплекс с цинком в соответствии с параграфом 156 в смеси с инсулином или аналогом инсулина, который обладает быстрым началом действия, вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

25 161. Способ в соответствии с параграфами 138 или 139 для легочного лечения диабета.

30 162. Применение производного инсулина в соответствии с параграфами 1-155 или комплекса с цинком в соответствии с параграфом 156 для изготовления фармацевтической композиции для применения при лечении диабета типа 1, диабета типа 2 и других состояний, которые вызывают гипергликемию.

35 163. Применение производного инсулина в соответствии с параграфами 1-155 или комплекса с цинком в соответствии с параграфом 156 в смеси с инсулином или аналогом инсулина, который обладает быстрым началом действия, для изготовления фармацевтической композиции для применения при лечении диабета типа 1, диабета типа 2 и других состояний, которые вызывают гипергликемию.

40 164. Смесь производного инсулина в соответствии с параграфами 1-155 или комплекса с цинком в соответствии с параграфом 156 и аналога инсулина быстрого

45

50

действия, выбранного из группы, состоящей из AspB28 человеческого инсулина; LysB28ProB29 человеческого инсулина и LysB3GluB29 человеческого инсулина.

165. Производное инсулина, где это производное инсулина выбрано из группы, состоящей из:

5 N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- γ -L-глутамиламид дезВ30 человеческого
инсулина,

10 N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- γ -аминобутоил дезВ30 человеческого
инсулина,

15 N^{eB29} - ω -карбокситетрадеканоил- γ -L-глутамиламид дезВ30 человеческого
инсулина,

20 N^{eB29} - ω -карбокситридеканоил- γ -L-глутамиламид дезВ30 человеческого
инсулина,

25 N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- β -аланил дезВ30 человеческого инсулина,

30 N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- γ -L-аспартиламид дезВ30 человеческого
инсулина,

35 N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- ϵ -аминогексаноил дезВ30 человеческого
инсулина,

40 N^{eB29} - ω -карбоксипентадеканоил- δ -аминопентаноил дезВ30 человеческого
инсулина,

45 N^{eB29} -10-(4-карбоксифенокси)-деканоил- γ -L-глутамиламид дезВ30
человеческого инсулина,

50 N^{eB29} -4-[11-(4-карбоксифенил)ундеканоиламино]бутирил дезВ30
человеческого инсулина,

55 N^{eB29} -(3-(3-{4-[3-(7-
карбоксигептаноиламино)пропокси]бутокси}пропилкарбамоил)-пропионил- γ -
глутамиламид) дезВ30 человеческого инсулина,

60 N^{eB29} - ω -карбокситридеканоил- γ -аминобутоил дезВ30 человеческого
инсулина,

65 N^{eB29} - ω -карбоксиундеканоил- γ -аминобутоил дезВ30 человеческого
инсулина,

70 N^{eB29} - ω -карбокситетрадеканоил- γ -аминобутоил дезВ30 человеческого
инсулина,

75 N^{eB29} -{4-[10-(4-карбоксифенокси)-деканоиламино]-бутирил} дезВ30 инсулина,

80 N^{eB29} -{4-[(14-карбокситетрадеканоиламино)-метил]-бензоил} дезВ30
инсулина,

N^{eB29} -[16-(4-карбоксифенокси)-гексадеканоил] дезВ30 инсулина,

N^{eB29} -{4-[(15-карбоксипентадеканоиламино)бензоил]-дезВ30 человеческого
5 инсулина и

N^{eB29} -{4-[(15-карбоксипентадеканоиламино)-метил]-бензоил}-дезВ30
10 инсулина.

166. Производное инсулина, как описано в примерах.

Далее изобретение кратко изложено в приведенных ниже параграфах:

1a. Производное инсулина имеющее заместитель, присоединенный к исходной группировке инсулина либо при α -аминогруппе N-концевого аминокислотного остатка В цепи, либо при ϵ -аминогруппе остатка Lys, присутствующего в В цепи исходной группировки инсулина, где этот заместитель включает по меньшей мере одну бифункциональную алифатическую группировку примерно с 6 примерно 32 атомами углерода и незаряженный линкер, который связывает бифункциональную алифатическую группировку с исходным инсулином, при условии, что незаряженный линкер не содержит $-(CO-(CH_2)_{2-6}-NH-CO)_{1-4}-$, если заместитель инсулина включает ароматическую группу.

2a. Производное инсулина в соответствии с параграфом 1a, где заместитель присоединен к α -аминогруппе N-концевого аминокислотного остатка В-цепи исходного инсулина.

3a. Производное инсулина в соответствии с параграфом 1a, где заместитель присоединен к ϵ -аминогруппе остатка Lys, присутствующего в В-цепи исходного инсулина.

4a. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1a или 3a, где заместитель присоединен к ϵ -аминогруппе остатка Lys в положении B29, присутствующего в В-цепи исходного инсулина.

5a. Производное инсулина в соответствии с параграфом 4a, где заместитель присоединен к ϵ -аминогруппе остатка Lys в положении B29 в LysB29дезВ30 человеческом инсулине.

6a. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1a-5a, где линкер включает амид или N-замещенный амид формулы $-CONR_7R_8$, где R_7 и R_8 независимо друг от друга могут представлять собой атом водорода, метил, этил, пропил или изопропил.

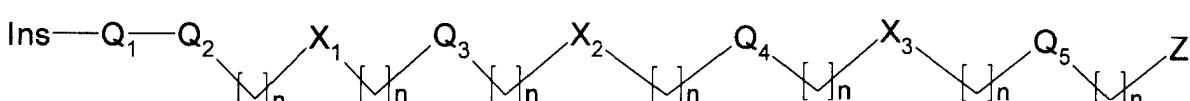
7a. Производное инсулина в соответствии с параграфом 6a, где R_7 и R_8 представляют собой атом водорода.

8а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 1, где линкер включает амид.

9а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1а-7а, где заместитель включает один или более чем один остаток этиленгликоля, пропиленгликоля и/или бутиленгликоля, содержащий независимо на каждом конце группу, выбранную из $-\text{NH}_2$ и $-\text{COOH}$.

10а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 1а-7а, где заместитель включает по меньшей мере одну ароматическую группу.

11а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 1а, имеющее формулу



где Ins представляет собой исходную группировку инсулина, которая через α -аминогруппу N-концевого аминокислотного остатка В цепи или ϵ -аминогруппу остатка Lys, присутствующего в В цепи группировки инсулина связана с Q_1 или Q_2 в заместителе;

каждое n независимо равно 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

Q_1 представляет собой:

- остаток амида α -аминокислоты, имеющий карбоново-кислотную группу в заместителе, где этот остаток образует с одной из его карбоново-кислотных групп амидную группу вместе с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи или вместе с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в В цепи исходного инсулина;

- цепь, состоящую из двух, трех или четырех остатков амида α -аминокислоты, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи или с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в В цепи исходного инсулина, где аминокислотные остатки W выбраны из группы аминокислотных остатков, имеющих нейтральный заместитель, и аминокислотных остатков, имеющих карбоново-кислотную группу в заместителе, так что W имеет по меньшей мере один аминокислотный остаток, который имеет карбоново-кислотную группу в заместителе; либо

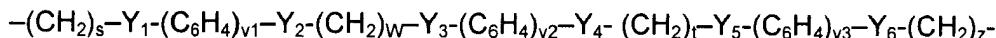
- связь

Q_2 представляет собой:

- $-\text{COCH}(\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)$
 - $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CONH}_2)-$
 - $-(\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2-6}\text{NH}-\text{CO})_{1-4}-$;
 - $-(\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2-6}\text{CO}-\text{NH})_{1-4}-$;
 - $-(\text{CO}-(\text{C R}_9\text{R}_{10})_{1-6}\text{CO}-\text{NH})_{1-4}-$, где R_9 и R_{10} независимо друг от друга
- 15 могут представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{CH}_3$ или $-\text{CONH}_2$; либо
- **связь**
- 20 при условии, что по меньшей мере один из Q_1 или Q_2 представляет собой не связь;
- Q_3 , Q_4 и Q_5 независимо друг от друга могут представлять собой
- $-(\text{CH}_2)_m-$, где m представляет собой целое число в интервале от 1 до 32;
 - двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы $-\text{CH}=\text{CH}-$ и число $-\text{CH}_2-$, достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 32;
 - $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$; $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$; $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$;
 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ или $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$; $-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_y-$, где y равно 1-20;
 - $-(\text{CR}_3\text{R}_4)_{1-6}-(\text{NHCO}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_{1-6}\text{NHCO})_{1-2}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_{1-6}$ или $-(\text{CR}_3\text{R}_4)_{1-6}-(\text{CONH}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_{1-6}\text{CONH})_{1-2}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_{1-6}$,
 $-(\text{CR}_3\text{R}_4)_{1-6}-(\text{NHCO}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_{1-6}\text{CONH})_{1-2}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_{1-6}$, где R_3 и R_4 независимо друг от друга и независимо для каждого атома углерода могут 35 представлять собой H , $-\text{COOH}$ или OH ,
 - $-(\text{CR}_5\text{R}_6)_{1-6}-$, где R_5 и R_6 независимо друг от друга и независимо для каждого атома углерода могут представлять собой H , $-\text{COOH}$, $(\text{CH}_2)_{1-6}\text{COOH}$;
 - $-((\text{CR}_1\text{R}_2)_{1-6}\text{NR}_{15}\text{CO})_{1-4}-$, где R_1 , R_2 и R_{15} независимо друг от друга 45 могут представлять собой H , $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_{1-6}\text{CH}_3$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{1-6}\text{OPO}_3\text{H}_2$ или CONH_2 и R_{15} может представлять собой арилен, который может быть замещен одной или двумя группами R_1 , R_2 , как определено выше;
 - NR_{15} , где R_{15} является таким, как определено выше;

• арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из $-COOH$, $-CH_3$, $-CH_{1-6}CH_3$, $-SO_3H$, $-(CH_2)_p-SO_3H$, $-CONR_1R_2$ или $-SO_2NR_1R_2$, где R_1 и R_2 независимо друг от друга могут представлять собой H , $-CH_3$, $-(CH)_{1-6}-CH_3$, $-SO_3H$, $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$, $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ или $CONH_2$;

- двухвалентную углеводородную цепь формулы



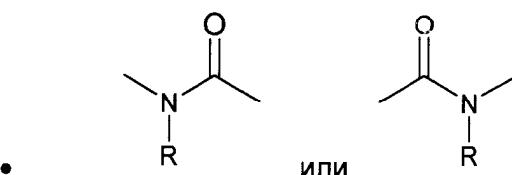
где Y_1 - Y_6 независимо друг от друга могут представлять собой O ; S или связь; где s , w , t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 от 10, так что сумма s , w , t и z находится в интервале от 4 до 30, и v_1 , v_2 и v_3 независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y_1 - Y_6 не связаны друг с другом; либо

- связь;

при условии, что $Q_3 - Q_5$ являются разными;

X_1 , X_2 и X_3 независимо друг от друга представляют собой:

- O ;
- $-C=O$;
- связь; либо



где R представляет собой атом водорода, C_{1-3} -алкил, C_{2-3} -алкенил или C_{2-3} -алкинил;

и

Z представляет собой:

- COOH;
- CO-Asp;
- CO-Glu;
- CO-Gly;
- CO-Sar;
- CH(COOH)₂;
- N(CH₂COOH)₂;
- SO₃H;
- OSO₃H;
- OPO₃H₂;

– PO_3H_2 или
 –тетразол-5-ил или
 – $\text{O}-\text{W}_1$,

5 где W_1 представляет собой арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из – COOH , – SO_3H , – $(\text{CH}_2)_{1-6}\text{SO}_3\text{H}$, – $\text{CONR}_{13}\text{R}_{14}$ или – $\text{SO}_2\text{NR}_{12}\text{R}_{14}$, где R_{13} и R_{14} независимо друг от друга могут представлять собой H , – SO_3H , – $(\text{CH}_2)_{1-6}\text{SO}_3\text{H}$, – $(\text{CH}_2)_{1-6}\text{OPO}_3\text{H}_2$, – CONH_2 или тетразо-5-ил;
 10 и любой его комплекс с Zn^{2+} .

12а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 11а, где Q_1 15 представляет собой остаток аминокислотного амида, имеющий от 4 до 10 атомов углерода.

13а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 11а-12а, где Q_1 20 выбран из группы, состоящей из β -D-Asp-амида, β -L-Asp-амида, γ -L-Glu-амида и γ -D-Glu-амида.

14а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 11а, где Q_1 25 представляет собой цепь из остатков аминокислотного амида.

15а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 11а или 14а, где Q_1 30 представляет собой цепь из двух остатков амида аминокислоты, выбранных из группы, состоящей из β -L-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -D-Asp-амида.

35 16а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 11а-15а, где Q_2 представляет собой связь.

40 17а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 11а-15а, где Q_2 выбран из группы, состоящей из – $(\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2-6}\text{NH-CO})_{1-4}-$; – $(\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2-6}\text{CO-NH})_{1-4}-$;

45 18а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 17а, где Q_2 выбран из группы, состоящей из – $(\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{NH-CO})_1-$ или – $(\text{CO}-(\text{CH}_2)_3\text{NH-CO})_{1-4}-$.

50 19а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 17а-18а, где Q_1 представляет собой связь.

20а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 11а, где

Q₁ представляет собой:

- остаток амида α-аминокислоты, имеющий карбоново-кислотную

5 группу в заместителе, где этот остаток образует с одной из его карбоново-кислотных групп амидную группу вместе с α-аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи или вместе с ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в В цепи исходного инсулина;

10 • цепь, состоящую из двух, трех или четырех остатков амида α-аминокислоты, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α-аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В

15 цепи или с ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в В цепи исходного инсулина, где аминокислотные остатки W выбраны из группы аминокислотных остатков, имеющих нейтральный заместитель, и аминокислотных остатков, имеющих карбоново-кислотную группу в заместителе, так что W имеет по меньшей 20 мере один аминокислотный остаток, который имеет карбоново-кислотную группу в заместителе; либо

- связь

25 Q₂ представляет собой:

- -COCH(CONH₂)-

- -COCH₂N(CH₂CONH₂)-

- -COCH₂N(CH₂CONH₂)COCH₂N(CH₂CONH₂)

- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-

- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-

- -COCH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-

- -COCH₂CH₂N(CH₂CONH₂)-

- -(CO-(CH₂)₂₋₆-NH-CO)₁₋₄-;

- -(CO-(CH₂)₂₋₆-CO-NH)₁₋₄-;

- -(CO-(C R₉R₁₀)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R₉ и R₁₀ независимо друг от друга

40 могут представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂; либо

- связь

45 при условии, что по меньшей мере один из Q₁ или Q₂ представляет собой не

связь;

Q₃ представляет собой

- -(CH₂)_m-, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до

32;

• двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы $-\text{CH}=\text{CH}-$ и число $-\text{CH}_2-$, достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 32; либо

5 • двухвалентную углеводородную цепь формулы $-(\text{CH}_2)_s\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_2)_w-$, где v и w представляют собой целые числа или одно из них равно нулю, так что сумма s и w находится в интервале от 6 до 30;

10 X_1 может представлять собой $-\text{C=O}$ или связь;

Q_4 , Q_5 , X_2 и X_3 представляют собой связи;

все значения n равны нулю; и

Z представляет собой:

15 $-\text{COOH};$

$-\text{CO-Asp};$

$-\text{CO-Glu};$

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

$-\text{CO-Sar};$

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

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

25 $-\text{SO}_3\text{H};$

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

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

$-\text{PO}_3\text{H}_2$ или

30 $-\text{тетразол-5-ил}$

и любой его комплекс с Zn^{2+} .

21а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 20а, где Q_1 35 представляет собой остаток аминокислотного амида, имеющий от 4 до 10 атомов углерода.

22а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 20а-21а, где Q_1 выбран из группы, состоящей из β -D-Asp-амида, β -L-Asp-амида, γ -L-Glu-40 амида и γ -D-Glu-амида.

23а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 20а, где Q_1 представляет собой цепь из остатков амида аминокислоты.

24а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 20а или 23а, где 45 Q_1 представляет собой цепь из двух остатков амида аминокислоты, выбранных из группы, состоящей из β -L-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -L-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -L-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -D-

Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -D-Asp-амида.

5 25а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 20а-24а, где Q_2 представляет собой связь.

10 26а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 21а-25а, где X_1 представляет собой $-C=O$.

15 27а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 20а-26а, где Q_2 выбран из группы, состоящей из $CO(CONH_2)CH-$; $-(CO-(CH_2)_{2-6}-NH-CO)_{1-4}-$; $-(CO-(CH_2)_{2-6}-CO-NH)_{1-4}-$.

20 28а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 20а или 27а, где Q_2 выбран из группы, состоящей из $-(CO-(CH_2)_2-NH-CO)_{1-}$, $-(CO-(CH_2)_3-NH-CO)_{1-}$, $-(CO-(CH_2)_4-NH-CO)_{1-}$ или $-(CO-(CH_2)_5-NH-CO)_{1-}$.

29а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 27а или 28а, где Q_1 представляет собой связь.

30а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 20а-29а, где Q_3 представляет собой $-(CH_2)_m-$, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до 32 или от 8 до 20.

31а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 30а, где m равно 12, 13, 14, 15 или 16.

32а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 20а-31а, где Z представляет собой $-COOH$.

33а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 20а-31а, где Z представляет собой $-CH(COOH)_2$.

34а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 20а-31а, где Z представляет собой $-N(CH_2COOH)_2$.

35а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 20а-31а, где Z представляет собой $-SO_3H$.

36а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 20а-31а, где Z представляет собой $-PO_3H$.

45 37а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1а-36а, выбранное из группы, состоящей из $N^{eB29}-\omega$ -карбоксипентадеканоил- γ -L-глутамиламид дезB30 человеческого инсулина, $N^{eB29}-\omega$ -карбоксипентадеканоил- γ -аминобутиноил дезB30 человеческого инсулина, $N^{eB29}-\omega$ -карбокситетрадеканоил- γ -

50

5 L-глутамиламид дезB30 человеческого инсулина, $N^{eB29}\text{-}\omega\text{-карбокситридеканоил-}\gamma\text{-L}$
 глютамиламид дезB30 человеческого инсулина, $N^{eB29}\text{-}\omega\text{-карбоксипентадеканоил-}\beta$ -
 аланил дезB30 человеческого инсулина, $N^{eB29}\text{-}\omega\text{-карбоксипентадеканоил-}\gamma\text{-L}$
 аспартиламид дезB30 человеческого инсулина, $N^{eB29}\text{-}\omega\text{-карбоксипентадеканоил-}\epsilon$ -
 аминогексаноил дезB30 человеческого инсулина, $N^{eB29}\text{-}\omega\text{-карбоксипентадеканоил-}\delta$ -
 аминопентаноил дезB30 человеческого инсулина.

10 38а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 11а, где

Q₁ представляет собой:

15 • остаток амида α-аминокислоты, имеющий карбоново-кислотную группу в заместителе, где этот остаток образует с одной из его карбоново-кислотных групп амидную группу вместе с α-аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи или вместе с ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в В цепи исходного инсулина;

20 • цепь, состоящую из двух, трех или четырех остатков амида α-аминокислоты, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α-аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи или с ε-аминогруппой остатка Lys, присутствующего в В цепи исходного инсулина, где аминокислотные остатки W выбраны из группы аминокислотных остатков, имеющих нейтральный заместитель, и аминокислотных остатков, имеющих карбоново-кислотную группу в заместителе, так что W имеет по меньшей мере один аминокислотный остаток, который имеет карбоново-кислотную группу в заместителе; либо

- СВЯЗЬ

35 Q₂ представляет собой:

- -COCH(CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)COCH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CONH₂)-
40
- -(CO-(CH₂)₂₋₆-NH-CO)₁₋₄-;
- -(CO-(CH₂)₂₋₆-CO-NH)₁₋₄-;
- -(CO-(C R₉R₁₀)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R₉ и R₁₀ независимо друг от друга

45 50 могут представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂; либо

- СВЯЗЬ

при условии, что по меньшей мере один из Q₁ или Q₂ представляет собой не связь;

5 Q₃ представляет собой

• -((CR₁R₂)₁₋₆-NR₁₅-CO)₁₋₄-, где R₁, R₂ и R₁₅ независимо друг от друга могут представлять собой H, -CH₃, -CH₁₋₆CH₃, -SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂ или CONH₂ и R₁₅ может представлять собой арилен, который может быть замещен одной или двумя группами R₁, R₂, как определено выше;

- NR₁₅, где R₁₅ является таким, как определено выше,
- СВЯЗЬ

15 Q₄ представляет собой

• -(CH₂)_m-, где m представляет собой целое число от 4 до 22;

• двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы -CH=CH- и число -CH₂-, достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 22;

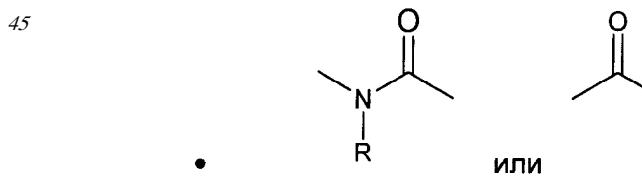
20 • арилен или гетероарилен, которые могут быть замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из -COOH, -CH₃, -CH_pCH₃, -SO₃H, -(CH₂)_p-SO₃H, -CONR₁R₂ или -SO₂NR₁R₂, где R₁ и R₂, независимо друг от друга могут представлять собой H, -CH₃, -(CH)₁₋₆-CH₃, -SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-SO₃H, -(CH₂)_p-O-PO₃H₂ или CONH₂; либо

25 • двухвалентную углеводородную цепь формулы -(CH₂)_s-Y₁-(C₆H₄)_{v1}-Y₂-(CH₂)_w-Y₃-(C₆H₄)_{v2}-Y₄-(CH₂)_t-Y₅-(C₆H₄)_{v3}-Y₆-(CH₂)_z-

30 где Y₁ - Y₆ независимо друг от друга могут представлять собой O; S или связь; где s, w, t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое число от 1 до 10, так что сумма s, w, t и z находится в интервале от 4 до 30, и v₁, v₂ и v₃ независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии, что Y₁ - Y₆ не связаны друг с другом; либо

35 X₁ представляет собой

- O;
- -C=O;
- СВЯЗЬ; или



45

где R представляет собой атом водорода, C₁₋₃-алкил, C₂₋₃-алкенил или C₂₋₃-алкинил; и

X₂, X₃ и Q₅ представляют собой связи;

5 все значения p равны нулю; и

• Z представляет собой:

-COOH;

10 -CO-Asp;

-CO-Glu;

-CO-Gly;

-CO-Sar;

15 -CH(COOH)₂;

-N(CH₂COOH)₂;

-SO₃H;

20 -OSO₃H;

-OPO₃H₂;

-PO₃H₂ или

-тетразол-5-ил или

25 -O-W₁,

где W₁ представляет собой арилен или гетероарилен, которые могут быть

замещены одной или двумя группами, выбранными из группы, состоящей из -
30 COOH, -SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-SO₃H, -CONR₁₃R₁₄ или -SO₂NR₁₂R₁₄, где R₁₃ и R₁₄
независимо друг от друга могут представлять собой H, -SO₃H, -(CH₂)₁₋₆-SO₃H, -
(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂, -CONH₂ или тетразо-5-ил;

и любой его комплекс с Zn²⁺.

35а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 38а, где Q₁
представляет собой остаток аминокислотного амида, имеющий от 4 до 10 атомов
углерода.

40а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а-39а,
где Q₁ выбран из группы, состоящей из β-D-Asp-амида, β-L-Asp-амида, γ-L-Glu-
амида и γ-D-Glu-амида.

41а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 38а, где Q₁
представляет собой цепь из остатков амида аминокислоты.

45 42а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 38а или 41а, где
Q₁ представляет собой цепь из двух остатков амида аминокислоты, выбранных из
группы, состоящей из β-L-Asp-амид-β-L-Asp-амида, β-L-Asp-амид-γ-L-Glu-амида, γ-
50 L-Glu-амид-γ-L-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-β-L-Asp-амида, β-L-Asp-амид-β-D-Asp-

амида, β -L-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -L-Glu-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -D-Asp-амида.

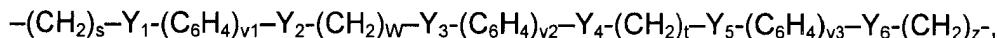
5 43а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а-42а,
где Q₂ представляет собой связь.

10 44а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а-42а,
где Q₂ выбран из группы, состоящей из CO(CONH₂)CH-; -(CO-(CH₂)₂₋₆-NH-CO)₁₋₄-
и -(CO-(CH₂)₂₋₆-CO-NH)₁₋₄-.

15 45а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 44а, где Q₁
представляет собой связь.

20 46а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а, 44а
или 45а, где Q₂ выбран из группы, состоящей из -(CO-(CH₂)₂-NH-CO)₁- или -(CO-(CH₂)₃-NH-CO)₁₋₄-.

25 47а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 37а, где Q₄
представляет собой



30 где Y₁ - Y₆ независимо друг от друга могут представлять собой O; S или
связь; где s, w, t и z независимо друг от друга представляют собой ноль или целое
число от 1 до 10, так что сумма s, w, t и z находится в интервале от 4 до 30, и v₁, v₂
и v₃ независимо друг от друга могут представлять собой ноль или 1 при условии,
что Y₁ - Y₆ не связаны друг с другом.

35 48а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 37а или
46а, где по меньшей мере два из v₁, v₂ или v₃ равны нулю.

49а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а, 47а
или 48а, где Y₁ - Y₆ представляют собой связи.

40 50а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а, 47а
или 48а, где по меньшей мере один из Y₁ - Y₆ представляет собой O или S.

51а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а или
47а-48а, где Y₁ представляет собой O или S и v₁ равно одному.

45 52а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а-51а,
где Z представляет собой -COOH.

53а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а-51а,
где Z представляет собой -CH(COOH)₂.

50

54а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а-51а, где Z представляет собой $-N(CH_2COOH)_2$.

5 55а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а-51а, где Z представляет собой $-SO_3H$.

10 56а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а-51а, где Z представляет собой $-PO_3H$.

15 57а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 38а-51а, где Z представляет собой $-O-W_1$,

15 58а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1а-19а или 38а-57а, где производное инсулина выбрано из группы, состоящей из $-COOH$, $-SO_3H$, $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$, $-CONR_{13}R_{14}$ или $-SO_2NR_{12}R_{14}$, где R_{13} и R_{14} независимо друг от друга могут представлять собой H, $-SO_3H$, $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$, $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$, $-CONH_2$ или тетразо-5-лил.

20 59а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 11а, где $N^{eB29}-10-(4\text{-карбоксифенокси})\text{-деканоил-}\gamma\text{-L-глутамиламида дезB30 человеческого инсулина, } N^{eB29}\text{-4-[11-(4\text{-карбоксифенил)ундеканоиламино]бутирила дезB30 человеческого инсулина.}$

25 59а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 11а, где

Q₁ предсталяет собой:

30 • остаток амида α -аминокислоты, имеющий карбоново-кислотную группу в заместителе, где этот остаток образует с одной из его карбоново-кислотных групп амидную группу вместе с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи или вместе с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в В цепи исходного инсулина;

35 • цепь, состоящую из двух, трех или четырех остатков амида α -аминокислоты, связанных вместе через амидные связи, где эта цепь через амидную связь связана с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи или с ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в В цепи исходного инсулина, где аминокислотные остатки W выбраны из группы аминокислотных остатков, имеющих нейтральный заместитель, и аминокислотных остатков, имеющих карбоново-кислотную группу в заместителе, так что W имеет по меньшей мере один аминокислотный остаток, который имеет карбоново-кислотную группу в заместителе; либо

40 • связь

Q₂ представляет собой:

- -COCH(CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CONH₂)COCH₂N(CH₂CONH₂)
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂N(CH₂CH₂CONH₂)-
- -COCH₂CH₂N(CH₂CONH₂)-
- -(CO-(CH₂)₂₋₆-NH-CO)₁₋₄-;
- -(CO-(CH₂)₂₋₆-CO-NH)₁₋₄-;
- -(CO-(C R₉R₁₀)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-, где R₉ и R₁₀ независимо друг от друга

могут представлять собой H, —CH₃, —(CH₂)₁₋₆CH₃ или —CONH₂; либо

- СВЯЗЬ

при условии, что по меньшей мере один из Q₁ или Q₂ представляет собой не СВЯЗЬ;

и независимо равно 2 или 3;

Q₃, Q₄ и Q₅ независимо друг от друга могут представлять собой

- (CH₂CH₂O)_y-; (CH₂CH₂CH₂O)_y-; (CH₂CH₂CH₂CH₂O)_y-;

(CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂CH₂O)_y- или (CH₂CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂CH₂O)_y-; -(CH₂OCH₂)_y-,

где у равно 1-20;

• -(CH₂)_m-, где m представляет собой целое число в интервале от 1 до 32;

• двухвалентную углеводородную цепь, содержащую 1, 2 или 3 группы —CH=CH— и число -CH₂- , достаточное для получения суммарного числа атомов углерода в цепи в интервале от 4 до 32;

- -(CR₃R₄)₁₋₆-(NHCO-(CR₃R₄)₁₋₆-NHCO)₁₋₂-(CR₃R₄)₁₋₆ или -(CR₃R₄)₁₋₆-(CONH-(CR₃R₄)₁₋₆-CONH)₁₋₂-(CR₃R₄)₁₋₆-;

• -(CR₃R₄)₁₋₆-(CONH-(CR₃R₄)₁₋₆-NHCO)₁₋₂-(CR₃R₄)₁₋₆, где R₃ и R₄ независимо друг от друга и независимо для каждого атома углерода могут представлять собой H, -COOH или OH,

• -(CR₅R₆)₁₋₆- , где R₅ и R₆ независимо друг от друга и независимо для каждого атома углерода могут представлять собой H, -COOH, (CH₂)₁₋₆COOH; либо

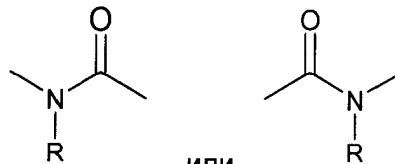
- СВЯЗЬ;

при условии, что Q₃ – Q₅ являются разными;

X₁, X₂ и X₃ независимо представляют собой

- O;
- -C=O;
- связь; или

5



- или

10

где R представляет собой атом водорода, C₁₋₃-алкил, C₂₋₃-алкенил или C₂₋₃-алкинил; и

Z представляет собой:

15

- COOH;
- CO-Asp;
- CO-Glu;
- CO-Gly;
- CO-Sar;
- CH(COOH)₂;
- N(CH₂COOH)₂;

25

- SO₃H;
- OSO₃H;
- OPO₃H₂;
- PO₃H₂ или

30

- тетразол-5-ил

и любой его комплекс с Zn²⁺.

35

60а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 59а, где Q₁ представляет собой остаток аминокислотного амида, имеющий от 4 до 10 атомов углерода.

40

61а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а-60а, где Q₁ выбран из группы, состоящей из β-D-Asp-амида, β-L-Asp-амида, γ-L-Glu-амида и γ-D-Glu-амида.

45

62а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 59а, где Q₁ представляет собой цепь из остатков амида аминокислоты.

50

63а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 59а или 62а, где Q₁ представляет собой цепь из двух остатков амида аминокислоты, выбранных из группы, состоящей из β-L-Asp-амид-β-L-Asp-амида, β-L-Asp-амид-γ-L-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-γ-L-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-β-L-Asp-амида, β-L-Asp-амид-β-D-Asp-амида, β-L-Asp-амид-γ-D-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-γ-D-Glu-амида, γ-L-Glu-амид-β-D-

Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -L-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -L-Asp-амида, β -D-Asp-амид- β -D-Asp-амида, β -D-Asp-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- γ -D-Glu-амида, γ -D-Glu-амид- β -D-Asp-амида.

64а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а-63а, где Q_2 представляет собой связь.

65а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а-63а, где Q_2 выбран из группы, состоящей из $\text{CO}(\text{CONH}_2)\text{CH}-$; $-(\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2-6}\text{-NH-CO})_{1-4}-$; $-(\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2-6}\text{-CO-NH})_{1-4}-$.

66а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а или 65а, где Q_2 выбран из группы, состоящей из $-(\text{CO}-(\text{CH}_2)_2\text{-NH-CO})_1-$ или $-(\text{CO}-(\text{CH}_2)_3\text{-NH-CO})_{1-4}-$.

67а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 65а или 66а, где Q_1 представляет собой связь.

68а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а-67а, где один из Q_3 , Q_4 или Q_5 представляет собой $-(\text{CH}_2)_m-$, где m представляет собой целое число в интервале от 1 до 32 или 1-12.

69а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а-67а, где один из Q_3 , Q_4 или Q_5 представляет собой $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$; $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$; $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$; $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ или $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$; $-(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_y-$, где y равно 1-20.

70а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 69а, где один из Q_3 , Q_4 или Q_5 представляет собой $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$ или $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_y-$, где y находится в интервале от 2-12, 2-4 или 2-3.

71а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а, 69а или 70а, где y равно 1.

72а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а-71а, где Z представляет собой $-\text{COOH}$.

73а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а-71а, где Z представляет собой $-\text{CH}(\text{COOH})_2$.

74а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а-71а, где Z представляет собой $-\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_2$.

75а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а-71а, где Z представляет собой $-\text{SO}_3\text{H}$.

76а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 59а-71а, где Z представляет собой $-\text{PO}_3\text{H}$.

77а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1а-19а или 59а-76а, выбранное из группы, состоящей из

⁵ N^{εB29}-(3-(3-{4-[3-(7-

карбоксигептаноиламино)пропокси]бутокси)пропилкарбамоил)-пропионил-γ-глутамиламид) дезВ30 человеческого инсулина.

¹⁰ 78а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1а-77а, где исходный инсулин представляет собой человеческий инсулин или свиной инсулин.

¹⁵ 79а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 1а-77а, где исходный инсулин представляет собой аналог инсулина.

²⁰ 80а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78а-79а, где аминокислотный остаток в положении В30 исходного инсулина представляет собой Lys или делетирован.

²⁵ 81а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 80а, где исходный инсулин представляет собой дезВ30 человеческий инсулин.

82а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78а-81а, где аминокислотный остаток в положении В1 исходного инсулина делетирован.

³⁰ 83а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78а-82а, где аминокислотный остаток в положении А21 исходного инсулина представляет собой Gly или Asn.

³⁵ 84а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78а-83а, где аминокислотный остаток в положении В3 исходного инсулина представляет собой Lys.

⁴⁰ 85а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78а-84а, где аминокислотный остаток в положении В28 исходного инсулина представляет собой Asp или Lys.

86а. Производное инсулина в соответствии с любым из параграфов 78а-85а, где аминокислотный остаток в положении В29 исходного инсулина представляет собой Pro или Thr.

⁴⁵ 87а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 85а, где исходный инсулин представляет собой AspВ28 человеческий инсулин.

88а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 83а, где исходный инсулин представляет собой GlyA21 человеческий инсулин или GlyA21дезВ30 человеческий инсулин или GlyA21ArgB31ArgB32 человеческий инсулин.

⁵⁰ 89а. Производное инсулина в соответствии с параграфом 84а, где исходный инсулин представляет собой LysB3GluB29 человеческий инсулин.

90а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 85а-86а, где исходный инсулин представляет собой LysB28ProB29 человеческий инсулин.

5 91а. Производное инсулина в соответствии с параграфами 80а и 86а, где исходный инсулин представляет собой ThrB29LysB30 человеческий инсулин.

10 92а. Комплекс с цинком производного инсулина в соответствии с любым из параграфов 1а-91а, где каждый гексамер инсулина связывает два иона цинка, три иона цинка или четыре иона цинка.

15 93а. Фармацевтическая композиция для лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, содержащая терапевтически эффективное количество производного инсулина в соответствии с любым из параграфов 1а-92а вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

20 94а. Фармацевтическая композиция для лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, содержащая терапевтически эффективное количество производного инсулина в соответствии с любым из параграфов 1а-92а в смеси с инсулином или аналогом инсулина, который обладает быстрым началом действия, вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

25 95а. Способ лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, при котором пациенту вводят терапевтически эффективное количество производного инсулина в соответствии с любым из параграфов 1а-92а вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

30 94а. Способ лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, при котором пациенту вводят терапевтически эффективное количество производного инсулина в соответствии с параграфами 1а-94а в смеси с инсулином или аналогом инсулина, который обладает быстрым началом действия, вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

35 97а. Способ в соответствии с параграфами 95а или 96а для легочного лечения диабета.

40 98а. Смесь производного инсулина в соответствии с любым из параграфов 1а-92а и аналогом инсулина быстрого действия, выбранным из группы, состоящей из AspB28 человеческого инсулина; LysB28ProB29 человеческого инсулина и LysB3GluB29 человеческого инсулина.

45 99а. Производное инсулина, как описано в примерах.

Исходный продукт для ацилирования, исходный инсулин или аналог инсулина или его предшественник может быть получен либо путем хорошо известного пептидного синтеза, либо путем хорошо известного рекомбинантного 50 производства в подходящих трансформированных микроорганизмах. Таким

образом, исходный продукт инсулина может быть получен способом, который включает культивирование клетки-хозяина, содержащей последовательность ДНК, кодирующую этот полипептид и способную к экспрессии этого полипептида, в подходящей питательной среде в условиях, дающих возможность экспрессии этого пептида, после чего полученный в результате пептид выделяют из культуры.

Среда, используемая для культивирования клеток, может представлять собой любую общепринятую среду, пригодную для выращивания клеток-хозяев, такую как минимальные или сложные среды, содержащие соответствующие добавки. Пригодные среды имеются в продаже или могут быть приготовлены в соответствии с опубликованными рецептами (например, в каталогах Американской типовой коллекции клеточных культур). Затем пептид, производимый клетками, можно выделить из культуральной среды с помощью общепринятых методик, включая отделение клеток-хозяев от среды центрифугированием или фильтрованием, осаждение белковых компонентов надосадочной жидкости или фильтрата с помощью соли, например, сульфата аммония, очистку с помощью ряда хроматографических методик, например, ионообменной хроматографии, гель-фильтрационной хроматографии, аффинной хроматографии или тому подобного, в зависимости от типа рассматриваемого пептида.

Последовательность ДНК, кодирующая исходный инсулин, может пригодно иметь геномное или кДНК происхождение, например, может быть получена путем приготовления геномной или кДНК библиотеки и скрининга на последовательности ДНК, кодирующие полноразмерный или частичный полипептид, путем гибридизации с использованием синтетических олигонуклеотидных зондов в соответствии со стандартными методиками (см., например, Sambrook, J, Fritsch, EF and Maniatis, T, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989). Последовательность ДНК, кодирующая исходный инсулин, может быть также получена синтетическим путем с помощью разработанных стандартных методов, например, фосфоамидитным методом, описанным Beaucage and Caruthers, *Tetrahedron Letters* 22 (1981), 1859 - 1869, или методом, описанным Matthes et al., *EMBO Journal* 3 (1984), 801 - 805. Последовательность ДНК может быть также получена путем полимеразной цепной реакции с использованием специфичных праймеров, например, как описано в патенте США 4683202 или Saiki et al., *Science* 239 (1988), 487 - 491.

Последовательность ДНК может быть встроена в любой вектор, который можно удобно подвергать методикам рекомбинантных ДНК, и выбор вектора часто зависит от клетки-хозяина, в которую его следует вводить. Таким образом, вектор

может представлять собой автономно реплицирующийся вектор, то есть вектор, который существует в виде экстрахромосомной копии, репликация которой не зависит от репликации хромосом, например, плазиды. Альтернативно вектор может представлять собой такой вектор, который при введении в клетку-хозяина интегрирует в геном клетки-хозяина и реплицируется вместе с хромосомой(ами), в которую он интегрирован.

Вектор представляет собой, например, экспрессионный вектор, в котором последовательность ДНК, кодирующая исходный инсулин, оперативно сцеплена с дополнительными сегментами, необходимыми для транскрипции ДНК, такими как промотор. Промотор может представлять собой любую последовательность ДНК, которая проявляет транскрипционную активность в выбранной клетке-хозяине, и может иметь происхождение из генов, кодирующих белки, либо гомологичные, либо гетерологичные по отношению к клетке-хозяину. Примеры подходящих промоторов для направления транскрипции ДНК, кодирующей исходный инсулин, в ряде клеток-хозяев, хорошо известны в данной области техники, см., например, Sambrook *et al.*, *supra*.

Последовательность ДНК, кодирующая исходный инсулин, может быть также при необходимости оперативно сцеплена с подходящим терминатором, сигналами полиденилирования, последовательностями транскрипционных энхансеров и последовательностями трансляционных энхансеров. Рекомбинантный вектор по изобретению может дополнительно содержать последовательность ДНК, обеспечивающую репликацию вектора в рассматриваемой клетке-хозяине.

Вектор может также содержать селективный маркер, например, ген, продукт которого восполняет дефект в клетке-хозяине, или который придает устойчивость к лекарству, например, к ампициллину, канамицину, тетрациклину, хлорамфениколу, неомицину, гигромицину или метотрексату.

Для направления пептида по настоящему изобретению в секреторный биохимический путь клеток-хозяев в рекомбинантном векторе может быть представлена секреторная сигнальная последовательность (также известная как лидерная последовательность, препро-последовательность или пре-последовательность). Секреторная последовательность соединена с последовательностью ДНК, кодирующей белок, в правильной рамке считывания. Секреторные сигнальные последовательности обычно расположены к 5'-концу последовательности ДНК, кодирующей пептид. Секреторная сигнальная последовательность может представлять собой последовательность, которая в

50

норме связана с пептидом, либо может иметь происхождение из гена, кодирующего другой секретируемый белок.

Методики, используемые для лигирования последовательностей ДНК, кодирующих исходный инсулин, промотора и, возможно, терминатора и/или секреторной сигнальной последовательности, соответственно, и для их вставки в подходящие векторы, содержащие информацию, необходимую для репликации, хорошо известны специалистам в данной области техники (см., например, Sambrook *et al.*, см. выше).

Клетка-хозяин, в которую вводят последовательность ДНК или рекомбинантный вектор, может представлять собой любую клетку, которая способна к производству настоящего пептида, и включает бактерии, дрожжи, грибы и высшие эукариотические клетки. Примерами подходящих клеток-хозяев, хорошо известных и используемых в данной области техники, являются без ограничения *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae* или клеточные линии млекопитающих ВНК или СНО.

Затем молекулу исходного инсулина преобразуют в производные инсулина по изобретению путем введения релевантного заместителя либо в положении B1, либо в выбранном положении Lys в B-цепи. Заместитель можно вводить любым удобным способом, и на уровне техники раскрыты многие способы ацилирования аминогруппы. Дальнейшие подробности очевидны из приведенных ниже примеров.

Производные инсулина согласно изобретению могут быть представлены в форме соединений, по существу свободных от цинка, или в форме комплексов с цинком. Где предложены комплексы с цинком производного инсулина согласно изобретению, на шесть молекул производного инсулина могут быть связаны два иона Zn^{2+} , три иона Zn^{2+} , четыре иона Zn^{2+} , пять ионов Zn^{2+} , шесть ионов Zn^{2+} , семь ионов Zn^{2+} , восемь ионов Zn^{2+} , девять ионов Zn^{2+} или десять ионов Zn^{2+} . Растворы цинковых комплексов производных инсулина содержат смеси таких молекул. В одном аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество производного инсулина или цинкового комплекса производного инсулина согласно изобретению, возможно вместе с фармацевтически приемлемым носителем и/или фармацевтически приемлемой добавкой, где эта композиция может быть предложена для лечения диабета типа 1, диабета типа 2 и других состояний, которые вызывают гипергликемию, у пациентов, нуждающихся в таком лечении.

В одном аспекте изобретения предложен способ лечения диабета типа 1, диабета типа 2 и других состояний, которые вызывают гипергликемию, у пациента, нуждающегося в таком лечении, при котором пациенту вводят терапевтически

5 эффективное количество фармацевтической композиции, содержащей производное инсулина или комплекс с цинком производного инсулина согласно изобретению, возможно вместе с фармацевтически приемлемым носителем и/или фармацевтически приемлемыми добавками.

10 В одном аспекте изобретения предложен способ изготовления фармацевтической композиции для применения при лечении диабета типа 1, диабета типа 2 и других состояний, которые вызывают гипергликемию, где эта 15 композиция содержит производное инсулина или комплекс с цинком производного инсулина согласно изобретению, возможно вместе с фармацевтически приемлемым носителем и/или фармацевтически приемлемыми добавками.

20 В одном аспекте изобретения предложена фармацевтическая композиция для лечения диабета типа 1, диабета типа 2 и других состояний, которые вызывают гипергликемию, у пациента, нуждающегося в таком лечении, где эта 25 композиция содержит терапевтически эффективное количество производного инсулина или комплекса с цинком производного инсулина согласно изобретению в смеси с инсулином или аналогом инсулина, который обладает быстрым началом действия, возможно вместе с фармацевтически приемлемым носителем и/или фармацевтически приемлемыми добавками.

30 В одном аспекте изобретения предложен способ изготовления фармацевтической композиции для применения при лечении диабета типа 1, диабета типа 2 и других состояний, которые вызывают гипергликемию, где эта 35 композиция содержит производное инсулина или комплекс с цинком производного инсулина согласно изобретению в смеси с инсулином или аналогом инсулина, который обладает быстрым началом действия, возможно вместе с фармацевтически приемлемым носителем и/или фармацевтически приемлемыми добавками.

40 В одном аспекте изобретения предложен способ изготовления фармацевтической композиции для применения при лечении диабета типа 1, диабета типа 2 и других состояний, которые вызывают гипергликемию, где эта 45 композиция содержит производное инсулина или комплекс с цинком производного инсулина согласно изобретению в смеси с инсулином или аналогом инсулина, который обладает быстрым началом действия, возможно вместе с фармацевтически приемлемым носителем и/или фармацевтически приемлемыми добавками.

50 В одном аспекте изобретения предложена фармацевтическая композиция, представляющая собой смесь производного инсулина или комплекса с цинком

производного инсулина согласно изобретению и аналога инсулина быстрого действия, выбранного из группы, состоящей из AspB28 человеческого инсулина; LysB28ProB29 человеческого инсулина и LysB3GluB29 человеческого инсулина.

Один аспект изобретения относится к фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество производного инсулина или комплекса с цинком производного инсулина согласно изобретению, возможно вместе с фармацевтически приемлемым носителем и/или фармацевтически приемлемой добавкой, которая может быть предложена для легочного лечения диабета типа 1, диабета типа 2 и других состояний, которые вызывают гипергликемию, у пациентов, нуждающихся в таком лечении.

В одном аспекте изобретение относится к применению фармацевтической композиции для легочного лечения диабета типа 1, диабета типа 2 и других состояний, которые вызывают гипергликемию, у пациента, нуждающегося в таком лечении, где эта фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество производного инсулина или комплекса с цинком производного инсулина согласно изобретению, возможно в смеси с инсулином или аналогом инсулина, который обладает быстрым началом действия, возможно вместе с фармацевтически приемлемым носителем и/или фармацевтически приемлемыми добавками.

В одном аспекте изобретения предложен способ изготовления фармацевтической композиции для применения при лечении диабета типа 1, диабета типа 2 и других состояний, которые вызывают гипергликемию, где эту композицию применяют легочным путем, и она содержит терапевтически эффективное количество производного инсулина или комплекса с цинком производного инсулина согласно изобретению, возможно в смеси с инсулином или аналогом инсулина, который обладает быстрым началом действия, возможно вместе с фармацевтически приемлемым носителем и/или фармацевтически приемлемыми добавками.

Производное инсулина согласно изобретению и аналог инсулина быстрого действия можно смешивать в соотношении примерно 90/10%; примерно 70/30% или примерно 50/50%.

В одном аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей производное инсулина согласно изобретению, которое является растворимым при физиологических значениях рН.

В одном аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей производное инсулина согласно изобретению, которое является растворимым при значениях pH в интервале от примерно 6,5 до примерно 8,5.

5 В одном аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции с пролонгированным профилем действия, которая содержит производное инсулина согласно изобретению.

10 15 В одном аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, которая представляет собой раствор, содержащий от примерно 120 нмоль/мл до примерно 2400 нмоль/мл, от примерно 400 нмоль/мл до примерно 2400 нмоль/мл, от примерно 400 нмоль/мл до примерно 1200 нмоль/мл, от примерно 600 нмоль/мл до примерно 2400 нмоль/мл или от примерно 600 нмоль/мл до примерно 1200 нмоль/мл производного согласно изобретению или смеси производного инсулина согласно изобретению с аналогом инсулина быстрого действия.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

20 Производные инсулина по данному изобретению заявленной формулы можно, например, вводить подкожно, перорально или легочным путем.

25 Для подкожного введения препараты соединений формулы готовят аналогично изготовлению препаратов известных инсулинов. Кроме того, для подкожного введения соединения формулы вводят аналогично введению известных инсулинов и, как правило, врачи знакомы с этой процедурой.

30 35 40 Производные инсулина по данному изобретению можно вводить путем ингаляции методом эффективных доз для повышения уровней инсулина в кровообращении и/или для снижения уровней глюкозы в кровообращении. Такое введение может быть эффективно для лечения расстройств, таких как диабет или гипергликемия. Для достижения эффективных доз инсулина требуется введение ингаляционной дозы производного инсулина по данному изобретению от более чем примерно 0,5 мкг/кг до примерно 50 мкг/кг. Терапевтически эффективное количество может быть определено квалифицированным практикующим врачом, который должен учитывать такие факторы, как уровень инсулина, уровни глюкозы в крови, физическое состояние пациента, состояние легких пациента или тому подобное.

45 Результатом введения путем ингаляции может быть фармакокинетика, сравнимая с подкожным введением инсулина. Различные ингаляционные устройства типично обеспечивают сходную фармакокинетику, когда сравнивают сходные размеры частиц и сходные уровни отложения в легких.

50

Согласно изобретению производное инсулина по данному изобретению может быть доставлено с помощью широкого разнообразия ингаляционных устройств, известных в данной области техники для введения терапевтического агента путем ингаляции. Эти устройства включают ингаляторы с дозатором, небулайзеры, генераторы сухого порошка, распылители и тому подобное. Производное инсулина по данному изобретению доставляют с помощью ингалятора сухого порошка или распылителя. Существует несколько желательных признаков ингаляционного устройства для введения производного инсулина по данному изобретению. Например, доставка с помощью ингаляционного устройства является преимущественно надежной, воспроизводимой и точной. Ингаляционное устройство должно доставлять мелкие частицы, например, менее чем примерно 10 мкм, например, примерно 1-5 мкм, для хорошей дыхательной способности. Некоторыми конкретными примерами имеющихся в продаже ингаляционных устройств, пригодных для практики данного изобретения, являются Turbohaler™ (Astra), Rotahaler® (Glaxo), Diskus® (Glaxo), ингалятор Spiros™ (Dura), устройства, продаваемые Inhale Therapeutics, AERx™ (Aradigm), небулайзер Ultravent® (Mallinckrodt), небулайзер Acorn II® (Marquest Medical Products), ингалятор с дозатором Ventolin® (Glaxo), ингалятор порошка Spinhaler® (Fisons) или тому подобное.

Как должно быть понятно специалистам в данной области техники, изготовление препарата производного инсулина по данному изобретению, количество доставляемого препарата и продолжительность введения однократной дозы зависит от типа применяемого ингаляционного устройства. Для некоторых систем аэрозольной доставки, таких как небулайзеры, частота введения и продолжительность времени, в течение которого эту систему приводят в действие, главным образом зависят от концентрации конъюгата инсулина в аэрозоле. Например, более короткие периоды введения можно использовать при более высоких концентрациях конъюгата инсулина в растворе небулайзера. Такие устройства, как ингаляторы с дозатором, могут обеспечить более высокие концентрации аэрозоля и могут работать в течение более коротких периодов для доставки желаемого количества конъюгата инсулина. Такие устройства, как ингаляторы порошка, доставляют активный агент до того момента, когда данная загрузка агента будет выдавлена из устройства. При таком типе ингалятора количество производного инсулина по данному изобретению в данном количестве порошка определяет дозу, доставляемую при однократном введении.

Размер частиц производного инсулина по данному изобретению в препарате, доставляемом ингаляционным устройством, является критическим в отношении способности инсулина к его отложению в легких и в нижних дыхательных путях или альвеолах. Препарат производного инсулина по данному изобретению можно готовить таким образом, чтобы по меньшей мере примерно 10% доставленного конъюгата инсулина откладывалось в легком, например, от примерно 10 до примерно 20%, или более. Известно, что максимальную эффективность отложения в легких для людей, дышащих ртом, получают при размерах частиц от примерно 2 мкм до примерно 3 мкм. Когда размеры частиц выше примерно 5 мкм, отложение в легких значительно уменьшается. Размеры частиц ниже примерно 1 мкм вызывают снижение отложения в легких, и становится трудно доставить частицы с достаточной массой для их терапевтической эффективности. Таким образом, частицы производного инсулина, доставляемые путем ингаляции, имеют размер частицы менее чем примерно 10 мкм, например, в интервале от примерно 1 мкм до примерно 5 мкм. Препарат производного инсулина выбран для получения желаемого размера частиц в выбранном ингаляционном устройстве.

Предпочтительно для введения сухого порошка производное инсулина по данному изобретению готовят в форме частиц с размером частицы менее чем примерно 10 мкм, например, от примерно 1 мкм до примерно 5 мкм. Этот размер частиц эффективен для доставки в альвеолы легких пациента. Сухой порошок в значительной степени состоит из частиц, полученных таким образом, чтобы большинство частиц имели размер в желаемом интервале. Предпочтительно по меньшей мере 50% сухого порошка состоит из частиц, имеющих диаметр менее чем примерно 10 мкм. Такие препараты могут быть получены путем распылительной сушки, измельчения или конденсации при критической точке раствора, содержащего конъюгат инсулина и другие желаемые ингредиенты. Другие способы, также пригодные для получения частиц, полезных в настоящем изобретении, известны в данной области техники.

Частицы обычно отделяются от препарата сухого порошка в контейнере, а затем переносятся в легкие пациента транспортирующим воздушным потоком. Типично в современных ингаляторах сухого порошка сила для разрушения твердого вещества обеспечивается исключительно вдыханием пациента. В другом типе ингалятора воздушный поток, генерируемый вдыханием пациента, приводит в действие двигатель импеллера, который разрушает агломераты частиц.

50

Препараты производных инсулина по данному изобретению для введения из ингалятора сухого порошка типично включают тонкоизмельченный сухой порошок, содержащий производное, но этот порошок может также включать наполнитель, носитель, эксципиент, другую добавку или тому подобное. Добавки можно включать в препарат сухого порошка конъюгата инсулина, например, для разбавления порошка, как необходимо для доставки из ингалятора тонкоизмельченного порошка, для облегчения обработки препарата, для обеспечения преимущественных свойств порошка для препарата, для облегчения дисперсии порошка из ингаляционного устройства, для стабилизации препарата (например, антиоксиданты или буферы), для придания вкуса препаратору или тому подобного. Предпочтительно добавка не оказывает вредного воздействия на дыхательные пути пациента. Производное инсулина может быть смешано с добавкой на молекулярном уровне, либо твердый препарат может включать частицы конъюгата инсулина со смешанными с ними или нанесенными в виде покрытия частицами добавки. Типичные добавки включают моно-, ди- и полисахариды; сахарные спирты и другие полиолы, такие как, например, лактоза, глюкоза, раффиноза, мелезитоза, лактит, малтит, трегалоза, сахароза, маннит, крахмал или их комбинации; сурфактанты, такие как сорбиты, дифосфатидилхолин или лецитин или тому подобное. Типично добавка, такая как наполнитель, присутствует в количестве, эффективном для вышеописанной цели, часто в количестве от примерно 50% до примерно 90% по массе препарата. Дополнительные агенты, известные в данной области техники для изготовления препарата белка, такого как белок-аналог инсулина, могут быть также включены в препарат.

Спрей, содержащий производные инсулина по данному изобретению, может быть получен путем продавливания суспензии или раствора конъюгата инсулина через сопло под давлением. Размер и конфигурация сопла, прилагаемое давление и скорость подачи жидкости могут быть выбраны для достижения желаемого выхода и размера частиц. Может быть получено электрораспыление, например, с помощью электрического поля в связи с подачей через капилляр или сопло. Предпочтительно частицы конъюгата инсулина, доставляемые с помощью распылителя, имеют размер частицы менее чем примерно 10 мкм, например, в интервале от примерно 1 мкм до примерно 5 мкм.

Препараты производных инсулина по данному изобретению, пригодные для применения с распылителем, должны типично включать производное инсулина в водном растворе при концентрации от примерно 1 мг до примерно 20 мг конъюгата

инсулина на мл раствора. Этот препарат может включать агенты, такие как эксципиент, буфер, изотонический агент, консервант, сурфактант и, например, цинк. Этот препарат может также включать эксципиент или агент для стабилизации производного инсулина, такой как буфер, восстанавливающий агент, белок или углевод в качестве наполнителя. Белки-наполнители, полезные при изготовлении препаратов конъюгатов инсулина, включают альбумин, протамин или тому подобное. Типичные углеводы, полезные при изготовлении препаратов конъюгатов инсулина, включают сахарозу, маннит, лактозу, трегалозу, глюкозу или тому подобное. Препарат производного инсулина может также включать сурфактант, который может уменьшить или предотвратить агрегацию, вызванную 5
поверхностным натяжением, конъюгата инсулина в результате распыления раствора при образовании аэрозоля. Можно использовать различные общепринятые сурфактанты, такие как эфиры жирной кислоты и спирты 10
полиоксиэтилена и эфиры жирной кислоты полиоскиэтиленсорбита. Количество, 15
как правило, находится в интервале между примерно 0,001 и примерно 4% по 20
массе препарата.

Фармацевтические композиции, содержащие производное инсулина согласно 25
настоящему изобретению, можно также вводить парентерально пациентам, 30
нуждающимся в таком лечении. Парентеральное введение можно осуществить путем 35
подкожной, внутримышечной или внутривенной инъекции с помощью шприца, 40
возможно шприца карандашного типа. Альтернативно парентеральное введение 45
можно осуществить с помощью инфузационной помпы. Дополнительными 50
возможностями является назальное или легочное введение инсулина, например в композициях, порошках или жидкостях, специально предназначенных для этой цели.

Инъекционные композиции производных инсулина по изобретению можно 55
готовить, используя общепринятые методики фармацевтической промышленности, 60
которые включают растворение и смешивание ингредиентов, как пригодно для 65
получения желаемого конечного продукта. Таким образом, в соответствии с одной 70
методикой производное инсулина согласно изобретению растворяют в количестве 75
воды, которое является несколько меньшим, чем конечный объем композиции, 80
которую нужно готовить. По необходимости добавляют изотонический агент, 85
консервант и буфер и доводят значение pH раствора при необходимости, используя 90
кислоту, например, соляную кислоту, или основание, например, водный гидроксид 95
натрия, как требуется. Наконец, конечный объем раствора доводят водой для получения желаемой концентрации ингредиентов.

5 В следующем аспекте изобретения буфер выбран из группы, состоящей из ацетата натрия, карбоната натрия, цитрата, глицилглицина, гистидина, глицина, лизина, аргинина, дигидрофосфата натрия, динатрия гидрофосфата, фосфата натрия и трис(гидроксиметил)-аминометана, бицина, трицина, яблочной кислоты, сукцината, малеиновой кислоты, фумаровой кислоты, винной кислоты, аспарагиновой кислоты или их смесей. Каждый из этих конкретных буферов

10 составляет альтернативный аспект изобретения.

15 В следующем аспекте изобретения препарат дополнительно содержит фармацевтически приемлемый консервант, который может быть выбран из группы, состоящей из фенола, орто-крезола, мета-крезола, пара-крезола, метил-пара-
гидроксибензоата, пропил-пара-гидроксибензоата, 2-феноксиэтанола, бутил-пара-
гидроксибензоата, 2-фенилэтанола, бензилового спирта, хлорбутанола и
тиомеросала, бронопола, бензойной кислоты, имидмочевины, хлоргексидина,
20 дегидроацетата натрия, хлоркрезола, этил-пара-гидроксибензоата, бензетония
хлорида, хлорфенезина (3-пара-хлорфеноксипропан-1,2-диола) или их смесей. В
следующем аспекте изобретения консервант присутствует в концентрации от 0,1
мг/мл до 20 мг/мл. В следующем аспекте изобретения консервант присутствует в
концентрации от 0,1 мг/мл до 5 мг/мл. В следующем аспекте изобретения
консервант присутствует в концентрации от 5 мг/мл до 10 мг/мл. В следующем
аспекте изобретения консервант присутствует в концентрации от 10 мг/мл до 20
мг/мл. Каждый из этих конкретных консервантов составляет альтернативный аспект
30 изобретения. Использование консервантов в фармацевтических композициях
хорошо известно специалистам в данной области техники. Для удобства сделана
ссылка на Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 19th edition, 1995.

35 В следующем аспекте изобретения препарат дополнительно содержит изотонический агент, который может быть выбран из группы, состоящей из соли
(например, хлорида натрия), сахара или сахарного спирта, аминокислоты
(например, глицина, L-гистидина, аргинина, лизина, изолейцина, аспарагиновой
40 кислоты, триптофана, треонина), альдита (например, глицерола (глицерина), 1,2-
пропандиола (пропиленгликоля), 1,3-пропандиола, 1,3-бутандиола)
полиэтиленгликоля (например, ПЭГ400) или их смесей. Можно использовать любой
45 сахар, такой как моно-, ди- или полисахариды, либо водорастворимые глюканы,
включая, например, фруктозу, глюкозу, маннозу, сорбозу, ксилозу, мальтозу,
лактозу, сахарозу, трегалозу, декстран, пуллулан, декстрин, циклодекстрин,
50 растворимый крахмал, гидроксиэтилкрахмал и карбоксиметилцеллюлозу-Na. В
одном аспекте сахарная добавка представляет собой глюкозу. Сахарный спирт

5 определен как C4-C8-углеводород, имеющий по меньшей мере одну группу --ОН, и включает, например, маннит, сорбит, инозит, галактит, дульцит, ксилит и арабит. В
10 одном аспекте добавка сахарного спирта представляет собой маннит. Вышеупомянутые сахара или сахарные спирты можно использовать индивидуально или в комбинации. Используемое количество не имеет фиксированного предела, до тех пор, пока сахар или сахарный спирт растворим в жидким препарате и не оказывает вредного воздействия на стабилизирующие
15 эффекты, достигнутые с использованием способа по изобретению. В одном аспекте концентрация сахара или сахарного спирта составляет между примерно 1 мг/мл и примерно 150 мг/мл. В следующем аспекте изобретения изотонический агент присутствует в концентрации от 1 мг/мл до 50 мг/мл. В следующем аспекте изобретения изотонический агент присутствует в концентрации от 1 мг/мл до 7 мг/мл. В следующем аспекте изобретения изотонический агент присутствует в концентрации от 8 мг/мл до 24 мг/мл. В следующем аспекте изобретения изотонический агент присутствует в концентрации от 25 мг/мл до 50 мг/мл. Каждый из этих конкретных изотонических агентов составляет альтернативный аспект изобретения. Использование изотонического агента в фармацевтических
20 композициях хорошо известно специалистам в данной области техники. Для удобства сделана ссылка на Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 19th edition, 1995.

30 Типичными изотоническими агентами являются хлорид натрия, маннит, диметилсульфон и глицерин, и типичными консервантами являются фенол, мета-крезол, метил-пара-гидроксибензоат и бензиловый спирт.

35 Примерами пригодных буферов являются ацетат натрия, глицилглицин, ГЭПЭС (4-(2-гидроксиэтил)-1-пiperазинэтансульфоновая кислота) и фосфат натрия.

Композицию для назального введения производного инсулина согласно настоящему изобретению можно готовить, например, как описано в Европейском патенте № 272097 (от Novo Nordisk A/S).

40 Композиции, содержащие производные инсулина по данному изобретению, можно применять при лечении состояний, которые чувствительны к инсулину. Таким образом, их можно применять при лечении диабета типа 1, диабета типа 2 и гипергликемии, например, которую иногда наблюдают у серьезно раненых людей и людей, которые перенесли обширную операцию. Оптимальный уровень дозы для любого пациента зависит от ряда факторов, включая эффективность конкретного применяемого производного инсулина, возраст, массу, физическую активность и режим питания пациента, от возможного комбинирования с другими лекарствами и от

тяжести состояния, подлежащего лечению. Рекомендуют, чтобы суточная дозировка производного инсулина по данному изобретению была определена для каждого индивидуального пациента специалистом в данной области техники таким же путем, как для известных композиций инсулина.

Где это целесообразно, производные инсулина по данному изобретению можно применять в смеси с другими типами инсулина, например, аналогами инсулина с более быстрым началом действия. Примеры таких аналогов инсулина описаны, например, в Европейских патентных заявках, имеющих №№ публикации EP 214826 (Novo Nordisk A/S), EP 375437 (Novo Nordisk A/S) и EP 383472 (Eli Lilly & Co.).

Настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано приведенными ниже примерами, которые, однако, не следует рассматривать как ограничивающие объем защиты.

ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фиг. 1: Эксклюзационная хроматография производного инсулина в примере 2 в смеси с инсулином аспарт (B28Asp человеческим инсулином). Содержание инсулина в каждом индивидуальном пике количественно определяли путем ВЭЖХ. Производное инсулина и аспарт в препаратах либо с 2,1 Zn(II) на гексамер, либо с 6 Zn(II) на гексамер элюируют в двух отдельных фракциях (инсулин высокой молекулярной массы и инсулин средней молекулярной массы, соответственно). Эксперименты ЭХ проводили в соответствии с примером 20.

Фиг. 2: Фиксированный профиль действия после подкожной инъекции производного инсулина, описанного в примере 2, при различных концентрациях и при различных концентрациях Zn(II), демонстрирующий, что профиль действия производного инсулина является сходным при введении производного инсулина 2,3 или с 6 Zn(II) на шесть инсулинов, либо в 600 мкМ или 1200 мкМ препаратов. Эксперимент с фиксацией проводили в соответствии с примером 21.

Фиг. 3: Фиксированный профиль действия после подкожной инъекции производного инсулина, описанного в примере 2, в смеси с инсулином аспарт или в виде индивидуальных инъекций, демонстрирующий отсутствие значимого притупления профилей действия индивидуального инсулина. Эксперимент с фиксацией проводили в соответствии с примером 21.

Фиг. 4: Фиксированный профиль действия после подкожной инъекции производного инсулина, описанного в примере 2, в трех дозах, демонстрирующий длительный эффект действия инсулина. Эксперимент с фиксацией проводили в соответствии с примером 21.

ПРИМЕРЫ**Пример 1**

Синтез $N^{eB29}-\omega$ -карбоксипентадеканоил- γ -L-глутамиламид дезВ30

человеческого инсулина

Стадия 1: Моно-трет-бутиловый эфир гексадекандиислоты

Гексадекандиислоту (40,0 г, 140 ммоль) суспендировали в толуоле (250 мл), и смесь нагревали до образования флегмы. *N,N*-диметилформамида ди-трет-бутилацеталь (76,3 г, 375 ммоль) добавляли по каплям за 4 часа. Смесь кипятили с обратным холодильником в течение ночи. Растворитель удаляли в вакууме при 50°C, и сырое вещество суспендировали в DCM/AcOEt (500 мл, 1:1) и перемешивали в течение 15 мин. Твердые вещества собирали фильтрованием и растирали с ДХМ (200 мл). Фильтрат выпаривали в вакууме с получением сырого моно-трет-бутилового эфира гексадекандиислоты, 30 граммов. Это вещество суспендировали в ДХМ (50 мл), охлаждали льдом в течение 10 мин и фильтровали. Растворитель удаляли в вакууме с остатком 25 граммов моно-трет-бутилового эфира гексадекандиислоты, который перекристаллизовали из гептана (200 мл) с получением моно-трет-бутилового эфира гексадекандиислоты, 15,9 г (33%).

¹H-ЯМР ($CDCl_3$) δ: 2.35 (t, 2H), 2.20 (t, 2H), 1.65-1.55 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.34-1.20 (m, 20 H).

Стадия 2: Сукцинимидил-трет-бутиловый эфир гексадекандиислоты

Моно-трет-бутиловый эфир (2 г, 5,8 ммоль) растворяли в ТГФ (20 мл) и обрабатывали TSTU (2,1 г, 7,0 ммоль) и ДИЭА (1,2 мл, 7,0 ммоль) и перемешивали в течение ночи. Смесь фильтровали, и фильтрат выпаривали в вакууме. Остаток растворяли в AcOEt и дважды промывали холодной 0,1 М HCl и водой. В

результате высушивания над MgSO₄ и выпаривания в вакууме получили сукцинимидил-*трет*-бутиловый эфир гексадекандиислоты, 2,02 г (79%).

⁵ ¹Н-ЯМР (CDCl₃) 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).

Стадия 3: ω-*трет*-Бутилкарбоксипентадеканоил-L-глутамиламид

Сукцинимидил-*трет*-бутиловый эфир гексадекандиислоты (100 мг, 0,227 ¹⁰ ммоль) растворяли в ДМФ (2 мл) и обрабатывали L-глутамиламидом (37 мг, 0,25 ммоль) и ДИЭА (58 мкл, 0,34 ммоль), и смесь перемешивали в течение ночи. Растворитель выпаривали в вакууме, и сырой продукт растворяли в AcOEt и дважды промывали 0,2 М HCl, водой и рассолом. В результате высушивания над ¹⁵ MgSO₄ и выпаривания в вакууме получили ω-*трет*-бутилкарбоксипентадеканоил-L-глутамиламид, 85 мг (80%).

²⁰ ¹Н-ЯМР (CDCl₃) 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).

Стадия 4: ω-*трет*-Бутилкарбоксипентадеканоил-L-глутамиламида γ-сукинимидиловый эфир

²⁵ ω-*трет*-Бутилкарбоксипентадеканоил-L-глутамиламид (85 г, 0,181 ммоль) растворяли в ТГФ (1 мл) и обрабатывали TSTU (65 г, 0,217 ммоль) и ДИЭА (37 мкл, 0,217 ммоль) и перемешивали в течение ночи. Смесь фильтровали, и фильтрат ³⁰ выпаривали в вакууме. Остаток растворяли в AcOEt и дважды промывали холодной 0,1 М HCl и водой. В результате высушивания над MgSO₄ и выпаривания в вакууме получили ω-*трет*-бутилкарбоксипентадеканоил-L-глутамиламида γ-сукинимидиловый эфир, 91 мг (89%).

³⁵ ¹Н-ЯМР (CDCl₃) δ: 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).

Стадия 5: N^{cB29}-ω-карбокси-пентадеканоил-γ-L-глутамиламид дезВ30 человеческий инсулин

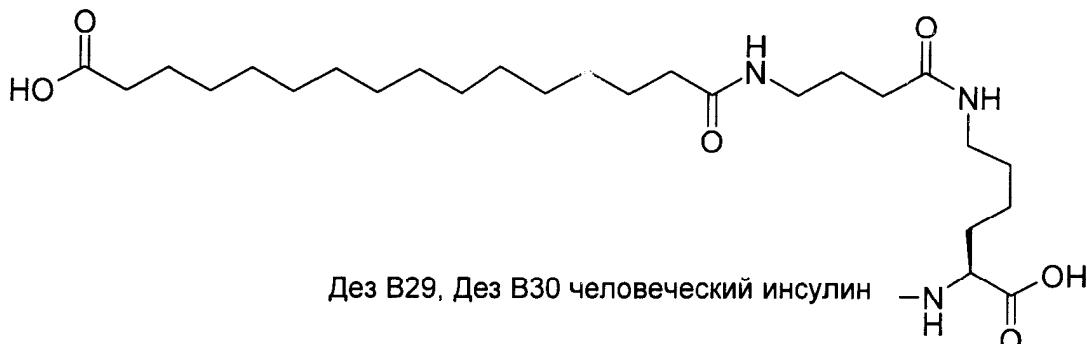
ДезВ30 человеческий инсулин (500 мг, 0,088 ммоль) растворяли в 100 мМ Na₂CO₃ (5 мл, pH 10,2) при комнатной температуре. ω-*трет*-Бутилкарбоксипентадеканоил-L-глутамиламида γ-сукинимидиловый эфир (57 мг, ⁴⁵ 0,105 ммоль) растворяли в ацетонитриле (5 мл), а затем добавляли к раствору инсулина. Через 30 мин добавляли 0,2 М метиламин (0,5 мл). Доводили pH HCl до 5,5, и изоэлектрический осадок собирали центрифугированием и высушивали в ⁵⁰ вакууме с получением 423 мг. Выход реакции сочетания составлял 42% (ОФ-

ВЭЖХ, колонка C4; буфер А: 10% MeCN в 0,1% ТФУ-воде, Буфер В: 80% MeCN в 0,1% ТФУ-воде; градиент от 20% до 90% В за 16 минут). Защищенный продукт растворяли в 95% ТФУ (12 мл), оставляли на 30 мин и выпаривали в вакууме.
Сырой продукт растворяли в воде и лиофилизировали.

⁵ ^{N^{eB29}-ω-карбоксипентадеканоил-γ-L-глутамиламид дезВ30} человеческий инсулин очищали путем ОФ-ВЭЖХ, колонка C4, буфер А: 20% EtOH + 0,1% ТФУ, буфер В: 80% EtOH + 0,1% ТФУ; градиент 15-60% В, с последующей ВЭЖХ на колонке C4, буфер А: 10 mM Трис + 15 mM сульфат аммония в 20% EtOH, pH 7,3, буфер В: 80% EtOH, градиент 15-60% В. Собранные фракции обессоливали на Sep-Pak 70% ацетонитрилом + 0,1% ТФУ, нейтрализовали добавлением аммиака и лиофилизировали. Не оптимизированный выход составлял 50 мг, 12%. Чистота по оценке ВЭЖХ составляла >98%. ЖХ-МС 6102,8; C₂₇₄H₄₁₂N₆₆O₈₀S₆ требует 6103,1.

Пример 2

²⁰ Синтез ^{N^{eB29}-ω-карбоксипентадеканоил-γ-аминобутоил дезВ30} человеческого инсулина



Это соединение было получено из гексадекандициклоты и γ-аминомасляной кислоты по аналогии с примером 1.

ω-трет-бутилкарбоксипентадеканоил-γ-аминомасляной кислоты
сукциниimidиловый эфир

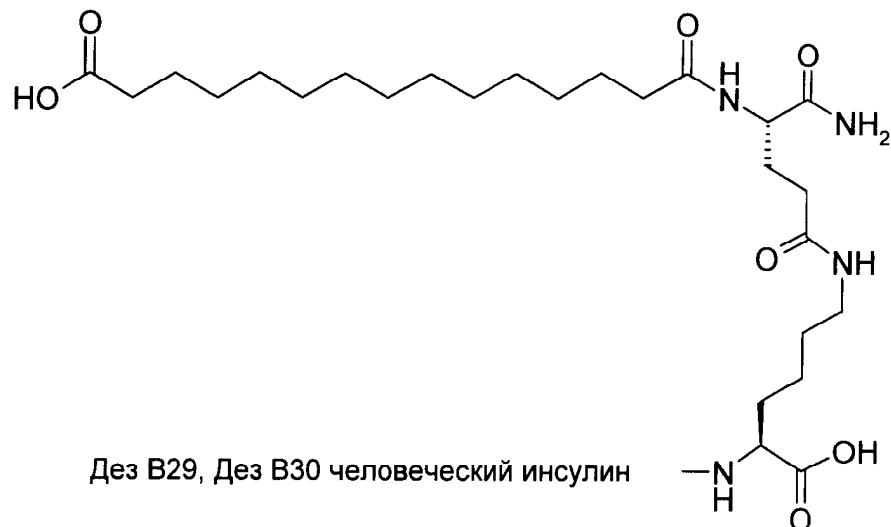
⁴⁰ ¹H-ЯМР (CDCl₃) δ: 5.80 (m, 1H), 3.36 (dd, 2H), 2.84 (s, 4H), 2.65 (t, 2H), 2.21-2.13 (m, 4H), 1.99 (p, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.66-1.51(m, 6H), 1.25 (br, 20H).

N^{eB29}-ω-карбоксипентадеканоил-γ-аминобутоил дезВ30 человеческий
инсулин

⁴⁵ ЖХ-МС 6059,9; C₂₇₃H₄₁₁N₆₅O₇₉S₆ требует 6060,1.

Пример 3

Синтез N^{eB29}-ω-карбокситетрадеканоил-γ-L-глутамиламид дезВ30
человеческого инсулина

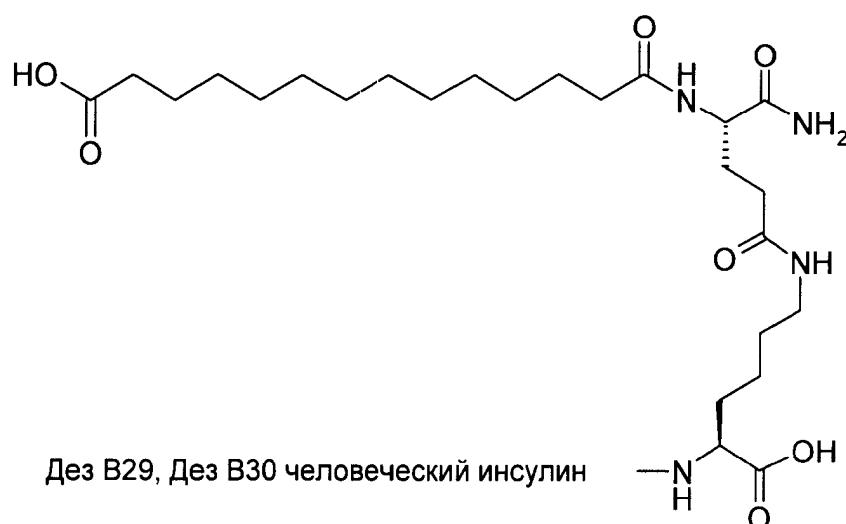


Это соединение было получено из пентадекандиислоты и L-глутамиламида по аналогии с примером 1.

ЖХ-МС 6088,2; C₂₇₃H₄₁₀N₆₆O₈₀S₆ требует 6089,1.

20 **Пример 4**

Синтез N^{εB29}-ω-карбокситридеканоил-γ-L-глутамиламид дезВ30
человеческого инсулина

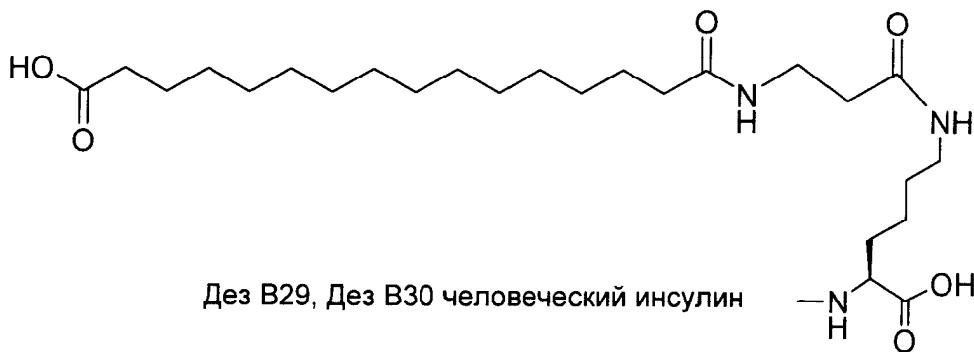


Это соединение было получено из тетрадекандиислоты и L-глутамиламида по аналогии с примером 1.

ЖХ-МС 6075,3; C₂₇₂H₄₀₈N₆₆O₈₀S₆ требует 6075,1.

40 **Пример 5**

Синтез N^{εB29}-ω-карбоксипентадеканоил-β-аланил дезВ30 человеческого
инсулина



Это соединение было получено из гексадекандиокислоты и β -аланина по аналогии с примером 1.

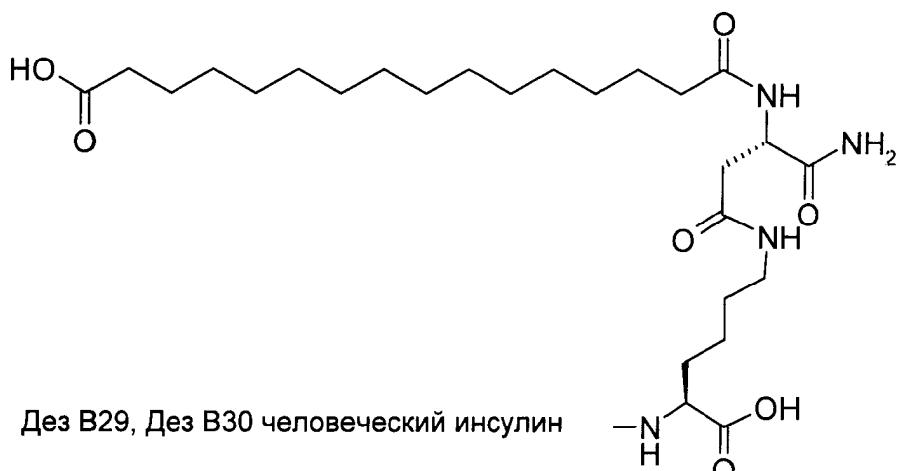
ЖХ-МС 6044,8; $\text{C}_{272}\text{H}_{409}\text{N}_{65}\text{O}_{79}\text{S}_6$ требует 6046,1.

15

Пример 6

Синтез $\text{N}^{\epsilon\text{B29}}\text{-}\omega\text{-карбоксипентадеканоил-}\gamma\text{-L-аспартиламида}$ дезВ30
человеческого инсулина

20



35

Это соединение было получено из гексадекандиокислоты и L-аспартиламида по аналогии с примером 1.

ЖХ-МС 6088,8; $\text{C}_{273}\text{H}_{410}\text{N}_{66}\text{O}_{80}\text{S}_6$ требует 6089,1.

40

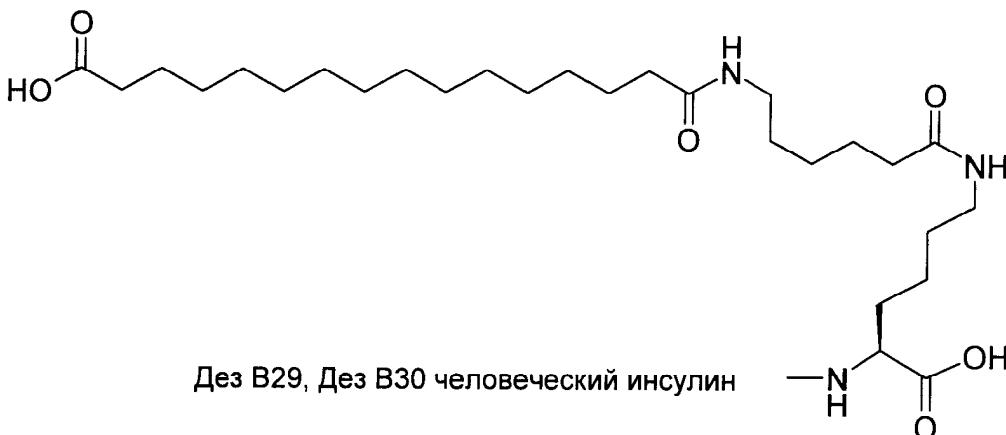
Пример 7

Синтез $\text{N}^{\epsilon\text{B29}}\text{-}\omega\text{-карбоксипентадеканоил-}\epsilon\text{-аминогексаноила}$ дезВ30
человеческого инсулина

45

50

5



15

Это соединение было получено из гексадекандиислоты и ε-аминогексановой кислоты по аналогии с примером 1.

ЖХ-МС 6086,1; C₂₇₅H₄₁₅N₆₅O₇₉S₆ требует 6088,1.

20

Пример 8

Синтез N^{εB29}-ω-карбоксипентадеканоил-δ-аминопентаноил дезВ30 человеческого инсулина

25



30

35

Это соединение было получено из гексадекандиислоты и δ-аминопентановой кислоты по аналогии с примером 1.

ЖХ-МС 6074,2, C₂₇₄H₄₁₃N₆₅O₇₉S₆ требует 6074,1.

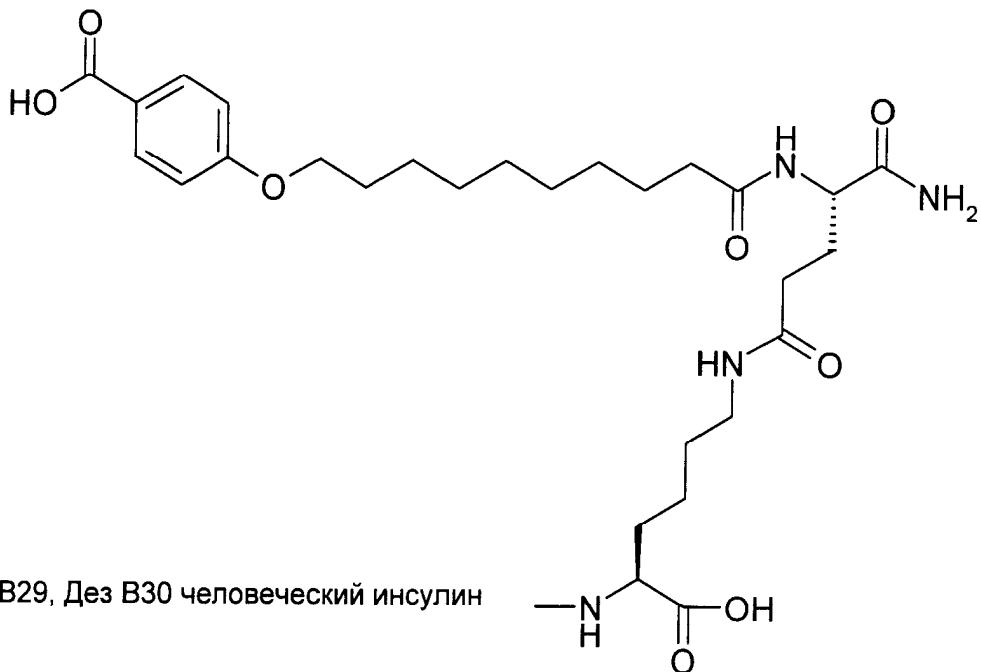
40

45

Пример 9

Синтез N^{εB29}-10-(4-карбоксифенокси)-деканоил-γ-L-глутамиламид дезВ30 человеческого инсулина

50



Стадия 1: 4-Гидроксибензойной кислоты *тетр*-бутиловый эфир

4-Гидроксибензойную кислоту (3 г, 21,7 ммоль) перемешивали в толуоле (35 мл, высушен над молекулярными ситами). Этот раствор нагревали до 80°C в атмосфере N₂, и добавляли N,N'-диметилформамида ди-*трет*-бутилацеталь (10,42 мл, 43,4 ммоль) примерно за 5 мин. Смесь перемешивали при 80°C в течение 1 ч 10 мин и охлаждали до кт. Раствор промывали водой, дважды насыщенным NaHCO₃ и насыщенным NaCl (15 мл каждого), высушивали над MgSO₄ и концентрировали с получением желтого масла (2,77 г). Этот продукт очищали фланш-хроматографией (380 г силикагеля, элюент: 4:6 AcOEt/гептан (2 л) и 1:1 AcOEt/гептан 700 мл) с получением белых кристаллов (2,07 г, выход 49%).

ВЭЖХ-МС m/z: 217 (M+23).

¹H-ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) 7.90 (d, 2H), 6.85 (d, 2H), 6.10 (s, 1H), 1.59 (s, 9H).

Стадия 2: 4-(9-Метоксикарбонилнонилокси)бензойной кислоты *трет*-бутиловый эфир

4-Гидроксибензойной кислоты *трет*-бутиловый эфир (500 мг, 2,57 ммоль) и 10-бромдекановой кислоты метиловый эфир (683 мг, 2,57 ммоль) растворяли в ацетонитриле и добавляли K_2CO_3 (712 мг, 5,15 ммоль). Смесь кипятили с обратным холодильником в атмосфере азота в течение 16 ч и охлаждали до кт. Твердые вещества отфильтровывали, и фильтрат концентрировали в вакууме. Полученный в результате остаток растворяли в $AcOEt$ (50 мл) и воде (25 мл). Фазы разделяли,

и органическую фазу высушивали над MgSO₄ и концентрировали с получением бесцветного масла (874 мг, выход 90%).

ВЭЖХ-МС m/z: 402 (M+23).

⁵ ¹Н-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) 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, 9H), 1.40-1.50 (m, 2H), 1.23-1.40 (br, 8H).

¹⁰ Стадия 3: 4-(9-Карбоксинонилокси)бензойной кислоты трет-бутиловый эфир

4-(9-Метоксикарбонилнонилокси)бензойной кислоты трет-бутиловый эфир (858 мг, 2,27 ммоль) растворяли в ТГФ (5 мл) и добавляли 1 н. NaOH (2,27 ммоль). ¹⁵ Смесь перемешивали в течение 16 ч. Добавляли AcOEt (40 мл) и 1 н. HCl (2,38 мл) в воде (25 мл). Фазы разделяли, и органическую фазу высушивали над MgSO₄ и концентрировали в вакууме с получением белого твердого вещества (781 мг, выход 95%).

²⁰ ВЭЖХ-МС m/z: 387 (M+23).

¹Н-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) 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).

²⁵ Стадия 4: 4-[9-(2,5-Диоксопирролидин-1-илоксикарбонил)нонилокси]бензойной кислоты трет-бутиловый эфир

4-(9-Карбоксинонилокси)бензойной кислоты трет-бутиловый эфир (779 мг, 2,14 ммоль) растворяли в ТГФ (15 мл) и добавляли ДИЭА (366 мкл, 2,14 ммоль). Смесь охлаждали до 0°C и помещали в атмосферу азота, и добавляли HSTU. Смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин и при КТ в течение 16 ч. Образец концентрировали в вакууме и добавляли AcOEt (40 мл). Смесь промывали 0,2 н. HCl (2 × 25 мл), высушивали над MgSO₄ и концентрировали в вакууме с получением желтоватого твердого вещества. Это твердое вещество перекристаллизовали из AcOEt с получением белого порошка (276 мг, выход 28%). Маточный раствор концентрировали с получением кристаллического остатка (430 мг, выход 43%). Данные для белого порошка:

ВЭЖХ-МС m/z: 484 (M+23).

¹Н-ЯМР (CDCl₃, 300 МГц) 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, теорет. 9H + вода), 1.27-1.52 (m, 10H).

⁴⁵ Стадия 5: 4-[9-((S)-1-Карбамоил-3-карбоксипропилкарбамоил)нонилокси]бензойной кислоты трет-бутиловый эфир

4-[9-(2,5-Диоксопирролидин-1-илоксикарбонил)нонилокси]бензойной кислоты трет-бутиловый эфир (200 мг, 0,433 ммоль) перемешивали в ДМФ (2 мл)

и добавляли H-Glu-NH₂ (63 мг). Эту неоднородную смесь перемешивали при кт в течение 16 ч. Анализ ЖХ/МС показал, что реакция не прошла до завершения. Добавляли дополнительное количество H-Glu-NH₂ (20 мг) и ДМФ (2 мл), и смесь перемешивали в течение 2 суток при кт. Образец концентрировали в вакууме и добавляли AcOEt (50 мл). Раствор промывали 0,2 н. HCl (2 x 25 мл) и водой (25 мл), высушивали над MgSO₄ и концентрировали в вакууме с получением белого твердого вещества (180 мг, выход 86%).

ВЭЖХ-МС m/z: 493 (M+1).

Стадия 6: 4-[9-[(S)-1-Карбамоил-3-(2,5-диоксопирролидин-1-илоксикарбонил)пропилкарбамоил]нонилокси]бензойной кислоты трет-бутиловый эфир

Активацию HSTU проводили способом, подобным описанному для 4-[9-(2,5-диоксопирролидин-1-илоксикарбонил)нонилокси]бензойной кислоты трет-бутилового эфира. Продукт очищали флэш-хроматографией (1:1 AcOEt:гептан и AcOEt) с получением 18 мг.

ВЭЖХ-МС m/z: 590 (M+1).

Стадия 7: N^{εB29}-10-(4-карбоксиленокси)деканоил-γ-L-глутамиламид дезВ30 инсулин

ДезВ30 инсулин (126 мг, 0,022 ммоль) растворяли путем добавления 100 mM Na₂CO₃ (1,5 мл) и ацетонитрила (1,5 мл) в 10 мл круглодонную колбу. добавляли 4-[9-[(S)-1-карбамоил-3-(2,5-диоксопирролидин-1-илоксикарбонил)пропилкарбамоил]нонилокси]бензойной кислоты трет-бутиловый эфир (14 мг, 0,022 ммоль) в ацетонитриле (750 мкл) и Na₂CO₃ (750 мкл), так что конечный раствор составлял 50:50 100 mM Na₂CO₃/ацетонитрил. Раствор перемешивали при КТ в течение 1 ч. Этот раствор переносили в 15 мл центрифужную пробирку, промывая водой Milli-Q (6 мл). Раствор охлаждали на льду и доводили pH до 5,1 добавлением 1 н. HCl, что привело к выпадению осадка. Пробирку центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 мин при 10°C. Растворитель декантировали от твердого вещества. К твердому веществу добавляли 95:5 ТФУ/воды (2,5 мл). Этот раствор наливали в круглодонную колбу, промывая дополнительным количеством 95:5 ТФУ/воды (2,5 мл). Этот раствор перемешивали в течение 30 мин при КТ и концентрировали в вакууме. ДХМ добавляли и удаляли дважды, и колбу помещали в вакуум при КТ. Продукт очищали препаративной ВЭЖХ (колонка C18, ацетонитрил/вода/0,05% ТФУ). Релевантные фракции объединяли (две партии) и разводили 1:1 водой. Растворы охлаждали на льду, и выпадение осадка вызывали доведением pH примерно до 5 1

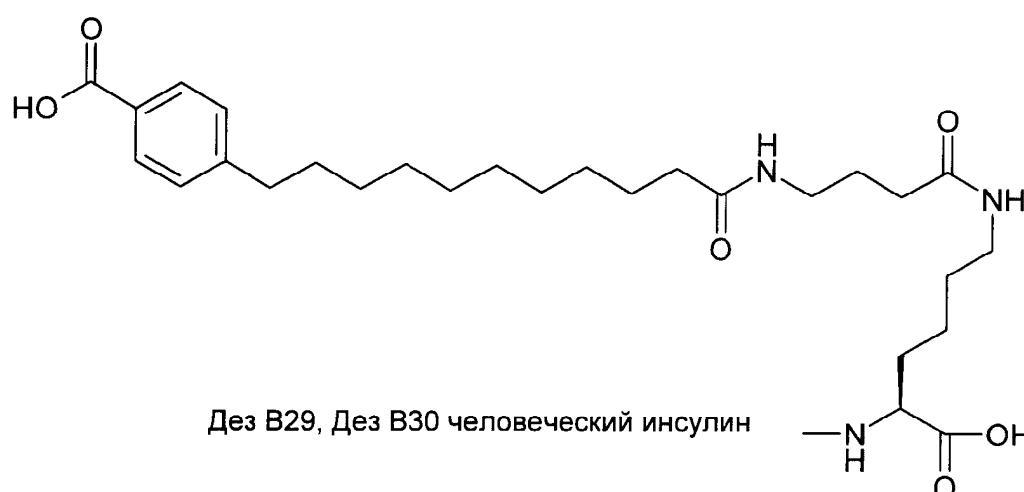
н. NaOH. Образцы центрифугировали (5000 об/мин, 10 мин, 5°C). Жидкость декантировали, и осадки лиофилизировали с получением белого твердого вещества (22 мг + 12 мг).

⁵ MALDI-МС (альфа-циано-4-гидроксикоричная кислота) m/z: 6128,7 (M = 6125,1).

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

¹⁰ Пример 10

Синтез N^{cB29}-4-[11-(4-карбоксифенил)ундеканоиламино]бутирил дезВ30 человеческого инсулина



Стадия 1: 4-Йодобензойной кислоты трет-бутиловый эфир

4-Йодобензойную кислоту (10 г, 40,3 ммоль) растворяли в сухом толуоле (100 мл, высушен над молекулярными ситами). Этот раствор нагревали до 70°C в потоке азота. Раствор N,N'-диметилформамида ди-трет-бутилацетала (24,6 г, 121 ммоль) в толуоле (25 мл) добавляли примерно за 30 мин. Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч. В определенный момент нагревательный прибор был испорчен, поэтому реакционная смесь охладилась с 70°C до кт. Раствор нагревали до 70°C и перемешивали в течение 5 ч. Образец концентрировали в вакууме и добавляли AcOEt (400 мл). Затем этот раствор промывали 1:1 насыщенным NaHCO₃/водой (150 мл) и насыщенным NaHCO₃, водой и насыщенным NaCl (75 мл каждого). Органическую фазу высушивали (MgSO₄) и концентрировали в вакууме с получением светло-коричневого масла.

ВЭЖХ-МС m/z: 327 (M+23).

¹Н-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 7.77 (d, 2H), 7.69 (d, 2H), 1.58 (s, 9H).

Стадия 2: 11-Йодоундекановой кислоты метиловый эфир

11-Бромундекановой кислоты метиловый эфир (20,2 г, 72,3 ммоль) растворяли в ацетоне (200 мл). Добавляли иодид натрия (54 г, 361 ммоль), и реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в атмосфере азота в течение 16 ч. После охлаждения до КТ соли отфильтровывали. Фильтрат концентрировали в вакууме и добавляли воду (200 мл). Раствор экстрагировали AcOEt (2 x 100 мл), добавляя некоторое количество насыщенного NaCl, чтобы способствовать разделению фаз. Органические экстракты объединяли и промывали водой (100 мл) с добавлением немного насыщенного NaCl и насыщенным NaCl (50 мл). Высушивали над MgSO₄. Этот раствор имел красно-оранжевый цвет. Добавляли три чайных ложки активированного угля. После перемешивания раствор фильтровали через слой целлита. Фильтрат концентрировали в вакууме с получением светло-желтого масла (20,96 г, 89%).

ВЭЖХ-МС m/z: 327 (M+1).

¹H-ЯМР (CDCl₃, 300 МГц) 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).

Стадия 3: 4-(10-Метоксикарбонилдецил)бензойной кислоты трет-бутиловый эфир

Всю стеклянную посуду сушили перед использованием. ТГФ высушивали над молекулярными ситами. LiCl высушивали при 150°C в течение 1 ч, затем хранили в закрытом сосуде. Все реакционные растворы готовили в атмосфере азота, и растворы переносили шприцом. 4-Йодобензойной кислоты трет-бутиловый эфир (1,2 г, 3,95 ммоль) растворяли в ТГФ (3 мл) и охлаждали до -30°C. Изопропилмагния хлорид (4,34 ммоль, 2 М в ТГФ) добавляли в течение 5 минут, и раствор перемешивали в течение 1 ч при температуре между -18°C и -25°C. Раствор охлаждали до -22°C, а затем добавляли смесь CuCN (0,389 г, 4,34 ммоль) и LiCl (0,368 г, 8,68 ммоль) в ТГФ (4,2 мл). Реакционный сосуд удаляли из охлаждающей бани и давали нагреться до КТ (примерно 10 мин). Добавляли trimetilfosfit (0,95 мл), и после перемешивания в течение 5 мин при кт добавляли раствор 11-йодоундекановой кислоты метилового эфира (1,0 г, 3,16 ммоль) в ТГФ (3 мл). Раствор перемешивали при кт в течение 16 ч. Добавляли насыщенный NH₄Cl (3 мл), и раствор наливали в воду (60 мл). Раствор экстрагировали AcOEt (3 x 35 мл). Органические экстракты объединяли и промывали водой (30 мл), используя некоторое количество насыщенного NaCl, чтобы способствовать разделению фаз. Растворитель удаляли в вакууме с получением двухфазного остатка. Добавляли AcOEt (примерно 2 мл), и колбу мягко вращали. Не весь густой белый остаток растворился. Часть, которая растворилась,

добавляли на колонку силикагеля (50 г) и элюировали AcOEt:гептаном 1:11. Соответствующие фракции концентрировали в вакууме с получением масла (1,25 г). Это масло растворяли в ацетоне (30 мл) и добавляли пиперидин (1 мл). Добавляли NaI (0,8 г), и смесь перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 16 ч. Смесь концентрировали в вакууме и распределяли между AcOEt (50 мл) и 1 н. HCl (25 мл). Органическую фазу промывали 1 н. HCl (2 x 25 мл), высушивали над MgSO₄ и концентрировали в вакууме с получением бесцветного масла (1,1 г). Продукт очищали флэш-хроматографией (элюент: AcOEt:гептан 1:11, 150 г силикагеля) с получением бесцветного масла (0,72 г, 61%).

ВЭЖХ-МС m/z: 399 (M+23).

¹H-ЯМР (CDCl₃, 300 МГц) δ 7.90 (d, 2H), 7.21 (d, 2H), 3.66 (s, 3H), 2.64 (t, 2H), 2.30 (t, 2H), 1.48-1.70 (m, 13H), 1.27 (br, 12H).

Стадия 4: 4-(10-Карбоксидецил)бензойной кислоты трет-бутиловый эфир

Это соединение было получено аналогично методике, использованной при получении 4-(9-карбоксинонилокси)бензойной кислоты трет-бутилового эфира с получением белого твердого вещества (0,68 г).

ВЭЖХ-МС m/z: 385 (M+23).

¹H-ЯМР (CDCl₃, 300 МГц) 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).

Стадия 5: 4-[10-(2,5-Диоксопирролидин-1-илоксикарбонил)децил]бензойной кислоты трет-бутиловый эфир

Это соединение было получено аналогично методике, использованной при получении 4-[9-(2,5-диоксопирролидин-1-илоксикарбонил)нонилокси]бензойной кислоты трет-бутилового эфира.

ВЭЖХ-МС m/z: 482 (M+23).

¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) 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).

Стадия 6: 4-[10-(3-Карбоксипропилкарбамоил)децил]бензойной кислоты трет-бутиловый эфир

4-[10-(2,5-Диоксопирролидин-1-илоксикарбонил)децил]бензойной кислоты трет-бутиловый эфир (300 мг, 0,65 ммоль) растворяли в ДМФ (3 мл) и 4-аминомасляной кислоте (67 мг, 0,65 ммоль). Смесь перемешивали в течение 16 ч в атмосфере азота. Растворитель удаляли в вакууме и добавляли AcOEt (35 мл). Раствор промывали 0,2 н. HCl и водой (15 мл каждого). Добавляли насыщенный

NaHCO₃ (не предполагали) к органической фазе. Добавляли ДХМ (50 мл). Некоторую часть органической фазы удаляли и добавляли ДХМ (100 мл) к водной фазе и давали стоять в течение ночи. Смесь охлаждали на льду и доводили pH до 5 1,9 4 н. HCl. Органическую фазу выделяли, высушивали над MgSO₄ и концентрировали в вакууме с получением масла (220 мг, выход 76%).

ВЭЖХ-МС m/z: 470 (M+23).

¹⁰ ¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) 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).

¹⁵ Стадия 7: 4-[10-{3-(2,5-Диоксопирролидин-1-илоксикарбонил)пропилкарбамоил}децил]бензойной кислоты трет-бутиловый эфир

²⁰ Это соединение было получено аналогично методике, использованной при получении 4-[9-(2,5-диоксопирролидин-1-илоксикарбонил)нонилокси]бензойной кислоты трет-бутилового эфира, но использовали TSTU вместо HSTU. В результате осаждения (ДХМ/гептан) получили белые кристаллы (180 мг, выход 70%).

²⁵ ВЭЖХ-МС m/z: 568 (M+23).

³⁰ ¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) 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).

³⁵ Стадия 8: N^{εB29}-4-[11-(4-карбоксифенил)ундеканоиламино]бутирил дезВ30 человеческий инсулин

Это соединение было получено аналогично методике, использованной при получении примера 9 с получением 30 мг.

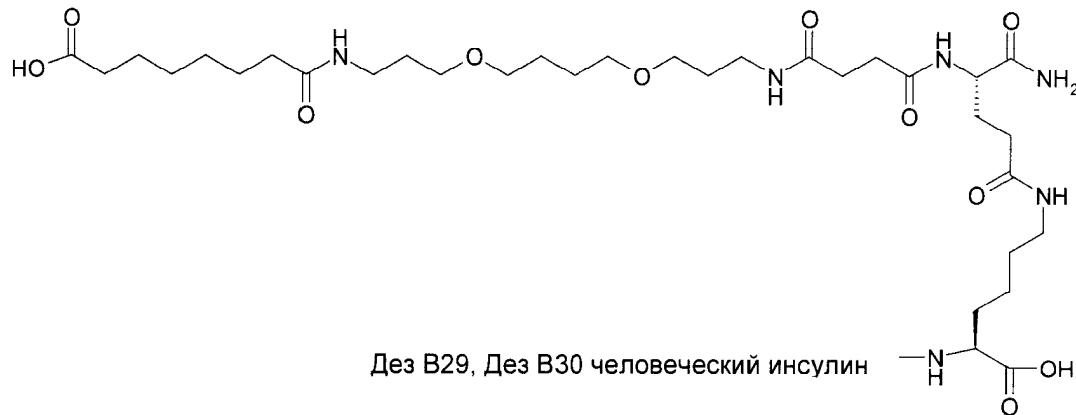
⁴⁰ MALDI-МС (альфа-циано-4-гидроксикоричная кислота) m/z: 6067 (M = 6080, сравнительный стандарт (M=5706) показал M-13).

ВЭЖХ-МС m/z: 1520,9 ((M+4)/4 = 1521).

Пример 11

Синтез N^{εB29}-(3-(3-{4-[3-(7-

карбоксигептаноиламино)пропокси}бутокси}пропилкарбамоил)-пропионил-γ-глутамиламид) дезВ30 человеческого инсулина



45

Октадекандикислоты моно-трем-бутиловый эфир (3,14 г, 13,63 ммоль) растворяли в ТГФ (100 мл). Добавляли TSTU (4,9 г, 16,3 ммоль) и доводили pH до 8,5 ДИПЭА (2,85 мл).

50

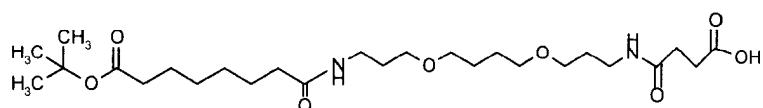
Смесь перемешивали в атмосфере азота в течение ночи, выпаривали до сухости, растворяли в EtAc (50 мл), после чего последовательно экстрагировали 2

раза HCl (0,1 М). Органическую фазу высушивали MgSO₄, фильтровали и выпаривали с получением в результате желтоватого масла (5 г, содержит небольшие количества растворителя).

ЖХ-МС: Rt 6,56 мин; m/z (M+1) 328. Вычислено: 328.

Стадия 3: 7-(3-{4-[3-(3-
карбоксипропиониламино)пропокси]бутокси}пропилкарбамоил)гептановой кислоты
трет-бутиловый эфир

123-0000-3012



N-{3-[4-(3-*трет*-Бутоxикарбониламиnopропокси)-бутокси]-пропил}янтарной кислоты полуамид (4,60 г, 11,37 ммоль) перемешивали с ТФУ (20 мл) при КТ в течение 60 мин, после выпаривания остаток десорбировали ДХМ (30 мл x 2) и выпаривали до сухости.

Полученное в результате масло растворяли в ацетонитриле (30 мл) и добавляли октандикислоты *трет*-бутиловый эфир 2,5-диоксопирролидин-1-иловый эфир (4,46 г, 13,6 ммоль) в ДМФ (20 мл).

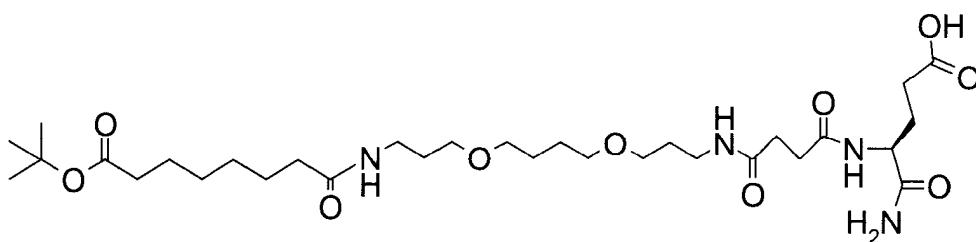
pH доводили до 8,5 ДИПЭА, и смесь перемешивали в течение ночи в атмосфере азота. Затем смесь выпаривали до сухости и повторно растворяли в EtOAc (50 мл). Фазу EtOAc экстрагировали x3 HCl (0,1 М), органический слой высушивали над сульфатом магния, фильтровали и выпаривали с получением в результате желтоватого кристаллического масла (6,5 г, содержание остатков растворителя).

ЖХ-МС: Rt 4,31 мин; m/z (M+1) 517. Вычислено: 517.

Сырой продукт использовали для следующей реакции без дальнейшей очистки.

Стадия 4: 7-[3-(4-[3-[3-((S)-1-карбамоил-3-
карбоксипропилкарбамоил)пропиониламино]пропокси]бутокси)пропилкарбамоил]гептановой кислоты трет-бутиловый эфир

0123-0000-3078



7-(3-{4-[3-(3-

Карбоксипропиониламино)пропокси}бутокси}пропилкарбамоил)гептановой кислоты трет-бутиловый эфир (2,4 г), сырой продукт со стадии 3, растворяли в ТГФ (60 мл), добавляли TSTU (2,11 г, 6,97 ммоль) вместе с ДМФ (10 мл), pH доводили до 8,2 ДИПЭА (0,8 мл). Смесь перемешивали в течение ночи в атмосфере азота.

15 Смесь выпаривали, и остаток растворяли в EtOAc и экстрагировали HCl (0,1

M) 3 раза. Органический слой высушивали сульфатом магния, фильтровали, и фильтрат выпаривали с получением 3,2 г масла.

20 ЖХ-МС: Rt 4,57 min; m/z 614, соответствует активированной кислоте.

Этот сырой продукт растворяли в ацетонитриле (40 мл) и добавляли L-глутаминовой кислоты амид (0,6 г, 4,1 ммоль) вместе с ДМФ (5 мл), pH доводили до 8,2 ДИПЭА (1,4 мл).

25 Смесь перемешивали при КТ в течение ночи; в результате фильтрования с последующим выпариванием получили густое желтое масло.

30 Это масло экстрагировали между EtOAc и HCl (0,1 M), как описано выше, и полученный в результате высушенный слой EtOAc дал 1,66 г сырого продукта после выпаривания.

35 ЖХ-МС: Rt 3,62 мин; m/z (M+1) 645. Сырой продукт очищали препаративной ВЭЖХ, используя ацетонитрил/воду/0,1% ТФУ в качестве элюента, на колонке C18 (Jones, Kromasil RP18 5 мкм 15x225 мм). Градиент: 0,0-10,0 мин 35% ацетонитрил A; 10,0 – 30,0 мин 35-90% A. Продукт собирали фракциями при 16-18 мин. Объединенные фракции выпаривали с получением желаемого продукта (1,0 г). ЖХ-МС: Rt 3,59 мин; m/z (M+1) 645, вычислено 645.

40 Стадия 5: N^ε^{B29}-(3-(3-[4-[3-(7-
карбоксигептеноиламино)пропокси]бутокси}пропилкарбамоил)пропионил-γ-L-
глутамиламид) дезB30 человеческий инсулин

45 7-[3-(4-[3-[3-((S)-1-Карбамоил-3-

карбоксипропилкарбамоил)пропиониламино]пропокси}бутокси)-
пропилкарбамоил]гептановой кислоты трет-бутиловый эфир со стадии 4 (1,0 г,

1,55 ммоль) растворяли в ТГФ (20 мл), добавляли TSTU (0,51 г, 1,7 ммоль) и доводили pH до >8 ДИПЭА (0,27 мл).

Смесь перемешивали в течение ночи в атмосфере азота. В результате выпаривания с последующей экстракцией между EtOAc и HCl (0,1 M), высушивания органической фазы ($MgSO_4$) с последующим выпариванием до сухости получили 21 мг масла, ЖХ-МС: Rt 4,34 мин, m/z 742.

Этот сырой продукт растворяли в ацетонитриле (10 мл), pH доводили до 8 Na_2CO_3 (0,1 M) и добавляли к раствору дезВ30 человеческого инсулина (1 г), растворенного в растворе Na_2CO_3 (15 мл, pH 10,2).

Смесь перемешивали в атмосфере азота при КТ в течение 1 ч. Затем pH доводили до 5,4 с помощью HCl (2 M), что привело в результате к выпадению осадка. Смесь фильтровали, фильтрат лиофилизировали, и осадок высушивали в вакууме в течение ночи.

Обе фракции очищали на Gilson, используя ацетонитрил/воду/0,1% ТФУ в качестве элюента, на колонке C18 (Jones, Kromasil RP18 5 мкм 15x225 мм).

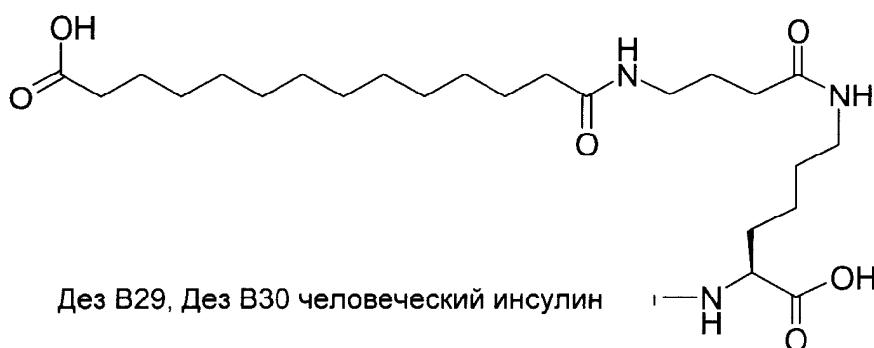
Градиент: 0,0-5,0 мин 35% ацетонитрил (A); 5,0 – 25,0 мин 35-90% A; Продукт собирали фракциями при 12-15 мин. Объединенные фракции выпаривали, повторно растворяли в воде и лиофилизировали с получением 27 мг желаемого продукта.

ЖХ-МС: Rt 7,76 мин, m/z 1570

MALDI-МС (синаповая кислота): 6277; $C_{280}H_{422}N_{68}O_{84}S_6$ требует 6277.

Пример 12

Синтез $N^{cB^{29}}-\omega$ -карбокситридеканоил- γ -аминобутаноил дезВ30 человеческого инсулина



Это соединение было получено из тетрадекандициклоты и γ -аминомасляной кислоты по аналогии с примером 1.

ЖХ-МС 6032,1, $C_{271}H_{407}N_{65}O_{79}S_6$ требует 6032,0.

Пример 13

Синтез N^{cB29}-ω-карбокси-ундеканоил-γ-аминобутиноил дезВ30 человеческого инсулина

5



10

15

Это соединение было получено из додекандициклоты и γ-аминомасляной кислоты по аналогии с примером 1.

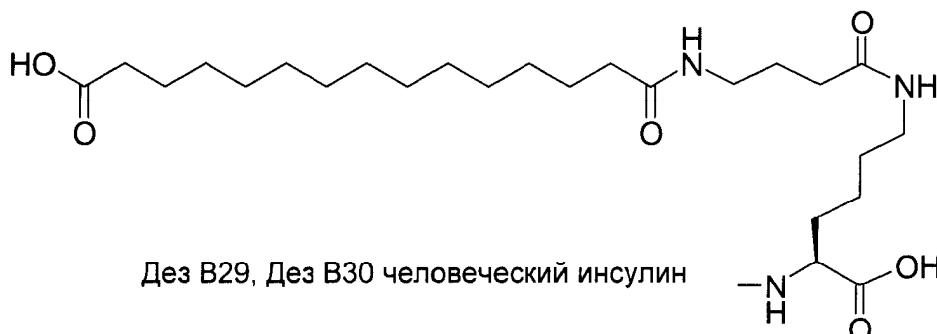
ЖХ-МС 6003,8, C₂₆₉H₄₀₃N₆₅O₇₉S₆ требует 6004,0.

20

Пример 14

Синтез N^{cB29}-ω-карбокситетрадеканоил-γ-аминобутиноил дезВ30 человеческого инсулина

25



30

35

Это соединение было получено из пентадекандициклоты и γ-аминомасляной кислоты по аналогии с примером 1.

ЖХ-МС 6045,6, C₂₇₂H₄₀₉N₆₅O₇₉S₆ требует 6046,1.

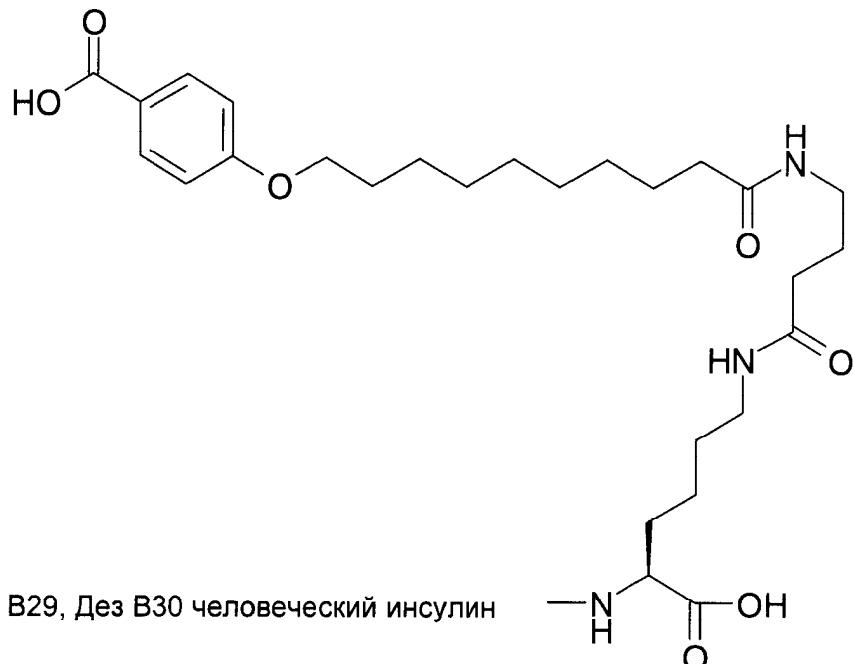
40

Пример 15

Синтез N^{cB29}-{4-[10-(4-карбоксифенокси)-деканоиламино]-бутирил} дезВ30 инсулина

45

50



50

Это соединение было получено из 4-аминометилбензойной кислоты по аналогии с примером 1.

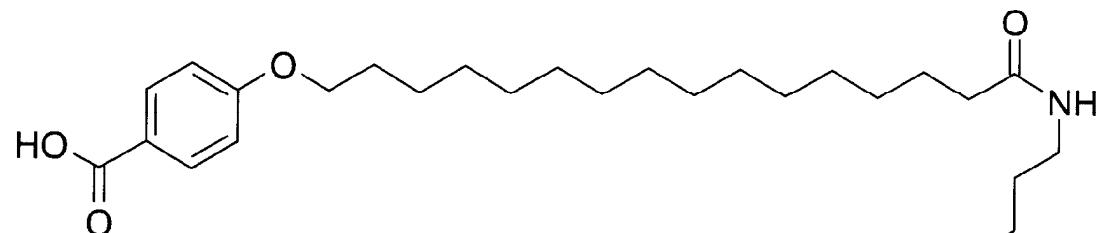
ЖХ-МС: 6082,0, $C_{275}H_{406}N_{66}O_{81}S_6$ требует 6082,1.

Пример 17

Синтез N^{cB29} -[16-(4-карбоксифенокси)-гексадеканоил] дезВ30 инсулин

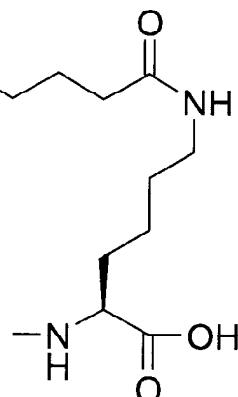
5

10



15

Дез В29, Дез В30 человеческий инсулин



20

Стадия 1: 16-Бромгексадекановой кислоты метиловый эфир

16-Бромгексадекановую кислоту (6 г, 17,9 ммоль) растворяли в метаноле (35 мл), толуоле (100 мл) и триметилортогоформиате (20 мл). Добавляли Amberlyst 15, и смесь перемешивали в атмосфере азота в течение 16 ч при 55°C. Смесь концентрировали и растворяли в метаноле (примерно 50 мл) и ДХМ (30 мл). Смолу отфильтровывали, и фильтрат концентрировали. Объем увеличивали примерно до 40 мл метанолом. В результате охлаждения получили кристаллы, которые отфильтровывали, промывали холодным метанолом и высушивали с получением белых кристаллов (5,61 г, выход 90%).

30

^1H -ЯМР (DMSO, 300 МГц) 3.57 (s, 3H), 3.52 (t, 2H), 2.28 (t, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.50 (m, 2H), 1.37 (m, 2H).

35

Остальные стадии проводили по аналогии с примером 9.

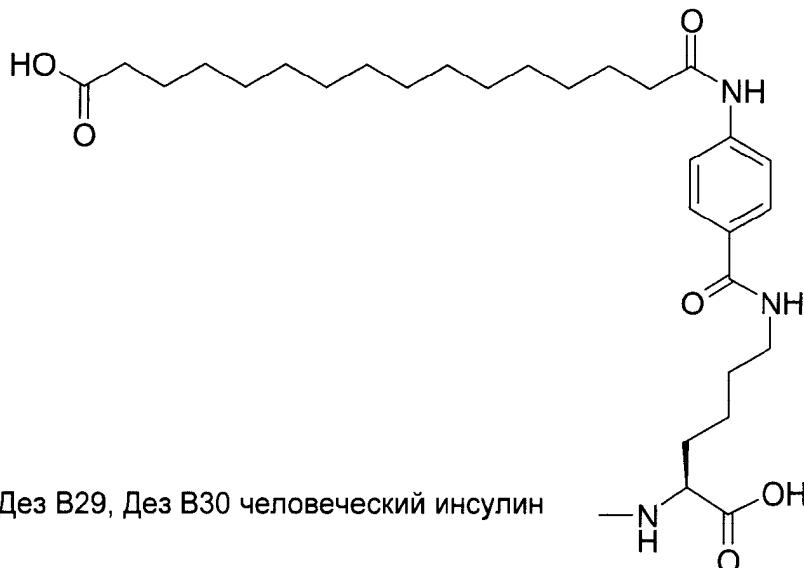
ЖХ-МС: 6081,2, $C_{276}H_{410}N_{64}O_{79}S_6$ требует 6081,1.

40

Пример 18
Синтез N^{cB29} -[4-[(15-карбоксипентадеканоиламино)бензоил]-дезВ30 человеческого инсулина

45

50



20

Стадия 1: 4-(15-*трет*-Бутиоксикарбонилпентадеканоиламино)-бензойная кислота

25

Моно-*трет*-бутиловый эфир гексадекандикислоты (400 мг, 1,17 ммоль) растворяли в NMP (6 мл). Добавляли 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида гидрохлорид (223 мг, 1,17 ммоль) и 1-гидрокси-7-азабензотриазол (156 мг, 1,17 ммоль), и смесь нагревали до 50 градусов Цельсия в течение 90 мин. Добавляли 4-аминобензойную кислоту (320 мг, 2,34 ммоль) и ДИЭА (0,6 мл, 3,51 ммоль), и смесь перемешивали в потоке азота в течение ночи.

30

Смесь переносили и распределяли между насыщенным водным NaHCO_3 (50 мл) и диэтиловым эфиром (100 мл). Добавляли NaHSO_4 (50 мл, 10% в воде), и органическую фазу выделяли, высушивали (MgSO_4) и удаляли растворитель в вакууме. Сырой продукт перекристаллизовали из этанола с получением 4-(15-*трет*-бутиоксикарбонилпентадеканоиламино)-бензойной кислоты.

35

^1H -ЯМР (ДМСО- d_6) δ : 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, 20H).

40

Стадия 2: 4-(15-*трет*-Бутиоксикарбонилпентадеканоиламино)-бензойной кислоты 2,5-диоксопирролидин-1-иловый эфир

45

4-(15-*трет*-Бутиоксикарбонилпентадеканоиламино)-бензойную кислоту (29 мг, 0,063 ммоль) преобразовали в сукцинимидиловый эфир, используя TSTU, подобно вышеописанному.

ВЭЖХ-МС, $m/z = 559$ ($M+23$, $M+\text{Na}$).

50

Стадия 3: $\text{N}^{c\text{B29}}-[4-[(15\text{-карбоксипентадеканоиламино})\text{бензоил}]\text{-дезB30}$ человеческий инсулин

DesB30 человеческий инсулин (355 мг, 0,062 ммоль) растворяли в ДМСО (3,5 мл), добавляли триэтиламин (0,622 ммоль, 0,087 мл). 4-(15-*трем-*
5 *Бутоксикарбонилпентадеканоиламино)-бензойной кислоты 2,5-диоксопирролидин-*
10 *1-иловый эфир (28,3 мг, 0,051 ммоль) растворяли в ДМСО (0,5 мл и добавляли).*
15 *Смесь осторожно перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре.*
20 *Смесь замораживали путем охлаждения в ледяной бане и добавляли воду (7 мл), и*
25 *смесь оставляли стоять при комнатной температуре до тех пор, пока*
30 *замороженная смесь не растворялась. pH доводили до pH = 5,3, используя 1 н.*
HCl, и осадок выделяли с помощью центрифуги, промывали один раз водой с
35 *последующим центрифугированием. Добавляли трифторуксусную кислоту (15 мл),*
40 *и смесь перемешивали в течение 30 минут, наливали в диэтиловый эфир (50 мл),*
45 *при этом поддерживая охлаждение в ледяной бане. Сырой продукт выделяли*
50 *центрифугированием и растворяли в 10 мМ ТРИС + 15 мМ (NH₄)₂SO₄ в 20% EtOH,*
pH 7,3 и подвергали очистке на очистной установке ÄKTA, используя ВЭЖХ с
обращенной фазой, Jupiter 5269, C4 250/20 мм, 15 мкМ, 300 Å. Буфер состоял из А-
буфера 10 мМ ТРИС + 15 мМ (NH₄)₂SO₄ в 20% EtOH, pH 7,3 и В-буфера 80% EtOH.
Продукт элюировали градиентом 15-60% В при 8 мл/мин. Фракции, содержащие
продукт, собирали, доводили pH до pH = 5,2. N^{cB29}-{4-[(15-
карбоксипентадеканоиламино)бензоил]-дезB30 человеческий инсулин выделяли с
помощью центрифуг и лиофилизировали.

ЖХ-МС: 6092,0, C₂₇₆H₄₀₉N₆₅O₇₉S₆ требует 6094,1.

Пример 19

Синтез N^{cB29}-{4-[(15-карбоксипентадеканоиламино)-метил]-бензоил}-дезB30
инсулина

35

40

45

50

Стадия

1:

4-[(15-трем-Бутоксикарбонилпентадеканоиламино)метил]бензойная кислота

Гексадекандициклоты *трет*-бутиловый эфир 2,5-диоксопирролидин-1-иловый эфир (370 мг, 0,842 ммоль) растворяли в NMP (8 мл), добавляли 4-аминометилбензойную кислоту (127,2 мг, 0,842 ммоль), смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи с последующим нагреванием в течение 2 часов при 50 градусах Цельсия. После охлаждения до комнатной температуры смесь наливали в воду. Продукт выделяли фильтрованием, высушивали и использовали для следующей стадии без какой-либо дальнейшей очистки.

¹Н-ЯМР (ДМСО-d₆) (избранные сигналы) 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), 1.38 (s, 9H).

ВЭЖХ-МС: m/z = 498 (M+Na)

Стадия 2: N^{cB29}-{4-[(15-Карбоксипентадеканоиламино)-метил]-бензоил}-дэзВ30 инсулин

4-[(15-*трет*-Бутоксикарбонилпентадеканоиламино)метил]бензойную кислоту преобразовывали в сукцинимидиловый эфир и подвергали взаимодействию с дэзВ30 человеческим инсулином подобно вышеописанному. Продукт очищали на очистной установке АКТА, используя ВЭЖХ с обращенной фазой, Jupiter 5269, C4 250/20 мм, 15 мкМ, 300 Å. Буфер состоял из А-буфера 10 мМ ТРИС + 15 мМ (NH₄)₂SO₄ в 20% EtOH, pH 7,3 и В-буфера 80% EtOH. Продукт элюировали градиентом 15-60% В при 8 мл/мин. После очистки ОФ-ВЭЖХ на Waters Prep LC2000, на C18, 5 см x 20 см, ток 20 мл/мин, используя градиент ацетонитрил/вода 36-42%, содержащий 0,1% ТФУ. Фракции, содержащие продукт,

собирали и лиофилизировали. К лиофилизированному веществу добавляли воду (7,2 мл) и доводили pH до 8,98 1 н.+0,1 н. NaOH. Доводили pH снова до 5,2-5,5 0,1 н. HCl. Продукт осаждали, выделяли с помощью центрифуги и лиофилизировали с получением соединения, указанного в заголовке.

ЖХ-МС 6108,0, C₂₇₇H₄₁₁N₆₅O₇₉S₆ 6108,1

Пример 20:

Гидрофобность, сродство к альбумину, самоассоциация и смешиваемость

инсулинов длительного действия и быстрого действия

Анализ свойств самоассоциации производных инсулина по изобретению

Способность производных инсулина по изобретению к самоассоциации в большие, но растворимые комплексы анализировали, используя ЭХ (эксклюзионную хроматографию):

Колонка: SuperoseTM 6 PC 3.2/30, CV = 2,4 мл
(Amersham Biosciences)

Температура: 37 °C

Буфер ЭХ: 140 mM NaCl, 10 mM Трис-HCl, 0,01% NaN₃, pH 7,5

Объем впрыскивания: 20 мкл

Ток: 0,05 мл/мин

Время пробега: 60 мин и уравновешивание дополнительно 100 мин

Для данного анализа производные инсулина по изобретению находятся в растворе, состоящем из 0,6 mM производного, 2,1 Zn²⁺/гексамер, 16 mM фенола, 7 mM фосфата, pH 7,8. Затем время удерживания производного сравнивали со временем удерживания следующих стандартных молекул: голубой декстран (>5 МДа, K_{av} 0,0), тиреоглобулин (669 кДа, K_{av} 0,28), ферритин (440 кДа, K_{av} 0,39), овальбумин (44,5 кДа, K_{av} 0,56), рибонуклеаза (13,7 кДа, K_{av} 0,69) и второй стандарт альбумина (66 кДа, K_{av} 0,53), Со(III)инсулин-гексамер (35 кДа, K_{av} 0,61) и мономерный инсулин X2 (6 кДа, K_{av} 0,73).

Следующее уравнение использовали для определения K_{av} для производного:

$$K_{av} = (t-t_0)/(V_t/(f+t_d-t_0))$$

где t представляет собой время удерживания для каждого пика, t₀ представляет собой время удерживания для голубого декстрина, V_t представляет собой общий объем колонки (здесь 2,4 мл), f представляет собой ток (здесь 0,04 мл/мин), и t_d представляет собой время удерживания для голубого декстрина без колонки в системе.

Значение K_{av} указывает на степень самоассоциации производного, то есть большое значение K_{av} , подобное значению K_{av} для гексамира инсулина Со(III) и мономера инсулина X2 показывает низкую склонность или отсутствие склонности производного к образованию больших самоассоциированных комплексов, тогда как очень малое значение K_{av} , близкое к нулю или даже отрицательное, показывает большую склонность производного к самоассоциации в большие растворимые комплексы.

Данные по гидрофобности для производных инсулина согласно изобретению

Гидрофобность (показатель гидрофобности) производных инсулина по изобретению относительно человеческого инсулина, k'_{rel} , измеряли на колонке ВЭЖХ LiChrosorb RP18 (5 мкм, 250x4 мм) путем изократического элюирования при 40°C, используя смеси А) 0,1 М натрий-fosфатный буфер, pH 7,3, содержащий 10% ацетонитрил, и В) 50% ацетонитрил в воде в качестве элюентов. Мониторинг элюирования проводили, следя за УФ поглощением элюата при 214 нм. Свободное время, t_0 , находили путем впрыскивания 0,1 мМ нитрата натрия. Время удерживания для человеческого инсулина, t_{human} , доводили по меньшей мере до $2t_0$ путем варьирования соотношения между растворами А и В. $k'_{rel} = (t_{derivative}-t_0)/(t_{human}-t_0)$. k'_{rel} , найденные для ряда производных инсулина согласно изобретению, приведены в таблице 1.

Анализ сродства к человеческому сывороточному альбумину

Относительную константу связывания $^{125}\text{I-TyrA14-аналога}$ с человеческим сывороточным альбумином, иммобилизованным на частицах Minileak, измеряли при 23°C (инсулин детемир =1 в физиологическом буфере).

Смешиваемость инсулинов длительного действия и быстрого действия на основании анализа смесей инсулинов путем эксклюзионной хроматографии

ЭХ: Смешиваемость инсулина аспарт (3 Zn/6 инсулин, глицерин 1,6%, 16 мМ фенол и 16 мМ мета-крезол, хлорид натрия 10 мМ, фосфат 7 мМ, pH 7,4) и инсулина пролонгированного действия (2,1 или 6 Zn/6 инсулин) 30:70, измеренная путем сбора фракций из ЭХ (как описано выше) и количественного определения по ВЭЖХ присутствия инсулинов пролонгированного действия и быстрого действия в высокомолекулярной фракции (фракция 2, MM > ЧСА) и в низкомолекулярной фракции (фракция 3, MM = ЧСА), соответственно.

Собирали четыре фракции при размере 16 мин после задержки, из которых фракция 2 [16-32 мин] (пик 1) содержала ассоциированную форму, большую, чем

альбумин (32 мин соответствует K_{av} 0,46), и фракция 3 (пик 2) содержал дигексамерные, гексамерные, димерные и мономерные формы инсулина.

ВЭЖХ: Хроматография с обращенной фазой Zorbax Eclipse XDB-C18 2.1*15 мм (1,8 мкм) градиентное элюирование буфером А: 0,2 М сульфат натрия, 0,04 М фосфат натрия, 10% ацетонитрил, pH 7,2 и буфером В: 70% ацетонитрил при 30°C, 19-34% В за 4,5 мин. линейный, резкий, исходное состояние при 5 мин, время пробега 7 мин, ток 0,5 мл/мин, объем впрыскивания 14 мкл и УФ обнаружение при 276 нм, используя стандарт инсулин аспарт 609 мкМ для обоих аналогов.

Соединение	Гидрофобность относительно человеческого инсулина	Сродство к рецептору инсулина относительно человеческого инсулина	Сродство к человеческому сывороточному альбумину относительно инсулина детемир	Самоассоциация: K_{av} (% площади пика)
Пример 1	++ 1,366	++ 37%	++ 1,9	+++ 0,0 (87%) 0,74 (13%)
Пример 2	++ 1,933	++ 35%	++ 2,2	+++ 0,0 (94%) 0,75 (6%)
Пример 3	++ 1,095	++ 30%	+ 0,37	+++ 0,08 (76%) 0,74 (24%)
Пример 4	+++ 0,716	+++ 52%	+	++ 0,15 (77%) 0,74 (23%)
Пример 5	++ 1,75	++ 30%	++ 1,93	+++ 0,02 (93%) 0,76 (7%)
Пример 6	++ 1,617	++ 33%	++ 1,36	+++ 0,01 (90%)
Пример 7	++ 2,936	++ 37%	+++ 2,62	+++ 0,01 (90%),
Пример 8	++ 2,461	++ 38%	++ 1,95	n/a
Пример 9	+++ 0,738	++ 58%	+	+++ 0,05 (90%) 0,75 (10%)
Пример 10	++ 1,803	++ 43%	+	++ 0,26 (48%)
Пример 11	+++ 0,435	++ 43%	n/a	n/a

50

	Пример 12	+++ 0,989	+++ 49 %	+	++ 0,17 (44%) 0,7 (56%)
5	Пример 13	+++ 0,552	+++ 59 %	+	++ 0,69 (100%)
10	Пример 14	++ 1,61	++ 48%	н/а	н/а
15	Пример 15	++ 1,09	++ 47%	+	++ 0,28 (42%) 0,72 (58%)
20	Пример 16	++ 2,21	+++ 88%	++ 1,9	++ 0,3 (28%) 0,52 (72%)
25	Пример 17	++ 15,9	++ 12%	+++ 2,97	++ 0,12 (87%) 0,79 (13%)
30	Пример 18	++ 4,16	++ 36%	+++ 5,83	++ 0,33 (24%) 0,5 (76%)
35	Пример 19	++ 3,73	++ 42%	+++ 5,27	++ 0,33 (24%) 0,51 (76%)

Легенда к таблице:

Гидрофобность относительно человеческого инсулина: K'rel <1: +++, 1-10: ++, >10: + (HI =1)

Сродство к рецептору инсулина относительно человеческого инсулина: <5%: +, 5-50%: ++, >50%: +++

Сродство к человеческому сывороточному альбумину относительно инсулина детемир: <0,5: +, 0,5-2: ++, >2: +++

Самоассоциация: $K_{av} < 0,1$: +++, $K_{av} < 0,55$: ++ и $K_{av} \geq 0,55$: +

$K_{av} = 0,55$ для человеческого сывороточного альбумина, $K_{av} = 0,63$ для человеческого инсулина Co(III)гексамер,

$K_{av} = 0,72$ для мономерного аналога инсулина X2.

н/а = не анализировали.

Пример 21:

Эугликемическая фиксация глюкозы после подкожного введения препаратов

инсулина свиньи

Самки свиней, 60-90 кг, голодали в течение 18 ч. Во время экспериментов свиньи свободно перемещаются в своих клетках. Дозу инсулина вводят подкожно (s.c.) в зависимости от размера дозы, часто разделенной на два депо-препарата.

Каждую свинью поддерживают при состоянии эугликемии при ее индивидуальных уровнях глюкозы натощак в течение вплоть до 24 ч путем варьирующей скорости внутривенной инфузии 20% раствора глюкозы. Инфузию проводят через катетер, введенный в яремную вену. В зависимости от изменений концентраций глюкозы в

плазме, наблюдаемых во время частого мониторинга глюкозы в плазме, эмпирически проводят необходимое регулирование инфузии глюкозы. Образцы крови собирают в стеклянные пробирки с ЭДТА каждые 15-30 мин, плазму разделяют для измерений глюкозы и инсулина. Глюкозу определяют в пределах 1,5 взятия образца крови с помощью анализатора глюкозы YSI (Yellow Springs Instruments) (глюкозооксидазный метод). Профили средней скорости инфузии глюкозы (СИГ) и профили среднего инсулина в плазме получают для каждого препарата инсулина. (На фиг. 2-4 показано среднее ± СКО).

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ

Анализ (I)

Связывание рецептором инсулина производных инсулина по изобретению

Сродство аналогов инсулина по изобретению к рецептору человеческого инсулина определяли путем анализа SPA (сцинтилляционного анализа сближения, Scintillation Proximity Assay) захвата антитела на микротитрационном планшете. Гранулы, связывающие антитело, SPA-PVT, реагент против мыши (Amersham Biosciences, Cat No. PRNQ0017), смешивали с 25 мл связывающего буфера (100 мМ ГЭПЭС рН 7,8; 100 мМ хлорид натрия, 10 мМ MgSO₄, 0,025% Твин-20). Смесь реагентов для одного Packard Optiplate (Packard No. 6005190) состояла из 2,4 мкл разведенного 1:5000 очищенного рекомбинантного рецептора человеческого инсулина – экзона 11, количества исходного раствора A14 Тиг[¹²⁵I]-человеческого инсулина, соответствующего 5000 имп/мин на 100 мкл смеси реагентов, 12 мкл разведения 1:1000 антитела F12, 3 мл SPA-гранул и связывающего буфера до суммарного объема 12 мл. Затем добавляли суммарно 100 мкл и готовили серию разведений из соответствующих образцов. Затем к этой серии разведений добавляли 100 мкл смеси реагентов, и образцы инкубировали в течение 16 часов при мягким встряхивании. Затем фазы разделяли центрифугированием в течение 1 мин, и планшеты считали в счетчике Topcounter. Данные по связыванию приводили в соответствие, используя алгоритм нелинейной регрессии в программе GraphPad Prism 2.01 (GraphPad Software, San Diego, CA).

Анализ (II)

Эффективность производных инсулина по изобретению относительно человеческого инсулина

Самцов крыс Sprague Dawley массой 238-383 г на сутки эксперимента используют для эксперимента с фиксацией. Крысы имеют свободный доступ к

пище при отрегулированных условиях окружающей среды и голодают в течение ночи (от 15.00) перед экспериментом с фиксацией.

Протокол эксперимента

Крыс акклиматизируют в виварии в течение по меньшей мере 1 недели перед процедурой операции. Примерно за 1 неделю до эксперимента с фиксацией катетеры Tuion вводят под анестезией галотаном в яремную вену (для инфузии) и в каротидную артерию (для взятия крови) и выводят наружу и фиксируют на задней стороне шеи. Крысам дают Streptocilin vet. (Boehringer Ingelheim; 0,15 мл/крыса, i.m.) после операции и помещают в отделение по уходу за животными (25°C) во время восстановительного периода. В целях получения аналгезии Anorphin (0,06 мг/крыса, s.c.) вводят во время анестезии и Rimadyl (1,5 мг/кг, s.c.) вводят после полного восстановления после анестезии (2-3 ч) и снова один раз в сутки в течение 2 суток.

Применяемая методика фиксации адаптирована из (1). В 7 часов утра на сутки эксперимента крыс после ночного голодания (с 15 часов предыдущих суток) взвешивают и соединяют со шприцами для взятия образцов и с инфузционной системой (помпы Harvard 22 Basic, Harvard, и стеклянный шприц Perfectum Hypodermic, Aldrich), а затем помещают в индивидуальные клетки для фиксации, где они остаются примерно на 45 мин до начала эксперимента. Крысы способны свободно передвигаться на их обычной подстилке во время всего эксперимента и имеют свободный доступ к питьевой воде. После 30 мин базального периода, в течение которого измеряют уровни глюкозы в плазме через 10 мин интервалы инфицируют тестируемое производное инсулина и человеческий инсулин (один уровень дозы на крысу, $n = 6-7$ на уровень дозы) (i.v.) с постоянной скоростью в течение 300 мин. Уровни глюкозы в плазме измеряют через 10 мин интервалы на протяжении эксперимента, и инфузию 20% водной глюкозы регулируют соответственно с целью поддержания эутилизии. Образцы ресуспендированных эритроцитов от каждой крысы объединяют и возвращают в объемах примерно $\frac{1}{2}$ мл через каротидный катетер.

На каждые сутки эксперимента берут образцы растворов индивидуальных тестируемых производных инсулина и раствора человеческого инсулина перед экспериментом и в конце эксперимента с фиксацией, и концентрации пептидов подтверждают ВЭЖХ. Концентрации в плазме инсулина и С-пептида крысы, а также тестируемого производного инсулина и человеческого инсулина измеряют в релевантные моменты времени перед исследованиями и в конце исследований.

50

Крыс умерщвляют в конце эксперимента, используя передозировку пентобарбитала.

Тестируемые соединения и дозы: Инсулины, подлежащие тестированию, разводят из исходного раствора, содержащего 97 мкМ производного инсулина в 5 мМ фосфате pH 7,7. Конечная концентрация в растворе, готовом к применению, составляет 0,45 мкМ производного инсулина, 5 мМ фосфата, 100 мМ хлорида натрия, 0,007% полисорбата 20. pH составляет 7,7, и скорость i.v. инфузии составляет 15 и 20 пмоль·мин⁻¹·кг⁻¹.

Препарат исходного раствора человеческого инсулина, который используют в качестве стандартного соединения, готовят в подобной среде и инфузируют i.v. при 6, 15 или 30 пмоль·мин⁻¹·кг⁻¹.

Оба исходных раствора хранят при -20°C и оттаивают в течение ночи при 4°C перед применением. Растворы мягко переворачивают вверх и вниз несколько раз за 15 мин перед тем, как их переносят в инфузионные шприцы.

Анализ (III)

Определение у свиней T_{50%} производных инсулина по изобретению

T_{50%} представляет собой время, когда 50% инъецированного количества меченого A14 Туг[¹²⁵I] производного инсулина, подлежащего тестированию, исчезает из места инъекции, что измеряют наружным γ-счетчиком.

Выполняют правила ухода за лабораторными животными. Для фармакокинетических и фармакодинамических исследований используют племенных самок свиней LYYD без диабета, свободных от специфичных патогенов, пород датский ландрас, йоркшир и дюрок (Holmenlund, Haarloev, Denmark). Свиньи находятся в сознании, в возрасте 4-5 месяцев и весят 70-95 кг. Животные голодают в течение ночи 18 часов до эксперимента.

Приготовленные препараты производных инсулина, меченых по Туг^{A14} ¹²⁵I, инъецируют свиньям s.c., как описано ранее (Ribel, U., Jørgensen, K, Brange, J, and Henriksen, U. The pig as a model for subcutaneous insulin absorption in man. Serrano-Rios, M и Lefèvre, P. J. 891-896. 1985. Amsterdam; New York; Oxford, Elsevier Science Publishers. 1985 (Conference Proceeding)).

В начале экспериментов дозу 60 нмоль производного инсулина согласно изобретению (тестируемого соединения) и дозу 60 нмоль инсулина детемир (оба ¹²⁵I, меченные по Туг A14) инъецируют в два отдельных сайта на шее каждой свиньи.

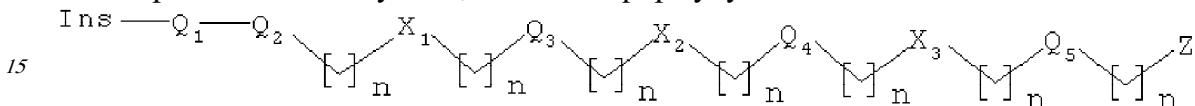
Мониторинг исчезновения радиоактивной метки из сайта s.c. инъекции проводят, используя модификацию традиционного метода наружного гамма-счета

(Ribel, U. Subcutaneous absorption of insuline analogs. Berger, M. and Gries, F. A. 70-77 (1993). Stuttgart; New York, Georg Thime Verlag (Conference Proceeding)). При данном модифицированном методе возможно непрерывно измерять исчезновение радиоактивности из подкожного депо в течение нескольких суток, используя беспроводное портативное устройство (Scancys Laboratorieteknik, Værløse, DK-3500, Denmark). Измерения проводят через 1-мин интервалы, и значения счета корректируют на фоновую активность.

10

Формула изобретения

1. Производное инсулина, имеющее формулу



где Ins представляет собой дезB30 инсулин человека и $Q_1-Q_2-[CH_2]_n-X_1-[CH_2]_n-Q_3-[CH_2]_n-X_2-[CH_2]_n-Q_4-[CH_2]_n-X_3-[CH_2]_n-Q_5-[CH_2]_n-Z$ представляет собой заместитель, и где Ins присоединен к заместителю через амидную связь между α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или ϵ -аминогруппой остатка Lys, присутствующего в А или В цепи Ins, и группой CO в Q_1 или Q_2 заместителя;

Q_1 представляет собой:

- аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с незаряженной боковой цепью, где этот остаток образует с его карбоново-кислотной группой амидную группу вместе с α -аминогруппой N-концевого аминокислотного остатка В цепи Ins или вместе с ϵ -аминогруппой остатка Lys; присутствующего в А или В цепи Ins, либо

30 - связь,

Q_2 представляет собой:

- $-\text{CO}-((\text{CR}^5\text{R}^6)_{1-6}\text{-NH-CO})_{1-4}-$, где R^5 и R^6 представляют собой H; либо

- связь,

35 при условии, что

- по меньшей мере один из Q_1 или Q_2 представляет собой не связь, и, если амин в Q_1 или Q_2 образует связь с остальной частью заместителя, этот амин должен быть связан с остальной частью заместителя через карбонильную группу;

Q_3 представляет собой

40 - $-(\text{CH}_2)_m-$, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до 32;

- двухвалентную углеводородную цепь формулы $-(\text{CH}_2)_s\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_2)_w-$, где s и w являются целыми либо одно из них равно 0, причем сумма s и w находится в интервале от 6 до 30;

45 X_1 представляет собой $-\text{C=O}$ или связь;

Q_4 , Q_5 , X_2 и X_3 обозначают связи;

каждый n равен 0;

и

Z представляет собой $-\text{COOH}$;

50 и любой его комплекс с Zn^{2+} .

2. Производное инсулина по п.1, где Q_1 представляет собой аминокислотный амид аминокислоты с карбоновой кислотой в боковой цепи или аминокислоту с

незаряженной боковой цепью, где остаток аминокислотного амида или остаток аминокислоты содержат от 2 до 10 атомов углерода.

3. Производное инсулина по п.1 или 2, где Q₁ выбран из группы, состоящей из β-D-Asp-амида, β-L-Asp-амида, γ-L-Glu-амида и γ-D-Glu-амида.

4. Производное инсулина по пп.1-3, где Q₂ представляет собой связь.

5. Производное инсулина по пп.1-3, где Q₂ выбран из группы, состоящей из -CO-((CR⁵R⁶)₁₋₆-NH-CO)₁₋₄-, где R⁵ независимо может представлять собой H, и R⁶ независимо может представлять собой H.

10 6. Производное инсулина по п.5, где Q₂ выбран из группы, состоящей из -CO-((CH₂)₂NH-CO)₁, -CO-((CH₂)₃-NH-CO)₁, -CO-((CH₂)₄-NH-CO)₁, и -CO-((CH₂)₅-NH-CO)₁.

7. Производное инсулина по п.1 или 5, 6, где Q₁ представляет собой связь.

8. Производное инсулина по любому из пп.1-7, где Q₃ представляет собой -

15 -(CH₂)_m-, где m представляет собой целое число в интервале от 6 до 32 или от 8 до 20.

9. Производное инсулина по п.8, где m представляет собой 12, 13, 14, 15 или 16.

10. Производное инсулина по любому из пп.1-9, где Z представляет собой - COOH.

11. Производное инсулина по любому из пп.1-10, где это производное инсулина выбрано из группы, состоящей из:

20 N^eB²⁹-ω-карбоксипентадеканоил-γ-L-глутамиламид дезB30 человеческого инсулина,

N^eB²⁹-ω-карбоксипентадеканоил-γ-аминобутиноил дезB30 человеческого инсулина,

25 N^eB²⁹-ω-карбокситетрадеканоил-γ-L-глутамиламид дезB30 человеческого инсулина,

N^eB²⁹-ω-карбокситридеканоил-γ-L-глутамиламид дезB30 человеческого инсулина,

30 N^eB²⁹-ω-карбоксипентадеканоил-β-аланил дезB30 человеческого инсулина,
N^eB²⁹-ω-карбоксипентадеканоил-γ-L-аспартиламид дезB30 человеческого инсулина,

35 N^eB²⁹-ω-карбоксипентадеканоил-ε-аминогексаноил дезB30 человеческого инсулина,

N^eB²⁹-ω-карбокситетрадеканоил-δ-аминопентаноил дезB30 человеческого инсулина,

40 N^eB²⁹-ω-карбокситетрадеканоил-γ-аминобутиноил дезB30 человеческого инсулина,
N^eB²⁹-ω-карбокситетрадеканоил-γ-аминобутиноил дезB30 человеческого инсулина.

12. Фармацевтическая композиция для лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, содержащая терапевтически эффективное количество производного инсулина по любому из пп.1-19 вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

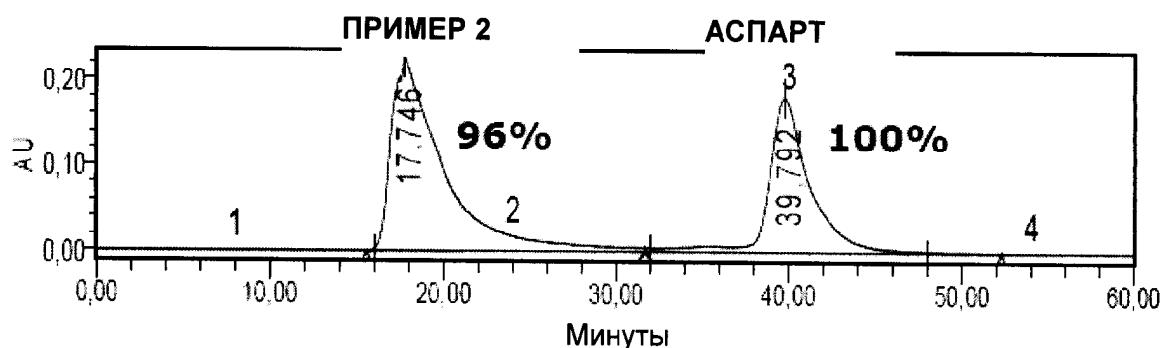
45 13. Способ изготовления фармацевтической композиции по п.12, где в фармацевтическую композицию добавляют вплоть до примерно 10 атомов цинка на 6 молекул производного инсулина.

14. Способ лечения диабета у пациента, нуждающегося в таком лечении, при котором пациенту вводят терапевтически эффективное количество производного инсулина по любому из пп.1-11.

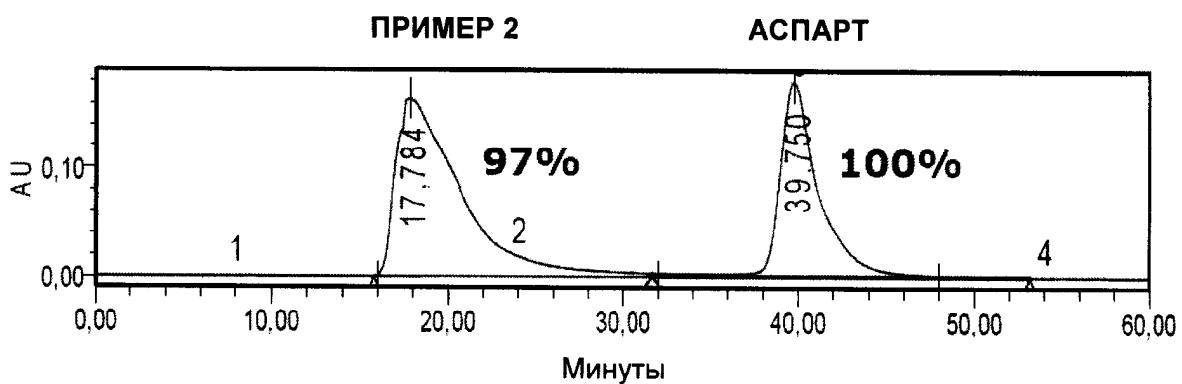
50 15. Способ по п.14 для легочного лечения диабета.

16. Фармацевтическая композиция по п.12, содержащая аналог инсулина быстрого действия, выбранного из группы, состоящей из AspB28 человеческого инсулина; LysB28ProB29 человеческого инсулина и LysB3GluB29 человеческого инсулина.

ЭХ анализ смеси производного инсулина примера 2 с инсулином аспарт в отношении 70/30 с 2,1 Zn(II) на 6 производных инсулина

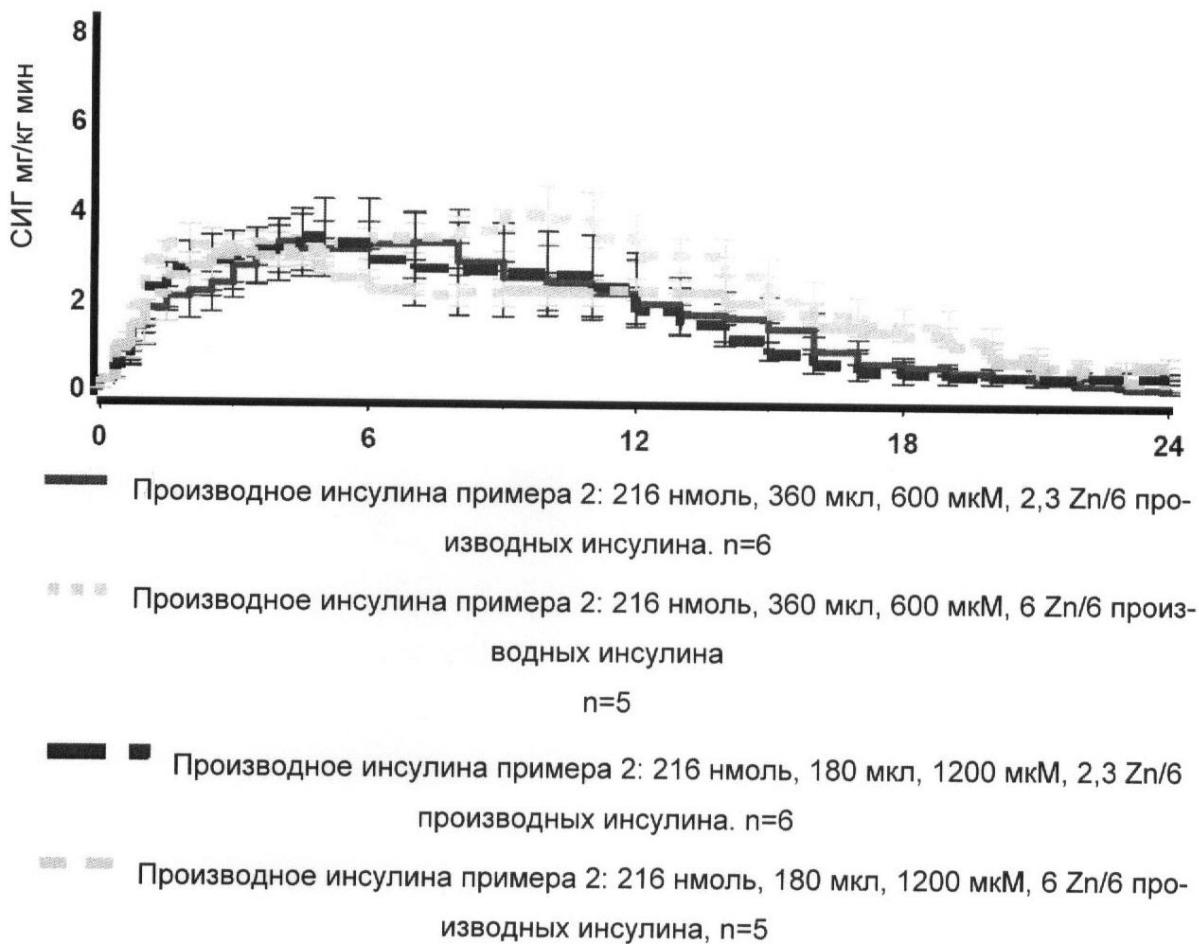


ЭХ анализ смеси производного инсулина примера 2 с инсулином аспарт в отношении 70/30 с 6 Zn(II) на 6 производных инсулина



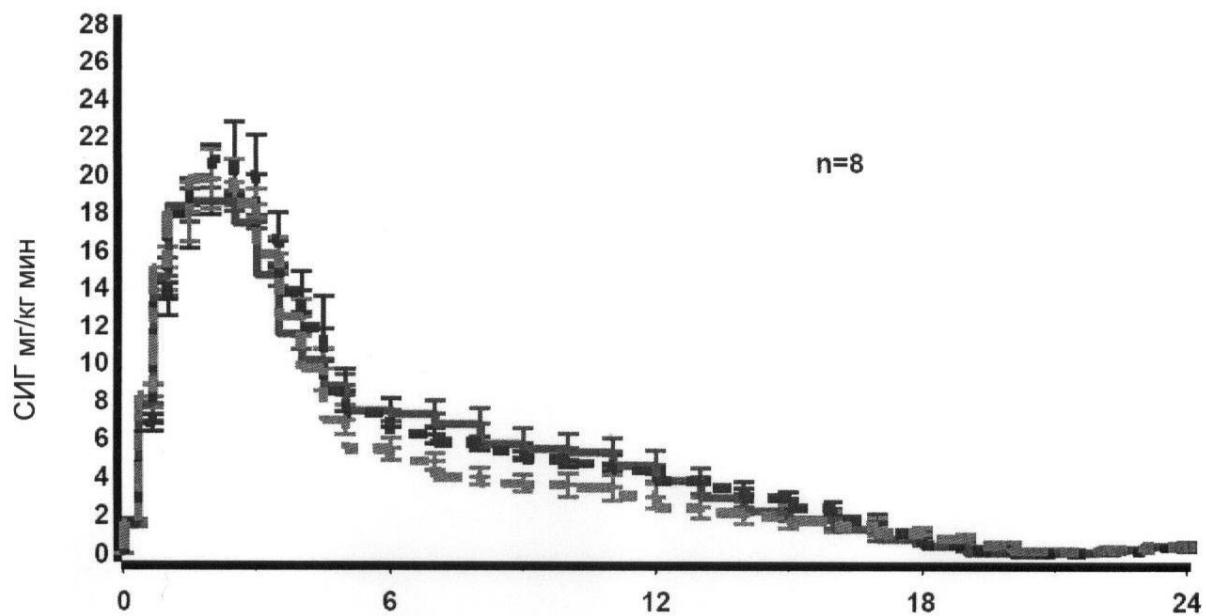
Фиг. 1

Профиль действия производного инсулина примера 2 при различных концентрациях и Zn-препаратах.



Фиг. 2

Фиксация после подкожной инъекции свиньям инсулина аспарт, смешанного с производным инсулина примера 2, или инсулина аспарт и производного инсулина примера 2, инъецированных отдельно



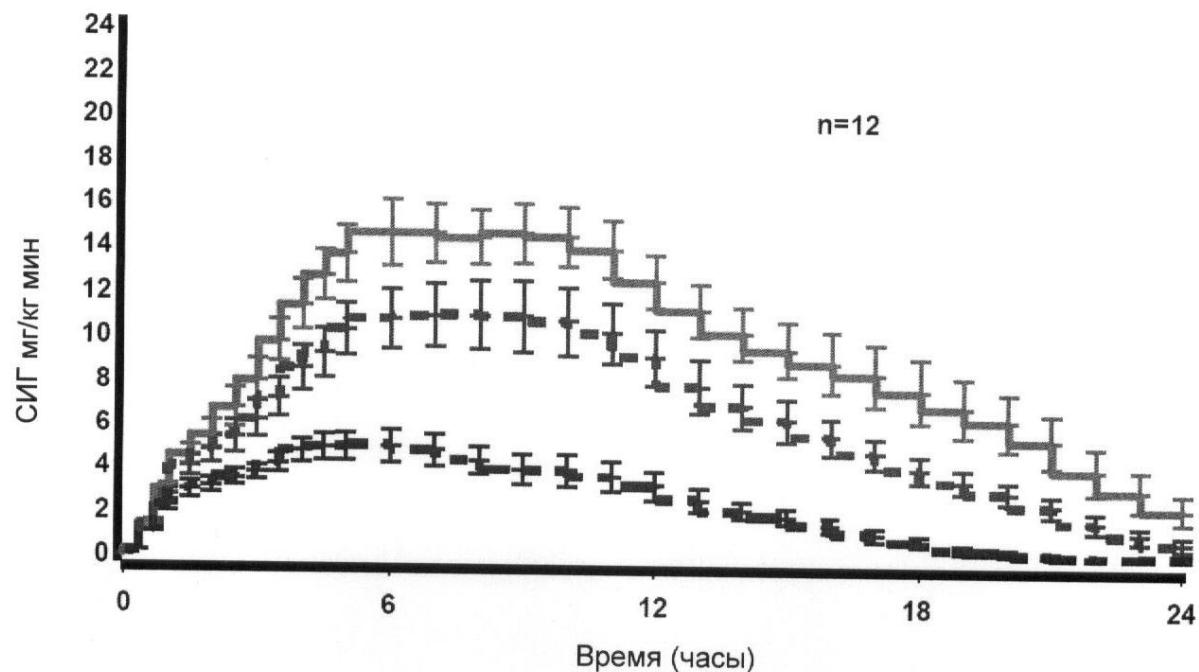
■ Доза 324 нмоль, производное инсулина примера 2 с 2,3 Zn/6 производных инсулина, инсулин аспарт 3 Zn/6 производных инсулина, концентрация 600 мкМ

■ ■ ■ ■ ■ Доза 324 нмоль, производное инсулина примера 2 с 3,6 Zn/6 производных инсулина,
концентрация 180+420 мкМ

■ ■ ■ ■ ■ Доза 324 нмоль, производное инсулина примера 2 с 4,6 Zn/6 производных инсулина
концентрация 180+420 мкМ

Фиг. 3

Фиксация после подкожной инъекции свиньям примера 2 в трех различных дозах



Доза 648 нмоль, концентрация 1200 мкМ, производное инсулина примера 2 с 3 Zn/6 производных инсулина

Доза 432 нмоль, концентрация 1200 мкМ, производное инсулина примера 2 с 3 Zn/6 производных инсулина

Доза 216 нмоль, концентрация 1200 мкМ, производное инсулина примера 2 с 3 Zn/6 производных инсулина

Фиг. 4