

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5269766号
(P5269766)

(45) 発行日 平成25年8月21日(2013.8.21)

(24) 登録日 平成25年5月17日(2013.5.17)

(51) Int.Cl.

F 1

C07K 14/62	(2006.01)	C07K 14/62
A61K 38/28	(2006.01)	A61K 37/26
A61P 3/10	(2006.01)	A61P 3/10

請求項の数 10 (全 72 頁)

(21) 出願番号 特願2009-508372 (P2009-508372)
 (86) (22) 出願日 平成19年5月8日 (2007.5.8)
 (65) 公表番号 特表2009-536178 (P2009-536178A)
 (43) 公表日 平成21年10月8日 (2009.10.8)
 (86) 國際出願番号 PCT/EP2007/054439
 (87) 國際公開番号 WO2007/128815
 (87) 國際公開日 平成19年11月15日 (2007.11.15)
 審査請求日 平成22年4月19日 (2010.4.19)
 (31) 優先権主張番号 06113711.3
 (32) 優先日 平成18年5月9日 (2006.5.9)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)
 (31) 優先権主張番号 06118254.9
 (32) 優先日 平成18年8月1日 (2006.8.1)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 596113096
 ノボ・ノルディスク・エー／エス
 デンマーク国、バグスヴァエルト ディ
 一ケー— 2880, ノボ アレー
 (74) 代理人 100109726
 弁理士 園田 吉隆
 (74) 代理人 100101199
 弁理士 小林 義教
 (72) 発明者 ヨナセン, イブ
 デンマーク国 ディーケー-2500 ヴ
 アルビ, キルケヴァンゲット 2
 (72) 発明者 ガリベイ, パトリック ウィリアム
 デンマーク国 ディーケー-2840 ホ
 ルト, サヴァエルクスヴェイ 3

最終頁に続く

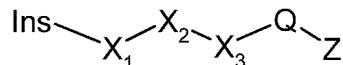
(54) 【発明の名称】インスリン誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次の式：

【化 4】



[上式中：

I n s は親インスリン部分であり、 X₁ - X₂ - X₃ - Q - Z は置換基であり、ここで、 I n s は、 I n s の B鎖の N-末端アミノ酸残基の -アミノ基、又は I n s の A 又は B鎖に存在する L y s 残基の -アミノ基と、置換基の X₁、 X₂ 又は X₃ 中の C O 基との間のアミド結合を介して置換基に結合しており； 10

X₁ は：

- ・ n が 1、2、3、4、5 又は 6 である、 -C O -(C H₂)_n；
- ・ -C O -((C R⁶ R⁷)_q - N R - C O)_{1 - 4} - で、 R⁶ 及び R⁷ が互いに独立して、また各 q 値からも独立して、水素、 C_{1 - 6}-アルキル、 C_{2 - 6}-アルケニル、 C_{2 - 6}-アルキニル、 -(C H₂)_{1 - 6}-C O O H； -(C H₂)_{1 - 6}-C O N H₂； -(C H₂)_{1 - 6}-S O₃H； -(C H₂)_{1 - 6}-P O₃H₂； -(C H₂)_{1 - 6}-O-S O₃H₂； 又は -(C H₂)_{1 - 6}-O-P O₃H であり、 q が 1 - 6 であり、 R が水素、 -(C H₂)_{1 - 6}-C O O H 20

$\text{--(CH}_2\text{)}_1\text{--}_6\text{-CONH}_2$; $\text{--(CH}_2\text{)}_1\text{--}_6\text{-SO}_3\text{H}$; $\text{--(CH}_2\text{)}_1\text{--}_6\text{-PO}_3\text{H}$
 $\text{--(CH}_2\text{)}_1\text{--}_6\text{-O-SO}_3\text{H}_2$; $\text{--(CH}_2\text{)}_1\text{--}_6\text{-O-PO}_3\text{H}_2$; $\text{C}_{1\text{--}6}\text{-アルキル}$
 $\text{C}_{2\text{--}6}\text{-アルケニル}$; $\text{C}_{2\text{--}6}\text{-アルキニル}$ 、又はアリール、又は $\text{CH}_2\text{-アリー}$
 ル であり、アリール基が -COOH 、 -CH_3 、 $\text{-SO}_3\text{H}$ 、 $\text{--(CH}_2\text{)}_1\text{--}_6\text{-SO}_3\text{H}$ 、 $\text{-PO}_3\text{H}_2$ 、 $\text{--(CH}_2\text{)}_1\text{--}_6\text{-O-PO}_3\text{H}_2$ 、テトラゾ-5-リル、又は CONH_2 、 $\text{C}_{1\text{--}6}\text{-アルキル}$ 、 $\text{C}_{2\text{--}6}\text{-アルケニル}$ 、 $\text{C}_{2\text{--}6}\text{-アルキニル}$ 、水素、ハロゲン、 -CN
 -CF_3 、 -OCF_3 、 $\text{-S(O)}_2\text{CF}_3$ 、 -SCF_3 、 -NO_2 、 -OR^2 、 -SR^2 、 $\text{-NR}^2\text{S(O)}_2\text{R}^3$ 、 $\text{-S(O)}_2\text{NR}^2\text{R}^3$ 、 $\text{-S(O)NR}^2\text{R}^3$ 、 -S(O)R^2 、 $\text{-S(O)}_2\text{R}^2$ 、 $\text{-C(O)NR}^2\text{R}^3$ 、 $\text{-OC(O)NR}^2\text{R}^3$ 、 $\text{-NR}^2\text{C(O)R}^3$ 、 $\text{-CH}_2\text{C(O)NR}^2\text{R}^3$ 、 $\text{-OCH}_2\text{C(O)NR}^2\text{R}^3$ 、 -OC(O)R^2 、 $\text{-OCH}_2\text{C(O)R}^2$ 、 -C(O)R^2 10
 R^2 又は -C(O)OR^2 、又は $\text{-OCH}_2\text{C(O)OR}^2$ からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよく、 R^2 及び R^3 が独立して、水素、 $\text{C}_{1\text{--}6}\text{-アルキル}$ 、 $\text{C}_{2\text{--}6}\text{-アルケニル}$ 又は $\text{C}_{2\text{--}6}\text{-アルキニル}$ であるもの；
 ・側鎖にカルボン酸を持つアミノ酸、無電荷側鎖を持つアミノ酸、又は負電荷側鎖を持つアミノ酸のアミノ酸アミド残基であって、そのカルボン酸基と共に、InsのB鎖のN-末端アミノ酸残基の-アミノ基、又はInsのA又はB鎖に存在するLys残基の-アミノ基と共同して、アミド結合を形成する残基；
 ・残基が上に特定した-アミノ酸アミド残基及びアミノ酸残基からなる群から選択され、アミド結合を介して、鎖が、InsのB鎖のN-末端アミノ酸残基の-アミノ基、又はInsのA又はB鎖に存在するLys残基の-アミノ基に結合している、アミド結合を介して結合した2、3又は4の残基からなる鎖、又は

・結合；

であり；

X_2 は：

--CO-
 $\text{--COCH(R}^8\text{)}\text{-}$;
 $\text{--COCH}_2\text{N(CH}_2\text{R}^8\text{)}\text{-}$;
 $\text{--COCH}_2\text{N(CH}_2\text{R}^8\text{)COCH}_2\text{N(CH}_2\text{R}^8\text{)}\text{-}$;
 $\text{--COCH}_2\text{CH}_2\text{N(CH}_2\text{CH}_2\text{R}^8\text{)}\text{-}$;
 $\text{--COCH}_2\text{CH}_2\text{N(CH}_2\text{CH}_2\text{R}^8\text{)COCH}_2\text{CH}_2\text{N(CH}_2\text{CH}_2\text{R}^8\text{)}\text{-}$ 30
 $\text{--COCH}_2\text{N(CH}_2\text{CH}_2\text{R}^8\text{)}\text{-}$;
 $\text{--COCH}_2\text{CH}_2\text{N(CH}_2\text{R}^8\text{)}\text{-}$;
 で、 R^8 が COOH 又は CONH_2 であるもの；

$\text{--CO-((CH}_2\text{)}_{2\text{--}6}\text{-NH-CO)}_1\text{--}_4\text{-}$;
 $\text{--(CO-(CH}_2\text{)}_{2\text{--}6}\text{-CO-NH)}_1\text{--}_4\text{-}$;
 $\text{--(CO-(CR}^9\text{R}^{10})_1\text{--}_6\text{-CO-NH)}_1\text{--}_4\text{-}$;
 で、 R^9 がH、 -COOH 、 $\text{--(CH}_2\text{)}_1\text{--}_6\text{COOH}$ 、 CH_3 、 $\text{--(CH}_2\text{)}_1\text{--}_6\text{CH}_3$ 40
 又は CONH_2 であり、 R^{10} がH、 $\text{--(CH}_2\text{)}_1\text{--}_6\text{COOH}$ 、 CH_3 又は $\text{--(CH}_2\text{)}_1\text{--}_6\text{CH}_3$ であるもの；
 ・結合；
 であり；
 但し、 X_1 又は X_2 中のアミンが残りの置換基と結合を形成するならば、アミンはカルボニル基を介して残りの置換基に結合しなければならず；
 X_3 は -C(=O)- であり、但し、 X_1 及び X_2 が結合であるならば、 X_3 のみが存在し；
 Qは、式 $\text{--(CH}_2\text{)}_{s1}\text{-Q}_1\text{--(CH}_2\text{)}_{s2}\text{-Q}_2\text{--(CH}_2\text{)}_{s3}\text{-Q}_3\text{--(CH}_2\text{)}_{s4}\text{-Q}_4\text{--(CH}_2\text{)}_{s5}$ の鎖であり；
 Q_1 、 Q_2 及び Q_3 が全て結合であり、 Q_4 が C_6H_4 であり、 $s2$ 、 $s3$ 及び $s4$ が全て1であり、 $s1$ が5、6、7又は8であり、 $s5$ が0、1又は2であり；
 Z は：

- C O O H ;
 - C O - A s p ;
 - C O - G l u ;
 - C O - G l y ;
 - C O - S a r ;
 - C H (C O O H) ₂ ;
 - N (C H ₂ C O O H) ₂ ;
 - S O ₃ H
 - P O ₃ H ₂ ;
 O - S O ₃ H ;
 O - P O ₃ H ₂ ; 又は
 テトラゾ-5-リル ;

10

である]

を有する、インスリン誘導体、又はそのZn²⁺錯体。

【請求項2】

X₁が、-D-A s p-アミド、-L-A s p-アミド、-L-G l u-アミド、及び-D-G l u-アミドからなる群から選択される、請求項1に記載のインスリン誘導体又はそのZn²⁺錯体。

【請求項3】

X₂が結合である、請求項1又は2に記載のインスリン誘導体又はそのZn²⁺錯体。

20

【請求項4】

X₂が、-(C O -(C H ₂) ₂ -N H -C O)₁-、又は-(C O -(C H ₂) ₃ -N H -C O)₁-、-C O-又は-C O C H (C O O H)-からなる群から選択される、請求項1又は2に記載のインスリン誘導体又はそのZn²⁺錯体。

【請求項5】

X₁が結合である、請求項1又は4に記載のインスリン誘導体又はそのZn²⁺錯体。

【請求項6】

Zが-COOHである、請求項1ないし5のいずれか1項に記載のインスリン誘導体又はそのZn²⁺錯体。

【請求項7】

親インスリンがdesB30ヒトイヌリンである、請求項1ないし6のいずれか1項に記載のインスリン誘導体又はそのZn²⁺錯体。

30

【請求項8】

請求項1ないし7のいずれか1項に記載のインスリン誘導体又はそのZn²⁺錯体の治療的有効量を、場合によっては薬学的に許容可能な担体と共に含有する、治療が必要な患者における糖尿病を治療するための薬学的組成物。

【請求項9】

糖尿病の肺処置用である、請求項8に記載の薬学的組成物。

【請求項10】

N^{B 2 9}-(12-(4-カルボキシフェニル)ドデカノイル- -G l u)desB30イ

40

ンスリン、

N^{B 2 9}-(-11-(4-カルボキシフェニル)ウンデカノイル- -G l u)desB3

0インスリン、

N^{B 2 9}-(12-(3-カルボキシフェニル)ドデカノイル- -G l u desB30イ

ンスリン、

N^{B 2 9}-(9-[4-(2-カルボキシエチル)フェニル]ノナノイル)- -G l u)des

B30インスリン、

N^{B 2 9}-(4-[11-(4-カルボキシフェニル)ウンデカノイルアミノ]ブチリル)des

B30インスリン、

N^{B 2 9}-[12-(5-カルボキシチオフェン-2-イル)ドデカノイル]desB30イ

50

ンスリン、又は

N^{B 2 9}-[1 2 -(5-カルボキシチオフェン-2-イル)ドデカノイル- -Glu]de
s B 3 0 インスリン、

からなる群から選択される、請求項 1 に記載のインスリン誘導体又はその Zn²⁺錯体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生理学的 pH 値で可溶性であり、長時間にわたる作用プロファイルを有する、新規のヒトインスリン誘導体に関する。また、本発明は、このような誘導体を含有する薬学的組成物、本発明のインスリン誘導体を使用する糖尿病及び高血糖症を治療する方法、及び糖尿病及び高血糖症の処置におけるこのようなインスリン誘導体の使用に関する。
10

【背景技術】

【0002】

現在、1型糖尿病及び2型糖尿病の双方の糖尿病の処置は、いわゆる強化インスリン処置に、かなりの程度で頼っている。この治療法によれば、患者は、基礎インスリン必要量を補うための持続型インスリンの1日1又は2回の注射を含む複数回の毎日のインスリン注射に、食事に関連したインスリン必要量を補うための速効型インスリンのボーラス注射が補填された治療を受ける。

持続型インスリン組成物は当該分野でよく知られている。しかし、持続型インスリン組成物の主要な一タイプは、インスリン結晶又は非晶質インスリンの注入可能な水性懸濁液を含む。これらの組成物において、典型的に利用されるインスリン化合物は、プロタミンインスリン、亜鉛インスリン又はプロタミン亜鉛インスリンである。
20

【0003】

インスリン懸濁液の使用に関しては、ある種の欠点がある。よって、正確な投与を確実にするためには、定められた量の懸濁液がバイアルから抜き出されるか、又はカートリッジから放出される前に、穏やかに振揺して、インスリン粒子を均質に懸濁させなければならない。また、インスリン懸濁液の保管においては、凝集体形成又は凝固を避けるために、温度を、インスリン溶液の場合よりもより狭い範囲内で保持しなければならない。

【0004】

WO 95 / 07931 (Novo Nordisk A/S) には、Lys^{B 2 9}の -アミノ基が脂質親和性置換基を有している、ヒトインスリン誘導体が開示されている。これらのインスリン誘導体は長時間にわたる作用プロファイルを有しており、生理学的 pH 値で可溶性である。
30

WO 2005 / 012347 (Novo Nordisk A/S) で公開されている国際特許出願は、B鎖の N-末端アミノ酸残基の -アミノ基、又は B 鎖に存在する Lys 残基の -アミノ基のいずれかに結合する側鎖を有するインスリン誘導体に関する。

国際特許出願 EP 2006 / 050593 (Novo Nordisk A/S) には、側鎖に少なくとも一の芳香族基を有するインスリン誘導体が開示されている。

【0005】

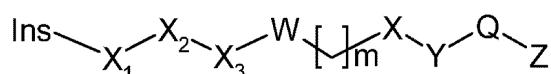
しかしながら、現在までに知られているインスリン誘導体より長時間にわたる作用プロファイルを有するインスリンが、なおも必要とされている。
40

【発明の概要】

【0006】

本発明は、次の式：

【化1】



[上式中：

I n s は親インスリン部分であり、 $X_1 - X_2 - X_3 - W - [CH_2]_m - X - Y - Q - Z$ は置換基であり、ここで、I n s は、I n s のB鎖のN-末端アミノ酸残基の -アミノ基、又は I n s のA又はB鎖に存在するL y s 残基の -アミノ基と、置換基の X_1 、 X_2 又は X_3 中のCO基との間のアミド結合を介して置換基に結合しており；

X_1 は：

- n が 1、2、3、4、5 又は 6 である、 $-CO-(CH_2)_n$ ；
- $-CO-((CR^6R^7)_q-NR-CO)_{1-4}$ で、 R^6 及び R^7 が互いに独立して、また各 q 値も独立して、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、 C_{2-6} -アルキニル、 $-(CH_2)_{1-6}-COOH$ ； $-(CH_2)_{1-6}-CONH_2$ ； $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ ； $-(CH_2)_{1-6}-PO_3H_2$ ； $-(CH_2)_{1-6}-O-SO_3H_2$ ； $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H$ とすることができ、 q が 1-6 であり、 R が水素、 $-(CH_2)_{1-6}-COO$ H ； $-(CH_2)_{1-6}-CONH_2$ ； $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ ； $-(CH_2)_{1-6}-PO_3H_2$ ； $-(CH_2)_{1-6}-O-SO_3H_2$ ； $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ ； C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル； C_{2-6} -アルキニル、又はアリール、又は CH_2 -アリールであり、アリール基が $-COOH$ 、 $-CH_3$ 、 $-SO_3H$ 、 $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ 、テトラゾ-5-リル、又は $CONH_2$ 、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、 C_{2-6} -アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R² 又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR² からなる群から選択される 1 又は 2 の基で置換されていてもよく、 R^2 及び R^3 が独立して、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル又は C_{2-6} -アルキニルであるもの；
- 側鎖にカルボン酸を持つアミノ酸、無電荷側鎖を持つアミノ酸、又は負電荷側鎖を持つアミノ酸のアミノ酸アミド残基であって、そのカルボン酸基と共に、I n s のB鎖のN-末端アミノ酸残基の -アミノ基、又は I n s のA又はB鎖に存在するL y s 残基の -アミノ基と共同して、アミド結合を形成する残基；
- 残基が上に特定した -アミノ酸アミド残基及びアミノ酸残基からなる群から選択され、アミド結合を介して、鎖が、I n s のB鎖のN-末端アミノ酸残基の -アミノ基、又は I n s のA又はB鎖に存在するL y s 残基の -アミノ基に結合している、アミド結合を介して結合した 2、3 又は 4 の残基からなる鎖、又は

• 結合；

であり；

X_2 は：

- $-CO-$
- $-COCH(R^8)-$ ；
- $-COCH_2N(CH_2R^8)-$ ；
- $-COCH_2N(CH_2R^8)COCH_2N(CH_2R^8)-$ ；
- $-COCH_2CH_2N(CH_2CH_2R^8)-$ ；
- $-COCH_2CH_2N(CH_2CH_2R^8)-COCH_2CH_2N(CH_2CH_2R^8)-$ ；
- $-COCH_2N(CH_2CH_2R^8)-$ ；
- $-COCH_2CH_2N(CH_2R^8)-$ ；

で、 R^8 が $COOH$ 又は $CONH_2$ とすることができるもの；

- $-CO-((CH_2)_{2-6}-NH-CO)_{1-4}$ ；
- $-CO-(CH_2)_{2-6}-CO-NH)_{1-4}$ ；
- $-CO-(CR^9R^{10})_{1-6}-CO-NH)_{1-4}$ ；

で、 R^9 が H、 $-COOH$ 、 $-(CH_2)_{1-6}COOH$ 、 CH_3 、 $-(CH_2)_{1-6}CH_3$ 又は $CONH_2$ とすることができ、 R^{10} が H、 $-(CH_2)_{1-6}COOH$ 、 CH_3 又は -

(CH₂)_{1~6}CH₃とすることができるもの；

・結合；

であり；

但し、X₁又はX₂中のアミンが残りの置換基と結合を形成するならば、アミンはカルボニル基を介して残りの置換基に結合しなければならず；

X₃は-C=Oであり、但し、X₁及びX₂が結合であるならば、X₃のみが存在し；

Wは：

··COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)_{1~6}-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)_{1~6}-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1、2、3又は4の基で置換されていてもよいアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、又はC_{2~6}-アルキニルであり；R²及びR³が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；

··COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)_{1~6}-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)_{1~6}-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されたヘテロアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、炭素原子上の置換については、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、又はC_{2~6}-アルキニルであり、また窒素原子上の置換については、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、C(O)-C_{1~6}-アルキル、C(O)-C_{2~6}-アルケニル、又はC(O)-C_{2~6}-アルキニルからなる群から選択されるもの；又は

・結合；

であり、

mは0、1、2、3、4、5又は6であり；

Xは：

··O-；

··C=O；

··S-；

··S=O；

··SO₂；

・次の式：

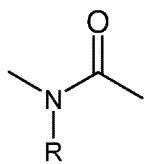
10

20

30

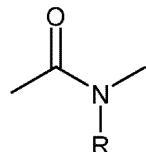
40

【化2】



【化3】

10



(上式中: R は、水素、C₁ - 6 - アルキル、C₂ - 6 - アルケニル又はC₂ - 6 - アルキニルである)

のもの; 又は

・結合;

20

であり;

Y は:

・-(C R⁶ R⁷)_q-N R¹-C O) 1 - 4 - で、R⁶ 及びR⁷ が互いに独立して、H、-C O O H、又はO Hとすることができます、q が1 - 6 であり、R¹ が水素、-(C H₂)₁ - 6 - C O O H ; -(C H₂)₁ - 6 - C O N H₂ ; -(C H₂)₁ - 6 - S O₃ H ; -(C H₂)₁ - 6 - P O₃ H₂ ; -(C H₂)₁ - 6 - O-S O₃ H₂ ; -(C H₂)₁ - 6 - O-P O₃ H₂ ; C₁ - 6 - アルキル、C₂ - 6 - アルケニル、C₂ - 6 - アルキニル、又はアリール、又はC H₂-アリールであり、ここでアリール基が、-C O O H、-C H₃、-S O₃ H、-(C H₂)₁ - 6 - S O₃ H、-P O₃ H₂、-(C H₂)₁ - 6 - O-P O₃ H₂、テトラゾ-5-リル、又はC O N H₂、C₁ - 6 - アルキル、C₂ - 6 - アルケニル、C₂ - 6 - アルキニル、水素、ハロゲン、-C N、-C F₃、-O C F₃、-S(O)₂ C F₃、-S C F₃、-N O₂、-O R²、-S R²、-N R² S(O)₂ R³、-S(O)₂ N R² R³、-S(O)N R² R³、-S(O)R²、-S(O)₂ R²、-C(O)N R² R³、-O C(O)N R² R³、-N R² C(O)R³、-C H₂ C(O)N R² R³、-O C H₂ C(O)N R² R³、-O C(O)R²、-O C H₂ C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)O R²、又は-O C H₂ C(O)O R² からなる群から選択される1又は複数の基で置換されていてもよく、R² 及びR³ が独立して、水素、C₁ - 6 - アルキル、C₂ - 6 - アルケニル、又はC₂ - 6 - アルキニルであるもの;

・R¹ が上述したものである-N C O R¹ ; 又は

・結合;

であり;

40

Q は、式-(C H₂)_s₁-Q₁-(C H₂)_s₂-Q₂-(C H₂)_s₃-Q₃-(C H₂)_s₄-Q₄-(C H₂)_s₅-の鎖であり; ここでQ₁-Q₃ が互いに独立して、O、S、S(O)、S(O)₂、P(O₂H)、-O-P(O₂H)-O-、-N(C O R²)-、又は結合とすることができます; R² が水素、C₁ - 6 - アルキル、C₂ - 6 - アルケニル、C₂ - 6 - アルキニルであり;

Q₄ が:

・-C O O H、-C H₃、-S O₃ H、-(C H₂)₁ - 6 - S O₃ H、-P O₃ H₂、-(C H₂)₁ - 6 - O-P O₃ H₂、テトラゾ-5-リル、又はC O N H₂、C₁ - 6 - アルキル、C₂ - 6 - アルケニル、C₂ - 6 - アルキニル、水素、ハロゲン、-C N、-C F₃、-O C F₃、-S(O)₂ C F₃、-S C F₃、-N O₂、-O R²、-S R²、-N R² S(O)₂ R³、-

50

$S(O)_2NR^2R^3$ 、 $-S(O)NR^2R^3$ 、 $-S(O)R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)NR^2R^3$ 、 $-NR^2C(O)R^3$ 、 $-CH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)R^2$ 、 $-OCH_2C(O)R^2$ 、又は $-C(O)OR^2$ 、又は $-OCH_2C(O)OR^2$ からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよいアリーレンで、ここで R^2 及び R^3 が独立して、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、又は C_{2-6} -アルキニルであり； R^2 及び R^3 が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；

10

$-COOH$ 、 $-CH_3$ 、 $-SO_3H$ 、 $-(CH_2)_{1-6}SO_3H$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_{1-6}OPO_3H_2$ 、テトラゾ-5-リル、又は $CONH_2$ 、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、 C_{2-6} -アルキニル、水素、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-S(O)_2CF_3$ 、 $-SCF_3$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^2$ 、 $-SR^2$ 、 $-NR^2S(O)_2R^3$ 、 $-S(O)_2NR^2R^3$ 、 $-S(O)NR^2R^3$ 、 $-S(O)R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)NR^2R^3$ 、 $-NR^2C(O)R^3$ 、 $-CH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)R^2$ 、又は $-C(O)OR^2$ 、又は $-OCH_2C(O)OR^2$ からなる群から選択される1又は2の基で置換されたヘテロアリーレンで、ここで R^2 及び R^3 が独立して、炭素原子上の置換については、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、又は C_{2-6} -アルキニルであり、また窒素原子上の置換については、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、 C_{2-6} -アルキニル、 $C(O)-C_{1-6}$ -アルキル、 $C(O)-C_{2-6}$ -アルケニル、又は $C(O)-C_{2-6}$ -アルキニルからなる群から選択されるもの；

20

とすることができる、ここでs1、s2、s3及びs4は互いに独立して、s1、s2、s3及びs4の合計が4~22の範囲になるような、0又は1~10の整数とることができ；s5は0又は1~3の整数であり、但し；

- Q_1 、 Q_2 及び Q_3 は互いに結合を形成しなくてもよく、
- s1、s2及びs3が0又は1であるならば、いずれの $-CH_2-$ も、次の原子：O、N、S、又はPの2つに結合できず、
- Q_4 がアリーレン又はヘテロアリーレンであるならば、酸素原子を介して脂肪族鎖に結合せず；
- 30
- Q_4 が C_6H_4 であるならば、硫黄を介して脂肪族鎖に結合せず；

Zは：

- $COOH$ ；
- $CO-Asp$ ；
- $CO-Glu$ ；
- $CO-Gly$ ；
- $CO-Sar$ ；
- $CH(COOH)_2$ ；
- $N(CH_2COOH)_2$ ；
- SO_3H
- PO_3H_2 ；
- O- SO_3H ；
- O- PO_3H_2 ；又は
- テトラゾ-5-リル；

40

である]

を有するインスリン誘導体、及びその任意の Z^{n-2+} 錯体に関する。

【発明を実施するための形態】

【0007】

(定義)

ここで使用される「インスリンアナログ(類似体)」とは、天然に生じるインスリン中

50

に生じる少なくとも一つのアミノ酸残基を欠失させ、及び／又は交換することにより、及び／又は少なくとも一つのアミノ酸残基を付加することによって、天然に生じるインスリン、例えばヒトインスリンの構造から形式的には誘導することができる分子構造を有するポリペプチドを意味する。付加された及び／又は交換されたアミノ酸残基は、コード可能なアミノ酸残基又は他の天然に生じるアミノ酸残基又は純粋に合成のアミノ酸残基の何れかとすることができます。本発明の態様においては、最大17のアミノ酸が修飾される。インスリンアナログは、B鎖の28位が、天然Pro残基から、Asp、Lys又はIleの一つに修飾され得るものであってよい。また、A21位のAsnは、Ala、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Met、Ser、Thr、Trp、Tyr又はVal、特にGly、Ala、Ser、又はThr、好ましくはGlyに修飾されてもよい。さらに、B3位のAsnはLys又はAspに修飾されてよい。インスリンアナログのさらなる具体例は、des(B30)ヒトインスリン；des(B30)ヒトインスリンアナログ；PheB1が欠失しているインスリンアナログ；A鎖及び／又はB鎖がN-末端伸長を有しているインスリンアナログ、及びA鎖及び／又はB鎖がC-末端伸長を有しているインスリンアナログである。例えば、1又は2のArgが、B1位に付加されてもよい。

本発明の態様においては、最大15のアミノ酸が修飾される。本発明の態様においては、最大10のアミノ酸が修飾される。本発明の態様においては、最大8のアミノ酸が修飾される。本発明の態様においては、最大7のアミノ酸が修飾される。本発明の態様においては、最大6のアミノ酸が修飾される。本発明の態様においては、最大5のアミノ酸が修飾される。本発明の態様においては、最大4のアミノ酸が修飾される。本発明の態様においては、最大3のアミノ酸が修飾される。本発明の態様においては、最大2のアミノ酸が修飾される。本発明の態様においては、1のアミノ酸が修飾される。

【0008】

「desB30インスリン」、「desB30ヒトインスリン」とは、B30アミノ酸残基を欠く天然インスリン又はそのアナログを意味する。同様に、「desB29desB30インスリン」又は「desB29desB30ヒトインスリン」とは、B29及びB30アミノ酸残基を欠く天然インスリン又はそのアナログを意味する。

「B1」、「A1」等とは、それぞれインスリンのB鎖の1位(N-末端から数える)のアミノ酸残基及びインスリンのA鎖の1位(N-末端から数える)のアミノ酸残基を意味する。特定の位置にあるアミノ酸残基は、例えばB1位のアミノ酸残基がフェニルアラニン残基であることを意味する、PheB1として表される。

【0009】

ここで使用される「インスリン」とは、CysA7とCysB7の間と、CysA20とCysB19の間にジスルフィド架橋を、またCysA6とCysA11の間に内部ジスルフィド架橋を有するヒトインスリン、ブタインスリン、又はウシインスリンを意味する。

「親インスリン」とは、天然に生じるインスリン、例えばヒトインスリン又はブタインスリンを意味する。また親インスリンはインスリンアナログであってよい。

【0010】

「非荷電」なる表現は、4と9の間のpHで帯電していると思われる基又は基類が存在していないことを意味する。例えば、遊離のカルボン酸は存在していない。

「負に帯電」なる表現は、4と9の間のpHで負に帯電していると思われる少なくとも一の基が存在することを意味する。

【0011】

本発明のインスリン誘導体が「生理学的pH値で可溶性である」と記載されている場合は、インスリン誘導体が生理学的pH値で十分に溶解するインスリン組成物を調製するのに使用可能であることを意味する。このような好ましい溶解度は、インスリン誘導体単独の固有の特性、又はインスリン誘導体と、ビヒクルに含まれる一又は複数の成分との好ましい相互作用の結果のいずれかによるものである。

10

20

30

40

50

「アミノ酸アミド残基」とは、アミノ酸のアルファ-カルボキシアミドを意味するか、もしくはアミノ酸が側鎖にカルボン酸を有しているならば、「アミノ酸アミド」とは、特定されるようにアルファ-カルボキシ基のアミド、又は側鎖カルボキシ基のアミドを意味する。

【0012】

ここで使用される場合、「アリーレン」なる用語は、二価の炭素環式芳香環系、例えばフェニレン、ビフェニリレン、ナフチレン、アントラセニレン、フェナントレニレン、フルオレニレン、インデニレン、ペンタレニレン、アズレニレン等を含むことを意図している。またアリーレンは、上述にて列挙した炭素環系の部分的に水素化された誘導体を含むことも意図している。このような部分的に水素化された誘導体の非限定的例は、1,2,3,4-テトラヒドロナフチレン、1,4-ジヒドロナフチレン等である。本発明の一実施態様において、「アリーレン」はフェニレンを表す。10

【0013】

ここで使用される場合、「ヘテロアリーレン」とは、窒素、酸素及び硫黄から選択される一又は複数のヘテロ原子を有する複素環式芳香族環系、例えばフリル、チエニル、ピロリル、オキサゾリル、チアゾリル、イミダゾリル、イソキサゾリル、イソチアゾリル、1,2,3-トリアゾリル、1,2,4-トリアゾリル、ピラニル、ピリジル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、1,2,3-トリアジニル、1,2,4-トリアジニル、1,3,5-トリアジニル、1,2,3-オキサジアゾリル、1,2,4-オキサジアゾリル、1,2,5-オキサジアゾリル、1,3,4-オキサジアゾリル、1,2,3-チアジアゾリル、1,2,4-チアジアゾリル、1,2,5-チアジアゾリル、1,3,4-チアジアゾリル、テトラゾリル、チアジアジニル、インドリル、イソインドリル、ベンゾフリル、ベンゾチエニル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンズチアゾリル、ベンズイソチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンズイソオキサゾリル、ブリニル(purinyl)、キナゾリニル、キノリジニル、キノリニル、イソキノリニル、キノキサリニル、ナフチリジニル(naphthyridinyl)、ブテリジニル、カルバゾリル、アゼピニル、ジアゼピニル、アクリジニル等を含むことを意図している。またヘテロアリールは、上述にて列挙された複素環系の部分的に水素化された誘導体を含むことを意図している。このような部分的に水素化された誘導体の非限定的例は、2,3-ジヒドロベンゾフラニル、ベンゾジオキサン二ル、ベンゾオキサン二ル、メチレンジオキシベンゼン、ジフェニレンオキシド、ピロリニル、ピラゾリニル、インドリニル、オキサゾリジニル、オキサゾリニル、オキサゼピニル等である。20

本発明の一実施態様において、「ヘテロアリール」とは、フリル、チエニル、チアゾリル、テトラゾリル、ピリジル、オキサゾリル、2,3-ジヒドロベンゾフラニル、ベンゾジオキサン二ル、ベンゾオキサン二ル、メチレンジオキシベンゼン、ジフェニレンオキシド、ピロリニル、ピラゾリニル、インドリニル、オキサゾリジニル、オキサゾリニル、オキサゼピニルを表す。30

【0014】

「ハロゲン」とは、F、Cl、Br及びIからなる群から選択される原子である。

ここで使用される場合「C₁~₆-アルキル」なる用語は、1~6の炭素原子を有する、飽和した分枝状又は直鎖状の炭化水素基を表す。代表例には、限定されるものではないが、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル、n-ヘキシル、イソヘキシル等が含まれる。40

【0015】

ここで使用される場合、「C₂~₆-アルケニル」なる用語は、2~6の炭素原子と少なくとも一の二重結合を有する、分枝状又は直鎖状の炭化水素基を表す。このような基の例には、限定されるものではないが、ビニル、1-プロペニル、2-プロペニル、イソ-ブロペニル、1,3-ブタジエニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、2-メチル-1-プロペニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、3-ペンテニル、4-ペンテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、2,4-ヘキサジエ50

ニル、5-ヘキセニル等が含まれる。

ここで使用される場合、「C₂-₆-アルキニル」なる用語は、2~6の炭素原子と少なくとも一の三重結合を有する、分枝状又は直鎖状の炭化水素基を表す。このような基の例には、限定されるものではないが、エチニル、1-プロピニル、2-プロピニル、1-ブチニル、2-ブチニル、3-ブチニル、1-ペンチニル、2-ペンチニル、3-ペンチニル、4-ペンチニル、1-ヘキシニル、2-ヘキシニル、3-ヘキシニル、4-ヘキシニル、5-ヘキシニル、2,4-ヘキサジニル等が含まれる。

【0016】

以下の略語が、明細書及び実施例で使用される：

C V	カラム容量	10
E D T A	エチレンジアミン四酢酸	
H I	ヒトインスリン	
H P L C	高速液体クロマトグラフィー	
H S A	ヒト血清アルブミン	
L C	液体クロマトグラフィー	
M A L D I	マトリックス支援レーザー脱離イオン化	
M S	質量分析	
N M P	N-メチル-2-ピロリドン	
R T	室温	
S E C	サイズ排除クロマトグラフィー	20
S P A	シンチレーション近接アッセイ	
T r i s	トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン	
v o l %	容量パーセンテージ	
O . D .	光学密度 = 吸光度	
X 2 モノマー	A s p B 9 G 1 u B 2 7 ヒトインスリン	
h G l u	ホモ-グルタミン酸	
A a d	アルファ-アミノ-アジピン酸(ホモグルタミン酸)	
B z l = B n	ベンジル	
D I E A	N,N-ジイソプロピルエチルアミン	
D M F	N,N-ジメチルホルムアミド	30
I D A	イミノ二酢酸	
S a r	サルコシン(N-メチル-グリシン)	
t B u	tert-ブチル	
H S T U	O-(N-スクシンイミジル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウム-ヘキサフルオロホスファート	
T S T U	O-(N-スクシンイミジル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウム-テトラフルオロボラート	
T H F	テトラヒドロフラン	
E t O A c	酢酸エチル	
D I P E A	ジイソプロピルエチルアミン	40
H O A t	1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール	
T E A	トリエチルアミン	
S u	N-スクシンイミジル=2,5-ジオキソ-ピロリジン-1-イル	
T F A	トリフルオロ酢酸	
D C M	ジクロロメタン	
D M S O	ジメチルスルホキシド	
T C L	薄層クロマトグラフィー	
R T	室温	

【0017】

ここに引用された刊行物、特許出願及び特許を含む全ての参照は、各文献が、出典明示

により個々にかつ特に援用され、その全内容がここに記載されているかの如く、その全体が出典明示によりその全内容がここに援用される(法律により許容される最大範囲)。

全ての表題及び副題は、ここでは便宜的に使用され、決して本発明を限定するものと解すべきではない。

ここに提供される任意かつ全ての例、又は例示的言語(例えば「等」)の使用は、単に本発明をより明らかにすることを意図しており、特に請求項に記載がない限り、本発明の範囲に限定をもたらすものではない。明細書中の如何なる語句も請求項に記載していない要素が本発明の実施に必須であることを示しているものと解すべきではない。

ここで特許文献の引用及び援用は単に便宜上なされているもので、そのような特許文献の有効性、特許性、及び/又は権利行使性についての見解を反映させるものではない。

この発明は、適用される法律に容認される場合、ここに付加される請求項に列挙された主題事項の全ての修正点及び等価物を含む。

【0018】

(発明の記載)

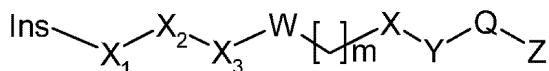
本発明は、インスリン誘導体分子中の置換基に末端芳香族基を設けることが、持続型インスリンの作用のインビオ持続時間と、鈍化させることのない速効型インスリンと持続型インスリンとの混合可能性について重要な役割を担っているとの知見に基づいている。

有利には、本発明のインスリン誘導体は生理学的pH値で可溶性であり、ヒトインスリンのものに匹敵する有効性を有し、鈍化せることなく速攻型インスリンと混合可能である。混合された基礎及びボーラスインスリンの個々の作用プロファイルは、インスリン六量体当たり3を越えるZn(I I)を含有する製剤と比較して、製剤中での沈殿リスクを制限するZn(I I)をインスリン六量体当たり約3まで又はそれ未満のZn(I I)濃度で含む製剤において保持される。

【0019】

本発明は、次の式：

【化4】



30

[上式中：

I n s は親インスリン部分であり、X₁ - X₂ - X₃ - W - [CH₂]_m - X - Y - Q - Z は置換基であり、ここで、I n s は、I n s のB鎖のN-末端アミノ酸残基の-アミノ基、又はI n s のA又はB鎖に存在するL y s 残基の-アミノ基と、置換基のX₁、X₂又はX₃中のCO基との間のアミド結合を介して置換基に結合しており；

X₁ は：

- ・ n が1、2、3、4、5又は6である、-CO-(CH₂)_n；
- ・ -CO-((CR⁶R⁷)_q-NR-CO)₁₋₄で、R⁶及びR⁷が互いに独立して、また各q値も独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、-(CH₂)₁₋₆-COOH；-(CH₂)₁₋₆-CONH₂；-(CH₂)₁₋₆-SO₃H；-(CH₂)₁₋₆-PO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-SO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃Hとすることができ、qが1-6であり、Rが水素、-(CH₂)₁₋₆-COO₂H；-(CH₂)₁₋₆-CONH₂；-(CH₂)₁₋₆-SO₃H；-(CH₂)₁₋₆-PO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-SO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂；C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル；C₂₋₆-アルキニル、又はアリール、又はCH₂-アリールであり、アリール基が-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-

50

$\text{N R}^2 \text{S(O)}_2 \text{R}^3$ 、 $-\text{S(O)}_2 \text{N R}^2 \text{R}^3$ 、 $-\text{S(O)N R}^2 \text{R}^3$ 、 $-\text{S(O)R}^2$ 、 $-\text{S(O)}$
 R^2 、 $-\text{C(O)N R}^2 \text{R}^3$ 、 $-\text{O C(O)N R}^2 \text{R}^3$ 、 $-\text{N R}^2 \text{C(O)R}^3$ 、 $-\text{C H}_2 \text{C(O)}$
 $\text{N R}^2 \text{R}^3$ 、 $-\text{O C H}_2 \text{C(O)N R}^2 \text{R}^3$ 、 $-\text{O C(O)R}^2$ 、 $-\text{O C H}_2 \text{C(O)R}^2$ 、 $-\text{C(O)R}^2$ 又は $-\text{C(O)OR}^2$ 、又は $-\text{O C H}_2 \text{C(O)OR}^2$ からなる群から選択される 1 又
 は 2 の基で置換されていてもよく、 R^2 及び R^3 が独立して、水素、 C_{1-6} -アルキル
 、 C_{2-6} -アルケニル又は C_{2-6} -アルキニルであるもの；

・側鎖にカルボン酸を持つアミノ酸、無電荷側鎖を持つアミノ酸、又は負電荷側鎖を持つ
 アミノ酸のアミノ酸アミド残基であって、そのカルボン酸基と共に、Ins の B 鎖の N-
 末端アミノ酸残基の -アミノ基、又は Ins の A 又は B 鎖に存在する Lys 残基の -ア
 ミノ基と共同して、アミド結合を形成する残基；

・残基が上に特定した -アミノ酸アミド残基及びアミノ酸残基からなる群から選択され
 、アミド結合を介して、鎖が、Ins の B 鎖の N-末端アミノ酸残基の -アミノ基、又は
 Ins の A 又は B 鎖に存在する Lys 残基の -アミノ基に結合している、アミド結合を
 介して結合した 2、3 又は 4 の残基からなる鎖、又は

・結合；

であり；

X_2 は：

・ -CO-

・ -COCH(R⁸)-；

・ -COCH₂N(CH₂R⁸)-；

・ -COCH₂N(CH₂R⁸)COCH₂N(CH₂R⁸)-；

・ -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-；

・ -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-；

・ -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-；

・ -COCH₂CH₂N(CH₂R⁸)-；

で、 R^8 が COOH 又は CONH_2 とすることができるもの；

・ -CO-((CH₂)₂₋₆-NH-CO)₁₋₄-；

・ -(CO-(CH₂)₂₋₆-CO-NH)₁₋₄-；

・ -(CO-(CR⁹R¹⁰)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-；

で、 R^9 が H、-COOH、-(CH₂)₁₋₆COOH、CH₃、-(CH₂)₁₋₆CH₃ 又は
 CONH_2 とすることができ、 R^{10} が H、-(CH₂)₁₋₆COOH、CH₃ 又は-(CH₂)₁₋₆CH₃ とする
 ことができるもの；

・結合；

であり；

但し、 X_1 又は X_2 中のアミンが残りの置換基と結合を形成するならば、アミンはカル
 ボニル基を介して残りの置換基に結合しなければならず；

X_3 は -C=O であり、但し、 X_1 及び X_2 が結合であるならば、 X_3 のみが存在し；

W は：

・ -COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又は CONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR² からなる群から選択される 1、2、3 又は 4 の基で置
 換されていてもよいアリーレンで、ここで R^2 及び R^3 が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり； R^2 及び R^3 が同じ窒
 素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される
 1 又は 2 のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1 又は 2 の二重結合を有していても

よい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；

・-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)OR²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されたヘテロアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、炭素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり、また窒素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、C(O)-C₁₋₆-アルキル、C(O)-C₂₋₆-アルケニル、又はC(O)-C₂₋₆-アルキニルからなる群から選択されるもの；又は

・結合；

であり；

mは0、1、2、3、4、5又は6であり；

Xは：

・-O-；

・-C=O；

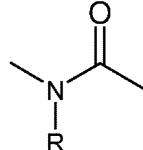
・-S-；

・-S=O；

・-SO₂；

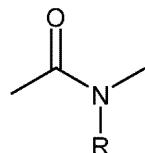
・次の式：

【化5】



20

【化6】



30

(上式中：Rは、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル又はC₂₋₆-アルキニルである)

のもの；又は

・結合；

であり；

Yは：

・-(CR⁶R⁷)_q-NR¹-CO₁₋₄-で、R⁶及びR⁷が互いに独立して、H、-COOH、又はOHとすることができます、qが1-6であり、R¹が水素、-(CH₂)₁₋₆-COOH；-(CH₂)₁₋₆-CONH₂；-(CH₂)₁₋₆-SO₃H；-(CH₂)₁₋₆-PO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-SO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂；C₁₋₆

40

50

-アルキル、 $C_{2\sim6}$ -アルケニル； $C_{2\sim6}$ -アルキニル、又はアリール、又は CH_2 -アリールであり、ここでアリール基が、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)_{1~6}-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)_{1~6}-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は複数の基で置換されていてもよく、R²及びR³が独立して、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、又はC_{2~6}-アルキニルであるもの；

• R¹が上述したものである-NCOR¹；又は

・結合；

であり；

Qは、式-(CH₂)_{s1}-Q₁-(CH₂)_{s2}-Q₂-(CH₂)_{s3}-Q₃-(CH₂)_{s4}-Q₄-(CH₂)_{s5}の鎖であり；ここでQ₁-Q₃が互いに独立して、O、S、S(O)、S(O)₂、P(O₂H)、-O-P(O₂H)-O-、-N(COR²)-、又は結合とすることができ；R²が水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニルであり；

Q₄が：

• -COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)_{1~6}-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)_{1~6}-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよいアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、又はC_{2~6}-アルキニルであり；R²及びR³が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；又は

• -COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)_{1~6}-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)_{1~6}-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されたヘテロアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、炭素原子上の置換については、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、又はC_{2~6}-アルキニルであり、また窒素原子上の置換については、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、C(O)-C_{1~6}-アルキル、C(O)-C_{2~6}-アルケニル、又はC(O)-C_{2~6}-アルキニルからなる群から選択されるもの；

とすることができる、ここで、s1、s2、s3及びs4は互いに独立して、s1、s2、s3及びs4の合計が4~22の範囲になるような、0又は1~10の整数とすることができます；s5は0又は1~3の整数であり、但し；

-Q₁、Q₂及びQ₃は互いに結合を形成しなくてもよく、

10

20

30

40

50

- s 1、s 2 及び s 3 が 0 又は 1 であるならば、いずれの - C H₂ - も、次の原子：O、N、S、又はPの2つに結合できず；
 - Q₄ がアリーレン又はヘテロアリーレンであるならば、酸素原子を介して脂肪族鎖に結合せず；
 - Q₄ が C₆H₄ であるならば、硫黄を介して脂肪族鎖に結合せず；
- Z は：

- C O O H ;
- C O - A s p ;
- C O - G l u ;
- C O - G l y ;
- C O - S a r ;
- C H (C O O H)₂ ;
- N (C H₂ C O O H)₂ ;
- S O₃ H
- P O₃ H₂ ;
- O - S O₃ H ;
- O - P O₃ H₂ ; 又は
テトラゾ-5-リル；

10

である]

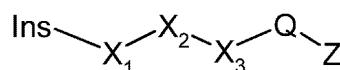
を有するインスリン誘導体、及びその任意の Z n²⁺ 錯体に関する。

20

【0020】

一態様において、本発明は、次の式：

【化7】



[上式中：

I n s は親インスリン部分であり、X₁ - X₂ - X₃ - Q - Z は置換基であり、ここで、I n s は、I n s のB鎖のN-末端アミノ酸残基の -アミノ基、又はI n s のA又はB鎖に存在するL y s 残基の -アミノ基と、置換基のX₁、X₂ 又はX₃ 中のCO基との間のアミド結合を介して置換基に結合しており；

30

X₁ は：

- n が 1、2、3、4、5 又は 6 である、- C O -(C H₂)_n ;
- - C O - ((C R⁶ R⁷)_q - N R - C O)_{1 - 4} - で、R⁶ 及び R⁷ が互いに独立して、また各 q 値も独立して、水素、C_{1 - 6}-アルキル、C_{2 - 6}-アルケニル、C_{2 - 6}-アルキニル、-(C H₂)_{1 - 6}-C O O H ; -(C H₂)_{1 - 6}-C O N H₂ ; -(C H₂)_{1 - 6}-S O₃ H ; -(C H₂)_{1 - 6}-P O₃ H₂ ; -(C H₂)_{1 - 6}-O - S O₃ H₂ ; -(C H₂)_{1 - 6}-O - P O₃ H とすることができ、q が 1 - 6 であり、R が水素、-(C H₂)_{1 - 6}-C O O H ; -(C H₂)_{1 - 6}-C O N H₂ ; -(C H₂)_{1 - 6}-S O₃ H ; -(C H₂)_{1 - 6}-P O₃ H₂ ; -(C H₂)_{1 - 6}-O - S O₃ H₂ ; -(C H₂)_{1 - 6}-O - P O₃ H₂ ; C_{1 - 6}-アルキル、C_{2 - 6}-アルケニル；C_{2 - 6}-アルキニル、又はアリール、又はC H₂-アリールであり、アリール基が-COOH、-C H₃、-S O₃ H、-(C H₂)_{1 - 6}-S O₃ H、-P O₃ H₂、-(C H₂)_{1 - 6}-O - P O₃ H₂、テトラゾ-5-リル、又はC O N H₂、C_{1 - 6}-アルキル、C_{2 - 6}-アルケニル、C_{2 - 6}-アルキニル、水素、ハロゲン、-C N、-C F₃、-O C F₃、-S(O)₂ C F₃、-S C F₃、-N O₂、-O R²、-S R²、-N R² S(O)₂ R³、-S(O)₂ N R² R³、-S(O) N R² R³、-S(O) R²、-S(O)₂ R²、-C(O) N R² R³、-O C(O) N R² R³、-N R² C(O) R³、-C H₂ C(O) N R² R³、-O C H₂ C(O) N R² R³、-O C(O) R²、-O C H₂ C(O) R²、-C(O) R² 又は-C(O) O R²、又は-O C H₂ C(O) O R² からなる群から選択される 1 又

40

50

は2の基で置換されていてもよく、R²及びR³が独立して、水素、C₁-6-アルキル、C₂-6-アルケニル又はC₂-6-アルキニルであるもの；

・側鎖にカルボン酸を持つアミノ酸、無電荷側鎖を持つアミノ酸、又は負電荷側鎖を持つアミノ酸のアミノ酸アミド残基であって、そのカルボン酸基と共に、InsのB鎖のN-末端アミノ酸残基の-N-アミノ基、又はInsのA又はB鎖に存在するLys残基の-N-アミノ基と共同して、アミド結合を形成する残基；

・残基が上に特定した-N-アミノ酸アミド残基及びアミノ酸残基からなる群から選択され、アミド結合を介して、鎖が、InsのB鎖のN-末端アミノ酸残基の-N-アミノ基、又はInsのA又はB鎖に存在するLys残基の-N-アミノ基に結合している、アミド結合を介して結合した2、3又は4の残基からなる鎖、又は

10

・結合；

であり；

X₂は：

--CO-

--COCH(R⁸)-；

--COCH₂N(CH₂R⁸)-；

--COCH₂N(CH₂R⁸)COCH₂N(CH₂R⁸)-；

--COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-；

--COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-；

--COCH₂N(CH₂CH₂R⁸)-；

--COCH₂CH₂N(CH₂R⁸)-；

で、R⁸がCOOH又はCONH₂とすることができるもの；

--CO-((CH₂)₂-6-NH-CO)₁-4-；

--(CO-(CH₂)₂-6-CO-NH)₁-4-；

--(CO-(CR⁹R¹⁰)₁-6-CO-NH)₁-4-；

で、R⁹がH、-COOH、-(CH₂)₁-6COOH、CH₃、-(CH₂)₁-6CH₃又はCONH₂とすることができ、R¹⁰がH、-(CH₂)₁-6COOH、CH₃又是-(CH₂)₁-6CH₃とすることができるもの；

・結合；

であり；

30

但し、X₁又はX₂中のアミンが残りの置換基と結合を形成するならば、アミンはカルボニル基を介して残りの置換基に結合しなければならず；

X₃は-C=Oであり、但し、X₁及びX₂が結合であるならば、X₃のみが存在し；

Qは、式-(CH₂)_{s1}-Q₁-(CH₂)_{s2}-Q₂-(CH₂)_{s3}-Q₃-(CH₂)_{s4}-Q₄-(CH₂)_{s5}-の鎖であり；ここでQ₁-Q₃が互いに独立して、O、S、S(O)、S(O)₂、P(O₂H)、-O-P(O₂H)-O-、-N(COR²)-、又は結合とすることができ；R²が水素、C₁-6-アルキル、C₂-6-アルケニル、C₂-6-アルキニルであり；

Q₄が：

--COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁-6-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁-6-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁-6-アルキル、C₂-6-アルケニル、C₂-6-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよいアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、水素、C₁-6-アルキル、C₂-6-アルケニル、又はC₂-6-アルキニルであり；R²及びR³が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2

50

のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；又は

-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換された
10 ヘテロアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、炭素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり、また窒素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、C(O)-C₁₋₆-アルキル、C(O)-C₂₋₆-アルケニル、又はC(O)-C₂₋₆-アルキニルからなる群から選択されるもの；

とすることができる、ここでs1、s2、s3及びs4は互いに独立して、s1、s2、s3及びs4の合計が4~22の範囲になるような、0又は1~10の整数とることができ；s5は0又は1~3の整数であり、但し；

- Q₁、Q₂及びQ₃は互いに結合を形成しなくてもよく、
- s1、s2及びs3が0又は1であるならば、いずれの-CH₂-も、次の原子：O、N
20 S、又はPの2つに結合できず、
- Q₄がアリーレン又はヘテロアリーレンであるならば、酸素原子を介して脂肪族鎖に結合せず；

- Q₄がC₆H₄であるならば、硫黄を介して脂肪族鎖に結合せず；

Zは：

- COOH；
- CO-Asp；
- CO-Glu；
- CO-Gly；
- CO-Sar；
- CH(COOH)₂；
- N(CH₂COOH)₂；
- SO₃H
- PO₃H₂；
- O-SO₃H；
- O-PO₃H₂；又は
テトラゾ-5-リル；

である】

を有するインスリン誘導体、及びその任意のZn²⁺錯体に関する。

【0021】

一態様において、本発明のインスリン誘導体は、

N^{B29}-(12-(4-カルボキシフェニル)ドデカノイル- -Glu)desB30インスリン、

N^{B29}-(-11-(4-カルボキシフェニル)ウンデカノイル- -Glu)desB30インスリン、

N^{B29}-(12-(3-カルボキシフェニル)ドデカノイル- -Glu desB30インスリン、

N^{B29}-(9-[4-(2-カルボキシエチル)フェニル]ノナノイル)- -Glu)desB30インスリン、

N^{B29}-(4-[11-(4-カルボキシフェニル)ウンデカノイルアミノ]ブチリル)des
50

B 3 0 インスリン、

N^{B 2 9}-[1 2-(5-カルボキシチオフェン-2-イル)ドデカノイル]des B 3 0 インスリン、又は

N^{B 2 9}-[1 2-(5-カルボキシチオフェン-2-イル)ドデカノイル]-Glu]des

B 3 0 インスリン、

からなる群から選択される。

【0022】

本発明を次の段落に要約する：

1. 親インスリンと置換基を有し、該置換基が生理学的pHで負に帯電している末端基；芳香族基と末端基との間に0、1、2又は3の炭素原子を有する芳香族基；少なくとも4のCH₂基を有する脂肪族鎖；及びリンカーを有し、脂肪族鎖がリンカーを介して親インスリンに結合しており、但し1)芳香族基がアリーレン又はヘテロアリーレンであるならば、酸素を介して脂肪族鎖に結合せず、また2)芳香族基がC₆H₄であるならば、硫黄を介して脂肪族鎖に結合しないインスリン誘導体。

2. 芳香族基がアリーレン又はヘテロアリーレンである、第1項に記載のインスリン誘導体。

3. 置換基が1以上の芳香族基を有する、第1又は2項に記載のインスリン誘導体。

4. 末端基が-COOHである、第2項に記載のインスリン誘導体。

【0023】

5. アリーレンが、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²から選択される1又は2の基で置換されていてもよく、ここでR²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルである、第2項に記載のインスリン誘導体。

6. アリーレンが、C₁₋₃-アルキル、C₂₋₃-アルケニル、C₂₋₃-アルキニル、又は-OR²から選択される1又は2の基で置換されていてもよく、ここでR²がC₁₋₃-アルキル、C₂₋₃-アルケニル、又はC₂₋₃-アルキニルとすることができる、第5項に記載のインスリン誘導体。

【0024】

7. ヘテロアリーレン基が、窒素、硫黄又は酸素を有している、第2項に記載のインスリン誘導体。

8. 炭素又は窒素原子が置換されていてもよい、第7項に記載のインスリン誘導体。

9. ヘテロアリーレンが、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されており、ここでR²及びR³が独立して、炭素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり、また窒素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、C(O)-C₁₋₆-アルキル、C(O)-C₂₋₆-アルケニル、又はC(O)-C₂₋₆-アルキニルからなる群から選択される、第8項に記載のインスリン誘導体。

導体。

【0025】

10. リンカーが、次の：負電荷側鎖を有するアミノ酸、又は無電荷側鎖を有するアミノ酸、又は側鎖にカルボン酸を有するアミノ酸のアミノ酸アミド残基から選択されるアミド結合を介して互いに結合している、1-4の残基を含む、第1-10項に記載のインスリン誘導体。

11. リンカーが、-D-A-s-p-アミド、-L-A-s-p-アミド、-L-G1u-アミド、及び-D-G1u-アミドからなる群から選択される、第10項に記載のインスリン誘導体。

12. リンカーがアミド結合を介して結合している1-4のアミノ酸残基を含む、第1-11項に記載のインスリン誘導体。 10

13. リンカーが、少なくとも一の遊離のカルボン酸基又は中性のpHで負に帯電している基を含む、第12項に記載のインスリン誘導体。

14. リンカーがアミド結合を介して結合している1-4のアミノ酸アミド残基を含む、第1-11項に記載のインスリン誘導体。

15. リンカーがアミドを含む、第1-11に記載のインスリン誘導体。

【0026】

16. リンカーが、式-CO-NR⁴R⁵、-SONR⁴R⁵又は-SO₂NR⁴R⁵のアミド又はN-置換されたアミドを有し、ここでR⁴及びR⁵が互いに独立して、水素、-CH₃、-CH₂-CH₃、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル又はC₂₋₆-アルキニルとすることができ、またR⁴及びR⁵が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能である、第1-11項の何れかに記載のインスリン誘導体。 20

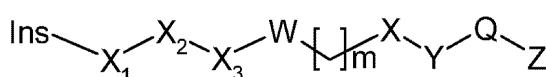
17. R⁴及びR⁵が水素である、第16項に記載のインスリン誘導体。

18. 置換基がLyS B29の-Aミノ基に結合している、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体。

【0027】

19. 次の式：

【化8】



[上式中：

I_{ns}は親インスリン部分であり、X₁-X₂-X₃-W-[CH₂]_m-X-Y-Q-Zは置換基であり、ここで、I_{ns}は、I_{ns}のB鎖のN-末端アミノ酸残基の-Aミノ基、又はI_{ns}のA又はB鎖に存在するLyS残基の-Aミノ基と、置換基のX₁、X₂又はX₃中のCO基との間のアミド結合を介して置換基に結合しており； 40

X₁は：

- ・nが1、2、3、4、5又は6である、-CO-(CH₂)_n；
- ・-CO-((CR⁶R⁷)_q-NR-CO)₁₋₄で、R⁶及びR⁷が互いに独立して、また各q値も独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、-(CH₂)₁₋₆-COOH；-(CH₂)₁₋₆-CONH₂；-(CH₂)₁₋₆-SO₃H；-(CH₂)₁₋₆-PO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-SO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃Hとすることができ、qが1-6であり、Rが水素、-(CH₂)₁₋₆-COO；-(CH₂)₁₋₆-CONH₂；-(CH₂)₁₋₆-SO₃H；-(CH₂)₁₋₆-PO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-SO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂；C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はアルキニル、又はアリール、又はCH₂-アリ 50

ールであり、アリール基が-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよく、R²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル又はC₂₋₆-アルキニルであるもの；

10

- 側鎖にカルボン酸を持つアミノ酸、無電荷側鎖を持つアミノ酸、又は負電荷側鎖を持つアミノ酸のアミノ酸アミド残基であって、そのカルボン酸基と共に、InsのB鎖のN-末端アミノ酸残基の-A氨基、又はInsのA又はB鎖に存在するLys残基の-A氨基と共同して、アミド結合を形成する残基；

- 残基が上に特定した-A氨基アミド残基及びアミノ酸残基からなる群から選択され、アミド結合を介して、鎖が、InsのB鎖のN-末端アミノ酸残基の-A氨基、又はInsのA又はB鎖に存在するLys残基の-A氨基に結合している、アミド結合を介して結合した2、3又は4の残基からなる鎖、又は

- 結合；

であり；

20

X₂は：

- CO-
- COCH₂N(CH₂R⁸)-;
- COCH₂N(CH₂R⁸)COCH₂N(CH₂R⁸)-;
- COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-;
- COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-;
- COCH₂N(CH₂CH₂R⁸)-;
- COCH₂CH₂N(CH₂R⁸)-;

で、R⁸がCOOH又はCONH₂とすることができるもの；

- CO-((CH₂)₂₋₆-NH-CO)₁₋₄-;
- (CO-(CH₂)₂₋₆-CO-NH)₁₋₄-;
- (CO-(CR⁹R¹⁰)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-;

30

で、R⁹がH、-COOH、-(CH₂)₁₋₆COOH、CH₃、-(CH₂)₁₋₆CH₃又はCONH₂とすることができ、R¹⁰がH、-(CH₂)₁₋₆COOH、CH₃又は-(CH₂)₁₋₆CH₃とすることができるもの；又は

- 結合；

であり；

但し、X₁又はX₂中のアミンが残りの置換基と結合を形成するならば、アミンはカルボニル基を介して残りの置換基に結合しなければならず；

X₃は-C=Oであり、但し、X₁及びX₂が結合であるならば、X₃のみが存在し；

40

Wは：

- COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1、2、3又は4の基で置換されていてもよいアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-ア

50

ルキル、 $C_{2\sim6}$ -アルケニル、又は $C_{2\sim6}$ -アルキニルであり； R^2 及び R^3 が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共にして、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；

・-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)_{1~6}-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)_{1~6}-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)OR²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されたヘテロアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、炭素原子上の置換については、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、又はC_{2~6}-アルキニルであり、また窒素原子上の置換については、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、C(O)-C_{1~6}-アルキル、C(O)-C_{2~6}-アルケニル、又はC(O)-C_{2~6}-アルキニルからなる群から選択されるもの；又は

・結合；

であり；

mは0、1、2、3、4、5又は6であり；

20

Xは：

・-O-；

・-C=O；

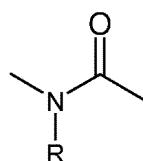
・-S-；

・-S=O；

・-SO₂；

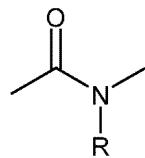
・次の式：

【化9】



30

【化10】



40

(上式中：Rは、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル又はC_{2~6}-アルキニルである)

のもの；又は

・結合；

であり；

Yは：

・-(CR⁶R⁷)_q-NR¹-CO)1~4-で、R⁶及びR⁷が互いに独立して、H、-CO

50

O H、又はO Hとすることができる、qが1-6であり、R¹が水素、-(CH₂)₁₋₆-COOH；-(CH₂)₁₋₆-CONH₂；-(CH₂)₁₋₆-SO₃H；-(CH₂)₁₋₆-PO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-SO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂；C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル；C₂₋₆-アルキニル、又はアリール、又はCH₂-アリールであり、ここでアリール基が、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)₂R²、-S(O)R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は複数の基で置換されてもよく、R²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであるもの；

• R¹が上述したものである-NCOR¹；又は

• 結合；

であり；

Qは、式-(CH₂)_{s1}-Q₁-(CH₂)_{s2}-Q₂-(CH₂)_{s3}-Q₃-(CH₂)_{s4}-Q₄-(CH₂)_{s5}-の鎖であり；ここでQ₁-Q₃が互いに独立して、O、S、S(O)、S(O)₂、PO₂H、-O-PO₂H-O-、-N(COR²)-、又は結合とすることができます；R²が水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニルであり；

Q₄が：

• -COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されてもよいアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり；R²及びR³が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有してもよく、1又は2の二重結合を有してもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；又は

• -COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されたヘテロアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、炭素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり、また窒素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、C(O)-C₁₋₆-アルキル、C(O)-C₂₋₆-アルケニル、又はC(O)-C₂₋₆-アルキニルからなる群から選択されるもの；

とすることができる、ここで、s1、s2、s3及びs4は互いに独立して、s1、s2、

s₃ 及び s₄ の合計が 4 ~ 2 2 の範囲になるような、0 又は 1 ~ 1 0 の整数とすることができ；s₅ は 0 又は 1 ~ 3 の整数であり、但し；

- Q₁、Q₂ 及び Q₃ は互いに結合を形成しなくてもよく、
- s₁、s₂ 及び s₃ が 0 又は 1 であるならば、いずれの -CH₂- も、次の原子：O、N、S、又は P の 2 つに結合できず、
- Q₄ がアリーレン又はヘテロアリーレンであるならば、酸素原子を介して脂肪族鎖に結合せず；
- Q₄ が C₆H₄ であるならば、硫黄を介して脂肪族鎖に結合せず；

Z は：

- COOH；
- CO-Asp；
- CO-Glu；
- CO-Gly；
- CO-Sar；
- CH(COOH)₂；
- N(CH₂COOH)₂；
- SO₃H
- PO₃H₂；
- O-SO₃H；
- O-PO₃H₂；又は
テトラゾ-5-リル；

10

20

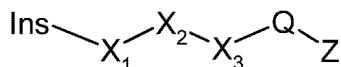
である]

を有するインスリン誘導体、及びその任意の Z n²⁺ 錯体。

【0028】

20. 次の式：

【化11】



30

[上式中：

Ins は親インスリン部分であり、X₁-X₂-X₃-Q-Z は置換基であり、ここで、Ins は、Ins の B鎖の N-末端アミノ酸残基の -アミノ基、又は Ins の A 又は B鎖に存在する Lys 残基の -アミノ基と、置換基の X₁、X₂ 又は X₃ 中の CO 基との間のアミド結合を介して置換基に結合しており；

X₁ は：

- n が 1、2、3、4、5 又は 6 である、-CO-(CH₂)_n；
- -CO-((CR⁶R⁷)_q-NR-CO)_{1~4}-で、R⁶ 及び R⁷ が互いに独立して、また各 q 値も独立して、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、-(CH₂)_{1~6}-COOH；-(CH₂)_{1~6}-CONH₂；-(CH₂)_{1~6}-SO₃H；-(CH₂)_{1~6}-PO₃H₂；-(CH₂)_{1~6}-O-SO₃H₂；-(CH₂)_{1~6}-O-PO₃H とすることができる、q が 1~6 であり、R が水素、-(CH₂)_{1~6}-COO H；-(CH₂)_{1~6}-CONH₂；-(CH₂)_{1~6}-SO₃H；-(CH₂)_{1~6}-PO₃H₂；-(CH₂)_{1~6}-O-SO₃H₂；-(CH₂)_{1~6}-O-PO₃H₂；C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル；C_{2~6}-アルキニル、又はアリール、又は CH₂-アリールであり、アリール基が -COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)_{1~6}-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)_{1~6}-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又は CONH₂、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O) 50

40

50

R_2^2 、 $-C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)NR^2R^3$ 、 $-NR^2C(O)R^3$ 、 $-CH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)R^2$ 、 $-OCH_2C(O)R^2$ 、 $-C(O)R^2$ 又は $-C(O)OR^2$ 、又は $-OCH_2C(O)OR^2$ からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよく、 R^2 及び R^3 が独立して、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル又は C_{2-6} -アルキニルであるもの；

・側鎖にカルボン酸を持つアミノ酸、無電荷側鎖を持つアミノ酸、又は負電荷側鎖を持つアミノ酸のアミノ酸アミド残基であって、そのカルボン酸基と共に、InsのB鎖のN-末端アミノ酸残基の-アミノ基、又はInsのA又はB鎖に存在するLys残基の-アミノ基と共同して、アミド結合を形成する残基；

・残基が上に特定した-アミノ酸アミド残基及びアミノ酸残基からなる群から選択され、アミド結合を介して、鎖が、InsのB鎖のN-末端アミノ酸残基の-アミノ基、又はInsのA又はB鎖に存在するLys残基の-アミノ基に結合している、アミド結合を介して結合した2、3又は4の残基からなる鎖、又は

・結合；

であり；

X_2 は：

$\cdot -CO-$

$\cdot -COCH(R^8)-$ ；

$\cdot -COCH_2N(CH_2R^8)-$ ；

$\cdot -COCH_2N(CH_2R^8)COCH_2N(CH_2R^8)-$ ；

$\cdot -COCH_2CH_2N(CH_2CH_2R^8)-$ ；

$\cdot -COCH_2CH_2N(CH_2CH_2R^8)-COCH_2CH_2N(CH_2CH_2R^8)-$ ；

$\cdot -COCH_2N(CH_2CH_2R^8)-$ ；

$\cdot -COCH_2CH_2N(CH_2R^8)-$ ；

で、 R^8 が $COOH$ 又は $CONH_2$ とすることができるもの；

$\cdot -CO-((CH_2)_{2-6}-NH-CO)_{1-4}-$ ；

$\cdot -(CO-(CH_2)_{2-6}-CO-NH)_{1-4}-$ ；

$\cdot -(CO-(CR^9R^{10})_{1-6}-CO-NH)_{1-4}-$ ；

で、 R^9 がH、 $-COOH$ 、 $-(CH_2)_{1-6}COOH$ 、 CH_3 、 $-(CH_2)_{1-6}CH_3$

又は $CONH_2$ とすることができ、 R^{10} がH、 $-(CH_2)_{1-6}COOH$ 、 CH_3 又は-

$(CH_2)_{1-6}CH_3$ とすることができるもの；

・結合；

であり；

但し、 X_1 又は X_2 中のアミンが残りの置換基と結合を形成するならば、アミンはカルボニル基を介して残りの置換基に結合しなければならず；

X_3 は $-C=O$ であり、但し、 X_1 及び X_2 が結合であるならば、 X_3 のみが存在し；

Qは、式 $-(CH_2)_{s_1}-Q_1-(CH_2)_{s_2}-Q_2-(CH_2)_{s_3}-Q_3-(CH_2)_{s_4}-Q_4-(CH_2)_{s_5}$ の鎖であり；ここで Q_1-Q_3 が互いに独立して、O、S、S(O)、S(O)₂、P(O₂H)、-O-P(O₂H)-O-、-N(COR²)-、又は結合とすることができます； R^2 が水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、 C_{2-6} -アルキニルであり；

Q_4 が：

$\cdot -COOH$ 、 $-CH_3$ 、 $-SO_3H$ 、 $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ 、テトラゾ-5-リル、又は $CONH_2$ 、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、 C_{2-6} -アルキニル、水素、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-S(O)_2CF_3$ 、 $-SCF_3$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^2$ 、 $-SR^2$ 、 $-NR^2S(O)_2R^3$ 、 $-S(O)_2NR^2R^3$ 、 $-S(O)NR^2R^3$ 、 $-S(O)R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)NR^2R^3$ 、 $-NR^2C(O)R^3$ 、 $-CH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)R^2$ 、 $-C(O)R^2$ 、又は $-C(O)OR^2$ 、又は $-OCH_2C(O)OR^2$ からなる群から選択される1又は2の基で置換されて

10

20

30

40

50

いてもよいアリーレンで、ここで R^2 及び R^3 が独立して、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、又は C_{2-6} -アルキニルであり； R^2 及び R^3 が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；又は

$\cdot -COOH$ 、 $-CH_3$ 、 $-SO_3H$ 、 $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ 、テトラゾ-5-リル、又は $CONH_2$ 、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、 C_{2-6} -アルキニル、水素、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-S(O)_2CF_3$ 、 $-SCF_3$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^2$ 、 $-SR^2$ 、 $-NR^2S(O)_2R^3$ 、 $-S(O)_2NR^2R^3$ 、 $-S(O)NR^2R^3$ 、 $-S(O)R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)NR^2R^3$ 、 $-NR^2C(O)R^3$ 、 $-CH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)OR^2$ 、 $-C(O)R^2$ 、又は $-C(O)OR^2$ 、又は $-OCH_2C(O)OR^2$ からなる群から選択される1又は2の基で置換されたヘテロアリーレンで、ここで R^2 及び R^3 が独立して、炭素原子上の置換については、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、又は C_{2-6} -アルキニルであり、また窒素原子上の置換については、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、 C_{2-6} -アルキニル、 $C(O)-C_{1-6}$ -アルキル、 $C(O)-C_{2-6}$ -アルケニル、又は $C(O)-C_{2-6}$ -アルキニルからなる群から選択されるもの；
とすることができる、ここで、 s_1 、 s_2 、 s_3 及び s_4 は互いに独立して、 s_1 、 s_2 、 s_3 及び s_4 の合計が 4 ~ 22 の範囲になるような、0 又は 1 ~ 10 の整数とすることができます； s_5 は 0 又は 1 ~ 3 の整数であり、但し；
 $-Q_1$ 、 Q_2 及び Q_3 は互いに結合を形成しなくてもよく、
 $-s_1$ 、 s_2 及び s_3 が 0 又は 1 であるならば、いずれの $-CH_2-$ も、次の原子：O、N、S、又はPの2つに結合できず、
 $-Q_4$ がアリーレン又はヘテロアリーレンであるならば、酸素原子を介して脂肪族鎖に結合せず；
 $-Q_4$ が C_6H_4 であるならば、硫黄を介して脂肪族鎖に結合せず；

Z は：

$-COOH$ ；
 $-CO-As(p)$ ；
 $-CO-Glu$ ；
 $-CO-Gly$ ；
 $-CO-Sar$ ；
 $-CH(COOH)_2$ ；
 $-N(CH_2COOH)_2$ ；
 $-SO_3H$ ；
 $-PO_3H_2$ ；
 $O-SO_3H$ ；
 $O-PO_3H_2$ ；又は
テトラゾ-5-リル；

である】

を有する、第19項に記載のインスリン誘導体、及びその任意の Zn^{2+} 錯体

【0029】

21. X_1 が、側鎖にカルボン酸を有するアミノ酸のアミノ酸アミド残基である、第19-20項に記載のインスリン誘導体。

22. X_1 が、 $-D-Asp$ -アミド、 $-L-Asp$ -アミド、 $-L-Glu$ -アミド、及び $-D-Glu$ -アミドからなる群から選択される、第19-21項の何れかに記載のインスリン誘導体。

23. X_1 が、それらの側鎖にカルボン酸を有するアミノ酸の、2、3又は4のアミノ酸アミド残基からなる鎖である、第19-20項に記載のインスリン誘導体。

20

30

40

50

【0030】

24. X_1 が、 -L-Asp-アミド- -L-Asp-アミド、 -L-Asp-アミド- -L-Glu-アミド、 -L-Glu-アミド- -L-Glu-アミド、 -L-Glu-アミド- -L-Asp-アミド、 -L-Asp-アミド- -D-Asp-アミド、 -L-Asp-アミド- -D-Glu-アミド、 -L-Glu-アミド- -D-Glu-アミド、 -L-Glu-アミド- -D-Glu-アミド、 -D-Asp-アミド- -L-Asp-アミド、 -D-Asp-アミド- -L-Glu-アミド、 -D-Glu-アミド- -L-Asp-アミド、 -D-Asp-アミド- -D-Asp-アミド、 -D-Asp-アミド- -D-Glu-アミド、 -D-Glu-アミド- -D-Glu-アミドからなる群から選択される、2のアミノ酸アミド残基の鎖である、第19-20又は23項に記載のインスリン誘導体。 10

【0031】

25. X_1 が2~10の炭素原子を有するアミノ酸残基である、第19-20項に記載のインスリン誘導体。

26. X_1 が、 -Asp、 -Asp、 -Glu、 -Glu、 -hGlu及び -hGluからなる群から選択される、第25項に記載のインスリン誘導体。

27. X_1 が -Glu である、第25項に記載のインスリン誘導体。

【0032】

28. X_1 が、負電荷側鎖を有するアミノ酸、無電荷側鎖を有するアミノ酸、側鎖にカルボン酸を有するアミノ酸のアミノ酸アミド残基からなる群から選択される、2、3又は4の残基からなる鎖である、第19-20項に記載のインスリン誘導体。 20

29. X_1 が2つの -アミノ酸残基からなる鎖であり、一方が、4~10の炭素原子及び遊離のカルボン酸基を有し、他方が2~11の炭素原子を有するが、遊離のカルボン酸基を有さない、第28項に記載のインスリン誘導体。

【0033】

30. X_1 が、 -Asp-Gly ; Gly- -Asp ; -Asp-Gly ; Gly- -Asp ; -Glu-Gly ; Gly- -Glu ; -Glu-Gly ; Gly- -hGlu；及びGly- -hGluからなる群から選択される、第29項に記載のインスリン誘導体。

31. X_1 が2つの -アミノ酸残基からなる鎖であり、該残基は独立して4~10の炭素原子を有し、また双方が遊離のカルボン酸基を有する、第28項に記載のインスリン誘導体。 30

【0034】

32. X_1 が、 -Asp- -Asp； -Asp- -Glu； -Asp- -hGlu； -Asp- -Asp； -Asp- -Glu； -Asp- -hGlu； -Asp- -Asp； -Asp- -Glu； -Asp- -hGlu； -Glu- -Asp； -Glu- -Glu； -Glu- -hGlu； -hGlu- -Asp； -hGlu- -Glu； -hGlu- -hGlu； -hGlu- -Asp； -hGlu- -Glu； -hGlu- -hGlu； -hGlu- -Asp； -hGlu- -Glu； 及び -hGlu- -hGluからなる群から選択される、第31項に記載のインスリン誘導体。 40

【0035】

33. X_1 が-CO-((CR⁶R⁷)_q-NR-CO)_{1~4}-であり、R⁶及びR⁷が互いに独立して、また各q値も独立して、水素、C_{1~6}-アルキル、C_{2~6}-アルケニル、C_{2~6}-アルキニル、-(CH₂)_{1~6}-COOH；-(CH₂)_{1~6}-CONH₂；-(CH₂)_{1~6}-SO₃H；-(CH₂)_{1~6}-PO₃H₂；-(CH₂)_{1~6}-O-SO₃H₂；- 50

$(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H$ とすることができる、 q が 1-6 であり、 R が水素、 $-(CH_2)_{1-6}-COOH$; $-(CH_2)_{1-6}-CONH_2$; $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$; $-(CH_2)_{1-6}-PO_3H_2$; $-(CH_2)_{1-6}-O-SO_3H_2$; $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$; C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル； C_{2-6} -アルキニル、又はアリール、又は CH_2 -アリールであり、アリール基が $-COOH$ 、 $-CH_3$ 、 $-SO_3H$ 、 $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ 、テトラゾ-5-リル、又は $CONH_2$ 、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、 C_{2-6} -アルキニル、水素、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-S(O)_2CF_3$ 、 $-SCF_3$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^2$ 、 $-SR^2$ 、 $-NR^2S(O)_2R^3$ 、 $-S(O)_2NR^2R^3$ 、 $-S(O)NR^2R^3$ 、 $-S(O)R^2$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)NR^2R^3$ 、 $-NR^2C(O)R^3$ 、 $-CH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)R^2$ 、 $-OCH_2C(O)R^2$ 又は $-C(O)OR^2$ 、又は $-OCH_2C(O)OR^2$ からなる群から選択される 1 又は 2 の基で置換されてもよく、 R^2 及び R^3 が独立して、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル又は C_{2-6} -アルキニルである、第 19-20 項に記載のインスリン誘導体。 10

34. X_1 が $-CO-(CH_2)_2-(CH_2COOH)-NH-CO-$ である、第 33 項に記載のインスリン誘導体。

【0036】

35. X_2 が結合である、第 19-34 項の何れかに記載のインスリン誘導体。

36. X_2 が：

- -CO-
- -COCH₂N(CH₂R⁸)-;
- -COCH₂N(CH₂R⁸)COCH₂N(CH₂R⁸)-;
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-;
- -COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-;
- -COCH₂N(CH₂CH₂R⁸)-;
- -COCH₂CH₂N(CH₂R⁸)-;

で、 R^8 が $COOH$ 又は $CONH_2$ とすることができるもの；

- -CO-((CH₂)₂₋₆-NH-CO)₁₋₄-;
- -(CO-(CH₂)₂₋₆-CO-NH)₁₋₄-;
- -(CO-(CR⁹R¹⁰)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-;

で、 R^9 が H、 $-COOH$ 、 $-(CH_2)_{1-6}COOH$ 、 CH_3 、 $-(CH_2)_{1-6}CH_3$ 又は $CONH_2$ とすることができる、 R^{10} が H、 $-(CH_2)_{1-6}COOH$ 、 CH_3 又は $-(CH_2)_{1-6}CH_3$ とすることができるもの；

・結合；

である、第 19-20 項に記載のインスリン誘導体。

【0037】

37. X_2 が、 $-(CO-(CH_2)_2-NH-CO)_{1-}$ 、又は $-(CO-(CH_2)_3-NH-CO)_{1-}$ からなる群から選択される、第 36 項に記載のインスリン誘導体。

38. X_2 が $-CO-$ である、第 36 項に記載のインスリン誘導体。 40

39. X_1 が結合である、第 36-38 項に記載のインスリン誘導体。

【0038】

40. W がフェニレンである、第 19 及び 21-39 項に記載のインスリン誘導体。

41. W が、窒素、酸素又は硫黄を有する 5-7 員の複素環系である、第 40 項に記載のインスリン誘導体。

42. W が、少なくとも一の酸素又は硫黄を有する 5 員の複素環系である、第 41 項に記載のインスリン誘導体。

43. W が結合である、第 19 及び 21-39 項に記載のインスリン誘導体。

44. m が 0、1 又は 2 である、第 19 及び 21-43 項に記載のインスリン誘導体。

45. X が $-CO-$ 又は結合である、第 19 及び 21-44 項に記載のインスリン誘導体。 50

46. Yが結合である、第19及び21-45項に記載のインスリン誘導体。

【0039】

47. Qが、式-(CH₂)_{s1}-Q₁-(CH₂)_{s2}-Q₂-(CH₂)_{s3}-Q₃-(CH₂)_{s4}-Q₄-(CH₂)_{s5}の鎖であり；ここでQ₁-Q₃が互いに独立して、O、S、S(O)、S(O)₂、P(O₂H)、-O-P(O₂H)-O-、-N(COR²)-、又は結合とすることができます；R²が水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニルであり；

Q₄が：

· -COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよいアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり；R²及びR³が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；又は

· -COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されたヘテロアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、炭素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり、また窒素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、C(O)-C₁₋₆-アルキル、C(O)-C₂₋₆-アルケニル、又はC(O)-C₂₋₆-アルキニルからなる群から選択されるもの；

とすることができます、ここで、s1、s2、s3及びs4は互いに独立して、s1、s2、s3及びs4の合計が4~22の範囲になるような、0又は1~10の整数とすることができます；s5は0又は1~3の整数であり、但し、Q₁、Q₂及びQ₃は互いに結合を形成しなくてもよく、s1、s2及びs3が0又は1であるならば、いずれの-CH₂-も、次の原子：O、N、S、又はPの2つに結合できない、第19-46項の何れかに記載のインスリン誘導体。

【0040】

48. Q₄がアリーレンである、第47項に記載のインスリン誘導体。

49. Q₄がC₆H₄である、第47又は48項に記載のインスリン誘導体。

50. Q₄が、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又

は- $C(O)OR^2$ 、又は- $OCH_2C(O)OR^2$ からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよいアリーレンであり、ここで R^2 及び R^3 が独立して、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、又は C_{2-6} -アルキニルであり； R^2 及び R^3 が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能である、第47又は48項に記載のインスリン誘導体。

【0041】

51.Q₄がヘテロアリーレンである、第47項に記載のインスリン誘導体。

52.ヘテロアリーレン基が、窒素、硫黄又は酸素を有する、第51項に記載のインスリン誘導体。 10

53.ヘテロアリーレンが、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換され、ここでR²及びR³が独立して、炭素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり、また窒素原子上の置換については、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、C(O)-C₁₋₆-アルキル、C(O)-C₂₋₆-アルケニル、又はC(O)-C₂₋₆-アルキニルからなる群から選択される、第51項に記載のインスリン誘導体。 20

【0042】

54.Q₄が5-7員環系である、第46-53項に記載のインスリン誘導体。

55.Q₄が5員環系である、第54項に記載のインスリン誘導体。

56.Q₄が二環系である、第46-55項に記載のインスリン誘導体。

57.二環系が2つの5-7員環系を含む、第56項に記載のインスリン誘導体。 30

58.二環系が1つの6員環と1つの5員環を含み、5員環が窒素、酸素又は硫黄を有することができる、第57項に記載のインスリン誘導体。

59.二環系が6員及び5員環からなり、5員環が置換基の末端にある、第56-58項に記載のインスリン誘導体。

【0043】

60.Zが置換基に存在しない、第59項に記載のインスリン誘導体。

61.6員環が窒素を有する、第60項に記載のインスリン誘導体。

62.Q₁、Q₂及びQ₃が全て結合である、第46-61項に記載のインスリン誘導体。 40

【0044】

63.s2、s3及びs4が1である、第46-62項に記載のインスリン誘導体。

64.s1が5、6、7又は8であり、s5が0、1又は2である、第46-63項に記載のインスリン誘導体。

65.s5が0である、第46-64項に記載のインスリン誘導体。

66.s5が1又は2である、第46-64項に記載のインスリン誘導体。

67.Q₁及びQ₂が酸素である、第46-61及び63-66項に記載のインスリン誘導体。

【0045】

68.Zが-COOHである、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。 50

69. ズガ-CO-Aspである、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。

70. ズガ-CO-Gluである、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。

71. ズガ-CO-Glyである、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。

72. ズガ-CO-Sarである、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。

73. ズガ-CH(COOH)₂である、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。 10

74. ズガ-N(CH₂COOH)₂である、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。

75. ズガ-SO₃Hである、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。

76. ズガ-PO₃H₂である、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。

77. ズガ-O-SO₃Hである、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。

78. ズガ-O-PO₃H₂である、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。 20

79. ズガ-テトラゾ-5-リルである、第19-59及び61-67項に記載のインスリン誘導体。

【0046】

80. 親インスリンがヒトインスリン又はブタインスリン又はインスリンアナログである、第1-79項の何れかに記載のインスリン誘導体。

81. 親インスリンのB30位にあるアミノ酸残基がLysであるか、又は欠失している、第79-80項の何れかに記載のインスリン誘導体。

82. 親インスリンがdesB30ヒトインスリンである、第81項に記載のインスリン誘導体。

【0047】

83. 親インスリンのB1位にあるアミノ酸残基が欠失している、第79-82項の何れかに記載のインスリン誘導体。 30

84. 親インスリンのA21位にあるアミノ酸残基がGly又はAsnである、第79-83項の何れかに記載のインスリン誘導体。

85. 親インスリンのB3位にあるアミノ酸残基がLysである、第79-84項の何れかに記載のインスリン誘導体。

86. 親インスリンのB28位にあるアミノ酸残基がAsp又はLysである、第79-85項の何れかに記載のインスリン誘導体。

87. 親インスリンのB29位にあるアミノ酸残基がPro又はThrである、第79-86項の何れかに記載のインスリン誘導体。 40

【0048】

88. 親インスリンがAspB28ヒトインスリンである、第86項に記載のインスリン誘導体。

89. 親インスリンが、GlyA21ヒトインスリン、又はGlyA21desB30ヒトインスリン、又はGlyA21ArgB31ArgB32ヒトインスリンである、第84項に記載のインスリン誘導体。

90. 親インスリンがLysB3GluB29ヒトインスリンである、第85項に記載のインスリン誘導体。

91. 親インスリンがLysB28ProB29ヒトインスリンである、第86-87項に記載のインスリン誘導体。 50

92. 親インスリンが Thr B29 Lys B30 ヒトイインスリンである、第 81 及び 87 項に記載のインスリン誘導体。

【0049】

93. インスリン誘導体が、6つのインスリン誘導体当たり、2つの亜鉛イオン、3つの亜鉛イオン、4つの亜鉛イオン、5つの亜鉛イオン、6つの亜鉛イオン、7つの亜鉛イオン、8つの亜鉛イオン、9つの亜鉛イオン、又は10の亜鉛イオンに結合している、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体の亜鉛錯体。

【0050】

94. 薬学的に許容可能な担体と共に、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体を治療的有効量含有する、治療が必要な患者における糖尿病を治療するための薬学的組成物¹⁰。

95. 薬学的に許容可能な担体と共に、速攻で作用を開始するインスリン又はインスリニアナログと混合して、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体を治療的有効量含有する、治療が必要な患者における糖尿病を治療するための薬学的組成物。

【0051】

96. 薬学的に許容可能な担体と共に、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体を治療的有効量、患者に投与することを含む、治療が必要な患者における糖尿病を治療するための方法。

97. 薬学的に許容可能な担体と共に、速攻で作用を開始するインスリン又はインスリニアナログと混合して、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体を治療的有効量、患者に投与することを含む、治療が必要な患者における糖尿病を治療するための方法。²⁰

98. 糖尿病の肺処置用である、第 98 又は 99 項に記載の方法。

【0052】

99. 第 1 - 95 項の何れかに記載のインスリン誘導体と、Asp B28 ヒトイインスリン；Lys B28 Pro B29 ヒトイインスリン及び Lys B3 Glu B29 ヒトイインスリンからなる群から選択される速攻型インスリニアナログとの混合物。

100. N^{B29}-(12-(4-カルボキシフェニル)ドデカノイル- -Glu)desB³⁰ インスリン、

N^{B29}-(-11-(4-カルボキシフェニル)ウンデカノイル- -Glu)desB³⁰ インスリン、³⁰

N^{B29}-(12-(3-カルボキシフェニル)ドデカノイル- -Glu desB³⁰ インスリン、

N^{B29}-(9-[4-(2-カルボキシエチル)フェニル]ノナノイル)- -Glu)desB³⁰ インスリン、

N^{B29}-(4-[11-(4-カルボキシフェニル)ウンデカノイルアミノ]ブチリル)desB³⁰ インスリン、

N^{B29}-[12-(5-カルボキシチオフェン-2-イル)ドデカノイル]desB³⁰ インスリン、又は

N^{B29}-[12-(5-カルボキシチオフェン-2-イル)ドデカノイル- -Glu]desB³⁰ インスリン、⁴⁰

からなる群から選択される、第 1 - 95 項の何れかに記載のインスリン誘導体。

101. 実施例に記載するようなインスリン誘導体。

【0053】

本発明の一態様において、X₁ は、負電荷側鎖を有するアミノ酸、無電荷側鎖を有するアミノ酸、側鎖にカルボン酸を有するアミノ酸のアミノ酸アミド残基からなる群から選択される、2、3 又は 4 の残基からなる鎖である。X₁ は、側鎖にカルボン酸を有するアミノ酸のアミノ酸アミド残基であってよい。また X₁ は、2、3 又は 4 の、側鎖にカルボン酸を有するアミノ酸のアミノ酸アミド残基からなる鎖であってもよい。よって、例えば X₁ は、-D-Asp-アミド、-L-Asp-アミド、-L-Glu-アミド及び-D-Glu-アミドからなる群から選択可能である。⁵⁰

本発明の一態様において、 X_1 は、独立して4～10の炭素原子を有する、3つのアミノ酸残基からなる鎖であり、ここで鎖の少なくとも一のアミノ酸残基は、アミドを有する残基の群から選択される。3つのアミノ酸アミドの組合せは、-D-A-s-p-アミド、-L-A-s-p-アミド、-L-G-l-u-アミド、及び-D-G-l-u-アミドの任意の組合せとすることができ、64の異なる組合せが可能であることを意味している。

【0054】

さらなる態様において、 X_1 は、独立して4～10の炭素原子を有する、4つのアミノ酸残基からなる鎖であり、ここで鎖の少なくとも一のアミノ酸残基は、アミドを有する残基の群から選択される。4つのアミノ酸アミドの組合せは、-D-A-s-p-アミド、-L-A-s-p-アミド、-L-G-l-u-アミド、及び-D-G-l-u-アミドの任意の組合せとすることができ、256の異なる組合せが可能であることを意味している。10

本発明の一態様において、 X_1 は、4～10の炭素原子を有するアミノ酸残基である。アミノ酸残基は、-A-s-p、-A-s-p、-G-l-u、-G-l-u、-h-G-l-u及び-h-G-l-uからなる群から選択されてよい。一態様において、 X_1 は-G-l-uである。

一態様において、 X_1 はアミノ酸残基の鎖である。

【0055】

アシル化のための出発生成物、親インスリン又はインスリンアナログ又はそれらの前駆体は、よく知られているペプチド合成、又は適切に形質転換された微生物中でのよく知られている組換え生産のいずれかにより生産することができる。よって、インスリン出発生成物は、ポリペプチドをコードするDNA配列を含み、ペプチドの発現を可能にする条件下で適切な栄養培地中でポリペプチドを発現することができる宿主細胞を培養し、その後、得られたペプチドを培地から回収することを含む方法により生産することができる。20

【0056】

細胞を培養するのに使用される培地は、宿主細胞の増殖に適した任意の一般的な培地、例えば適切な栄養補助剤を含む複合培地又は最少培地でありうる。適切な培地は市販供給者から入手可能であり、また刊行されている処方(例えば、American Type Culture Collectionのカタログ)に従い調製することができる。ついで、細胞により產生されたペプチドを、遠心分離又は濾過により培地から宿主細胞を分離し、塩、例えば硫酸アンモニウムにより上清又は濾液のタンパク質様成分を沈殿させ、例えばイオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、アフィニティーコロマトグラフィー等、当該ペプチドの種類に応じて様々なクロマトグラフィー手順により精製することを含む一般的な手順により、培養培地から回収され得る。30

【0057】

親インスリンをコードするDNA配列は、適切には、例えばゲノム又はcDNAライブラリを調製し、標準的な技術に従い合成オリゴヌクレオチドプローブを使用するハイブリダイゼーションによりポリペプチドの全て又は一部をコードするDNA配列をスクリーニングすることにより得られる、ゲノム又はcDNA由来のものでありうる(例えば、Sambrook, J, Fritsch, EF及びManiatis, T, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989を参照)。また、親インスリンをコードするDNA配列は、確立された標準的な方法、例えばBeaucage及びCaruthers, Tetrahedron Letters 22 (1981), 1859-1869に記載されているホスホアミジト(phosphoamidite)法、又はMatthesら, EMBO Journal 3 (1984), 801-805に記載されている方法により、合成的に調製されてもよい。またDNA配列は、例えばUS4683202、又はSaikiら, Science 239 (1988), 487-491に記載されているように、特定のプライマーを使用するポリメラーゼ連鎖反応により調製されてもよい。40

【0058】

DNA配列は、便宜的に、組換えDNA手順にかけられている任意のベクターに挿入されてよく、ベクターの選択は、多くの場合、導入される宿主細胞に依存する。例えば、ベクターは自己複製ベクター、すなわち染色体外実体として存在するベクターであってよく、その複製は染色体複製とは無関係、例えばプラスミドである。また、ベクターは、宿主50

細胞に挿入された場合に、宿主細胞のゲノムに組み込まれ、組み込まれた内部の染色体と共に複製されるものであってよい。

【0059】

ベクターは、例えば、親インスリンをコードするDNA配列が、プロモータ等、DNAの転写に必要な付加的なセグメントに作用可能に結合している発現ベクターである。プロモータは、選択された宿主細胞において転写活性を示す任意のDNA配列であってよく、宿主細胞に対して同族又は異種であるタンパク質をコードする遺伝子から誘導されてもよい。種々の宿主細胞において親インスリンをコードするDNAの転写を指向するのに適切なプロモータの例は当該技術でよく知られている。例えば上掲のSambrookらを参照。

また、親インスリンをコードするDNA配列は、必要ならば、適切なターミネーター、ポリアデニル化シグナル、転写エンハンサー配列、及び翻訳エンハンサー配列に作用可能に結合していてもよい。本発明の組換えベクターは、当該宿主細胞においてベクターの複製を可能にするDNA配列をさらに含みうる。

さらに、ベクターは選択可能なマーカー、例えばその産物が宿主細胞における欠損を補完する遺伝子、または、例えばアンピシリン、カイナマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、ネオマイシン、ハイグロマイシン、又はメトレキセートのような薬剤に対して耐性を付与するものをさらに含んでいてもよい。

【0060】

宿主細胞の分泌経路に本発明のペプチドを向かわせるために、分泌シグナル配列(リーダー配列、プロプレ配列又はプレ配列としても知られている)が、組換えベクター中に提供されてもよい。分泌シグナル配列は、正しいリーディングフレームでペプチドをコードするDNA配列に結合している。分泌シグナル配列は、通常、ペプチドをコードするDNA配列に対し5'に位置している。分泌シグナル配列は、通常ペプチドに関連しているもの、又は他の分泌タンパク質をコードする遺伝子由来のものであってもよい。

【0061】

親インスリンをコードするDNA配列、プロモータ及び場合によってはターミネーター及び/又は分泌シグナル配列をそれぞれライゲーションし、複製に必要な情報を含む適切なベクター中にそれらを挿入するのに使用される手順は、当業者にはよく知られている(例えば、上掲のSambrookらを参照)。

【0062】

DNA配列又は組換えベクターが導入される宿主細胞は、本ペプチドを生成可能な任意の細胞であってよく、細菌、酵母、真菌及び高等真核細胞を含む。当該分野でよく知られ使用される適切な宿主細胞の例は、限定されるものではないが、大腸菌、出芽酵母、又は哺乳類BHK又はCHO細胞系である。

【0063】

ついで、親インスリン分子は、A又はB鎖の選択されたLy5位又はB1位のいずれかに、関連置換基を導入することにより、本発明のインスリン誘導体に転換される。置換基は任意の簡便な方法により導入可能で、アミノ基をアシル化するための多くの方法が従来技術に開示されている。さらなる詳細は、以下の実施例により明らかになるであろう。

【0064】

本発明は、場合によっては、薬学的に許容可能な担体及び/又は薬学的に許容可能な添加剤と共に、本発明のインスリン誘導体の又はインスリン誘導体の亜鉛錯体を治療的有効量含有する薬学的組成物に関し、該組成物は、治療が必要な患者における、1型糖尿病、2型糖尿病、及び高血糖症を引き起こす他の症状を治療するのに提供可能である。

【0065】

本発明の一態様においては、場合によっては薬学的に許容可能な担体及び/又は薬学的に許容可能な添加剤と共に、本発明のインスリン誘導体又はインスリン誘導体の亜鉛錯体を含有する薬学的組成物を治療的有効量患者に投与することを含む、治療が必要な患者における、1型糖尿病、2型糖尿病、及び高血糖症を引き起こす他の症状を治療するための方法が提供される。

10

20

30

40

50

【0066】

本発明の一態様においては、1型糖尿病、2型糖尿病、及び高血糖症を引き起こす他の症状を治療するのに使用される薬学的組成物を製造するための方法が提供され、該組成物は、場合によっては薬学的に許容可能な担体及び／又は薬学的に許容可能な添加剤と共に、本発明のインスリン誘導体又はインスリン誘導体の亜鉛錯体を含有している。

【0067】

本発明の一態様においては、治療が必要な患者における、1型糖尿病、2型糖尿病、及び高血糖症を引き起こす他の症状を治療するための薬学的組成物が提供され、該組成物は、場合によっては薬学的に許容可能な担体及び／又は添加剤と共に、速攻で作用を開始するインスリン又はインスリンアナログと混合して、本発明のインスリン誘導体又はインスリン誘導体の亜鉛錯体を含有している。 10

【0068】

本発明の一態様においては、場合によっては薬学的に許容可能な担体及び／又は薬学的に許容可能な添加剤と共に、速攻で作用を開始するインスリン又はインスリンアナログと混合して、本発明のインスリン誘導体又はインスリン誘導体の亜鉛錯体を含有する薬学的組成物を治療的有効量、患者に投与することを含む、治療が必要な患者における、1型糖尿病、2型糖尿病、及び高血糖症を引き起こす他の症状を治療するための方法が提供される。

【0069】

本発明の一態様においては、1型糖尿病、2型糖尿病、及び高血糖症を引き起こす他の症状を治療するのに使用される薬学的組成物を製造するための方法が提供され、該組成物は、場合によっては薬学的に許容可能な担体及び／又は薬学的に許容可能な添加剤と共に、速攻で作用を開始するインスリン又はインスリンアナログと混合して、本発明のインスリン誘導体又はインスリン誘導体の亜鉛錯体を治療的有効量含有している。 20

【0070】

本発明の一態様においては、AspB28ヒトインスリン；LysB28ProB29ヒトインスリン及びLysB3GluB29ヒトインスリンからなる群から選択される、速攻型インスリンアナログ、本発明のインスリン誘導体又はインスリン誘導体の亜鉛錯体の混合物である、薬学的組成物が提供される。

【0071】

本発明の一態様は、場合によっては薬学的に許容可能な担体及び／又は薬学的に許容可能な添加剤と共に、本発明のインスリン誘導体又はインスリン誘導体の亜鉛錯体を治療的有効量含有し、治療が必要な患者における、1型糖尿病、2型糖尿病、及び高血糖症を引き起こす他の症状の肺処置用に提供可能な薬学的組成物に関する。 30

【0072】

本発明の一態様は、治療が必要な患者における、1型糖尿病、2型糖尿病、及び高血糖症を引き起こす他の症状を肺治療するための薬学的組成物の適用に関し、該薬学的組成物は、薬学的に許容可能な担体及び／又は添加剤と共に、場合によっては速攻で作用を開始するインスリン又はインスリンアナログと混合して、本発明のインスリン誘導体又はインスリン誘導体の亜鉛錯体を治療的有効量含有する。 40

【0073】

本発明の一態様においては、1型糖尿病、2型糖尿病、及び高血糖症を引き起こす他の症状を治療するのに使用される薬学的組成物を製造するための方法が提供され、該組成物は肺に使用され、薬学的に許容可能な担体及び／又は薬学的に許容可能な添加剤と共に、場合によっては速攻で作用を開始するインスリン又はインスリンアナログと混合して、本発明のインスリン誘導体又はインスリン誘導体の亜鉛錯体を治療的有効量含有している。

【0074】

本発明のインスリン誘導体及び速攻型インスリンアナログは、約90/10%；約70/30%又は約50/50%の比率で混合することができる。

【0075】

50

一態様において、本発明は、生理学的 pH 値で可溶性である、本発明のインスリン誘導体を含有する薬学的組成物に関する。

一態様において、本発明は、約 6.5 ~ 約 8.5 の間の pH 値で可溶性である、本発明のインスリン誘導体を含有する薬学的組成物に関する。

一態様において、本発明は、本発明のインスリン誘導体を含有する、長時間にわたる作用プロファイルを有する薬学的組成物に関する。

一態様において、本発明は、約 120 nmol / ml ~ 2400 nmol / ml、約 400 nmol / ml ~ 約 2400 nmol / ml、約 400 nmol / ml ~ 約 1200 nmol / ml、約 600 nmol / ml ~ 約 2400 nmol / ml、又は約 600 nmol / ml ~ 約 1200 nmol / ml の本発明のインスリン誘導体、又は速攻型インスリンアナログと本発明のインスリン誘導体との混合物を含有する溶液である薬学的組成物に関する。10

【 0076 】

薬学的組成物

請求項記載の式のこのインスリン誘導体は、例えば、皮下、経口又は肺に投与することができる。

皮下投与用には、該式の化合物は、既知のインスリンの製剤と同じようにして製剤化される。さらに、皮下投与用には、該式の化合物は、既知のインスリンの投与と同じように投与され、一般的に医師はこの手順に通じている。

【 0077 】

この発明のインスリン誘導体は、循環インスリン濃度を増加させ、及び / 又は循環グルコース濃度を低下させるための用量効果的な方式で、吸入により投与されうる。このような投与は、糖尿病又は高血糖症等の疾患の治療に効果的である。インスリンの効果的な投与を達成するには、この発明のインスリン誘導体を約 0.5 µg / kg ~ 約 50 µg / kg の吸入用量で投与することが必要である。治療的有効量は、インスリンレベル、血中血糖値、患者の健康状態、患者の肺の状態等を含む要因を考慮に入れて、博学な実施者により決定することができる。20

吸入による投与は、インスリンの皮下投与に匹敵する程の薬物動態に帰する可能性がある。同様の粒径及び同レベルの肺沈着レベルで比較する場合、典型的には、様々な吸入装置で同様の薬学動態が提供される。30

【 0078 】

本発明において、この発明のインスリン誘導体は、吸入による治療剤の投与について、当該分野で既知の任意の種々の吸入装置により送達されてよい。これらの装置には、定量吸入器、噴霧器、乾燥パウダー発生器、スプレー等が含まれる。この発明のインスリン誘導体は、乾燥パウダー吸入器又はスプレーにより送達せしめられる。この発明のインスリン誘導体を投与するための吸入装置には、いくつかの好ましい特徴がある。例えば、吸入装置による送達には、有利には信頼性、再現性及び正確性がある。吸入装置は、良好な呼吸のためには、例えば約 10 µm 未満、例えば約 1 - 5 µm の小さな粒子を送達させるべきである。この発明の実施に適した商業的に入手可能な吸入装置のいくつかの特定の例は、Turbohaler™(Astra)、Rotahaler(登録商標)(Glaxo)、Diskus(登録商標)(Glaxo)、Spiros™吸入器(Dura)、Inhale Therapeuticsから市販されている装置、AERx™(Aradigm)、Ultivent(登録商標)噴霧器(Mallinckrodt)、Acorn II(登録商標)噴霧器(Marquest Medical Products)、Ventolin(登録商標)定量吸入器(Glaxo)、及び Spinhaler(登録商標)パウダー吸入器(Fisons)等である。40

【 0079 】

当業者であれば、この発明のインスリン誘導体の処方、送達される製剤の量、及び単一用量の投与による持続時間が、使用される吸入装置の種類に依存することを認識しているであろう。いくつかのエアゾール送達システム、例えば噴霧器において、投与頻度及びシステムが活性化する時間の長さは、主として、エアゾールにおけるインスリンコンジュゲートの濃度に依存するであろう。例えば、より短い期間での投与では、噴霧溶液中、イン50

スリンコンジュゲートをより高い濃度で使用することができる。定量吸入器等の装置は、より高いエアゾール濃度を作り出すことができ、所望される量のインスリンコンジュゲートを送達させるために、より短い期間で操作することができる。パウダー吸入器等の装置は、付与された充填量の薬剤が装置から出されるまで、活性剤を送達する。この種の吸入器において、付与された量のパウダーでのこの発明のインスリン誘導体の量により、単一投与で投与される用量が決定される。

【0080】

吸入装置により送達される製剤中におけるこの発明のインスリン誘導体の粒子径は、肺、及び下気道又は肺胞に入るインスリンの能力に関して重要である。この発明のインスリン誘導体は、送達されるインスリンコンジュゲートの少なくとも約10%、例えば約10～約20%、又はそれ以上が肺に沈着するように処方することができる。口呼吸するヒトにとって、肺沈着の最大効率は、約2μm～約3μmの粒子径で得られることが知られている。粒子径が約5μmを越えると、肺沈着はかなり低減する。約1μm以下の粒子径では肺沈着は低減し、治療的に有効な十分な質量を有する粒子を送達することが困難になる。よって、吸入により送達されるインスリン誘導体の粒子は、約10μm未満、例えば約1μm～約5μmの範囲の粒子経を有する。インスリン誘導体の処方は、選択される吸入装置に所望される粒子径を生じるように選択される。10

【0081】

有利には、乾燥パウダーとして投与されるために、この発明のインスリン誘導体は、約10μm未満、例えば約1～約5μmの粒子径を有する粒状形態に調製される。この粒子径により、患者の肺の肺胞への送達が効果的になれる。乾燥パウダーは、多くの粒子が所望の範囲のサイズを有するように製造された粒子から主としてなる。有利には、少なくとも約50%の乾燥パウダーが、約10μm未満の直径を有する粒子から作製される。このような処方は、インスリンコンジュゲート及び他の所望する成分を含有する溶液の噴霧乾燥、製粉又は臨界点濃縮により達成可能である。また本発明に有用な粒子を製造するのに適した他の方法は、当該分野で知られている。20

【0082】

粒子は、通常、容器中において、乾燥パウダー製剤から分離され、運搬気流を介して、患者の肺に移送される。典型的には、現在の乾燥パウダー吸入器において、固体物を破壊する力は、患者の吸入のみによりもたらされる。他の種類の吸入器では、患者の吸入により生じる空気流で、粒子を崩壊させるインペラモータが起動される。30

【0083】

乾燥パウダー吸入器から投与されるこの発明のインスリン誘導体の製剤は、誘導体を含有する微細に分割された乾燥パウダーを典型的には含んでいるが、パウダーは、增量剤、担体、賦形剤、他の添加剤等をさらに含有可能である。添加剤は、例えば特定のパウダー吸入器からの送達に要求されているようにパウダーを希釈し、製剤のプロセシングを容易にし、製剤に有利なパウダー特性を提供し、吸入装置からのパウダーの分散を容易にし、製剤を安定化させ(例えば酸化防止剤又はバッファー)、製剤に風味を付与するために、インスリンコンジュゲートの乾燥パウダー製剤に含有せしめることができる。有利には、添加剤は、患者の気道に悪影響を与えないものである。インスリン誘導体は分子レベルで添加剤と混合することもできるし、又は固体製剤は、添加剤の粒子と混合させるか、又は該粒子上をコートするインスリンコンジュゲートの粒子を含有可能である。典型的な添加剤には、単糖類、二糖類及び多糖類；糖アルコール及び他のポリオール、例えばラクトース、グルコース、ラフィノース、メレジトース、ラクチトール(lactitol)、マルチトール、トレハロース、スクロース、マンニトール、デンプン、又はそれらの組合せ；界面活性剤、例えばソルビトール類、ジホスファチジルコリン、又はレシチン等が含まれる。典型的には、添加剤、例えば增量剤は、上述した目的に対して有効な量、多くの場合は製剤の重量に対して約50%～約90%の量で存在している。インスリンアナログタンパク質等のタンパク質の製剤に対して当該分野で知られている添加剤も本製剤に含めることができる。40

【0084】

この発明のインスリン誘導体を収容するスプレーは、インスリンコンジュゲートの懸濁液又は溶液を、加圧下にて、強いてノズルを通過させることにより製造することができる。ノズルサイズ及び構造、適用圧力、及び液体供給量は、所望する出量及び粒子径が達成されるように選択することができる。例えば、キャピラリー又はノズルフィード部に接続した電場により、電気スプレーを製造することができる。有利には、スプレーにより送達されるインスリンコンジュゲートの粒子は、約10 μm未満、例えば約1 μm～約5 μmの範囲の粒子径を有する。

【0085】

スプレーを用いて使用するのに適したこの発明のインスリン誘導体の製剤は、典型的には、溶液1ml当たり、約1mg～約20mgのインスリンコンジュゲート濃度で、水溶液中にインスリン誘導体を含有している。製剤は、賦形剤、バッファー、等張剤、防腐剤、界面活性剤、及び例えば亜鉛等の薬剤を含有することができる。また製剤は、賦形剤、又はインスリン誘導体を安定化させるための薬剤、例えばバッファー、還元剤、バルクタンパク質、又は炭水化物をさらに含有可能である。インスリンコンジュゲートの処方に有用なバルクタンパク質には、アルブミン、プロタミン等が含まれる。インスリンコンジュゲートの処方に有用な典型的な炭水化物には、スクロース、マンニトール、ラクトース、トレハロース、グルコース等が含まれる。またインスリン誘導体製剤は、エアゾールの形成において、溶液の噴霧化により生じるインスリンコンジュゲートの表面誘起凝集を低減又は防止可能な界面活性剤を、さらに含有することができる。種々の従来からの界面活性剤、例えばポリオキシエチレン脂肪酸エステル及びアルコール類、及びポリオキシエチレンソルビトール脂肪酸エステルを使用することもできる。量は、一般的には、製剤の重量に対して約0.001～約4%の範囲である。

【0086】

本発明のインスリン誘導体を含有する薬学的組成物は、治療が必要な患者に非経口的に投与されてよい。非経口投与は、シリング、場合によってはペン状シリングにより、皮下、筋肉内又は静脈内注射することにより実施されてよい。または、非経口投与は、輸液ポンプにより実施することもできる。さらなる選択肢は、目的に対して特異的に考案された組成物、パウダー又は液体等において、インスリンを鼻又は肺に投与することである。

【0087】

本発明のインスリン誘導体の注射用組成物は、所望する最終生成物を得るために必要に応じて成分を溶解及び混合することを含む、製薬工業の常套的な技術を使用して調製することができる。よって、一手順において、本発明のインスリン誘導体は、調製される組成物の最終容量よりも幾分少ない量の水に溶解される。必要に応じて、等張剤、防腐剤及びバッファーが添加され、必要ならば、塩酸等の酸、又は水酸化ナトリウム水等の塩基を使用して、溶液のpHが調節される。最後に、溶液の容量は、所望の濃度の成分が付与されるように、水を用いて調節される。

【0088】

本発明の他の態様において、バッファーは酢酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、シタラート、グリシルグリシン、ヒスチジン、グリシン、リジン、アルギニン、リン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸ナトリウム、及びトリス(ヒドロキシメチル)-アミノメタン、ビシン(bicine)、トリシン、リンゴ酸、スクシナート、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、アスパラギン酸、又はそれらの混合物からなる群から選択される。これらの特定のバッファーの各一が、本発明の別の態様を構成する。

【0089】

本発明のさらなる態様において、製剤は、フェノール、o-クレゾール、m-クレゾール、p-クレゾール、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸プロピル、2-フェノキシエタノール、p-ヒドロキシ安息香酸ブチル、2-フェニルエタノール、ベンジルアルコール、クロロブタノール、及びチオメロサル(thiomerosal)、プロノポール、安息香酸、イミド尿素、クロロヘキシジン、デヒドロ酢酸ナトリウム、クロロクレゾール、

10

20

30

40

50

p-ヒドロキシ安息香酸エチル、塩化ベンゼトニウム、クロルフェネシン(chlorphenesine)(3 p-クロルフェノキシプロパン-1,2-ジオール)又はそれらの混合物からなる群から選択され得る、薬学的に許容可能な防腐剤をさらに含有する。本発明のさらなる態様において、防腐剤は、0.1 mg / ml ~ 20 mg / ml の濃度で存在している。本発明のさらなる態様において、防腐剤は、0.1 mg / ml ~ 5 mg / ml の濃度で存在している。本発明のさらなる態様において、防腐剤は5 mg / ml ~ 10 mg / ml の濃度で存在している。本発明のさらなる態様において、防腐剤は10 mg / ml ~ 20 mg / ml の濃度で存在している。これらの特定の防腐剤の各一が、本発明の別の態様を構成する。薬学的組成物に防腐剤を使用することは、当業者によく知られている。簡便には、Remington : The Science and Practice of Pharmacy, 第19版、1995が参照される。

10

【0090】

本発明のさらなる態様において、製剤は、塩(例えば塩化ナトリウム)、糖又は糖アルコール、アミノ酸(例えば、グリシン、L-ヒスチジン、アルギニン、リジン、イソロイシン、アスパラギン酸、トリプトファン、スレオニン)、アルジトール(例えばグリセロール(グリセリン)、1,2-プロパンジオール(プロピレングリコール)、1,3-プロパンジオール、1,3-ブタンジオール)ポリエチレングリコール(例えばPEG400)、又はそれらの混合物からなる群から選択され得る等張剤をさらに含有する。任意の糖、例えば単糖類、二糖類又は多糖類、又は水溶性グルカン類、例えばフルクトース、グルコース、マンノース、ソルボース、キシロース、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース、デキストラン、プルラン、デキストリン、シクロデキストリン、可溶性デンプン、ヒドロキシエチルデンプン、及びカルボキシメチルセルロース-Naを使用してもよい。一態様において、糖添加剤はスクロースである。糖アルコールは、少なくとも一の-OH基を有するC4-C8炭化水素と定義され、例えばマンニトール、ソルビトール、イノシトール、ガラクチトール(galactitol)、ズルシトール、キシリトール、及びアラビトールを含む。一態様において、糖アルコール添加剤はマンニトールである。上述した糖又は糖アルコールは、個々に又は組合せて使用されてよい。使用される量は、糖又は糖アルコールが液状調製物に溶解し、本発明の方法を使用して得られた安定化効果に悪影響を与えない限りは、限定されて固定されるものではない。一態様において、糖又は糖アルコールの濃度は、約1 mg / ml ~ 約150 mg / ml である。本発明のさらなる態様において、等張剤は1 mg / ml ~ 50 mg / ml の濃度で存在している、本発明のさらなる態様において、等張剤は1 mg / ml ~ 7 mg / ml の濃度で存在している。本発明のさらなる態様において、等張剤は8 mg / ml ~ 24 mg / ml の濃度で存在している。本発明のさらなる態様において、等張剤は25 mg / ml ~ 50 mg / ml の濃度で存在している。これらの特定の等張剤の各一が、本発明の別の実施態様を構成する。薬学的組成物に等張剤を使用することは、当業者によく知られている。簡便には、Remington : The Science and Practice of Pharmacy, 第19版、1995が参照できる。

20

【0091】

典型的な等張剤は、塩化ナトリウム、マンニトール、ジメチルスルホン及びグリセロールであり、典型的な防腐剤は、フェノール、m-クレゾール、p-ヒドロキシ安息香酸メチル及びベンジルアルコールである。

30

適切なバッファーの例は、酢酸ナトリウム、グリシルグリシン、HEPES(4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸)及びリン酸ナトリウムである。

40

【0092】

本発明のインスリン誘導体の鼻投与用の組成物は、例えば、欧州特許第272097号(Novo Nordisk A/S)に記載されているようにして調製されうる。

【0093】

この発明のインスリン誘導体を含有する組成物は、インスリンに対して敏感な状態の処置に使用することができる。よってそれらは、1型糖尿病、2型糖尿病及び例えば重篤に傷害を被った人及び大手術を受けた人にしばしば見られる高血糖症の処置に使用することができる。任意の患者に対する最適な用量レベルは、用いられる特定のインスリン誘導体

50

の効能、年齢、体重、身体活動性、及び患者の食事、他の薬剤との併用の可能性、治療される状態の重篤度を含む様々な要因に依存する。この発明のインスリン誘導体の毎日の投薬量が、既知のインスリン組成物に対するものと同様の方法で当業者によって各個々の患者に対して決定されることが推奨される。

都合がよいことに、この発明のインスリン誘導体は、他のタイプのインスリン、例えばさらに速効で作用を開始するインスリニアナログと混合して使用してもよい。このようなインスリニアナログの具体例は、例えば、公開番号EP214826(Novo Nordisk A/S)、EP375437(Novo Nordisk A/S)及びEP383472(Eli Lilly & Co)を有する欧州特許出願に記載されている。

【0094】

10

本発明を次の段落にさらに要約する：

1 a . 親インスリンと置換基を有し、該置換基が生理学的 pH で負に帯電している末端基；芳香族基と末端基との間に 0、1、2 又は 3 の炭素を有する芳香族基；少なくとも 4 の CH_2 基を有する脂肪族鎖；及びリンカーを有し、脂肪族鎖がリンカーを介して親インスリンに結合しており、但し 1) 芳香族基がアリーレン又はヘテロアリーレンであるならば、酸素を介して結合せず、また 2) 芳香族基が C_6H_4 であるならば、硫黄を介して結合しないインスリン誘導体。

2 a . 芳香族基がアリーレン、ヘテロアリーレン又は多環式系である、第 1 a 項に記載のインスリン誘導体。

3 a . 置換基が 1 以上の芳香族基を有する、第 1 a 又は 2 a 項に記載のインスリン誘導体。

4 a . 末端基が -COOH である、第 2 a 項に記載のインスリン誘導体。

【0095】

20

5 a . アリーレンが、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²から選択される 1 又は 2 の基で置換されていてもよく、ここで R² 及び R³ が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又は C₂₋₆-アルキニルである、第 2 a 項に記載のインスリン誘導体。

30

6 a . アリーレンが、C₁₋₃-アルキル、C₂₋₃-アルケニル、C₂₋₃-アルキニル、又は-OR²から選択される 1 又は 2 の基で置換されていてもよく、ここで R² が C₁₋₃-アルキル、C₂₋₃-アルケニル、又は C₂₋₃-アルキニルとすることができます、第 5 a 項に記載のインスリン誘導体。

【0096】

7 a . ヘテロアリーレン基が、窒素、硫黄又は酸素を有している、第 2 a 項に記載のインスリン誘導体。

40

8 a . 炭素又は窒素原子が置換されていてもよい、第 7 a 項に記載のインスリン誘導体。

9 a . 炭素が、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される

50

1又は2の基で置換されてもよく、ここでR²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルである、第8a項に記載のインスリン誘導体。

10 a. 窒素が、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、C(O)-C₁₋₆-アルキル、C(O)-C₂₋₆-アルケニル、又はC(O)-C₂₋₆-アルキニルからなる群から選択される1又は2の基で置換されてもよい、第8a項に記載のインスリン誘導体。

【0097】

11 a. 多環式系が、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²から選択される1又は2の基で置換されてもよく、ここでR²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルである、第2a項に記載のインスリン誘導体。

【0098】

12 a. リンカーが、アミド結合を介して結合している、1-4のアミノ酸残基を含む、第1a-11a項に記載のインスリン誘導体。

13 a. リンカーが、少なくとも一の遊離のカルボン酸基又は中性のpHで負に帯電している基を有する、第12a項に記載のインスリン誘導体。

14 a. リンカーがアミド結合を介して結合している1-4のアミノ酸アミド残基を含む、第1a-11a項に記載のインスリン誘導体。

15 a. リンカーがアミドを含む、第1a-11aに記載のインスリン誘導体。

【0099】

16 a. リンカーが、式-C(=O)NR⁴R⁵、-SONR⁴R⁵又は-SO₂NR⁴R⁵のアミド又はN-置換されたアミドを含み、ここでR⁴及びR⁵が互いに独立して、水素、-CH₃、-CH₁₋₆CH₃、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、CONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル又はC₂₋₆-アルキニルとすることができる、またR⁴及びR⁵が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有してもよく、1又は2の二重結合を有してもよい、3ないし8員の複素環を形成可能である、第1a-11a項のいずれかに記載のインスリン誘導体。

17 a. R⁴及びR⁵が水素である、第16a項に記載のインスリン誘導体。

18 a. 置換基がLysB29の-N-アミノ基に結合している、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体。

【0100】

19 a. 次の式：

【化12】



[上式中：

Insは親インスリン部分であり、インスリン部分のB鎖に存在するLys残基の-N-アミノ基又はB鎖のN-末端アミノ酸残基の-N-アミノ基は、アミド結合を介して、置換基

10

20

30

40

50

のCO基に結合しており；

X₁は：

- ・nが1、2、3、4、5又は6である、-CO-(CH₂)_n；
- ・-CO-((CR⁶R⁷)_q-NR-CO)₁₋₄-で、R⁶及びR⁷が互いに独立して、また各q値も独立して、水素、-COOH、又はOHとすることができます、qが1-6であり、Rが水素、-(CH₂)₁₋₆-COOH；-(CH₂)₁₋₆-CONH₂；-(CH₂)₁₋₆-SO₃H；-(CH₂)₁₋₆-PO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-SO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂；C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル；C₂₋₆-アルキニル、又はアリーレンであり、アリーレンが-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよく、R²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル又はC₂₋₆-アルキニルであるもの；
- ・置換基にカルボン酸基を有する-Aミノ酸アミド残基又は-Aミノ酸残基で、そのカルボン酸基の一つと共に、親インスリンのB鎖に存在するLys残基の-Aミノ基又はB鎖のN-末端アミノ酸残基の-Aミノ基と共同して、アミド結合を形成する残基；
- ・アミド結合を介して、鎖が、親インスリンのB鎖に存在するLys残基の-Aミノ基又はB鎖のN-末端アミノ酸残基の-Aミノ基に結合している、アミド結合を介して結合した2、3又は4の-Aミノ酸残基又は-Aミノ酸アミド残基からなる鎖；又は
- ・結合；

であり；

X₂は：

- ・-CO-
- ・-COCH(R⁸)-；
- ・-COCH₂N(CH₂R⁸)-；
- ・-COCH₂N(CH₂R⁸)COCH₂N(CH₂R⁸)-；
- ・-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-；
- ・-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-COCH₂CH₂N(CH₂CH₂R⁸)-；
- ・-COCH₂N(CH₂CH₂R⁸)-；
- ・-COCH₂CH₂N(CH₂R⁸)-；

で、R⁸がCOOH又はCONH₂とすることができるもの；

- ・-(CO-(CH₂)₂₋₆-NH-CO)₁₋₄-；
- ・-(CO-(CH₂)₂₋₆-CO-NH)₁₋₄-；
- ・-(CO-(CR⁹R¹⁰)₁₋₆-CO-NH)₁₋₄-；

で、R⁹及びR¹⁰が互いに独立して、H、-COOH、-(CH₂)₁₋₆COOH、CH₃、-(CH₂)₁₋₆CH₃又はCONH₂とすることができるもの；又は

・結合；

であり；

Wは：

- ・-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-

10

20

30

40

50

$C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)NR^2R^3$ 、 $-NR^2C(O)R^3$ 、 $-CH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)R^2$ 、 $-OCH_2C(O)R^2$ 、 $-C(O)R^2$ 、又は $-C(O)OR^2$ 、又は $OCH_2C(O)OR^2$ からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよいアリーレンで、ここで R^2 及び R^3 が独立して、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、又は C_{2-6} -アルキニルであり； R^2 及び R^3 が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有してもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；

・炭素が、 $-COOH$ 、 $-CH_3$ 、 $-SO_3H$ 、 $-(CH_2)_{1-6}-SO_3H$ 、 $-PO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_{1-6}-O-PO_3H_2$ 、テトラゾ-5-リル、又は $CONH_2$ 、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、 C_{2-6} -アルキニル、水素、ハロゲン、 CN 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-S(O)_2CF_3$ 、 $-SCF_3$ 、 $-NO_2$ 、 $-OR^2$ 、 $-NR^2R^3$ 、 $-SR^2$ 、 $-NR^2S(O)_2R^3$ 、 $-S(O)_2NR^2R^3$ 、 $-S(O)NR^2R^3$ 、 $-S(OR^2)$ 、 $-S(O)_2R^2$ 、 $-C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)NR^2R^3$ 、 $-NR^2C(O)R^3$ 、 $-CH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OCH_2C(O)NR^2R^3$ 、 $-OC(O)R^2$ 、 $-OCH_2C(O)R^2$ 、 $-C(O)R^2$ 、又は $-C(O)OR^2$ 、又は $OCH_2C(O)OR^2$ からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよいヘテロアリーレンで、ここで R^2 及び R^3 が独立して、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、又は C_{2-6} -アルキニルであり； R^2 及び R^3 が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有してもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；

・窒素が、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル、又は C_{2-6} -アルキニルからなる群から選択される基で置換されていてもよいヘテロアリーレン；又は

・結合；

であり；

m は0、1、2、3、4、5又は6であり；

X は：

・-O-；

・-C=O；

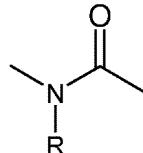
・-S-；

・-S(O)-；

・-S(O)₂-；

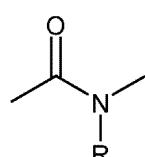
・次の式：

【化13】



30

【化14】



40

(上式中：Rは、水素、 C_{1-6} -アルキル、 C_{2-6} -アルケニル又は C_{2-6} -アルキニル

50

ルである)

のもの；又は

・結合；

であり；

Y は：

-(C R⁶ R⁷)_q-N R¹-CO) 1-4-で、R⁶ 及び R⁷ が互いに独立して、H、-CO
OH、又はOHとすることができ、q が1-6 であり、R¹ が水素、-(CH₂)₁₋₆-C
OOH；-(CH₂)₁₋₆-CONH₂；-(CH₂)₁₋₆-SO₃H；-(CH₂)₁₋₆-PO
O₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-SO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂；C₁₋₆
-アルキル、C₂₋₆-アルケニル；C₂₋₆-アルキニル、又はアリーレンであり、ここで 10
アリーレンが、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃
H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-
アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF
₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR
²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、
-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂
C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²
、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR² からなる群から選択さ
れる1又は2の基で置換されていてもよく、R² 及びR³ が独立して、水素、C₁₋₆-
アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであるもの； 20

・R¹ 及びR² が上述したものである-NR¹R²；又は

・結合；

であり；

Q は、式-(CH₂)_{s1}-Q₁-(CH₂)_{s2}-Q₂-(CH₂)_{s3}-Q₃-(CH₂)_{s4}-Q
₄-(CH₂)_{s5}-の二価の炭化水素鎖であり；ここでQ₁-Q₃ が互いに独立して、O、
S、S(O)、S(O)₂、P(O₂H)、-O-P(O₂H)-O-、NH、NR²；-N(COR²)
-、又は結合とすることができ；R² が水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル
、C₂₋₆-アルキニルであり；

Q₄ が：

-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-
O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-
アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃
、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)
₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、
-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R
³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、
又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR² からなる群から選択される1又は2の基
で置換されていてもよいアリーレンで、ここでR² 及びR³ が独立して、水素、C₁₋₆-
アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり；R² 及びR³ が同
じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択さ
れる1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有してい
てもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの； 40

・炭素が、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、
-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキ
ル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、
-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、
-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)
₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)
NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)
R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR² からなる群から選択される1 50

又は 2 の基で置換されていてもよいヘテロアリーレンで、ここで R² 及び R³ が独立して、水素、C_{1 - 6}-アルキル、C_{2 - 6}-アルケニル、又は C_{2 - 6}-アルキニルであり；R² 及び R³ が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される 1 又は 2 のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1 又は 2 の二重結合を有していてもよい、3 ないし 8 員の複素環を形成可能なもの；

- ・窒素が、水素、C_{1 - 6}-アルキル、C_{2 - 6}-アルケニル、又は C_{2 - 6}-アルキニルからなる群から選択される 1 又は 2 の基で置換されていてもよいヘテロアリーレン；又は
- ・多環式系；

とすることができる、ここで、s₁、s₂、s₃ 及び s₄ は互いに独立して、s₁、s₂、s₃ 及び s₄ の合計が 4 ~ 22 の範囲になるような、0 又は 1 ~ 10 の整数とすることができます；s₅ は 0 又は 1 ~ 3 の整数であり、但し；Q₁、Q₂ 及び Q₃ は互いに結合を形成しなくてもよく、s₁、s₂ 及び s₃ が 0 又は 1 であるならば、いずれの -CH₂- も、次の原子：O、N、S、又は P の 2 つに結合できず；

Z は：

- COOH；
- CO-Asp；
- CO-Glu；
- CO-Gly；
- CO-Sar；
- CH(COOH)₂；
- N(CH₂COOH)₂；
- SO₃H
- PO₃H₂；
- O-SO₃H；
- O-PO₃H₂；又は
テトラゾ-5-リル；又は

生理学的 pH 値で負の電荷を有する 5 員及び 6 員環からなる二環式系；

である】

を有する、第 1 a 項に記載のインスリン誘導体、及びその任意の Zⁿ⁻²⁺ 錯体。

【0101】

20 a . X₁ が、4 ~ 10 の炭素原子を有するアミノ酸アミド残基である、第 19 a 項に記載のインスリン誘導体。

21 a . X₁ が、-D-Asp-アミド、-L-Asp-アミド、-L-Glu-アミド、及び -D-Glu-アミドからなる群から選択される、第 19 a - 20 a 項の何れかに記載のインスリン誘導体。

22 a . X₁ がアミノ酸アミド残基の鎖である、第 19 a 項に記載のインスリン誘導体。

【0102】

23 a . X₁ が、-L-Asp-アミド- -L-Asp-アミド、-L-Asp-アミド- -L-Glu-アミド、-L-Glu-アミド- -L-Glu-アミド、-L-Glu-アミド- -L-Asp-アミド、-L-Asp-アミド- -D-Asp-アミド、-L-Asp-アミド- -D-Glu-アミド、-L-Glu-アミド- -D-Asp-アミド、-D-Asp-アミド- -L-Asp-アミド、-D-Asp-アミド- -L-Glu-アミド、-D-Glu-アミド- -L-Glu-アミド、-D-Glu-アミド- -L-Asp-アミド、-D-Asp-アミド- -D-Glu-アミド、-D-Glu-アミド- -D-Glu-アミド、-D-Glu-アミド- -D-Asp-アミドからなる群から選択される、2 のアミノ酸アミド残基の鎖である、第 19 a 又は 22 a 項に記載のインスリン誘導体。

【0103】

24 a . X₁ が 4 ~ 10 の炭素原子を有するアミノ酸残基である、第 19 a 項に記載のインスリン誘導体。

10

20

30

40

50

25 a. X₁ が、 -A s p、 -A s p、 -G l u、 -G l u、 -h G l u 及び -h G l u からなる群から選択される、第24 a 項に記載のインスリン誘導体。

26 a. X₁ が -G l u である、第25 a 項に記載のインスリン誘導体。

27 a. X₁ がアミノ酸残基の鎖である、第19 a 項に記載のインスリン誘導体。

28 a. X₁ が2つの -アミノ酸残基からなる鎖であり、一方が、4~10の炭素原子及び遊離のカルボン酸基を有し、他方が2~11の炭素原子を有するが、遊離のカルボン酸基を有さない、第27 a 項に記載のインスリン誘導体。

【0104】

29 a. X₁ が、 -A s p-G l y ; G l y- -A s p ; -A s p-G l y ; G l y- -A s p ; -G l u-G l y ; G l y- -G l u ; -G l u-G l y ; G l y- -G l u ; -h G l u-G l y ; G l y- -h G l u ; -h G l u-G l y ; 及び G l y- -h G l u からなる群から選択される、第28 a 項に記載のインスリン誘導体。 10

30 a. X₁ が2つの -アミノ酸残基からなる鎖であり、該残基は独立して4~10の炭素原子を有し、また双方が遊離のカルボン酸基を有する、第27 a 項に記載のインスリン誘導体。

【0105】

31 a. X₁ が、 -A s p- -A s p ; -A s p- -G l u ; -A s p- -h G l u ; -A s p- -A s p ; -A s p- -G l u ; -A s p- -h G l u ; -A s p- -A s p ; -A s p- -G l u ; -A s p- -h G l u ; -G l u- -A s p ; -G l u- -G l u ; -G l u- -h G l u ; -G l u- -A s p ; -G l u- -G l u ; -G l u- -h G l u ; -G l u- -A s p ; -G l u- -G l u ; -G l u- -h G l u ; -h G l u- -A s p ; -h G l u- -G l u ; -h G l u- -O-SO₃H ; -h G l u- -PO₃H₂ ; -h G l u- -O-PO₃H₂ ; C₁-6-アルキル、C₂-6-アルケニル；C₂-6-アルキニル、又はアリーレンであり、アリーレンが-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁-6-アルキル、C₂-6-アルケニル、C₂-6-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R² 又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR² からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよく、R² 及び R³ が独立して、水素、C₁-6-アルキル、C₂-6-アルケニル又はC₂-6-アルキニルである、第19 a 項に記載のインスリン誘導体。 20

【0106】

32 a. X₁ が-C O-((CR⁶R⁷)_q-NR-C O) ₁₋₄ であり、R⁶ 及び R⁷ が互いに独立して、また各 q 値も独立して、水素、-COOH、又はOHとすることができます、q は1~6 であり、R は水素、-(CH₂)₁₋₆-COOH；-(CH₂)₁₋₆-CONH₂；-(CH₂)₁₋₆-SO₃H；-(CH₂)₁₋₆-PO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-SO₃H₂；-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂；C₁-6-アルキル、C₂-6-アルケニル；C₂-6-アルキニル、又はアリーレンであり、アリーレンが-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁-6-アルキル、C₂-6-アルケニル、C₂-6-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R² 又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR² からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよく、R² 及び R³ が独立して、水素、C₁-6-アルキル、C₂-6-アルケニル又はC₂-6-アルキニルである、第19 a 項に記載のインスリン誘導体。 40

33 a. q = 1 及び q = 2 であると、R⁶ 及び R⁷ はH であり；q = 3 であると、R⁶ は H であり、R⁷ は-COOH であり；q は3 であり、R は水素である、第32 a 項に記載のインスリン誘導体。

【0107】

34 a. X₂ が結合である、第19 a - 34 a 項の何れかに記載のインスリン誘導体。

3 5 a . X₂ が :

- - C O -
- - C O C H (R⁸) - ;
- - C O C H₂ N(C H₂ R⁸) - ;
- - C O C H₂ N(C H₂ R⁸) C O C H₂ N(C H₂ R⁸) - ;
- - C O C H₂ C H₂ N(C H₂ C H₂ R⁸) - ;
- - C O C H₂ C H₂ N(C H₂ C H₂ R⁸) - C O C H₂ C H₂ N(C H₂ C H₂ R⁸) - ;
- - C O C H₂ N(C H₂ C H₂ R⁸) - ;
- - C O C H₂ C H₂ N(C H₂ R⁸) - ;

で、R⁸ が COOH 又は CONH₂ とすることができるもの ;

- -(C O-(C H₂)₂-₆-N H-C O)₁-₄- ;
- -(C O-(C H₂)₂-₆-C O-N H)₁-₄- ;
- -(C O-(C R⁹ R¹⁰)₁-₆-C O-N H)₁-₄- ;

で、R⁹ 及び R¹⁰ が互いに独立して、H、-COOH、-(C H₂)₁-₆ COOH、C H₃、-(C H₂)₁-₆ C H₃ 又は CONH₂ とすることができるもの ; 又は

・ 結合 ;

である、第 19 a 項に記載のインスリン誘導体。

【 0 1 0 8 】

3 6 a . X₂ が、-(C O-(C H₂)₂-N H-C O)₁-、又は-(C O-(C H₂)₃-N H-C O)₁- からなる群から選択される、第 35 a 項に記載のインスリン誘導体。

3 7 a . X₂ が-C O- 又は-C O C H(COOH)- である、第 35 a 項に記載のインスリン誘導体。

3 8 a . X₁ が結合である、第 35 a - 37 a 項に記載のインスリン誘導体。

【 0 1 0 9 】

3 9 a . W がフェニレンである、第 19 a - 38 a 項に記載のインスリン誘導体。

4 0 a . W が、窒素、酸素又は硫黄を有する 5-7 員の複素環系である、第 39 a 項に記載のインスリン誘導体。

4 1 a . W が、少なくとも一の酸素又は硫黄を有する 5 員の複素環系である、第 40 a 項に記載のインスリン誘導体。

4 2 a . W が結合である、第 19 a - 38 a 項に記載のインスリン誘導体。

4 3 a . m が 0、1 又は 2 である、第 19 a - 42 a 項に記載のインスリン誘導体。

4 4 a . X が-C O- 又は結合であり、Y が結合である、第 19 a - 43 a 項に記載のインスリン誘導体。

【 0 1 1 0 】

4 5 a . Q が、式-(C H₂)_{s1}-Q₁-(C H₂)_{s2}-Q₂-(C H₂)_{s3}-Q₃-(C H₂)_{s4}-Q₄-(C H₂)_{s5}- の鎖であり；ここで Q₁-Q₃ が互いに独立して、O、S、S(O)、S(O)₂、P(O₂H)、-O-P(O₂H)-O-、N H、N R²；-N(C O R²)-、又は結合とすることができます；R² が水素、C₁-₆-アルキル、C₂-₆-アルケニル、C₂-₆-アルキニルであり；

Q₄ が :

· - C O O H、-C H₃、-S O₃ H、-(C H₂)₁-₆-S O₃ H、-P O₃ H₂、-(C H₂)₁-₆-O-P O₃ H₂、テトラゾ-5-リル、又は CONH₂、C₁-₆-アルキル、C₂-₆-アルケニル、C₂-₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-C N、-C F₃、-O C F₃、-S(O)₂C F₃、-S C F₃、-N O₂、-O R²、-N R²R³、-S R²、-N R²S(O)₂R³、-S(O)₂N R²R³、-S(O)N R²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)N R²R³、-O C(O)N R²R³、-N R²C(O)R³、-C H₂C(O)N R²R³、-O C H₂C(O)N R²R³、-O C(O)R²、-O C H₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)O R²、又は-O C H₂C(O)O R² からなる群から選択される 1 又は 2 の基で置換されていてもよいアリーレンで、ここで R² 及び R³ が独立して、水素、C₁-₆-アルキル、C₂-₆-アルケニル、又は C₂-₆-アルキニルであり；R² 及び R³ が同

10

20

30

40

50

じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；

・炭素が、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよいヘテロアリーレンで、ここでR²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり；R²及びR³が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能なもの；

・窒素が、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルからなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよいヘテロアリーレン；又は・多環式系；

とすることができる、ここで、s1、s2、s3及びs4は互いに独立して、s1、s2、s3及びs4の合計が4~22の範囲になるような、0又は1~10の整数とことができ；s5は0又は1~3の整数であり、但し；Q₁、Q₂及びQ₃は互いに結合を形成しなくてもよく、s1、s2及びs3が0又は1であるならば、いずれの-CH₂-も、次の原子：O、N、S、又はPの2つに結合できない、第19a-44a項の何れかに記載のインスリン誘導体。

【0111】

46a.Q₄がアリーレンである、第45a項に記載のインスリン誘導体。

47a.Q₄がC₆H₄である、第45a又は46a項に記載のインスリン誘導体。

48a.Q₄が、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよいアリーレンであり、ここでR²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり；R²及びR³が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能である、第45a又は46a項に記載のインスリン誘導体。

【0112】

49a.Q₄がヘテロアリーレンである、第45a項に記載のインスリン誘導体。

50a.ヘテロアリーレン基が、窒素、硫黄又は酸素を有する、第49a項に記載のインスリン誘導体。

51a.ヘテロアリーレンが窒素を有し、該窒素が、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル又はC₂₋₆-アルキニルからなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよい、第50a項に記載のインスリン誘導体。

【0113】

10

20

30

40

50

52a. ヘテロアリーレンが炭素を有し、該炭素が、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよく、ここでR²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり、R²及びR³が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能である、第50a項に記載のインスリン誘導体。
10

【0114】

53a. Q₄が5-7員環系である、第45a-46a項に記載のインスリン誘導体。

54a. Q₄が5員環系である、第53a項に記載のインスリン誘導体。

55a. Q₄が多環式系である、第45a項に記載のインスリン誘導体。

【0115】

56a. 多環式系が、-COOH、-CH₃、-SO₃H、-(CH₂)₁₋₆-SO₃H、-PO₃H₂、-(CH₂)₁₋₆-O-PO₃H₂、テトラゾ-5-リル、又はCONH₂、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、C₂₋₆-アルキニル、水素、ハロゲン、-CN、-CF₃、-OCF₃、-S(O)₂CF₃、-SCF₃、-NO₂、-OR²、-NR²R³、-SR²、-NR²S(O)₂R³、-S(O)₂NR²R³、-S(O)NR²R³、-S(O)R²、-S(O)₂R²、-C(O)NR²R³、-OC(O)NR²R³、-NR²C(O)R³、-CH₂C(O)NR²R³、-OCH₂C(O)NR²R³、-OC(O)R²、-OCH₂C(O)R²、-C(O)R²、又は-C(O)OR²、又は-OCH₂C(O)OR²からなる群から選択される1又は2の基で置換されていてもよく、ここでR²及びR³が独立して、水素、C₁₋₆-アルキル、C₂₋₆-アルケニル、又はC₂₋₆-アルキニルであり、R²及びR³が同じ窒素原子に結合している場合、該窒素原子と共同して、窒素、酸素及び硫黄から選択される1又は2のさらなるヘテロ原子を有していてもよく、1又は2の二重結合を有していてもよい、3ないし8員の複素環を形成可能である、第55a項に記載のインスリン誘導体。
20

【0116】

57a. Q₄が二環系である、第55a-56aに記載のインスリン誘導体。

58a. 二環系が2つの5-7員環系を含む、第57a項に記載のインスリン誘導体。

59a. 二環系が1つの6員環と1つの5員環を含む、第57a-58a項に記載のインスリン誘導体。

60a. 5員環が窒素、酸素又は硫黄を有する、第59a項に記載のインスリン誘導体。
40

【0117】

61a. Q₁、Q₂及びQ₃が全て結合である、第45a-60a項に記載のインスリン誘導体。

62a. s₂、s₃及びs₄が1である、第45a-61a項に記載のインスリン誘導体。

63a. s₁が5、6、7又は8であり、s₅が0、1又は2である、第45a-62a項に記載のインスリン誘導体。

64a. s₅が0である、第45a-63a項に記載のインスリン誘導体。

65a. s₅が2である、第45a-63a項に記載のインスリン誘導体。

66a. Q₁及びQ₂が酸素である、第45a-60a及び62a-65a項に記載のインスリン誘導体。
50

【0118】

67a. Zが-COOHである、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 68a. Zが-CO-Aspである、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 69a. Zが-CO-Gluである、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 70a. Zが-CO-Glyである、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 71a. Zが-CO-Sarである、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 72a. Zが-CH(COOH)₂である、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 。
 73a. Zが-N(CH₂COOH)₂である、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。

10

74a. Zが-SO₃Hである、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 75a. Zが-PO₃H₂である、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 76a. ZがO-SO₃Hである、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 77a. ZがO-PO₃H₂である、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 78a. Zが-テトラゾ-5-リルである、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 。

【0119】

79a. Zが6員及び5員環からなる二環系であり、Zが6員環を介して結合している、第19a-66a項に記載のインスリン誘導体。
 80a. 5員環が、6員環と共有しない、3つの窒素を有している、第79a項に記載のインスリン誘導体。

20

【0120】

81a. 親インスリンがヒトイインスリン又はブタインスリンである、第1a-80a項の何れかに記載のインスリン誘導体。
 82a. 親インスリンがインスリニアナログである、第1a-80a項の何れかに記載のインスリン誘導体。
 83a. 親インスリンのB30位にあるアミノ酸残基がLysであるか、又は欠失している、第81a-82a項の何れかに記載のインスリン誘導体。

84a. 親インスリンがdesB30ヒトイインスリンである、第83a項に記載のインスリン誘導体。

30

【0121】

85a. 親インスリンのB1位にあるアミノ酸残基が欠失している、第81a-84a項の何れかに記載のインスリン誘導体。

86a. 親インスリンのA21位にあるアミノ酸残基がGly又はAsnである、第81-85項の何れかに記載のインスリン誘導体。

87a. 親インスリンのB3位にあるアミノ酸残基がLysである、第81a-86a項の何れかに記載のインスリン誘導体。

88a. 親インスリンのB28位にあるアミノ酸残基がAsp又はLysである、第81a-87a項の何れかに記載のインスリン誘導体。

89a. 親インスリンのB29位にあるアミノ酸残基がPro又はThrである、第81a-88a項の何れかに記載のインスリン誘導体。

40

【0122】

90a. 親インスリンがAspB28ヒトイインスリンである、第88a項に記載のインスリン誘導体。

91a. 親インスリンが、GlyA21ヒトイインスリン、又はGlyA21desB30ヒトイインスリン、又はGlyA21ArgB31ArgB32ヒトイインスリンである、第86a項に記載のインスリン誘導体。

92a. 親インスリンがLysB3GluB29ヒトイインスリンである、第87a項に記載のインスリン誘導体。

93a. 親インスリンがLysB28ProB29ヒトイインスリンである、第88a-8

50

9 a 項に記載のインスリン誘導体。

9 4 a . 親インスリンが T h r B 2 9 L y s B 3 0 ヒトイインスリンである、第 8 3 a 及び 8 9 a 項に記載のインスリン誘導体。

【 0 1 2 3 】

9 5 a . それぞれのインスリン六量体が、2つの亜鉛イオン、3つの亜鉛イオン、4つの亜鉛イオン、5つの亜鉛イオン又は6つの亜鉛イオンに結合している、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体の亜鉛錯体。

【 0 1 2 4 】

9 6 a . 薬学的に許容可能な担体と共に、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体を治療的有効量含有する、治療が必要な患者における糖尿病を治療するための薬学的組成物。
10

9 7 a . 薬学的に許容可能な担体と共に、速攻で作用を開始するインスリン又はインスリニアログと混合して、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体を治療的有効量含有する、治療が必要な患者における糖尿病を治療するための薬学的組成物。

【 0 1 2 5 】

9 8 a . 薬学的に許容可能な担体と共に、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体を治療的有効量、患者に投与することを含む、治療が必要な患者における糖尿病を治療するための方法。

9 9 a . 薬学的に許容可能な担体と共に、速攻で作用を開始するインスリン又はインスリニアログと混合して、上述した項の何れかに記載のインスリン誘導体を治療的有効量、患者に投与することを含む、治療が必要な患者における糖尿病を治療するための方法。
20

1 0 0 a . 糖尿病の肺処置用である、第 9 8 a 又は 9 9 a 項に記載の方法。

【 0 1 2 6 】

1 0 1 a . 第 1 a - 9 5 a 項の何れかに記載のインスリン誘導体と、A s p B 2 8 ヒトイインスリン；L y s B 2 8 P r o B 2 9 ヒトイインスリン及びL y s B 3 G l u B 2 9 ヒトイインスリンからなる群から選択される速攻型インスリニアログとの混合物。

1 0 2 a . N ^{B 2 9} -(1 2 -(4 -カルボキシフェニル)ドデカノイル- -G l u)d e s
B 3 0 インスリン、

N ^{B 2 9} -(- 1 1 -(4 -カルボキシフェニル)ウンデカノイル- ガンマ- G l u)d e s B
3 0 インスリン、
30

N ^{B 2 9} -(1 2 -(3 -カルボキシフェニル)ドデカノイル- ガンマ- G l u d e s B 3 0
インスリン、

N ^{B 2 9} -(9 -[4 -(2 -カルボキシエチル)フェニル]ノナノイル)- ガンマ- G l u)d e
s B 3 0 インスリン、又は

N ^{B 2 9} -(4 -[1 1 -(4 -カルボキシフェニル)ウンデカノイルアミノ]ブチリル)d e s
B 3 0 インスリン、

からなる群から選択される、第 1 a - 9 5 a 項の何れかに記載のインスリン誘導体。

1 0 3 a . 実施例に記載するようなインスリン誘導体。

本発明を以下の実施例によりさらに例証するが、本発明の範囲を制限すると解釈されるものではない。
40

【 実施例 】

【 0 1 2 7 】

実施例

H P L C - M S (方法 A) :

次の機器を使用した：

Hewlett Packard series 1100 G1312A Binポンプ

Hewlett Packard series 1100 カラムコンパートメント

Hewlett Packard series 1100 G1315A DADダイオードアレイ検出器

Hewlett Packard series 1100 MSD

Sedere75蒸発光散乱検出器

機器をHP Chemstationソフトウェアで制御した。

HPLCポンプを：

A：水中に0.05%のTFA

B：アセトニトリルに0.05%のTFA

を含む2つの溶離液貯蔵所に接続した。

アセトニトリル勾配を用いて溶離されるカラムに、適量(好ましくは $1\mu l$)のサンプルを注入することによって、分析を40で実施する。

使用されるHPLC条件、検出器の設定及び質量分析器の設定を以下に付与する：

カラム：Waters Xterra MS C-18 X 3 mm id 5 mm

勾配：5%-95%のアセトニトリル、線形、2.7 ml/minで、3分間

10

検出 210 nm(DADからのアナログ出力)

ELS(ELSからのアナログ出力)

DAD後、流れを分岐させてELSに約1 ml/min、MSに0.5 ml/minとした。

【0128】

HPLC-MS(方法B)：

この方法は、勾配を50-99%のアセトニトリルにすることを除けば、HPLC-MS(方法A)と同様である。

【0129】

HPLC-MS法(方法C)：

次の機器を使用する：

20

Hewlett Packard series 1100 G1312A Binポンプ

Hewlett Packard series 1100 G13 15A DADダイオードアレイ検出器

Sciex 3000トリプルクアドロ極質量分析計

Gilson 215マイクロインジェクター

Sedex55蒸発光散乱検出器

ポンプ及び検出器は、Macintosh G3コンピュータで動作する、MassChrom1.1.1ソフトウェアにより制御される。Gilson Unipoint Version 1.90はオートインジェクターを制御する。

HPLCポンプを：

A：水中に0.01%のTFA

30

B：アセトニトリルに0.01%のTFA

を含む2つの溶離液貯蔵所に接続する。

アセトニトリル勾配を用いて溶離されるカラムに、適量(好ましくは $10\mu l$)のサンプルを注入することによって、分析を室温で実施する。カラムからの溶離液をUV検出器を通してフロースプリッターに向け、API3000スペクトロメーターのAPI Turboイオンスプレーインターフェイスまで約 $30\mu l/min(1/50)$ で通した。残余の $1.48 ml/min(49/50)$ はELS検出器に通す。

使用されるHPLC条件、検出器の設定及び質量分析器の設定を以下の表にまとめる。

【表1】

40

カラム	Waters X-Terra C18, 5μ, 50 mm×3 mm id
勾配	1.5 ml/minで7.5分間の5%-90%アセトニトリルの線形勾配
検出	210 nm(DADからのアナログ出力)
MS	イオン化モードAPI ターボイオンスプレー
ELS	ゲイン8及び40°C

【0130】

HPLC(方法A)：

バッファーア：10 mMのTris、15 mMの $(NH_4)_2SO_4$ 、4 Nの H_2SO_4 を

50

用いて pH 7.3 に調節、20% v/v のアセトニトリル

バッファー B : 80% v/v のアセトニトリル

流量 : 1.5 ml / 分

勾配 : 0-20 分は 10-50% の B

カラム : Phenomenex, Jupiter 4.6mm x 15 mm, C₄, 5 μ, 300

カラム温度 : 40

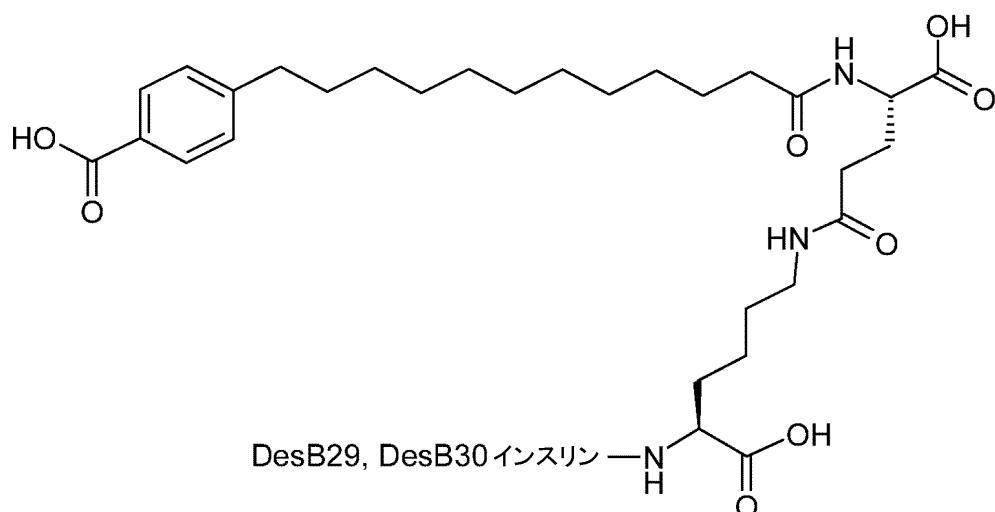
【0131】

実施例 1

N^{B29}-(12-(4-カルボキシフェニル)ドデカノイル- -Glu)desB30イン

スリン

【化15】



一般的手順(A) : カルボン酸のtert-ブチル保護

工程 1 : 4-ヨード安息香酸tert-ブチルエステル

4-ヨード安息香酸(10 g、40.3 mmol)を無水トルエン(100 ml、分子ふるい上で乾燥)に溶解させた。溶液を、窒素流下、70°で加熱した。トルエン(25 ml)に N,N-ジメチルホルムアミド-ジ-tert-ブチルアセタール(24.6 g、121 mmol)が入った溶液を、約30分以上かけて添加した。反応体を16時間加熱した。加熱ユニットが機能しなくなった時点で、反応体を70°から室温まで冷却した。溶液を70°まで加熱し、5時間混合した。サンプルを真空下で濃縮し、AcEt(400 ml)を添加した。ついで、溶液を1:1の飽和 NaHCO₃ / 水(150 ml)、及び飽和 NaHCO₃、水及び飽和 NaCl(各75 ml)で洗浄した。有機相を乾燥させ(MgSO₄)、真空下で濃縮したところ、淡褐色の油が生じた。

HPLC-MS(方法A) m/z : 327 (M + 23)。R_t = 2.43分。

¹H-NMR(CDCl₃、400 MHz) 7.77(d, 2 H)、7.69(d, 2 H)、1.58(s, 9 H)。

【0132】

一般的手順(B) : カルボン酸のメチルエステル保護

工程 2 : 12-プロモドекан酸メチルエステル

12-プロモドекан酸(10 g、35.8 mmol)を、メタノール(60 ml)及びトルエン(180 ml)と共に攪拌した。トリメチルオルトホルマート(38 g、358 mmol)と Ambrelyst A-15(約1 g)を添加した。反応体を16時間混合した。加熱ユニットが機能しなくなった時点で、反応体を70°から室温に冷却した。溶液を70°まで加熱し、24時間混合した。TLC(2:1ヘプタン / AcEt)は、反応が完了したことを示した。トリメチルオルトホルマート(38 g、358 mmol)及び Ambrelyst A-15(1.4 g)を添加し、溶液を70°で16時間攪拌した。サン

10

20

30

40

50

プルを真空下で濃縮したところ、褐色の油(9.87 g)が生じた。0.09トールで真空蒸留したところ、無色の油の2つのフラクション(109-117、6.95 g; 117-129、1.17 g)が生じた。これらを組合せ、AcOEt(100 ml)に溶解させ、飽和NaHCO₃(2×40 ml)で洗浄し、MgSO₄上で乾燥させ、真空下で濃縮した。油を20:1のAcOEt/TEA(10 ml)に溶解させ、シリカ床(3 cm×7.5 cm直径)に添加した。カラムをAcOEt/TEA 20:1(200 ml)で溶出させ、濾液を真空下で濃縮した。油をAcOEt(100 ml)に溶解させ、1NのHCl(2×40 ml)で洗浄し、MgSO₄上で乾燥させ、真空で濃縮したところ、無色の油(7.52 g、収率72%)が生じた。

HPLC-MS(方法B): m/z: 293 及び 295 (M, M+2), R_t = 1.64 分 10

¹H-NMR(CDCl₃、300 MHz) 3.67(s, 3 H)、3.41(t, 2 H)、2.30(t, 2 H)、1.80-1.90(m, 2 H)、1.52-1.71(m, 2 H)、1.37-1.52(m, 2 H)、1.28(s, 12 H)。

【0133】

一般的手順(C): Br-I交換

工程3: 12-ヨードドデカン酸メチルエステル

12-ブロモドデカン酸メチルエステル(5.65 g、19.3 mmol)をアセトン(50 ml)に溶解させた。ヨウ化ナトリウム(14.4 g、96 mmol)を添加し、反応体を窒素下で20時間還流した。サンプルを真空下で濃縮した。水(100 ml)を添加し、混合物をAcOEt(2×100 ml)で抽出した。有機抽出物をプールし、水プラス少量の飽和NaCl及び飽和NaCl(各100 ml)で洗浄し、MgSO₄上で乾燥させ、濃縮したところ、淡黄色の油(6.37 g、97%)が生じた。

HPLC-MS(方法B): m/z: 341 (M+1), R_t = 1.88 分

¹H-NMR(CDCl₃、300 MHz) 3.67(s, 3 H)、3.19(t, 2 H)、2.30(t, 2 H)、1.77-1.87(m, 2 H)、1.53-1.68(m, 2 H)、1.18-1.45(m, 14 H)。

【0134】

一般的手順(D): C-Cカップリング

工程4: 4-(11-メトキシカルボニルウンデシル)安息香酸-tert-ブチルエステル

使用前に、全てのガラス製品を乾燥させた。分子ふるい上でTHFを乾燥させた。LiClを、150で1時間乾燥させ、ついで密閉ボトルに保管した。全ての反応溶液を窒素下で作製し、シリングを介して溶液を移動した。4-ヨード安息香酸-tert-ブチルエステル(3 g、9.9 mmol)をTHF(7.5 ml)に溶解させ、-20ないし-30まで冷却した。イソプロピルマグネシウムクロリド(10.9 mmol、THFに2 M)を5分以上かけて添加し、溶液を30分攪拌した。7.5 mlのTHFにCuCN(0.97 g、10.9 mmol)とLiCl(0.92 g、21.7 mmol)が入った溶液を添加した。反応体を冷浴から外し、室温で放置した。15分後、亜リン酸トリメチル(0.62 ml)を添加した。5分攪拌した後、THF(5 ml)の溶液に、-ヨードドデカン酸メチルエステル(2.69 g、7.89 mmol)を添加した。16時間攪拌した後、反応体を飽和NH₄Cl(6 ml)でクエンチした。水(100 ml)を添加し、溶液をAcOEt(3×100 ml)で抽出した。有機抽出物をプールし、水(100 ml)(幾ばくかの飽和NaCl及びMeOHを添加し、相分離を補助した)及び飽和NaCl(100 ml)で洗浄し、MgSO₄上で乾燥させ、真空で濃縮したところ、二相残基(5.85 g)が生じた。残留物をAcOEtに溶解させ、ガラスフィルター(7.5 cm直径×3 cm)において、シリカ床に滴下した。200 mlのAcOEtをシリカを通して洗浄し、濾液を濃縮したところ、残留物が生じた。これをDCM(10 ml)に溶解させ、フラッシュクロマトグラフィー(15 cm×40 mm、9:1のヘプタン/AcOEtで溶出)で精製した。関連するフラクションをプールし、真空下で濃縮した。これを9:1のヘプタン/AcOEt(7 ml)に溶解させ、フラッシュクロマトグラフィー(15 cm×40 mm、9:1のヘプタン/AcOEtで溶出)で再度精製したところ、無色の油(185 mg)が生じた。

10

20

30

40

50

¹H-NMR(CDC₁₃、300MHz) 7.90(d, 2H)、7.21(d, 2H)、3.66(s, 3H)、2.64(t, 2H)、2.30(t, 2H)、1.53-1.68(m, 13H)、1.12-1.37(m, 14H)。

【0135】

一般的手順(E)：酸化

工程5：4-(11-メトキシカルボニルウンデシリ)安息香酸

4-(11-メトキシカルボニルウンデシリ)安息香酸-tert-ブチルエステル(185mg、0.47mmol)をTHF(2ml)に溶解させ、1NのNaOH(0.497mmol)を1分以上かけて添加した。混合物を室温で16時間攪拌した。AcOEt(50ml)を添加し、溶液を5%のAcOH(2×25ml)で洗浄し、MgSO₄上で乾燥させ、真空中で濃縮したところ生成物(153mg)が生じた。
10

HPLC-MS(方法A) : m/z : 399(M+23)、R_t = 2.86分。

¹H-NMR(CDC₁₃、300MHz) 7.90(d, 2H)、7.21(d, 2H)、2.64(t, 2H)、2.35(t, 2H)、1.54-1.70(m, 13H)、1.15-1.40(m, 16H(14H理論値))。

【0136】

一般的手順(F)：EDACを用いたアミド形成

工程6：(S)-2-[12-(4-tert-ブトキシカルボニルフェニル)ドデカノイルアミノ]ペニタン二酸-5-ベンジルエステル-1-tert-ブチルエステル

4-(11-メトキシカルボニルウンデシリ)安息香酸(153mg、0.41mmol)をDMF(3ml)に溶解させた。HOBT(60mg、0.45mmol)、EDAC(86mg、0.45mmol)及びDIEA(172mg、1.34mmol)を添加し、溶液を窒素下、室温で30分攪拌した。H-Glu(OBz)-OtBu塩化水素(141mb、0.43mmol)を溶液に添加し、室温で16時間攪拌した。サンプルを真空下で濃縮した。AcOEt(50ml)を添加し、溶液を、水で1回、5%のAcOH及び飽和NaHCO₃(各25ml)で2回洗浄し、MgSO₄上で乾燥させ、真空下で濃縮したところ、わずかに黄色がかった油(249mg)が生じた。生成物をフラッシュクロマトグラフィー(7.5cm×40mm、1:2のAcOEt/ヘプタンで溶出)で精製したところ、無色の残留物(177mg)が生じた。
20

HPLC-MS(方法B) : m/z : 652(M+1)、R_t = 2.68分。

¹H-NMR(CDC₁₃、400MHz) 7.89(d, 2H)、7.35(s, 5H)、7.21(d, 2H)、6.06(d, 1H)、5.11(s, 2H)、4.52(m, 1H)、2.64(t, 2H)、2.30-2.54(m, 2H)、2.13-2.27(m, 3H)、1.90-2.03(m, 1H)、1.53-1.67(m, 19H(13H+水))、1.46(s, 9H)、1.18-1.36(m, 14H)。

【0137】

一般的手順(G)：ベンジルエステルの除去

工程7：(S)-2-[12-(4-tert-ブトキシカルボニルフェニル)ドデカノイルアミノ]ペニタン二酸-1-tert-ブチルエステル

(S)-2-[12-(4-tert-ブトキシカルボニルフェニル)ドデカノイルアミノ]ペニタン二酸-5-ベンジルエステル-1-tert-ブチルエステル(175mg、0.27mmol)をTHFに溶解させ、窒素下に配した。10%のパラジウム炭(約20mg)を添加し、フラスコから液体を抜き、窒素を3回充填した。フラスコに、水素を満たしたバルーンを取り付け、室温で一晩乾燥させた。セライトを通して溶液を濾過し、THFで洗浄した。濾液を真空下で濃縮したところ、油(0.15g)が生じた。
40

HPLC-MS(方法B) : m/z : 584(M+23)、R_t = 1.95分。

【0138】

一般的手順(H)：カルボン酸のHSTU活性化

工程8：(S)-2-[12-(4-tert-ブトキシカルボニルフェニル)ドデカノイルアミノ]ペニタン二酸-5-tert-ブチルエステル-1-(2,5-ジオキソピロリジン-1-イル)エステル

(S)-2-[12-(4-tert-ブトキシカルボニルフェニル)ドデカノイルアミノ]ペンタン二酸-1-tert-ブチルエステル(158mg、0.28mmol)をTHF(6ml)に溶解させた。DIEA(48μl、0.28mmol)を添加し、溶液を氷浴に置いた。HSTU(101mg、0.28mmol)を添加し、溶液を16時間攪拌し、ゆっくりと室温まで温めた。溶媒を真空下で除去し、残留物をAcOEt(25ml)及び5%のAcOH(15ml)の間に分配させた。有機相を5%のAcOH(2×15ml)及び飽和NaHC₃O₃で洗浄し、乾燥させ、真空下で濃縮したところ、油(0.16g)が生じた。

HPLC-MS(方法B): m/z: 681(M+23)、R_t = 2.17分。

【0139】

一般的手順(I): インスリンの修飾及び官能基の脱保護

10

工程9: B29N(epsi)-12-(4-カルボキシフェニル)ドデカノイル-ガンマ-Glu des B30インスリン

10mlの丸底フラスコにおいて、Des-B30インスリン(126mg、0.022mmol)を、100mMのNa₂CO₃(1.5ml)及びアセトニトリル(1.5ml)を添加することによって溶解させた。(S)-2-[12-(4-tert-ブトキシカルボニルフェニル)ドデカノイルアミノ]ペンタン二酸-5-tert-ブチルエステル-1-(2,5-ジオキソビロリジン-1-イル)エステル(17mg、0.026mmol)を、アセトニトリル(750μl)に添加し、最終溶液が50:50の100mM Na₂CO₃/アセトニトリルになるように、Na₂CO₃(750μl)を添加した。溶液を室温で1時間攪拌した。溶液を15mlの遠心分離用チューブに移し、Milli-Q水(6ml)で洗浄した。溶液を氷上で冷却し、1NのHClを添加することにより、pHを5.1に調節し、沈殿に至らしめた。チューブを10°で10分、5000rpmの遠心分離にかけた。溶媒を固形物からデカントした。固形物に95:5のTFA/水(2.5ml)を添加した。溶液をRB-フラスコに注ぎ、超95:5のTFA/水(2.5ml)で洗浄した。溶液を室温で30分攪拌し、真空下で濃縮した。DCMを添加し、2回除去し、フラスコを室温で真空下で乾燥させた。生成物を調製用HPLC(2cm直径、C₁₈カラム、アセトニトリル/水/0.05%のTFA)により精製した。関連するフラクションをプールし(2つのバッチ)、水を用いて1:1に希釈した。溶液を氷上で冷却し、1NのNaOHを用い約5のpHに調節することによって、沈殿を誘導した。サンプルを遠心分離(5000rpm、10分、5°)した。液体をデカントし、ペレットを凍結乾燥したところ、白色の固形物(25.9mg+6.7mg)が生じた。25.9mgを調製用HPLC(1cm直径、C₄カラム、アセトニトリル/水/0.05%のTFA)を使用してさらに精製したところ、白色の固形物(13mg)が生じた。

HPLC(方法A): R_t = 4.62分。

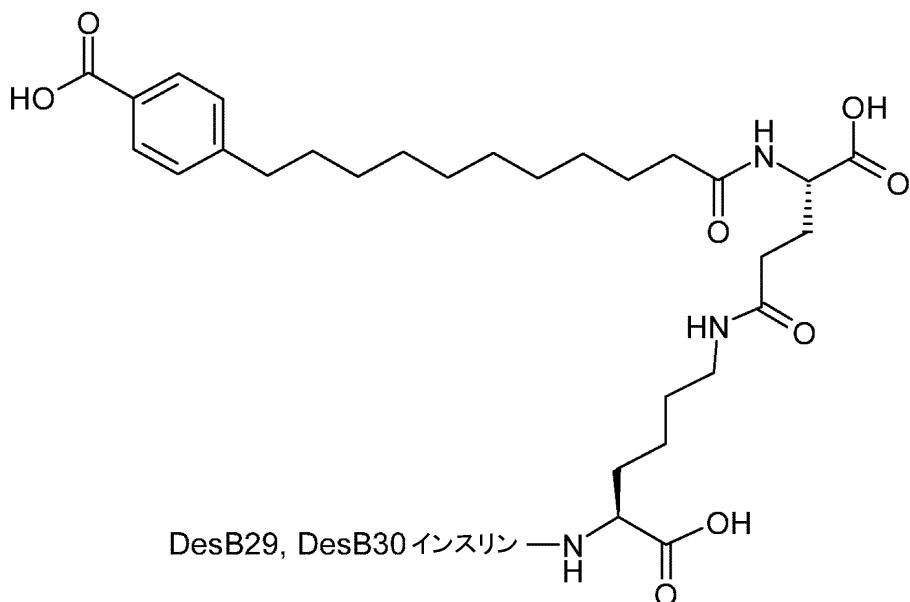
MALDI-MS:(CHCA)m/z: 6140(M=6138)。

【0140】

実施例2

N^{B29}-(-11-(4-カルボキシフェニル)ウンデカノイル--Glu)des B30
インスリン

【化 1 6】



工程 1 : 11-ヨードウンデカン酸メチルエステル

11-ブロモウンデカン酸メチルエステル(20.2g、72.3mmol)をアセトン(200ml)に溶解させた。ヨウ化ナトリウム(54g、361mmol)を添加し、反応体を窒素下で16時間還流した。室温まで冷却した後、塩を濾過した。濾液を真空中で濃縮し、水(200ml)を添加した。相分離を助けるために、幾ばくかの飽和NaClを添加したAcOEt(2×100ml)を用いて、溶液を抽出した。有機抽出物をプールし、水(100ml)+少量の飽和NaCl、及び飽和NaCl(50ml)で洗浄した。MgSO₄上で乾燥させた。溶液は赤-オレンジの色をしていた。小さじ3杯の活性炭を添加した。混合後、セライト床を通して、溶液を濾過した。濾液を真空中で濃縮したところ、淡黄色の油(20.96g、89%)が生じた。.

HPLC-MS(方法B): m/z: 327(M+1)、R_t = 1.59分。

¹H-NMR(CDCI₃, 300 MHz) δ 3.67(s, 3 H), 3.19(t, 2 H), 2.30(t, 2 H), 1.74-1.89(m, 2 H), 1.53-1.70(m, 2 H), 1.34-1.46(m, 2 H), 1.28(br, 10 H).

[0 1 4 1]

一般的手順(D2)：ピペリジン検査を伴うC-Cカップリング

工程2: 4-(1,0-メトキシカルボニルデシル)安息香酸-*tert*-ブチルエステル

使用前に、全てのガラス製品を乾燥させた。分子ふるい上で THF を乾燥させた。 LiCl を、150 °C で 1 時間乾燥させ、ついで密閉ボトルに保管した。全ての反応溶液を窒素下で作製し、シリングを介して溶液を移動した。4-ヨード安息香酸-tert-ブチルエステル(1.2 g、3.95 mmol)を THF(3 ml)に溶解させ、-30 °C まで冷却した。イソプロピルマグネシウムクロリド(4.34 mmol、THF に 2 M)を 5 分以上かけて添加し、溶液を -18 °C ~ -25 °C の温度で 1 時間攪拌した。溶液を -22 °C まで冷却し、ついで、THF(4.2 ml)に CuCN(0.389 g、4.34 mmol)と LiCl(0.368 g、8.68 mmol)の混合物が入ったものを添加した。反応容器を冷却から外し、放置して室温まで温めた(約 10 分)。亜リン酸トリメチル(0.95 ml)を添加し、室温で 5 分攪拌した後、THF(3 ml)に 11-ヨード-ウンデカン酸メチルエステル(1.0 g、3.16 mmol)が入った溶液を添加した。溶液を室温で 16 時間混合した。飽和 NH₄Cl(3 ml)を添加し、溶液を水(60 ml)に注いだ。溶液を AcOEt(3 × 35 ml)で抽出した。有機抽出物をプールし、相分離を助けるために、幾ばくかの飽和 NaCl を使用し、水(30 ml)を用いて洗浄した。溶媒を真空下で除去したところ

、二相残基が生じた。AcOEt(約2mL)を添加し、フラスコをゆっくりと回転させた。高粘度の白色残留物の全てが溶解したわけではなかった。溶解した部分をシリカ(50g)カラムに添加し、AcOEt:ヘプタン 1:11で溶出させた。適切なフラクションを真空下で濃縮したところ、油(1.25g)が生じた。油をアセトン(30mL)に溶解させ、ピペリジン(1mL)を添加した。NaI(0.8g)を添加し、混合物を攪拌して、16時間還流した。混合物を真空下で濃縮し、AcOEt(50mL)と1NのHCl(25mL)の間に分配させた。有機相を1NのHCl(2×25mL)で洗浄し、MgSO₄上で乾燥させ、真空下で濃縮したところ、無色の油(1.1g)が生じた。生成物をフラッシュクロマトグラフィー(溶離液: AcOEt:ヘプタン 1:11、150gのシリカ)で精製したところ、無色の油(0.72g、61%)が生じた。

10

HPLC-MS(方法B): m/z: 399(M+23)、R_t = 2.46分。

¹H-NMR(CDCl₃、300MHz) 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)。

実施例1に類似した様式で残りの工程を実施した。

【0142】

工程3: 4-(10-カルボキシデシル)安息香酸-tert-ブチルエステル

一般的手順(E)に類似した様式で化合物を調製したところ、白色の固体物(0.68g)が生じた。

HPLC-MS(方法B): m/z: 385(M+23)、R_t = 2.02分。

20

¹H-NMR(CDCl₃、300MHz) 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)。

【0143】

工程4: (S)-2-[11-(4-tert-ブトキカルボニルフェニル)ウンデカノイルアミノ]

ペンタン二酸-5-ベンジルエステル-1-tert-ブチルエステル:

一般的手順(F)に類似した様式で化合物を調製したところ、無色の油(303mg)が生じた。

HPLC-MS(方法B): m/z: 660(M+23)、R_t = 2.44分。

30

¹H-NMR(CDCl₃、400MHz) 7.89(d, 2H)、7.35(m, 5H)

、7.21(d, 2H)、6.05(d, 1H)、5.11(s, 2H)、4.52(m, 1H)、2.63(t, 2H)、2.30-2.53(m, 2H)、2.12-2.26(m, 3H)、1.89-2.03(m, 1H)、1.52-1.67(m, 13H)、1.46(s, 9H)、1.26(br, 12H)。

【0144】

工程5: (S)-2-[11-(4-tert-ブトキカルボニルフェニル)ウンデカノイルアミノ]

ペンタン二酸-1-tert-ブチルエステル:

一般的手順(G)に類似した様式で化合物を調製したところ、無色の油(260mg)が生じた。

HPLC-MS(方法B): m/z: 570(M+23)、R_t = 1.71分。

40

【0145】

工程6: (S)-2-[11-(4-tert-ブトキカルボニルフェニル)ウンデカノイルアミノ]

ペンタン二酸-5-tert-ブチルエステル-1-(2,5-ジオキソピロリジン-1-イル)エステル:

一般的手順(H)に類似した様式で化合物を調製した。

HPLC-MS(方法B): m/z: 667(M+23)、R_t = 1.93分。

¹H-NMR(CDCl₃、400MHz) 7.89(d, 2H)、7.21(d, 2H)

、6.20(d, 1H)、4.60(m, 1H)、2.84(s, 4H)、2.67-2.78(m, 1H)、2.56-2.67(m, 3H)、2.26-2.40(m, 1H)、2.21(t, 2H)、2.05-2.15(m, 1H)、1.54-1.67(m, 13H)、1.48(s,

50

, 9 H)、1.26(b.r., 14 H, 理論値. 12 H + A c O E t)

【0146】

工程7: N^{B29}-(11-(4-カルボキシフェニル)ウンデカノイル-ガンマ-Glu)desB30インスリン

一般的手順(I)に類似した様式で化合物を調製した。

HPLC(方法A): R_t = 6.19分。

MALDI-MS: (CHCA)m/z: 6132(M = 6124, 参照標準(M = 5706)はm/z = 5712を示した)。

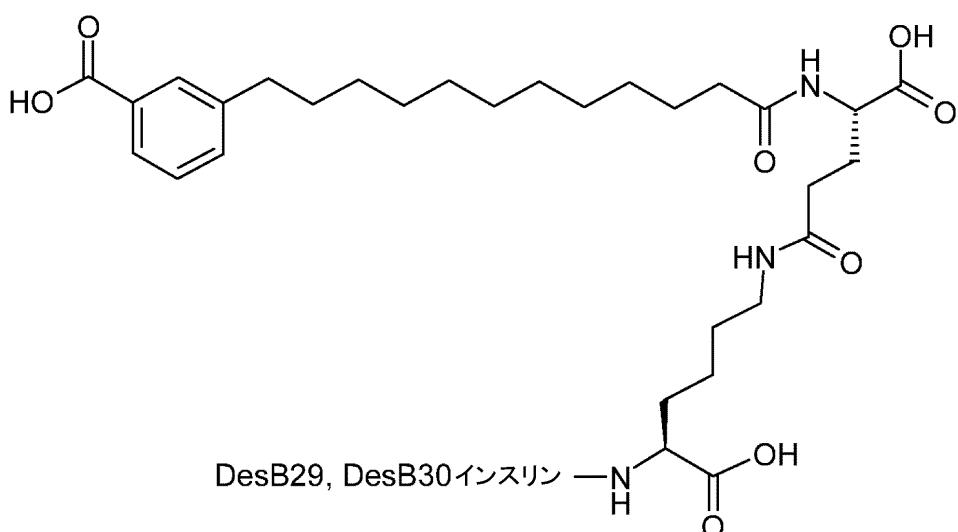
HPLC-MS(方法C): m/z: 1532.4((M+4)/4 = 1532), R_t = 3.44分。 10

【0147】

実施例3

N^{B29}-(12-(3-カルボキシフェニル)ドデカノイル--Glu desB30インスリン

【化17】



工程1: 3-ヨード安息香酸tert-ブチルエステル:

一般的手順(A)に類似した様式で化合物を調製したところ、淡褐色の油(1.8 g)が生じた。

HPLC-MS(方法A): m/z: 327(M+23), R_t = 2.42分。

¹H-NMR(CDCl₃, 300 MHz) 8.31(s, 1 H), 7.95(d, 1 H), 7.85(d, 1 H), 7.16(t, 1 H), 1.59(s, 9 H)。

【0148】

工程2: 3-(11-メトキカルボニルウンデシル)安息香酸-tert-ブチルエステル

一般的手順(D)に類似した様式で化合物を調製した。

HPLC-MS(方法B): m/z: 413(M+23), R_t = 2.54分。

¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) 7.78-7.82(m, 2 H), 7.28-7.36(m, 2 H), 3.66(s, 3 H), 2.63(t, 2 H), 2.30(t, 2 H), 1.58-1.71(m, 13 H), 1.21-1.37(m, 14 H)。

【0149】

工程3: 3-(11-カルボキシ-ウンデシル)安息香酸-tert-ブチルエステル

一般的手順(E)に類似した様式で化合物を調製したところ、290 mgが生じた。

HPLC-MS(方法B): m/z: 399(M+23), R_t = 1.89分。

¹H-NMR(CDCl₃, 300 MHz) 7.73-7.88(m, 2 H), 7.27-7.38(m, 2 H), 2.64(t, 2 H), 2.35(t, 2 H), 1.54-1.70(m,

20

30

40

50

, 1 . 3 H)、1 . 2 0 - 1 . 4 1 (m , 1 4 H)。

【0150】

工程4：(S)-2-[12-(3-tert-ブトキシカルボニルフェニル)ドデカノイルアミノ]ペ
ンタン二酸-5-ベンジルエステル-1-tert-ブチルエステル

一般的手順(F)に類似した様式で化合物を調製したところ、400mgが生じた。

HPLC-MS(方法B) : m/z : 652 (M+1)、R_t = 2 . 56分。

¹H-NMR(CDC₁₃、300MHz) 7 . 74-7 . 85 (m , 2H)、7 . 27-
7 . 41 (m , 7H)、6 . 06 (d , 1H)、5 . 11 (s , 2H)、4 . 45-4 . 58 (m
, 1H)、2 . 63 (t , 2H)、2 . 30-2 . 55 (m , 2H)、2 . 12-2 . 27 (m ,
3H)、1 . 89-2 . 04 (m , 1H)、1 . 52-1 . 67 (m , 13H)、1 . 46 (s ,
9H)、1 . 15-1 . 37 (m , 14H)。 10

【0151】

工程5：(S)-2-[12-(3-tert-ブトキシカルボニルフェニル)ドデカノイルアミノ]ペ
ンタン二酸-1-tert-ブチルエステル

一般的手順(G)に類似した様式で化合物を調製したところ、370mgが生じた。

HPLC-MS(方法B) : m/z : 584 (M+23)、R_t = 1 . 86分。

¹H-NMR(CDC₁₃、400MHz) 7 . 77-7 . 83 (m , 2H)、7 . 28-
7 . 37 (m , 2H)、6 . 25 (d , 1H)、4 . 45-4 . 63 (m , 1H)、2 . 63 (t
, 2H)、2 . 32-2 . 54 (m , 2H)、2 . 14-2 . 32 (m , 3H)、1 . 87-1 .
97 (m , 1H)、1 . 56-1 . 68 (m , 13H)、1 . 47 (s , 9H)、1 . 19-1 .
37 (m , 14H)。 20

【0152】

工程6：(S)-2-[12-(3-tert-ブトキシカルボニルフェニル)ドデカノイルアミノ]ペ
ンタン二酸-5-tert-ブチルエステル-1-(2,5-ジオキソ-イロリジン-1-イル)エステ
ル

一般的手順(H)に類似した様式で化合物を調製したところ、390mgが生じた。

HPLC-MS(方法B) : m/z : 681 (M+23)、R_t = 2 . 06分。

【0153】

工程7 : N^{B29}-(11-(4-カルボキシフェニル)ウンデカノイル-ガンマ-Glu)de
s B 30 インスリン 30

一般的手順(I)に類似した様式で化合物を調製したところ、51mgが生じた。

HPLC(方法A) : R_t = 6 . 25分。

MALDI-MS : (CHCA)m/z : 6142 (M = 6138, 参照標準(M = 570
6)はm/z = 5711を示した)。

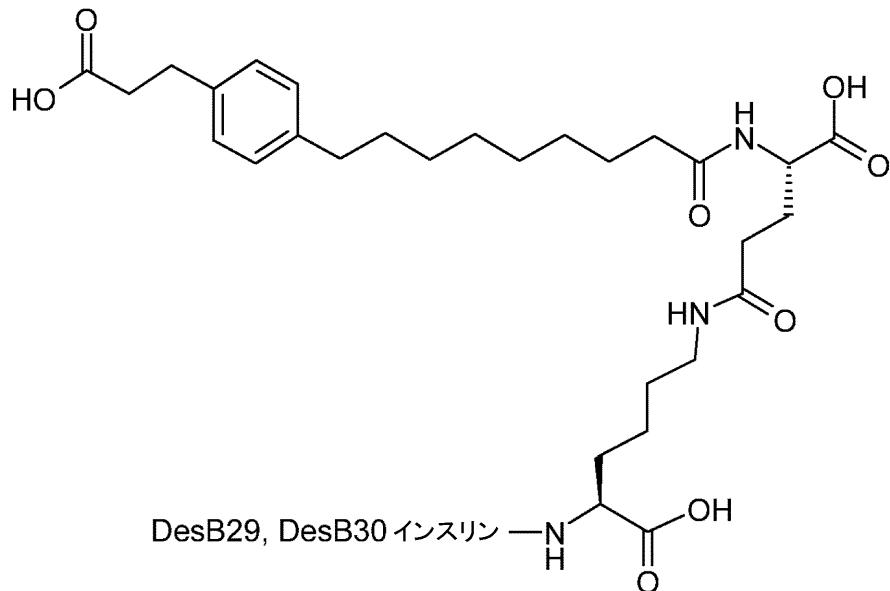
HPLC-MS(方法C) : m/z : 1535 . 7 ((M+4)/4 = 1535 . 5)、R_t
= 3 . 22分。

【0154】

実施例4

N^{B29}-(9-[4-(2-カルボキシエチル)フェニル]ノナノイル)-Glu)des B
30 インスリン 40

【化18】



工程1：3-(4-ヨードフェニル)プロピオン酸-tert-ブチルエステル

一般的手順(A)に類似した様式で化合物を調製したところ、3.97 g が生じた。

HPLC-MS(方法A) : m/z : 355 (M + 23), R_t = 2.39分。

¹H-NMR(CDC1₃、300MHz) 7.60(d, 2H)、6.96(d, 2H)、2.84(t, 2H)、2.50(t, 2H)、1.41(s, 9H)。

【0155】

工程2：9-ブロモノナン酸メチルエステル

一般的手順(B)に類似した様式で化合物を調製したところ、無色の油(6.56 g)が生じた。

¹H-NMR(CDC1₃、300MHz) 3.67(s, 3H)、3.40(t, 2H)、2.31(t, 2H)、1.78-1.93(m, 2H)、1.56-1.70(m, 2H)、1.36-1.50(m, 2H)、1.26-1.36(m, 6H)。

【0156】

工程3：9-ヨード-ノナン酸メチルエステル

一般的手順(C)に類似した様式で化合物を調製したところ、油(5.48 g)が生じた。

HPLC-MS(方法B) : m/z : 299 (M + 1), R_t = 1.19分。

¹H-NMR(CDC1₃、300MHz) 3.67(s, 3H)、3.18(t, 2H)、2.31(t, 2H)、1.73-1.93(m, 2H)、1.54-1.72(m, 2H)、1.24-1.47(m, 8H)。

【0157】

工程4：9-[4-(2-tert-ブトキシカルボニルエチル)フェニル]ノナン酸メチルエステル

一般的手順(D2)に類似した様式で化合物を調製したところ、590 mg が生じた。

HPLC-MS(方法B) : m/z : 399 (M + 23), R_t = 2.10分。

¹H-NMR(CDC1₃、300MHz) 7.09(m, 4H)、3.66(s, 3H)、2.87(t, 2H)、2.47-2.60(m, 4H)、2.29(t, 2H)、1.50-1.68(m, 4H)、1.42(s, 9H)、1.26-1.36(s-br, 8H)。

【0158】

工程5：9-[4-(2-tert-ブトキシカルボニルエチル)フェニル]ノナン酸

一般的手順(E)に類似した様式で化合物を調製したところ、白色の残留物(270 mg)が生じた。

HPLC-MS(方法B) : m/z : 385 (M + 23), R_t = 1.44分。

¹H-NMR(CDC1₃、300MHz) 7.09(m, 4H)、2.87(t, 2H)

10

20

30

40

50

、2.47-2.61(m, 4H)、2.34(t, 2H)、1.49-1.73(m, 4H)、
1.41(s, 9H)、1.23-1.37(s-br, 8H)。

【0159】

工程6：(S)-2-[9-[4-(2-tert-ブトキシカルボニルエチル)フェニル]ノナノイルアミノ}ペンタン二酸-5-ベンジルエステル-1-tert-ブチルエステル

一般的手順(F)に類似した様式で化合物を調製したところ、340mgが生じた。

HPLC-MS(方法B)：m/z：660(M+23)、R_t = 2.28分。

¹H-NMR(CDC1₃、300MHz) 7.29-7.42(m, 5H)、7.09(m, 4H)、6.06(d, 1H)、5.11(s, 2H)、4.45-4.61(m, 1H)、
2.87(t, 2H)、2.30-2.61(m, 6H)、2.10-2.28(m, 3H)、1.88-2.03(m, 1H)、1.49-1.74(m, 5H, 理論値. 4H+水)、1.46(s, 9H)、1.42(s, 9H)、1.22-1.36(s-br, 8H)。 10

【0160】

工程7：(S)-2-[9-[4-(2-tert-ブトキシカルボニルエチル)フェニル]ノナノイルアミノ}ペンタン二酸-1-tert-ブチルエステル

一般的手順(G)に類似した様式で化合物を調製したところ、330mgが生じた。

HPLC-MS(方法B)：m/z：547(M+1)、R_t = 1.46分。

¹H-NMR(CDC1₃、400MHz) 7.09(m, 4H)、6.25(d, 1H)、4.49-4.58(m, 1H)、2.87(t, 2H)、2.47-2.60(m, 4H)、
2.30-2.47(m, 2H)、2.14-2.26(m, 3H)、1.82-1.99(m, 1H)、1.51-1.68(m, 4H)、1.47(s, 9H)、1.41(s, 9H)、1.25-1.36(s-br, 8H)。 20

【0161】

工程8：(S)-2-[9-[4-(2-tert-ブトキシカルボニルエチル)フェニル]ノナノイルアミノ}ペンタン二酸-1-tert-ブチルエステル-5-(2,5-ジオキソピロリジン-1-イル)エステル

一般的手順(H)に類似した様式で化合物を調製したところ、270mgが生じた。

HPLC-MS(方法B)：m/z：667(M+23)、R_t = 1.71分。

【0162】

工程9：N^{B29}-(9-[4-(2-カルボキシエチル)フェニル]ノナノイル)-ガンマ-G1
u) des B 30 インスリン 30

一般的手順(I)に類似した様式で化合物を調製したところ、26mgが生じた。

HPLC(方法A)：R_t = 5.80分。

MALDI-MS：(CHCA)m/z：6129(M = 6124, 参照標準(M = 5706)はm/z = 5711を示した)。

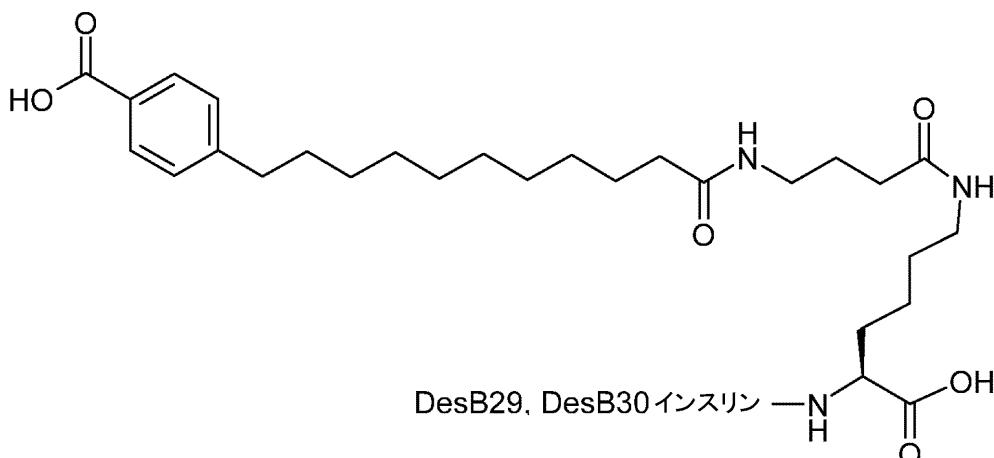
HPLC-MS(方法C)：m/z：1531.8((M+4)/4 = 1532)、R_t = 2.96分。

【0163】

実施例5

N^{B29}-(4-[11-(4-カルボキシフェニル)ウンデカノイルアミノ]ブチリル)des
B 30 インスリン 40

【化19】



工程1：4-[10-(2,5-ジオキソピロリジン-1-イルオキシカルボニル)デシル]安息香酸-tert-ブチルエステル

HSTUの代わりにTSTUを使用した以外は、一般的の手順(H)に類似した様式で化合物を調製した。

HPLC-MS(方法B) : m/z : 482 (M + 23), R_t = 2.22分。 20

¹H-NMR(CDC1₃、400MHz) 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)。

【0164】

工程2：4-[10-(3-カルボキシ-プロピルカルバモイル)デシル]安息香酸-tert-ブチルエステル

4-[10-(2,5-ジオキソピロリジン-1-イルオキシカルボニル)デシル]安息香酸-tert-ブチルエステル(300mg、0.65mmol)を、DMF(3ml)及び4-アミノ酪酸(67mg、0.65mmol)に溶解させた。混合物を窒素下で16時間攪拌した。溶媒を真空中で除去し、AcOEt(35ml)を添加した。溶液を、0.2NのHCl及び水(各15ml)で洗浄した。飽和NaHCO₃を有機相に添加した(意図しない)。DCM(50ml)を添加した。幾ばくかの有機相を除去し、DCM(100ml)を水相に添加し、一晩放置した。混合物を氷上で冷却し、4NのHClを用いて、pHを1.9に調節した。有機相を単離し、MgSO₄上で乾燥させ、真空中で濃縮したところ、油(220mg、収率76%)が生じた。 30

HPLC-MS(方法C) : m/z : 470 (M + 23), R_t = 5.74分。

¹H-NMR(CDC1₃、400MHz) 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)。 40

【0165】

工程3：4-{10-[3-(2,5-ジオキソ-ピロリジン-1-イルオキシカルボニル)プロピルカルバモイル]デシル}安息香酸-tert-ブチルエステル

HSTUの代わりにTSTUを使用した以外は、一般的の手順(H)に類似した様式で化合物を調製した。沈殿(DCM/ヘプタン)により、白色の結晶(180mg、収率70%)が生じた。

HPLC-MS(方法B) : m/z : 568 (M + 23), R_t = 1.60分。

¹H-NMR(CDC1₃、400MHz) 7.89(d, 2H)、7.21(d, 2H)、5.83(br, 1H)、3.30-3.43(m, 2H)、2.85(br, 4H)、2. 50

5 7 - 2 . 7 3 (m , 4 H)、2 . 1 5 (t , 2 H)、1 . 9 2 - 2 . 0 7 (m , 2 H)、1 . 5 6 - 1 . 6 4 (m , 1 3 H)、1 . 1 8 - 1 . 3 6 (br , 1 2 H)。

【0166】

工程4 : N^{B29}-[11-(4-カルボキシフェニル)ウンデカノイルアミノ]ブチリル)desB30インスリン

一般的手順(I)に類似した様式で化合物を調製したところ、30mgが生じた。

HPLC(方法A) : R_t = 7 . 8 8 分。

MALDI-MS : (CHCA)m/z : 6067 (M = 6080, 参照標準(M = 5706)はM-13を示した)。

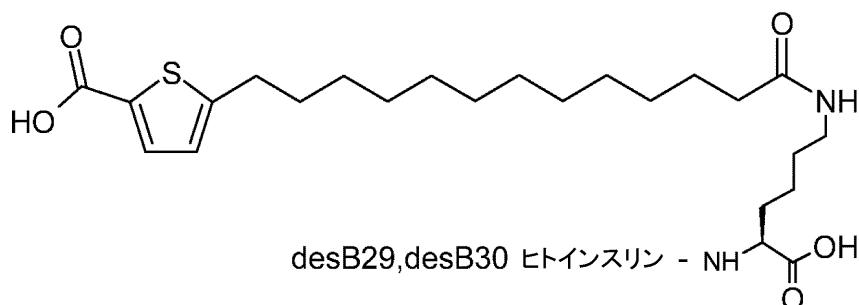
HPLC-MS(方法C) : m/z : 1520 . 9 ((M+4)/4 = 1521)、R_t = 3 . 5 4 分。 10

【0167】

実施例6

N^{B29}-[12-(5-カルボキシチオフェン-2-イル)ドデカノイル]desB30インスリン

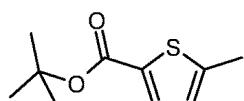
【化20】



20

工程1 : 5-メチルチオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステルの合成

【化21】



30

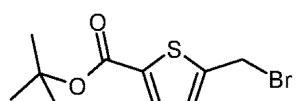
5-メチルチオフェン-2-カルボン酸(2g、14mmol)に、トルエン(60mL)を添加し、懸濁液を80まで加熱した。N,N-ジメチルホルムアミド-ジtert-ブチルアセタール(16.8mL、70.3mmol)を添加し、混合物を80で一晩加熱した。混合物を真空下で、全容量が約10mLになるまで約濃縮し、ジエチルエーテル(100mL)を添加した。有機相を水(2×50mL)で洗浄し、続いてNaHCO₃水(10%、2×50mL)で洗浄した。有機相を乾燥させ(MgSO₄)、真空で溶媒を除去したところ、1.3gの5-メチルチオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステルが生じた。 40

¹H NMR(CDCl₃) : 7 . 5 2 (d , 1 H)、6 . 7 3 (d , 1 H)、2 . 5 0 (s , 3 H)、3 . 6 0 (q , 2 H)、1 . 5 6 (s , 9 H)。

【0168】

工程2 : 5-ブロモメチルチオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステルの合成

【化22】



50

5-メチルチオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステル(10.8 g、54.5 mmol)に、シクロヘキサン(100 mL)とN-ブロモスクイニンイミド(9.7 g、54.5 mmol)を添加し、還流にて一晩加熱した。懸濁液をアミノ酸エチル(200 mL)に添加し、有機溶液を水(4 × 100 mL)で洗浄した。溶媒を真空で除去したところ、14.9 g の 5-ブロモメチルチオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステルが生じた。

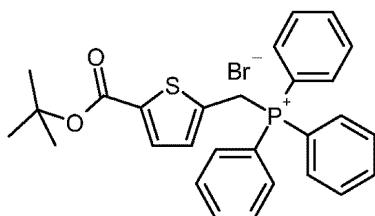
¹H NMR(CDC1₃) : 7.61(d, 1H)、7.02(d, 1H)、4.66(s, 2H)、1.67(s, 9H)。

【0169】

工程3：(5-tert-ブトキシカルボニル-チオフェン-2-イルメチル)-トリフェニルホスホニウムプロミドの合成

10

【化23】



5-ブロモメチルチオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステル(14.9 mmol、43.8 mmol)に、トルエン(300 mL)及びトリフェニルホスフィン(14.1 g、53.8 mmol)を添加した。混合物を70℃で一晩加熱した。溶媒を真空で除去したところ、(5-tert-ブトキシカルボニル-チオフェン-2-イルメチル)-トリフェニルホスホニウムプロミドが付与された。

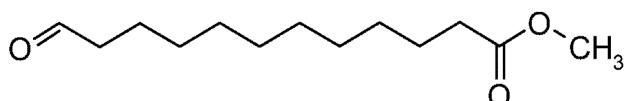
20

HPLC-MS(方法C) : m/z = 459 ; R_t = 4.65分。

【0170】

工程4：12-オキソ-ドデカン酸メチルエステルの合成

【化24】



30

12-ヒドロキシデカン酸(15.25 g、0.07 mol)をメタノール(700 mL)に溶解させ、HCl水(1N、10 mL)を添加し、混合物を窒素下で16時間攪拌し、NaOH水(1N)を用いて、pHを7.2に調節した。溶媒を真空で除去し、残った化合物を酢酸エチル(150 mL)とNaHCO₃水(5%、150 mL)の間に分離させた。有機相を単離し、溶媒を真空で除去したところ、固体状の化合物として12-ヒドロキシデカン酸メチルエステルが付与された。塩化オキサリル(6.5 mL、75 mmol)をDCM(160 mL)と混合し、ドライアイス/アセトンを用いて-60°Cまで冷却した。DMSO(10.7 mL、151 mmol)をDCM(20 mL)と混合し、10分以上かけて滴下した。12-ヒドロキシデカン酸メチルエステルをDCM(50 mL)に溶解させ、45分以上かけて滴下した。トリエチルアミン(47.8 mL、343 mmol)を滴下し、沈殿を観察した。トリエチルアミンを添加した後、反応混合物を、室温に達するまで放置した。反応混合物を水(200 mL)で洗浄し、水相をDCM(3 × 200 mL)で洗浄し、全ての有機相を収集し、飽和NaCl水(300 mL)で洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、溶媒を真空で除去した。残った油を、酢酸エチル/ヘプタン(20:80)を用いて溶出させるシリカにおいて精製したところ、11.7 g の 12-オキソ-ドデカン酸メチルエステルが生じた。

40

¹H NMR(CDC1₃) : 9.76(s, 1H)、3.66(s, 3H)、2.42(t,

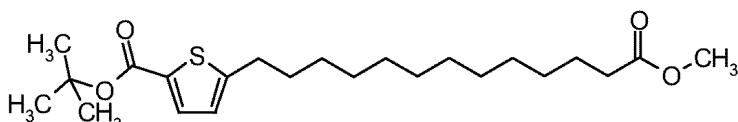
50

, 2 H)、2.30(t, 2 H)、1.66-1.54(m, 4 H)、1.37-1.24(br, 14 H)。

【0171】

工程5：5-(12-メトキシカルボニル-ドデシル)-チオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステルの合成

【化25】



10

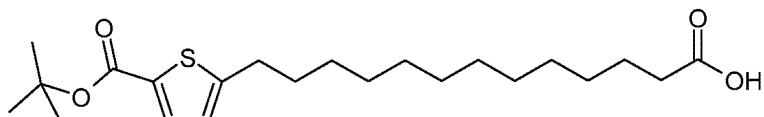
12-オキソ-ドテンカン酸メチルエステル(14.5 g、63.4 mmol)及び(5-tert-ブトキシカルボニル-チオフェン-2-イルメチル)-トリフェニルホスホニウムプロミド(29.1 g、63.4 mmol)を、DMF(350 mL)に溶解させた。DBUを添加し、混合物を80°Cで35分、加熱した。反応混合物を放置して室温まで冷却し、ジエチルエーテル(3×500 mL)と水(2000 mL)の間に分離させた。有機相を収集し、水(1×500 mL)で洗浄した。有機相を乾燥させ(MgSO₄)、溶媒を真空で除去した。残った粗物質をヘプタン(300 mL)に添加し、30分攪拌した、濾過し、溶媒を真空で除去したところ、13.6 gの粗物質である、5-(12-メトキシカルボニル-ドデシル-1-エニル)チオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステルのE/Z混合物が生じた。この混合物をメタノール(200 mL)に溶解させた。2 gの10%パラジウム炭(水で50%湿潤)を添加し、混合物を10バールの水素雰囲気下で、90分攪拌し、濾過し、溶媒を真空で除去したところ、11.6 gの5-(12-メトキシカルボニル-ドデシル)-チオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステル)が生じた。

¹H NMR(CDCl₃)：7.54(d, 1 H)、6.74(d, 1 H)、3.66(s, 3 H)、2.80(t, 2 H)、2.30(t, 2 H)、1.63(m, 4 H)、1.56(s, 9 H)、1.27(m, 16 H)。

【0172】

工程6：5-(12-カルボキシドデシル)-チオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステルの合成

【化26】



30

5-(12-メトキシカルボニル-ドデシル)-チオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステル(75 mg、0.13 mmol)を、メタノール(2 mL)に溶解させた。水にNaOHが入った20%溶液(0.36 mL)を添加し、混合物を室温で1時間攪拌した。水(10 mL)を添加し、混合物を、水にNaHSO₄が入った10%溶液、2 mLを添加することにより酸性化させた。遠心分離により沈殿物を単離させ、真空で乾燥させたところ、5-(12-カルボキシドデシル)-チオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステルが生じ、これは、任意のさらなる精製をすることなく、次の工程で使用される、いくつかの出発物質で汚染されている。

HPLC-MS(方法C)：m/z = 396；R_t = 6.77分。

【0173】

工程7：B29N(esp)[12-(5-カルボキシチオフェン-2-イル)ドデカノイル]desB30インスリンの合成

40

50

5-(12-カルボキシドデシル)-チオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステルをT S T Uにより活性化させ、DesB30ヒトイインスリンにおいてアシリ化させ、続いてT F Aを用いて、tert-ブチル保護基を除去し、実施例7に記載されているものと同様の手順を使用し、続いて精製を行った。

HPLC-MS(方法C) : m/z = 1508(m/4); R_t = 4.88分。

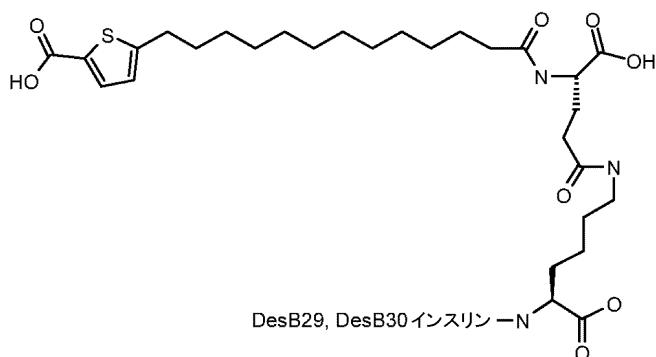
【0174】

実施例7

N^{B29}-[12-(5-カルボキシチオフェン-2-イル)ドデカノイル]-Glu]des
B30インスリン

【化27】

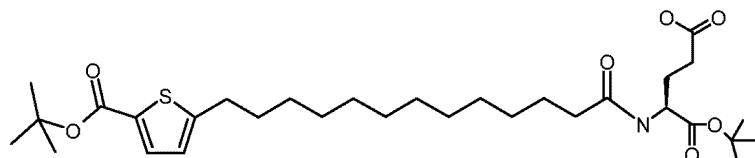
10



20

工程1 : (S)-2-[13-(5-tert-ブトキカルボニルチオフェン-2-イル)-トリデカノイルアミノ]-ペンタン二酸-1-tert-ブチルエステルの合成

【化28】



30

5-(12-カルボキシドデシル)-チオフェン-2-カルボン酸-tert-ブチルエステル(31mg、0.078mmol)を、窒素下、室温で0.5時間、THF(1.3mL)にT S TU(28.2mg、0.094mmol)及びD I P E A(0.016mL、0.094mmol)が入ったもので処理した。溶媒を真空で除去し、混合物をNMP(1mL)及びH-Glu-OtBu(31.3mg、0.154mmol)及びD I P E A(0.027mL)に添加した。混合物を室温で一晩攪拌した。混合物をジエチルエーテル(10mL)とNaHSO₄の10%水(2×10mL)の間に分離させ、有機相を単離し、溶媒を真空で除去したところ、次の工程で任意のさらなる精製をすることのない、粗(S)-2-[13-(5-tert-ブトキカルボニルチオフェン-2-イル)-トリデカノイルアミノ]-ペンタン二酸-1-tert-ブチルエステルが付与された。

40

HPLC-MS(方法C) : m/z = 582; R_t = 8.1分。

【0175】

工程2 : N^{B29}-[12-(5-カルボキシチオフェン-2-イル)ドデカノイル]-Glu]desB30インスリンの合成

ヒトイインスリン(294mg、0.051mmol)をDMSO(3.5mL)に溶解させた。トリエチルアミン(0.071mL、0.51mmol)を添加した。

(S)-2-[13-(5-tert-ブトキカルボニルチオフェン-2-イル)-トリデカノイルアミノ]-ペンタン二酸-1-tert-ブチルエステル(45.4mg、0.078mmol)を、

50

上述にて記載したように T S T U を用いて活性化させた。 D M S O (0.5 mL) に溶解させ、インスリン溶液に添加した。この混合物を室温で 30 分、注意深く攪拌した。氷浴を用いて冷却した(溶液は凍結)。8 mL の水を添加し、凍結していた混合物が溶解するまで、溶液を放置した。1 N の H C l 水を用いて、pH を 5.3 に調節し、遠心分離により沈殿物を単離した。単離した化合物を、97.5 % の T F A と 2.5 % のチオフェンの混合物を用いて処理し、ジエチルエーテル(50 mL) に注いだ。粗生成物を濾過により単離し、上述にて記載したようにして精製した。

H P L C - M S (方法 C) : m / z = 1549 (m / 4) ; 1232 (m / 5) R_t = 3.5 分。

【 0176 】

実施例 8 :

疎水性度、レセプター親和性、アルブミン親和性及び自己結合特性

本発明のインスリン誘導体の自己結合特性の分析

大きいが可溶性の錯体における自己結合性についての、本発明のインスリン誘導体の能力を、S E C (サイズ排除クロマトグラフィー)を使用して分析する:

カラム : Superose^{T M} 6 PC 3.2/30, CV=2.4 mL

(Amerham Biosciences)

温度 : 37

S E C バッファー : 140 mM の NaCl、10 mM の Tris HCl、0.01 % の NaN₃、pH 7.5

注入容量 : 20 μl

流量 : 0.05 mL / 分

実施時間 : 60 分及び追加の 100 分の平衡

【 0177 】

この分析用に、本発明のインスリン誘導体は、0.6 mM の誘導体、2.1 Zn²⁺ / 六量体、16 mM のフェノール、7 mM のホスファート、pH 7.8 からなる溶液である。ついで、誘導体の保持時間を、次の標準分子の保持時間と比較する:

標準体 I : HSA + HSA 二量体 (66.4 kDa + 133 kDa)

Co(I II) インスリン六量体 (35.0 kDa)

X2 インスリン単量体 (5.9 kDa)

標準体 II : ブルーデキストラン (1.5 MDa)

チログロブリン (669 kDa)

フェリチン (440 kDa)

アルドラーーゼ (158 kDa)

オボアルブミン (44.5 kDa)

リボヌクレアーゼ (13.7 kDa)

【 0178 】

次の等式を使用し、誘導体についての K_{a v} を決定する:

$$K_{av} = (t - t_0) / (V_t / (f + t_d - t_0))$$

ここで、t は付与されるピークに対する保持時間であり、t₀ はブルーデキストランに対する保持時間であり、V_t は全カラム容量(ここでは 2.4 mL) であり、f は流量(ここでは 0.04 mL / 分) であり、及び t_d は、システムにおいてカラムのないブルーデキストランに対する保持時間である。

K_{a v} 値は誘導体の自己結合性の度合いを示し、すなわち、Co(I II) インスリン六量体及び X2 インスリン単量体に対する K_{a v} に類似して大きな K_{a v} であることは、大きな自己結合性錯体を形成するための誘導体の傾向が低いか又は無いことを示し、これに対し、K_{a v} が 0 に近い程非常に小さいか又は負であるということは、大きな溶解性錯体において自己結合する誘導体の傾向が大きいことを示す。

【 0179 】

本発明のインスリン誘導体における疎水性度データ

10

20

30

40

50

ヒトインスリンに対する、本発明のインスリン誘導体の疎水性度(疎水性指標)、 $k'_{r_{e_1}}$ を、溶離液としてA)10%のアセトニトリルを含有する0.1Mのリン酸ナトリウムバッファー、pH7.3、及びB)水に50%のアセトニトリルが入ったものの混合物を使用し、40で定組成溶離させることにより、LiChrosorb RP18(5μm、250×4mm)HPLCカラムにおいて測定した。214nmでの溶出液のUV吸収度を追跡することにより、溶出をモニターした。ボイド時間、 t_0 を0.1mMの硝酸ナトリウムを注入することにより見出した。ヒトインスリンについての保持時間 $t_{ヒト}$ を、A及びB溶液の間の比率を変えることにより、少なくとも2 t_0 に調節した。 $k'_{r_{e_1}} = (t_{誘導体_d} - t_0) / (t_{ヒト} - t_0)$ 。本発明の多くのインスリン誘導体について見出された $k'_{r_{e_1}}$ を、表1に付与する。

10

【0180】

ヒト血清アルブミン親和アッセイ

Minileak粒子に固定したヒト血清アルブミンに対する125I-TyrA14-アナログの相対結合定数を23で測定した(生理食塩水バッファーにおいてデテミル=1)。

【0181】

【表2】

化合物	ヒトインスリンに対する疎水性	ヒトインスリンに対するインスリンレセプター親和性	インスリンデテミルに対するヒト血清アルブミン親和性	自己会合： K_{av} (ピーク面積%)
実施例1	+++ 0.73	++ 17%	n. a.	+++ 0(95%)
実施例2	+++ 0.52	++ 44%	+	+++ 0.02(58%)
実施例3	+++ 0.72	++ 18%	++ 0.82	++ 0.15(64%)
実施例4	+++ 0.44	++ 37%	++ 0.84	+++ 0.04(76%)
実施例5	++ 1.8	++ 43	+	++ 0.26(48%)
実施例6	++ 2.8	++ 29	n. a.	n. a.

20

30

ヒトインスリンに対する疎水性度： $k'_{r_{e_1}} < 1 : + + +$ 、 $1 - 1 0 : + +$ 、 $> 1 0 : +$ (HI = 1)

ヒトインスリンに対するインスリンレセプター親和性： $< 5 \% : +$ 、 $5 - 5 0 \% : + +$ 、 $> 5 0 \% : + + +$

40

インスリンデテミルに対するヒト血清アルブミン親和性： $< 0 . 5 : +$ 、 $0 . 5 - 2 : +$ 、 $> 2 : + + +$

自己結合性： $K_{av} < 0 . 1 : + + +$ 、 $K_{av} < 0 . 5 5 : + +$ 及び $K_{av} 0 . 5 5 : +$

ヒト血清アルブミンに対して $K_{av} = 0 . 5 5$ 、ヒトインスリンCo(III)六量体に対して $K_{av} = 0 . 6 3$ 、

単量体インスリンアナログX2に対して $K_{av} = 0 . 7 2$ 。

n. a. = 分析せず。

【0182】

50

薬理学的方法

アッセイ(I)

本発明のインスリンのインスリンレセプター結合性

ヒトインスリンレセプターに対する本発明のインスリニアログの親和性を、SPAアッセイ(シンチレーション近接アッセイ)マイクロタイタープレート抗体捕捉アッセイにより測定した。SPA-PVT抗体-結合ビーズ、抗マウス試薬(Amersham Biosciences、カタログ番号 PRNQ0017)を、25m1の結合バッファー(100mMのHEPES、pH7.8; 100mMの塩化ナトリウム、10mMのMgSO₄、0.025%のトウイーン(Tween)-20)と混合した。単一のPackard Optiplate(Packard No.6005190)用の試薬混合物は、2.4μlの1:15000に希釈された精製組換えヒトインスリンレセプター-エクソン11、100μlの試薬混合物当たり5000cpmに相当するA14Tyr[¹⁻²⁵I]-ヒトインスリンの所定量の保存溶液、12μlの1:1000に希釈されたF12抗体、3m1のSPA-ビーズ、及び全体を12m1にする結合バッファーからなる。ついで、全体で100μl添加し、希釈群を適切なサンプルから作製する。ついで、希釈群に100μlの試薬混合物を加え、ゆっくりと振盪させつつ、サンプルを16時間インキュベートした。ついで、1分間遠心分離することにより相分離させ、プレートをトップカウンターで計測した。GraphPad Prism 2.01(GraphPad Software, San Diego, CA)における非線状回帰アルゴリズムを使用し、結合データを適合させた。

【0183】

モノクローナルmIR抗体の調製

特定の抗体(F12)を、モノクローナル技術により製造した：RBFマウスを、皮下的にFCAに50μgの精製したmIRを注射し、続いてFIAに20μgのmIRを2回注射することにより免疫化した。25μgのmIRを用いて、静脈的に高レスポンダーマウスをブーストし、3日後に脾臓を摘出した。脾臓細胞を、骨髄腫キツネ細胞系を融合させた(Kohler, G & Milstein C.(1976), European J. Immunology, 6:511-19; Taggart RTら(1983), Science 219:1228-30)。mIR特異性ELISAにおいて、上清を抗体生成についてスクリーニングした。正のウェルをクローンし、ウエスタンプロットで試験した。

【0184】

アッセイ(II)

ヒトインスリンに対する本発明のインスリン誘導体の有効性

実験日、238-383gでオスのスプラーグドーリーラットを、クランプ実験に使用した。制御された周囲条件下、ラットは餌に自由に接近し、クランプ実験の前には一晩(3pmから)、絶食させた。

【0185】

実験プロトコル：

外科手順の少なくとも1週間前に、ラットを動物施設に慣れさせた。クランプ実験の約1週間前、ハロタン麻酔下で、頸静脈(注入のため)及び頸動脈(血液のサンプリングのため)にタイゴンカテーテルを挿入し、露出させ、頸部の後ろに固定した。外科手術後、ラットにStreptocillin vet.(Boehringer Ingelheim; 0.15m1/ラット、筋肉内)を付与し、回復期間中、動物ケアユニット(25)において。無痛覚するために、麻酔中にアノルフィン(Anorphin)(0.06mg/ラット、皮下)を投与し、麻酔から十分に回復した(2-3時間)後、再度2日に1回、リマダイル(Rimadyl)(1.5mg/kg、皮下)を投与した。

【0186】

使用したクランプ技術を、(1)実験日の7amに一晩(前日の3pmから)絶食させたラットを計量し、サンプリング用シリンジ及び注入システム(Harvard 22 Basic pumps, Harvard, 及びPerfectum Hypodermic glass syringe, Aldrich)につなぎ、ついで個々のクランプ用ゲージに配し、実験開始前の約45分、そこで休ませた。全実験中、それらの通常の寝具上を、ラットは自由に動くことができ、水飲み場に自由に接近することもできる。血漿血糖値を10分間隔で測定する、30分の基本期間後、試験されるインスリン誘導

10

20

30

40

50

体及びヒトインスリン(ラット当たり 1 回の投与レベル、投与レベル当たり $n = 6 - 7$)を、300 分、一定の速度で注入した(静脈内)。10 分の間隔で、血漿血糖値を測定し、正常血糖を維持するために、20 % 水性グルコースの注入を調節した。再懸濁させた赤血球のサンプルを各ラットからプールし、頸動脈カテーテルを介して、約 1 / 2 ml 容量を戻した。

【0187】

各実験日において、試験される個々のインスリン誘導体溶液及びヒトインスリン溶液のサンプルを、クランプ実験の前及び終了時に取り出し、ペプチド濃度を HPLC により確認した。ラットインスリン及び C-ペプチド、並びに試験されるインスリン誘導体及びヒトインスリンの血漿濃度を、研究の前及び終了の時点で測定した。ペントバルビタール過剰投与を使用し、実験の終了時にラットを殺した。

【0188】

被験化合物及び用量：

試験されるインスリンを、5 mM のホスファート、pH 7.7 に 97 μM のインスリン誘導体を含有する保管溶液から希釈する。使用準備が整った溶液中の最終濃度は、0.45 μM のインスリン誘導体、5 mM のホスファート、100 mM の塩化ナトリウム、0.007 % のポリソルバート(polysorbate) 20 であった。pH は 7.7 であり、静脈内注入速度は 1.5 及び 2.0 pmol × 分⁻¹ × kg⁻¹ であった。

参照化合物として使用されるヒトインスリンの保管溶液を、類似した媒体で処方し、6、1.5 又は 3.0 pmol × 分⁻¹ × kg⁻¹ で静脈内注入した。

双方の保管溶液を -20 °C で保管し、使用前に 4 °C で一晩解凍した。それらを注入用シリンジに移す 1.5 分前に、溶液を数回、ゆっくりと上下逆さまにする。

【0189】

アッセイ(III)

本発明のインスリン誘導体の T₅₀% のブタにおける定量

T₅₀% は、試験されるインスリンの A14 Tyr[¹²⁵I] 標識された誘導体の注射量の 50 % が、外部 計測器を用いて測定して、注射部位から消失した時間である。

実験用動物ケアの原則に従い、薬物動態及び薬力学的研究のために、特定の病原菌を持たない LYD、糖尿病ではないメスのブタ、デンマーク在来種、ヨークシャー及びデュロックの交雑種を使用した(Holmenlund, Haarloev, Denmark)。ブタは意識があり、4-5 ヶ月の年齢、70-95 kg の体重であった。実験前に動物を 18 時間、一晩絶食させた。

¹²⁵I を有する Tyr^{A14} で標識されたインスリン誘導体の処方された調製物を、先に記載したように、ブタに皮下注射した(Ribel, U., Jorgensen, K., Brange, J., 及び Henriksen, U. The pig as a model for subcutaneous insulin absorption in man. Ser rano-Rios, M and Lefebvre, P. J. 891-896. 1985. Amsterdam; New York; Oxford, Elsevier Science Publishers. 1985 (Conference Proceeding))。

【0190】

実験の開始時に、本発明のインスリン誘導体(被験化合物) 6.0 nmol 用量とインスリニデミル 6.0 nmol 用量(双方とも Tyr^{A14} において ¹²⁵I 標識された)を、各ブタの頸部の 2 つの別々の部位に注射する。

皮下注射部位から放射性標識が消失するのを、伝統的な外部ガンマ-計測法の修正法を使用し、モニターする(Ribel, U. Subcutaneous absorption of insulin analogues. Berger, M. 及び Gries, F. A. 70-77 (1993). Stuttgart; New York, Georg Thime Verlag (Conference Proceeding))。この修正法を用いると、コードレスポータブル装置を使用して、数日間、皮下沈着物から放射活性が消失するのを連続して測定することができる(Scancys Laboratorieteknik, Varlose, DK-3500, Denmark)。測定を 1 分間隔で実施し、計測された値をバックグラウンド活性に対して修正する。

フロントページの続き

(72)発明者 コドラ , ヨノス ティボー
デンマーク国 ディーケー- 2100 コペンハーゲン エ-, 4, リエスギャーゼ 111
ビー

審査官 高堀 栄二

(56)参考文献 國際公開第2005/012347 (WO, A1)

米国特許第03528960 (U.S., A)
特表2008-528659 (JP, A)
特表2008-528658 (JP, A)
特表2009-522231 (JP, A)
特表2009-530242 (JP, A)
特表2009-528325 (JP, A)
特開平03-204823 (JP, A)
特表平06-506444 (JP, A)
特表平09-502867 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C A / B I O S I S / W P I D S (S T N)
P u b M e d