(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 611 040**

(51) Int. Cl.:

C07K 14/62 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.06.2010** **PCT/EP2010/059194**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **06.01.2011** **WO11000823**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.06.2010** **E 10726515 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2016** **EP 2448962**

(54) Título: **Derivados de insulina**

(30) Prioridad:

30.06.2009 EP 09164103
19.08.2009 US 235112 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.05.2017

(73) Titular/es:

NOVO NORDISK A/S (100.0%)
Novo Allé
2880 Bagsværd, DK

(72) Inventor/es:

HOEG-JENSEN, THOMAS;
JAKOBSEN, PALLE;
SENSFUSS, ULRICH;
FLEDELIUS, CHRISTIAN y
RIBEL-MADSEN, ULLA

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 611 040 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de insulina

Campo de esta invención

La presente invención se refiere a derivados de insulina novedosos que son útiles en el tratamiento de la diabetes y aspectos relacionados.

Antecedentes de esta invención

En el hombre, la insulina reduce la glucosa en sangre y se usa para el tratamiento de la diabetes tipo 1 y tipo 2, con el objetivo de ajustar la glucosa en sangre a niveles sanos. En las personas sanas, los niveles de glucosa en sangre se regulan cerca de 5 mM durante el estado de ayuno, mientras que pueden producirse valores de hasta 10 mM durante unas pocas horas tras una comida. Los niveles de glucosa en sangre se ven influenciados por muchos factores tales como el momento y el carácter de las comidas y las administraciones de insulina, el ejercicio, infecciones y más. La glucosa en sangre puede fluctuar ampliamente y de manera impredecible en pacientes con diabetes (por ejemplo, en el intervalo de 1-30 mM). Por tanto, podría ser útil si un fármaco de insulina administrado pudiese autoajustar su actividad o disponibilidad para adaptarse al nivel de glucosa en sangre en cualquier momento dado. Específicamente, una insulina sensible a la glucosa de este tipo debería tener poca o ninguna actividad o disponibilidad durante situaciones de escasa glucosa en sangre (por debajo de aproximadamente 3 mM, es decir, hipoglucemia), y alta actividad o disponibilidad en respuesta a mucha glucosa en sangre (por encima de aproximadamente 10 mM, es decir, hiperglucemia).

La liberación de insulina modulada en función de la glucosa desde depósitos subcutáneos de insulina se ha perseguido mediante varios principios, pero los depósitos subcutáneos generalmente sufren de problemas de retardo (retraso) de distribuciones de compuesto entre el tejido y el torrente sanguíneo. El retardo de las fluctuaciones de glucosa desde la sangre al tejido subcutáneo es de aproximadamente 15 minutos, y el retardo del fármaco de insulina desde la liberación en el tejido subcutáneo hasta la aparición en la circulación está en el intervalo de ½-2 horas. El descubrimiento de métodos para la formación de insulina sensible a la glucosa como depósitos circulantes podría ser ventajoso, porque se eliminaría el retardo hasta y desde el tejido subcutáneo. La unión reversible a proteínas circulantes tales como la albúmina sérica puede ayudar a prolongar la actividad *in vivo* de los fármacos. La unión a la albúmina como principio de protracción se ha aprovechado para la insulina y otros péptidos mediante la conjugación del fármaco con ácidos grasos, diácidos grasos o compuestos relacionados, incorporados opcionalmente mediante diversos ligantes.

Según el título, el documento US 5.478.575 se refiere a polímeros que tienen grupos ácido bencenoborónico y a complejos de insulina de los mismos de un tipo de respuesta a azúcar.

Según las reivindicaciones 1, el documento WO 01/92334 (Novo Nordisk A/S) se refiere a un derivado de insulina que contiene un grupo sensible a la glucosa.

Según las reivindicaciones 1, WO 03/048195 (Novo Nordisk A/S) se refiere a un derivado de insulina que comprende un grupo sensible a la glucosa y un radical poliol.

Objetos de esta invención

Un aspecto de esta invención se refiere a la provisión de derivados de insulina que, tras la administración, suministren insulina en función de la concentración de glucosa en el tejido.

Un aspecto de esta invención se refiere a la provisión de derivados de insulina que tengan poca o ninguna actividad/disponibilidad durante situaciones de niveles de glucosa en sangre bajos, por ejemplo a niveles por debajo de aproximadamente 3 mM de glucosa.

Otro aspecto de esta invención se refiere a la provisión de derivados de insulina que tengan una actividad/disponibilidad alta en respuesta a niveles de glucosa en sangre altos, por ejemplo, por encima de aproximadamente 10 mM de glucosa.

Otro aspecto de esta invención se refiere a la provisión de métodos para la formación de insulina sensible a la glucosa como depósitos circulantes.

Otro aspecto de esta invención se refiere a la provisión de derivados de insulina que tengan unión a albúmina sensible a la glucosa.

Otro aspecto de esta invención se refiere a la provisión de actividad de la insulina basada en la glucosa y/o la liberación modulada en la circulación/el torrente sanguíneo.

El objeto de esta invención es superar o mejorar al menos una de las desventajas de la técnica anterior, o proporcionar una alternativa útil.

Definiciones

El término “insulina humana” tal como usa en el presente documento significa la hormona insulina humana, cuya estructura y propiedades se conocen ampliamente. La insulina humana tiene dos cadenas polipeptídicas, denominadas cadena A y cadena B, que consisten en 21 y 30 aminoácidos, respectivamente.

El término “insulina” o insulina natural tal como usa en el presente documento cubre la insulina humana e insulinas de otras especies distintas del ser humano.

El término “análogo de insulina” tal como usa en el presente documento cubre una insulina modificada en la que uno o más residuos de aminoácido se han sustituido (intercambiado) por otros residuos de aminoácido y/o en la que uno o más residuos de aminoácido se han delecionado de la insulina y/o en la que uno o más residuos de aminoácido se han añadido a y/o se han insertado en la insulina.

En una realización un análogo de insulina comprende menos de 8 modificaciones (sustituciones, deleciones, adiciones (incluyendo inserciones) y cualquier combinación de las mismas) en relación con la insulina original, alternativamente menos de 7 modificaciones en relación con la insulina original, alternativamente menos de 6 modificaciones en relación con la insulina original, alternativamente menos de 5 modificaciones en relación con la insulina original, alternativamente menos de 4 modificaciones en relación con la insulina original, alternativamente menos de 3 modificaciones en relación con la insulina original, alternativamente menos de 2 modificaciones en relación con la insulina original.

Las modificaciones en la molécula de insulina se designan indicando la cadena (A o B), la posición y el código de una o tres letras para el residuo de aminoácido que sustituye al residuo de aminoácido nativo.

Por “desB30” quiere decirse insulina natural o un análogo de la misma que carece del residuo de aminoácido en B30.

Un derivado de insulina es una insulina que porta un grupo diferente de los residuos de aminoácido naturales y análogos de insulina que portan un grupo diferente de los residuos de aminoácido naturales.

Un residuo de aminoácido es un aminoácido del que se ha eliminado un átomo de hidrógeno de un grupo amino y/o se ha eliminado un grupo hidroxilo de un grupo carboxilo.

En el presente documento, un residuo de insulina o un residuo de análogo de insulina es insulina o un análogo de insulina en el que se ha eliminado un átomo de hidrógeno de uno o dos grupos amino.

El término alquilo tal como usa en el presente documento cubre un grupo alquilo lineal o ramificado, que contiene preferiblemente 1-8 átomos de carbono, más preferiblemente 1-4 átomos de carbono, tales como metilo, etilo, propilo e isopropilo. En el presente documento, el término “alquilo C_1-C_3” cubre un grupo alquilo con de 1 a 3 átomos de carbono tales como metilo, etilo, propilo e isopropilo.

Un grupo o radical alquileno es el radical divalente correspondiente a un grupo alquilo. Por tanto, el término “alquileno C_1-C_3” cubre un grupo alquileno con de 1 a 3 átomos de carbono tales como metileno, etileno, propileno e isopropileno.

El término grupo alcanoílo (o grupo acilo) es un grupo derivado mediante la eliminación de un grupo hidroxilo de un grupo carboxílico. Un grupo alcanoílo puede ilustrarse mediante la fórmula general R’-CO- (o R’C (=O)-) en la que R’ es un grupo alquilo. El grupo alquilo presente en el grupo alcanoílo es un grupo alquilo lineal o ramificado que puede contener 6-22 átomos de carbono, preferiblemente 10-20 átomos de carbono.

Sumario de la invención

Esta invención se refiere a los compuestos cubiertos por las reivindicaciones más adelante.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra el perfil cromatográfico del compuesto del ejemplo 2 eluido a partir de una columna de albúmina usando tampón sin glucosa y tampón de glucosa 50 mM (solución salina tamponada con fosfato, pH 7,4).

La Figura 2 muestra el desplazamiento en tiempos de retención de la elución del compuesto del ejemplo 2 a partir de una columna de albúmina en función de concentraciones de glucosa en el intervalo de 0-50 mM (experimentos por duplicado, series 1 y 2).

La Figura 3 muestra los perfiles farmacocinéticos tras la administración i.v. de insulina del ejemplo 22 (es decir, un compuesto según esta invención), insulina del ejemplo 24 (es decir, un compuesto sin grupo $-B(OH)_2$) o vehículo en ratas Wistar alimentadas y anestesiadas, véase el ejemplo 30.

La Figura 4 muestra los perfiles farmacocinéticos tras la administración i.v. de insulina del ejemplo 22 ó 24 o vehículo en ratas Wistar alimentadas y anestesiadas (log insulinas), véase el ejemplo 30.

La Figura 5 muestra los perfiles farmacocinéticos tras la administración i.v. de insulina del ejemplo 22 ó 24 o vehículo en ratas ZDF alimentadas y anestesiadas, véase el ejemplo 30.

La Figura 6 muestra los perfiles farmacocinéticos tras la administración i.v. de insulina del ejemplo 22 ó 24 o vehículo en ratas ZDF alimentadas y anestesiadas (log insulinas), véase el ejemplo 30.

Descripción detallada de esta invención

Como se deduce de la reivindicación 1, en los derivados de insulina novedosos, el radical de insulina (denominado Ins) es un residuo de insulina o un residuo de análogo de insulina. Dicho análogo de insulina puede ser un análogo de insulina que tiene el residuo de lisina natural en la posición B29 o un análogo de insulina que tiene un residuo de lisina conectado al extremo C-terminal de la cadena A, es decir, un análogo de insulina A22Lys. En los derivados de insulina novedosos de esta invención, un radical de fórmula general -X-Y-Z y/o $-X^1-Y^1-Z^1$ (en las que los símbolos son tal como se mencionan más adelante) está(n) unido(s) a un grupo ε-amino en un residuo de Lys (K) en un análogo de insulina.

Por tanto, en un aspecto, esta invención se refiere a derivados de insulina de fórmula general Ia: Ins-X-Y-Z en la que Ins, X, Y y Z son tal como se definen en el presente documento (y n es 1 y m es cero). En los compuestos de fórmula Ia, el radical -X-Y-Z está conectado a un grupo ε-amino presente en un residuo de lisina en B29 o un grupo ε-amino presente en un residuo de lisina en A22.

En otro aspecto, esta invención se refiere a derivados de insulina de fórmula general Ib: $Z^1-Y^1-X^1$-Ins-X-Y-Z en la que Ins, X, X^1, Y, Y^1, Z y Z^1 son tal como se definen en el presente documento (y n y m son ambos 1). En los compuestos de fórmula Ib, los radicales -X-Y-Z y $-X^1-Y^1-Z^1$ están conectados a un grupo ε-amino presente en un residuo de lisina en B29 y un grupo ε-amino presente en un residuo de lisina en A22.

Tanto en el radical de fórmula general -CO-(alquileno C_1-C_3)-CH(COOH)-NH- como en el radical de fórmula general -CO-(alquileno C_1-C_3)-SO_2-NH- cada uno de los cuales se ilustran en la presente mediante los símbolos X y X^1, el grupo amino está conectado al radical Y/Y^1 y, por consiguiente, el grupo carbonilo del mismo está conectado a “Ins”.

El grupo ω-aminoalcanoílo ilustrado mediante los símbolos Y e Y^1 es un grupo/radical divalente. En una realización, el grupo amino en dicho grupo ω-aminoalcanoílo está conectado al grupo ilustrado mediante el símbolo X (o X^1) y, simultáneamente, el grupo carbonilo en dicho grupo ω-aminoalcanoílo está conectado al grupo ilustrado mediante el símbolo Z (o Z^1). En una realización, el grupo amino en dicho grupo ω-aminoalcanoílo está conectado al grupo ilustrado mediante el símbolo Z (o Z^1) y, simultáneamente, el grupo carbonilo en dicho grupo ω-aminoalcanoílo está conectado al grupo ilustrado mediante el símbolo X (o X^1).

Elementos estructurales que incorporan motivos de ácido graso así como boronatos se sintetizan y se conjugan con insulina y análogos de insulina. Las insulinas sensibles a la glucosa pueden administrarse mediante inyección subcutánea, en la que la formación de depósitos contribuirá a una actividad prolongada. El perfil de actividad de la insulina unida a albúmina de manera sensible a la glucosa en la circulación se modulará mediante la concentración de glucosa en sangre en cualquier momento dado.

Los derivados de insulina de esta invención son de acción duradera debido a la unión a albúmina, y en algunos casos una tendencia aumentada a la oligomerización en el depósito subcutáneo, garantizando una difusión lenta a la circulación. En la circulación, la unión a albúmina sensible a la glucosa regula la fracción libre del derivado de insulina de esta invención de una manera dependiente de la glucosa. La afinidad por los receptores de insulina de los compuestos de esta invención está dentro del intervalo deseado.

Producción de análogos de insulina y compuestos de esta invención

La producción de polipéptidos, por ejemplo, análogos de insulina, se conoce ampliamente en la técnica. Los análogos de insulina pueden producirse, por ejemplo, mediante la síntesis de péptidos clásica, por ejemplo, síntesis de péptidos en fase sólida usando química de t-Boc o Fmoc u otras técnicas ampliamente establecidas, véase, por ejemplo, Greene y Wuts, “Protective Groups in Organic Synthesis”, John Wiley & Sons, 1999. El análogo de insulina

también puede producirse mediante un método que comprende cultivar una célula huésped que contiene una secuencia de ADN que codifica para el análogo y capaz de expresar el análogo de insulina en un medio nutritivo adecuado en condiciones que permiten la expresión del análogo de insulina. Pueden usarse varios métodos recombinantes en la producción de insulina humana y análogos de insulina humana. Tres ejemplos no limitativos de métodos que pueden usarse en la producción de insulinas en microorganismos tales como, por ejemplo, *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae* se dan a conocer, por ejemplo, en el documento WO 2008/034881. Para análogos de insulina que comprenden residuos de aminoácido no naturales, la célula recombinante debe modificarse de modo que los aminoácidos no naturales se incorporen al análogo, por ejemplo mediante el uso de mutantes de ARNt. Por tanto, en resumen, los análogos de insulina se preparan de manera análoga a la preparación de los análogos de insulina conocidos.

Además, los compuestos de esta invención se preparan de una manera en sí conocida, por ejemplo, de manera análoga a la preparación de los compuestos conocidos o de manera análoga a la preparación de compuestos similares.

Uso de los compuestos de esta invención

La vía de administración puede ser cualquier vía que transporte de manera eficaz un compuesto de esta invención hasta el lugar deseado o apropiado en el cuerpo, tal como vía parenteral, por ejemplo, vía subcutánea, vía intramuscular o vía intravenosa. Alternativamente, un compuesto de esta invención puede administrarse por vía oral, vía pulmonar, vía rectal, vía transdérmica, vía bucal, vía sublingual o vía nasal.

Para la administración por vía parenteral, un compuesto de esta invención se formula de manera análoga a la formulación de las insulinas conocidas. Además, para la administración por vía parenteral, un compuesto de esta invención se administra de manera análoga a la administración de las insulinas conocidas y los médicos están familiarizados con este procedimiento.

La administración parenteral puede realizarse por medio de una jeringuilla, opcionalmente una jeringuilla de tipo pluma. Alternativamente, la administración parenteral puede realizarse por medio de una bomba de infusión.

Las composiciones inyectables que contienen un compuesto de esta invención pueden prepararse usando las técnicas convencionales de la industria farmacéutica que implican disolver y mezclar los componentes según sea apropiado para dar el producto final deseado. Por tanto, según un procedimiento, un compuesto de esta invención se disuelve en una cantidad de agua que es algo menor que el volumen final de la composición que va a prepararse. Se añaden un agente isotónico, un conservante y un tampón según se requiera y se ajusta el valor de pH de la disolución, si es necesario, usando un ácido, por ejemplo, ácido clorhídrico, o una base, por ejemplo, hidróxido de sodio acuoso, según sea necesario. Finalmente, se ajusta el volumen de la disolución con agua para dar la concentración deseada de los componentes.

De manera más precisa, una preparación de insulina de esta invención, por ejemplo una disolución o suspensión, puede prepararse disolviendo un compuesto de esta invención en un medio acuoso en condiciones ligeramente ácidas, por ejemplo, en una concentración en el intervalo de aproximadamente 240 a aproximadamente 2400 nmoles/ml. El medio acuoso se convierte en isotónico, por ejemplo, con cloruro de sodio o glicerol. Además, el medio acuoso puede contener iones zinc, tampones tales como acetato y citrato, y conservantes tales como m-cresol o fenol. El valor de pH de la disolución se ajusta hacia la neutralidad sin acercarse demasiado al punto isoeléctrico del compuesto de esta invención con el fin de evitar la precipitación. El valor de pH de la preparación de insulina final depende de qué compuesto de esta invención se use, la concentración de iones zinc y la concentración del compuesto de esta invención. La preparación de insulina se convierte en estéril, por ejemplo, mediante filtración estéril.

Las preparaciones de insulina de esta invención se usan de manera similar al uso de las preparaciones de insulina conocidas.

La cantidad de un compuesto de esta invención que debe administrarse, la determinación de la frecuencia con la que administrar un compuesto de esta invención, y la elección de qué compuesto o compuestos de esta invención administrar, opcionalmente junto con otro compuesto antidiabético, se decide consultando a un médico que esté familiarizado con el tratamiento de la diabetes.

Características preferidas de esta invención

Para resumir y complementar las afirmaciones anteriores, las características de esta invención son las siguientes:

1. Derivados de insulina que tienen la fórmula general I:

$$(Z^1\text{-}Y^1\text{-}X^1)_m\text{-Ins-}(X\text{-}Y\text{-}Z)_n \qquad (I)$$

en la que n es cero o 1; m es cero o 1; con la condición de que n y m no sean ambos cero;

Ins representa insulina o un análogo de insulina tal como se define en el presente documento del que se ha eliminado un átomo de hidrógeno de un grupo ε-amino presente en un residuo de lisina en B29 o presente en un residuo de lisina en A22 y en el que el grupo amino presente en el residuo de aminoácido N-terminal en la cadena A y/o B, opcionalmente, está sustituido con uno o dos grupos alquilo (preferiblemente metilo o etilo), en el que el/los grupo(s) de fórmula general -X-Y-Z y/o -X^1-Y^1-Z^1 está(n) unido(s) a un grupo ωε-amino en un residuo de Lys (K) en la molécula de insulina;

X y X^1, independientemente entre sí, es un enlace, un radical de fórmula general -CO-(alquileno C_1-C_3)-CH(COOH)-NH- en la que el grupo amino está conectado al radical Y/Y^1 o un radical de fórmula general -CO-(alquileno C_1-C_3)-SO_2-NH- en la que el grupo amino está conectado al radical Y/Y^1;

Y e Y^1, independientemente entre sí, es un grupo ω-aminoalcanoílo que contiene de 6 a 22 átomos de carbono y en el que un átomo de hidrógeno se ha eliminado del grupo ω-amino; y

Z y Z^1, independientemente entre sí, es un grupo de una de las dos siguientes fórmulas generales,

-SO_2-Ar o -CO-Ar,

en las que Ar es un grupo fenilo sustituido con uno o más grupos -$B(OH)_2$ y, opcionalmente, sustituido con uno o más átomos de halógeno.

2. Un compuesto según la cláusula anterior, en el que el radical denominado -CO-(alquileno C_1-C_3)-CH(COOH)-NH- para el símbolo X y/o X^1 es un radical γ-glutamilo que tiene la fórmula –CO-CH_2-CH_2-CH(COOH)-NH-.

3. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en el que X y X^1 son iguales y ambos son un enlace.

4. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en el que uno de X y X^1 es un enlace,

5. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que X y X^1 son iguales y ambos son un radical de fórmula general -CO-(alquileno C_1-C_3)-CH(COOH)-NH-.

6. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, por ejemplo la cláusula 1, en el que X y X^1 son iguales y ambos son un grupo γ-glutamilo.

7. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que X o X^1 son iguales y ambos son un radical de fórmula general -CO-(alquileno C_1-C_3)-CH(COOH)-NH-.

8. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que X o X^1 es un grupo γ-glutamilo.

9. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, por ejemplo la cláusula 1, en el que X y X^1 son iguales y ambos son un grupo butiroilsulfonilamina (-CO-CH_2-CH_2-CH_2-SO_2-NH-) en el que el grupo amino está conectado al radical Y/Y^1.

10. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en el que el grupo ω-aminoalcanoílo (Y y/o Y^1) contiene de 10 a 20 átomos de carbono.

11. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en el que el grupo ω-aminoalcanoílo (Y y/o Y^1) contiene de 12 a 18 átomos de carbono.

12. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en el que el grupo ω-aminoalcanoílo (Y y/o Y^1) contiene de 13 a 17 átomos de carbono.

13. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que el radical alquilo del grupo ω-aminoalcanoílo (Y y/o Y^1) es un grupo alquilo lineal.

14. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que el grupo amino en el grupo ω-aminoalcanoílo (Y y/o Y^1) está conectado a Z y/o Z^1, y el grupo carbonilo del grupo ω-aminoalcanoílo (Y y/o Y^1) está conectado a X y/o X^1.

15. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que el Ar presente en Z y/o Z^1 porta uno o dos grupos -$B(OH)_2$.

16. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que el Ar presente en Z y/o Z^1 porta sólo un grupo $-B(OH)_2$.

17. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que el Ar presente en Z y/o Z^1 porta sólo un grupo $-B(OH)_2$ que está en la posición meta o para en relación con el radical $-SO_2-$ o -CO- del radical $-SO_2-Ar$ o -CO-Ar, respectivamente.

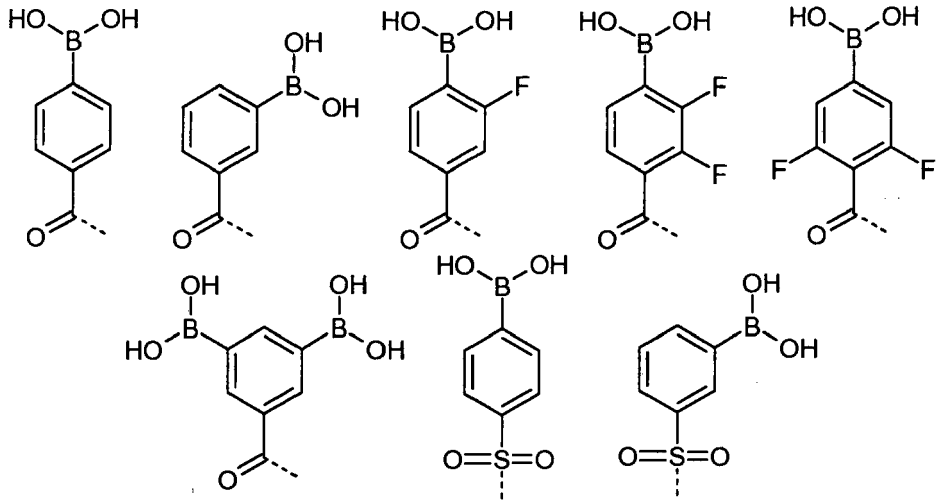
18. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que el Ar presente en Z y/o Z^1 porta dos grupos $-B(OH)_2$ que están en la posición meta en relación con el radical $-SO_2-$ o -CO- del radical $-SO_2-Ar$ o -CO-Ar, respectivamente.

19. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que el Ar presente en Z y/o Z^1 porta uno o dos átomos de halógeno.

20. Un compuesto según la cláusula anterior, en la medida posible, en el que el Ar presente en Z y/o Z^1 porta uno o dos átomos de flúor.

21. Un compuesto según la cláusula anterior, en la medida posible, en el que el Ar presente en Z y/o Z^1 porta uno o dos átomos de cloro.

22. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas posibles anteriores, en el que Z y/o Z^1 se elige del grupo que consiste en los siguientes grupos (en los que la línea discontinua es el punto de unión):



23. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que m y n son cada uno 1 y los grupos de fórmula general -X-Y-Z y $-X^1-Y^1-Z^1$ son idénticos.

24. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que Ins es insulina humana, una insulina natural de otra especie distinta del ser humano o un análogo de insulina humana en el que uno o más residuos de aminoácido se han sustituido (intercambiado) por otros residuos de aminoácido, en el que uno o más residuos de aminoácido se han delecionado de la insulina y/o en el que uno o más residuos de aminoácido se han añadido y/o insertado y, preferiblemente, dicho análogo de insulina comprende menos de 8 modificaciones (sustituciones, deleciones, adiciones (incluyendo inserciones) y cualquier combinación de las mismas) en relación con insulina humana, alternativamente menos de 7 modificaciones en relación con insulina humana, alternativamente menos de 6 modificaciones en relación con insulina humana, alternativamente menos de 5 modificaciones en relación con insulina humana, alternativamente menos de 4 modificaciones en relación con insulina humana, alternativamente menos de 3 modificaciones en relación con insulina humana, alternativamente menos de 2 modificaciones en relación con insulina humana.

25. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas posibles anteriores, en el que un átomo de hidrógeno se ha eliminado de un grupo ε-amino presente en un residuo de lisina en B29 y un átomo de hidrógeno se ha eliminado de un grupo ε-amino presente en un residuo de lisina en A22.

26. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas posibles anteriores, en el que el residuo de insulina denominado “Ins” tiene E (Glu) en la posición A14, y/o K (Lys) en la posición A22, y/o H (His) en la posición B25, y/o R (Arg) en la posición B29 y/o ningún residuo de aminoácido en la posición B30.

27. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas posibles anteriores, en el que el residuo de insulina denominado “Ins” se elige del grupo de insulina humana, insulina humana desB30, insulina humana A14E-B25H-desB30, insulina humana A22K-desB30 e insulina humana A14E-A22K-B25H-desB30.

28. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas posibles anteriores, en el que el residuo de insulina denominado “Ins” se elige del grupo de insulina humana A22K, B29R, desB30 e insulina humana A14E, A22K, B25H, B29R, desB30 e insulina humana A22K, desB30.

29. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas posibles anteriores, en el que el residuo de insulina denominado “Ins” se elige del grupo de insulina humana A22K, B29R, desB30 e insulina humana A14E, A22K, B25H, B29R; insulina humana A14E, A22K, B25H; insulina humana A14E, B25H; insulina humana A22K, B29R; e insulina humana A22K.

30. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, en el que n y m son cada uno 1, y los grupos denominados -X-Y-Z están unidos al grupo ε-amino en un residuo de Lys (K) en las posiciones A22 y B29 en la molécula de insulina.

31. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones de producto anteriores, en la medida posible, que es uno cualquiera de los compuestos mencionados específicamente en la memoria descriptiva anterior tal como en los ejemplos específicos, especialmente uno cualquiera de los ejemplos 1 y siguientes más adelante.

32. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, seleccionado del grupo que consiste en insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-15-(4-boronobencenosulfonilamino)pentadecanoil-desB30; insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-B29N(epsilon)-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-A22K-B25H-desB30; insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-12-(3-boronobencenosulfonilamino)dodecanoil-desB30; insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-γ-L-glutamil-desB30; insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-desB30; insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-desB30; insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(3-fluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-desB30; insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(3-fluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-γ-L-glutamil-desB30; insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,6-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanonil-desB30; insulina humana A1(*N,N*-dimetil), B1(*N,N*-dimetil), B29*N*$^{\varepsilon}$-15-(4-boronobencenosulfonil-amino)pentadecanoil-desB30; insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-A22K-B29R-desB30; insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-A22K-B25H-B29R-desB30; insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-L-γ-glutamil-A14E-A22K-B25H-B29R-desB30; insulina humana B29-*N*$^{\varepsilon}$-{4-[16-(3-boronobencenosulfonilamino)hexadecanoilsulfamoil]butanoil}-desB30; insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanoil-B29*N*$^{\varepsilon}$-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanodioil-A14E-A22K-B25H-desB30; insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanoil-B29*N*$^{\varepsilon}$-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanodioil-A22K-desB30; insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-L-γ-glutamil-A14E-B25H-desB30; insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanoil-γ-L-glutamil-B29*N*$^{\varepsilon}$-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanodioil-γ-L-glutamil-A14E-A22K-B25H-desB30; insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-{4-[16-(3-boronobencenosulfonilamino)hexadecanoilsulfamoil]butanoil}-A14E-B25H-desB30; insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-B29*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanodioil-A14E-A22K-B25H-desB30; insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-B29*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanodioil-A22K-desB30; e insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-B25H-desB30.

33. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, seleccionado del grupo que consiste en insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-gamma-L-glutamil-B29*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanodioil-gamma-L-glutamil-A22K-desB30; insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-gamma-L-glutamil-B29*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanodioil-gamma-L-glutamil-A14E-A22K-B25H-desB30; insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,6-difluoro-4-boronobenzoilamino)pentadecanoil-A14E-B25H-desB30; insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,6-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-B25H-desB30; e insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-B25H-desB30.

34. Un compuesto según una cualquiera de las cláusulas anteriores, en la medida posible, que es insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-B25H-desB30.

35. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones de producto anteriores para su uso como medicamento o para su uso en un medicamento.

36. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones de producto anteriores para tratar la diabetes o el uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones de producto anteriores para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes.

37. El uso de un compuesto según una cualquiera de las cláusulas de producto anteriores para la preparación de una composición farmacéutica.

38. El uso según la cláusula anterior, cuya composición puede usarse para el tratamiento de la diabetes.

Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración, no de limitación.

En los ejemplos, en primer lugar se facilita la denominación sistemática del compuesto de esta invención y luego una ilustración química de la fórmula química.

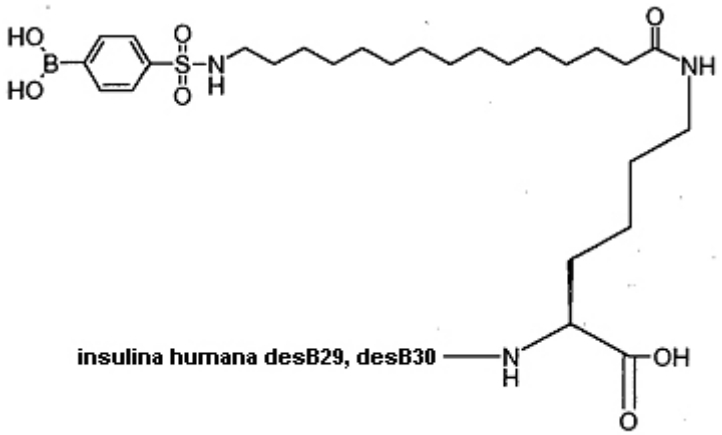
En, por ejemplo, el ejemplo 1, el radical de insulina se ilustra mediante la expresión “insulina humana desB29, desB30”. Sin embargo, esto no quiere decir que no haya un aminoácido en B29 en el compuesto del ejemplo 1, porque el residuo de aminoácido en B29 que es lisina se ilustran en el radical químico conectado al radical “insulina humana desB29, desB30”.

En los compuestos de esta invención que tienen tanto un sustituyente de fórmula general -X-Y-Z como un sustituyente de fórmula general $-X^1-Y^1-Z^1$, como, por ejemplo, en el ejemplo 2, se deduce de la denominación sistemática del compuesto que tanto el residuo de aminoácido A22Lys como el residuo de aminoácido B29Lys están sustituidos. Incluso aunque el radical de insulina en la fórmula química se ilustre mediante la expresión “insulina A14E, A22K, B25H, desA22, desB29, desB30”, esto no quiere decir que no haya ningún residuo de aminoácido en las posiciones A22 y B29, porque los residuos de aminoácido en A22 y en B29 que son lisina se ilustran en el radical química conectado al radical “insulina A14E, A22K, B25H, desA22, desB29, desB30” (véase, por ejemplo, el número “2” que aparece tras el paréntesis en la fórmula).

En los nombres de compuestos, B29N^{ε} y A22N^{ε} indican que el grupo siguiente en el nombre está conectado al grupo ε-amino del residuo de aminoácido presente en la posición B29 o A22, respectivamente.

Ejemplo 1

Insulina humana B29N^{ε}-15-(4-boronobencenosulfonilamino)pentadecanoil-desB30



Éster mono-terc-butílico del ácido hexadecanodioico

Se suspendió ácido hexadecanodioico (40,0 g, 140 mmol) en tolueno (250 ml) y se calentó la mezcla hasta reflujo. Se añadió di-terc-butilacetal de *N,N*-dimetilformamida (76,3 g, 375 mmol) gota a gota a lo largo de 4 horas. Se sometió la mezcla a reflujo durante la noche. Se eliminó el disolvente a vacío a 50ºC, y se suspendió el material en bruto en diclorometano/acetato de etilo (500 ml, 1:1) y se agitó durante 15 min. Se recogieron los sólidos mediante filtración y se trituraron con diclorometano (200 ml). Se evaporaron los filtrados a vacío para dar hexadecanodioato de mono-terc-butilo en bruto, 30 gramos. Se suspendió este material en diclorometano (50 ml), se enfrió con hielo durante 10 min y se filtró. Se eliminó el disolvente a vacío para dejar 25 gramos de hexadecanodioato de mono-terc-butilo en bruto, que se recristalizó en heptano (200 ml) para dar hexadecanodioato de mono-terc-butilo, 15,9 g (33%). Alternativamente a la recristalización, el mono-éster puede purificarse mediante cromatografía en sílice con acetato de etilo/heptano. ^{1}H-RMN ($CDCl_3$) δ: 2,35 (t, 2H), 2,20 (t, 2H), 1,65-1,55 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 1,34-1,20 (m, 20 H).

Éster terc-butílico del ácido 15-isocianatopentadecanoico

Se disolvió hexadecanodioato de mono-terc-butilo (2,0 g, 5,8 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml). Se añadió trietilamina (2,04 ml, 14,6 mmol) y se enfrió la mezcla con hielo y se mantuvo bajo gas de nitrógeno. Se añadió formiato de isoclorobutilo (1,6 ml, 11,7 mmol) gota a gota a lo largo de 15 min y se agitó la mezcla en un baño de hielo durante 1,5 horas. Se añadió azida de sodio (6,5 g, 105 mmol) y se agitó la mezcla en un baño de hielo durante 30 min. Se añadió tolueno (100 ml) y se lavó la fase orgánica con agua (2x50 ml) y se secó sobre $MgSO_4$ y se filtró. Se calentó la mezcla en un baño de aceite hasta 105ºC durante 2 horas y entonces se evaporó a vacío para proporcionar éster terc-butílico del ácido 15-isocianatopentadecanoico (1,94, 98%).

CL-EM: 287,3 Da (MH^+ - terc-butilo)

^{1}H-RMN ($CDCl_3$) δ: 3,29 (t, 2H), 2,20 (t, 2H), 1,62-1,57 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 1,33-1,24 (m, 20 H).

Éster terc-butílico del ácido 15-aminopentadecanoico

Se disolvió éster terc-butílico del ácido 15-isocianatopentadecanoico (1,91 g, 5,6 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml), se trató con NaOH acuoso 1 M (10 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió agua (50 ml) y se extrajo la mezcla con acetato de etilo (2x 50 ml). Se secó la disolución sobre $MgSO_4$ y se evaporó a vacío para proporcionar éster terc-butílico del ácido 15-amino-pentadecanoico en bruto (1,54 g, 88%).

CL-EM: 314,5 Da (MH+).

Se disolvió el producto en bruto (1,26 g, 4,0 mmol) en éter (90 ml) y se trató con ácido 4-tolueno-sulfónico (688 mg, 3,6 mmol) en éter (25 ml). Se almacenó la mezcla a 5ºC durante la noche y se recogió el precipitado mediante filtración y se secó (1,1 g, 63%). Se disolvió el tosilato (1,1 g, 2,3 mmol) en éter, se lavó dos veces con Na_2CO_3 0,2 M, con agua, se secó sobre $MgSO_4$ y se evaporó a vacío para proporcionar éster terc-butílico del ácido 15-aminopentadecanoico (630 mg, 92%).

Éster terc-butílico del ácido 15-(4-boronobencenosulfonilamino)pentadecanoico

Se pulverizó éster de N-metildietanolamina del ácido 4-sulfinilfenilborónico de litio (100 mg, 0,364 mmol; P. Vedsø, P.H. Ol,esen, T. Hoeg-Jensen, Synlett 2004, 892) mediante espátula, se suspendió en diclorometano (2 ml), se trató con N-clorosuccinimida (49 mg, 0,364 mmol) y se agitó la mezcla durante 1 hora. Se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (62 ul, 0,364 mmol) y éster terc-butílico del ácido 15-aminopentadecanoico (114 mg, 0,364 mmol) y se agitó la mezcla durante la noche. Se eliminó el disolvente a vacío. Se añadió acetato de etilo y se lavó la mezcla dos veces con HCl 0,2 M, agua, salmuera, se secó $MgSO_4$, se filtró y se eliminó el disolvente a vacío para proporcionar éster terc-butílico del ácido 15-(4-boronobencenosulfonilamino)pentadecanoico (152 mg, 84%).

CL-EM: 442,4 Da (MH^+ - terc-butilo).

Éster terc-butílico del ácido 15-(4-pinacolilboronobencenosulfonilamino)pentadecanoico

Se disolvió éster terc-butílico del ácido 15-(4-boronobencenosulfonilamino)pentadecanoico (152 mg, 0,306 mmol) en acetato de etilo (3 ml), se trató con pinacol (43 mg, 0,367 mmol) y $MgSO_4$ (44 mg, 0,367 mmol), y se agitó durante 30 min. Se lavó la mezcla dos veces con agua, con salmuera, se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se eliminó el disolvente a vacío para proporcionar éster terc-butílico del ácido 15-(4-pinacolilboronobencenosulfonilamino)pentadecanoico (142 mg, 80%).

^{1}H-RMN ($CDCl_3$) δ: 7,94 (d, 2H), 7,84 (d, 2H), 4,34 (t, 1H), 2,93 (m, 2H), 2,20 (t, 2H), 1,63-1,52 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 1,31-1,19 (m, 20 H).

Ácido 15-(4-pinacolilboronobencenosulfonilamino)pentadecanoico

Se trató éster terc-butílico del ácido 15-(4-pinacolilboronobencenosulfonilamino)pentadecanoico (142 mg, 0,245 mmol) con ácido trifluoroacético (6 ml) durante 30 minutos. Se eliminó el disolvente a vacío para proporcionar ácido 15-(4-pinacolilboronobencenosulfonilamino)pentadecanoico (128 mg, 100%). ^{1}H-RMN ($CDCl_3$) δ: 7,94 (d, 2H), 7,83 (d, 2H), 6,72 (sa, 1H), 2,93 (t, 2H), 2,37 (t, 2H), 1,64 (m, 2H), 1,44 (m, 2H), 1,33-1,18 (m, 20 H).

Éster de N-hidroxisuccimida del ácido 15-(4-pinacolilboronobencenosulfonilamino)pentadecanoico

Se disolvieron ácido 15-(4-pinacolilboronobencenosulfonilamino)pentadecanoico (128 mg, 0,244 mmol) y N-hidroxisuccinimida (28 mg, 0,244 mmol) en acetonitrilo (1 ml), se enfriaron con baño de hielo y se trataron con *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (50 mg, 0,244 mmol). Se dejó la mezcla durante la noche, se filtró y se eliminó el disolvente a vacío para proporcionar éster de N-hidroxisuccimida del ácido 15-(4-pinacolilboronobencenosulfonilamino)pentadecanoico (129 mg, 86%).

^{1}H-RMN ($CDCl_3$) δ: 7,93 (d, 2H), 7,83 (d, 2H), 4,36 (sa, 1H), 2,92 (t, 2H), 2,84 (s, 4H), 2,60 (t, 2H), 1,63-1,52 (m, 4H), 1,33-1,20 (m, 20 H).

Insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-15-(4-boronobencenosulfonilamino)pentadecanoil-desB30

Se disolvió insulina humana desB30 (500 mg, 88 uM) en Na_2CO_3 0,1 M (5 ml) y se trató con éster de N-hidroxisuccimida del ácido 15-(4-pinacolilboronobencenosulfonilamino)pentadecanoico (65 mg, 105 uM) en acetonitrilo (5 ml). Tras 30 min, se ajustó el pH a 5,5 usando HCl 1 M y se recogió el precipitado mediante centrifugación. Se purificó el producto mediante RP-HPLC en una columna C18 usando tampón A: ácido trifluoroacético al 0,1% en agua, tampón B: ácido trifluoroacético al 0,1% en acetonitrilo, gradiente del 26 al 60% de B a lo largo de 40 min. Se evaporaron parcialmente en vacío las combinaciones de producto y se liofilizaron proporcionando insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-15-(4-boronobencenosulfonilamino)pentadecanoil-desB30 (95 mg, 21%).

CL-EM: 1524,4 Da [M + 4H - 2x agua]$^{4+}$; tampón A: ácido trifluoroacético al 0,1% en agua; tampón B: ácido trifluoroacético al 0,1% en acetonitrilo, gradiente del 10 al 90% de B a lo largo de 10 min.

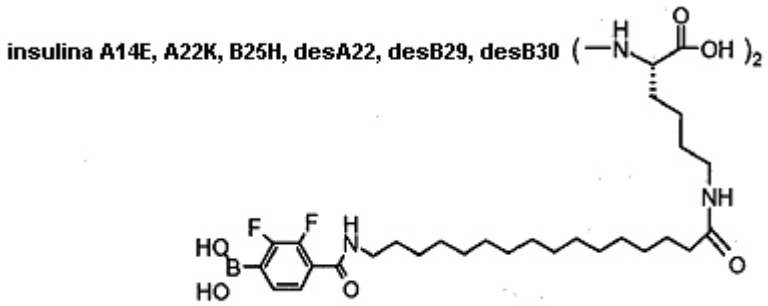
Pureza mediante HPLC ácida: 99,3%; columna C8, tampón A: ácido trifluoroacético al 0,1% en agua; tampón B: acetonitrilo al 80%/agua, gradiente del 25 al 80% de B a lo largo de 20 min.

Pureza mediante HPLC neutra: 99,5%; columna C8, tampón A: tris 10 mM, sulfato de amonio 15 mM en acetonitrilo al 20%/agua; tampón B: acetonitrilo al 80%/agua.

Los compuestos en los siguientes ejemplos se prepararon de manera similar a la descrita anteriormente.

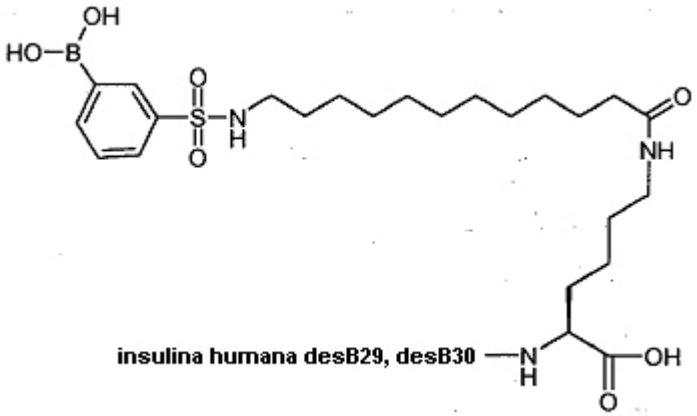
Ejemplo 2

Insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-A22K-B25H-desB30



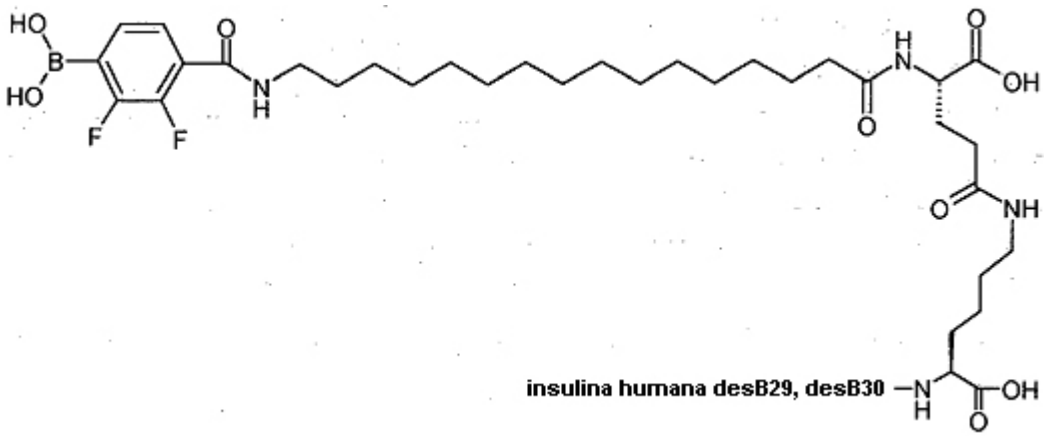
Ejemplo 3

Insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-12-(3-boronobencenosulfonilamino)dodecanoil-desB30



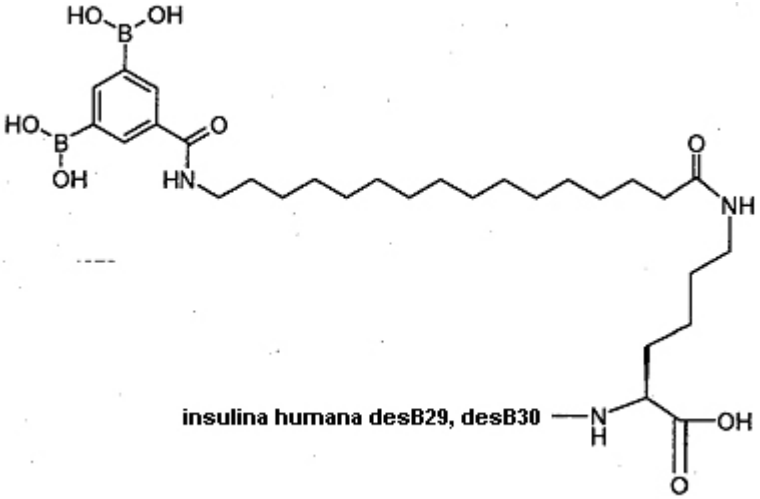
Ejemplo 4

Insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-γ-L-glutamil-desB30



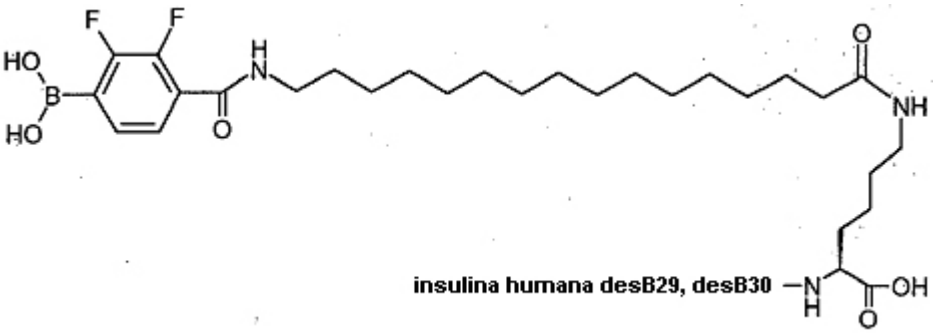
Ejemplo 5

Insulina humana B29N^{ε}-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-desB30



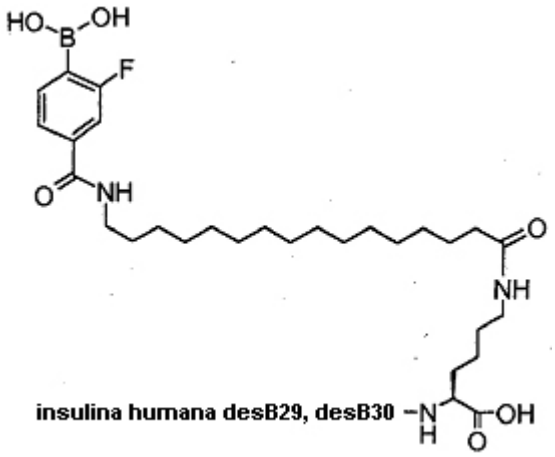
Ejemplo 6

Insulina humana B29N^{ε}-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-desB30



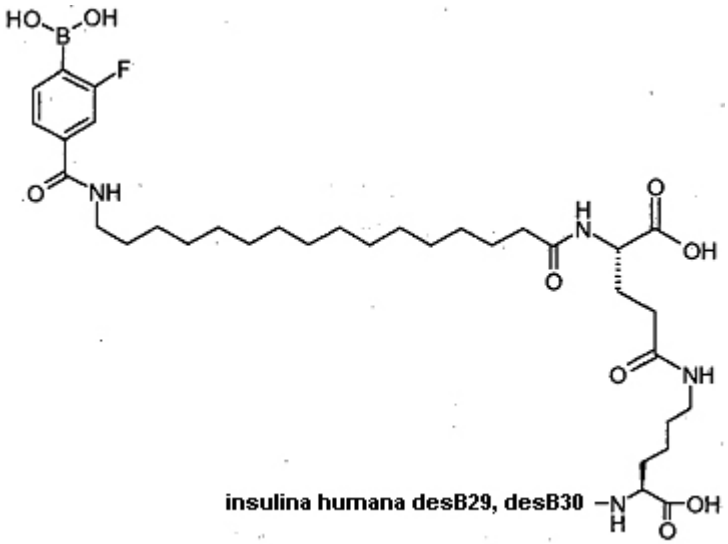
Ejemplo 7

Insulina humana B29N^{ε}-16-(3-fluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-desB30



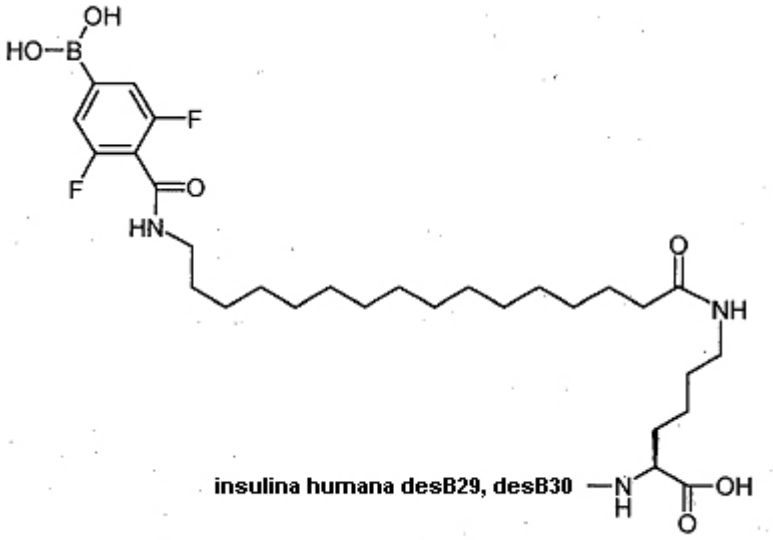
Ejemplo 8

Insulina humana B29N^{ε}-16-(3-fluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-γ-L-glutamil-desB30



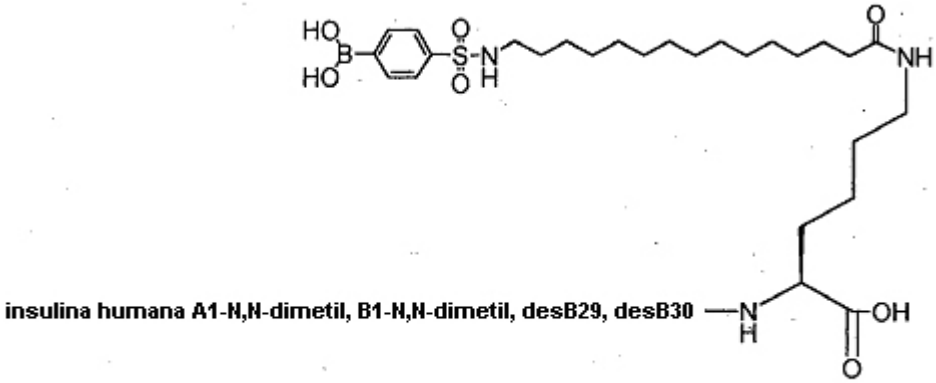
Ejemplo 9

Insulina humana B29N^{ε}-16-(2,6-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanonil-desB30



Ejemplo 10

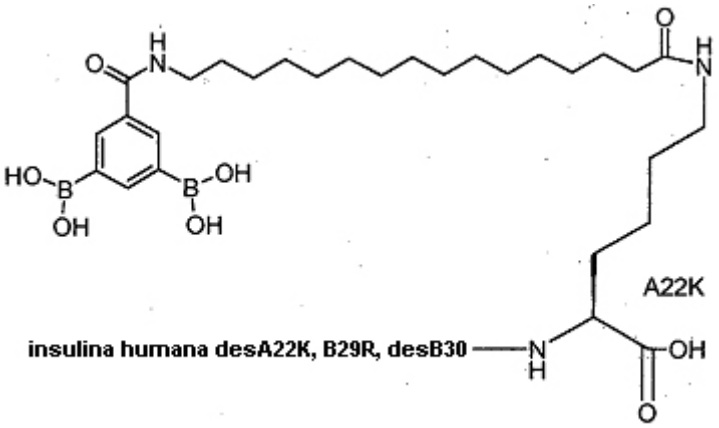
Insulina humana A1(*N,N*-dimetil), B1(*N,N*-dimetil), B29*N*$^{\varepsilon}$-15-(4-boronobencenosulfonilamino)pentadecanoil-desB30



En este compuesto, el grupo amino presente en A1Gly y presente en B1Phe del radical de insulina se ha sustituido por un grupo *N,N*-dimetilamino.

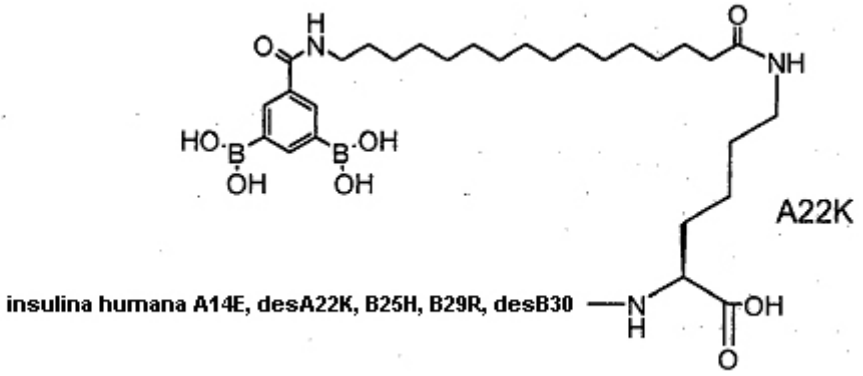
Ejemplo 11

Insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-A22K-B29R-desB30



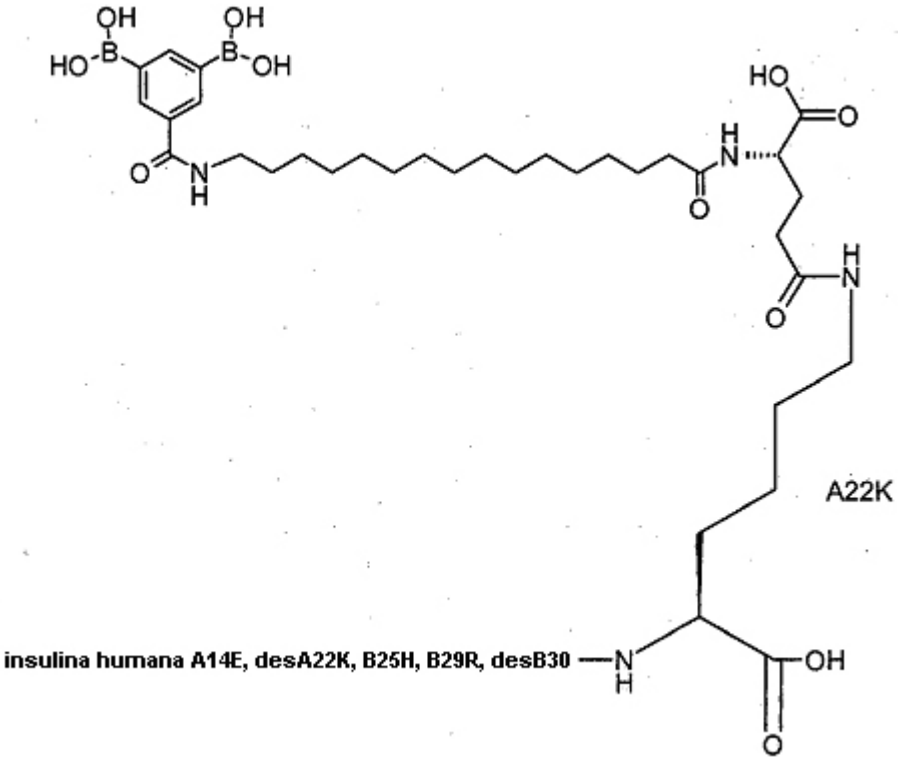
Ejemplo 12

Insulina humana A22N^{ε}-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-A22K-B25H-B29R-desB30



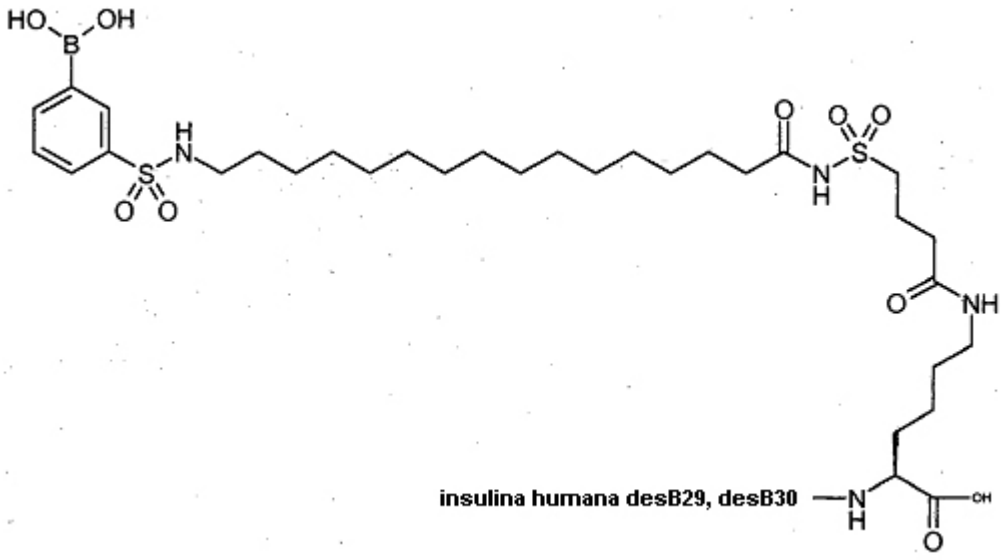
Ejemplo 13

Insulina humana A22N^{ε}-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-L-γ-glutamil-A14E-A22K-B25H-B29R-desB30



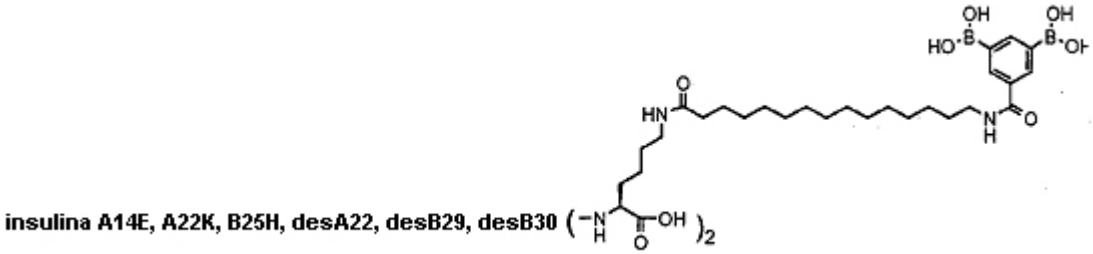
Ejemplo 14

Insulina humana B29N^{ε}-{4-[16-(3-boronobencenosulfonilamino)hexadecanoilsulfamoil]butanoil}-desB30



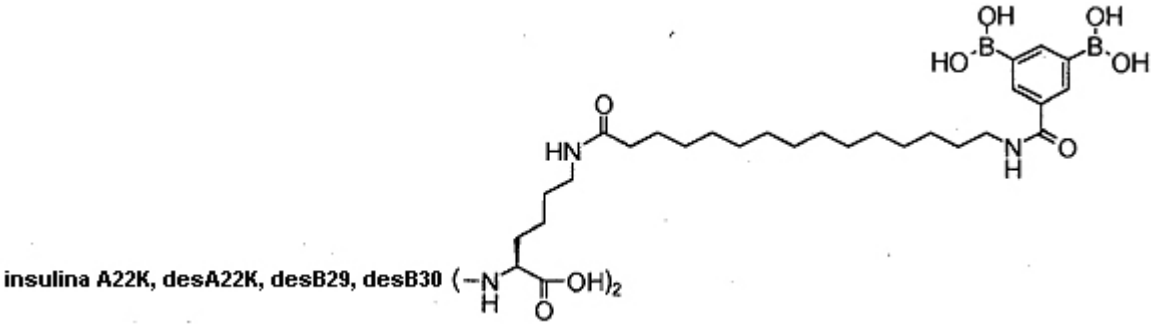
Ejemplo 15

Insulina humana A22N^{ε}-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanoil-B29N^{ε}-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanodioil-A14E-A22K-B25H-desB30



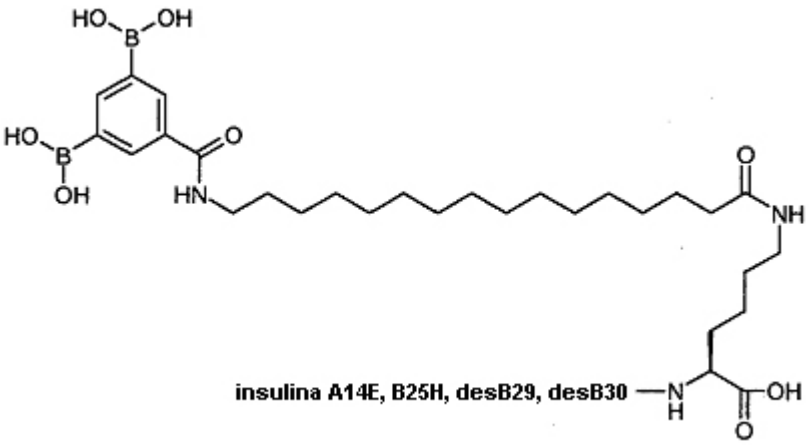
Ejemplo 16

Insulina humana A22N^{ε}-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanoil-B29N^{ε}-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanodioil-A22K-desB30



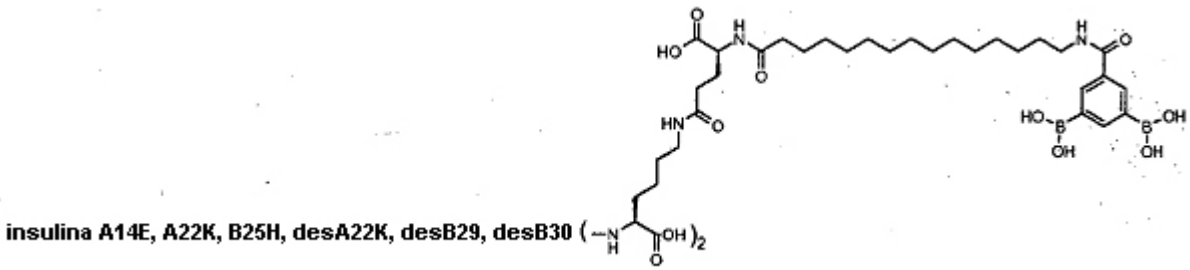
Ejemplo 17

Insulina humana B29N^{ε}-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-L-γ-glutamil-A14E-B25H-desB30



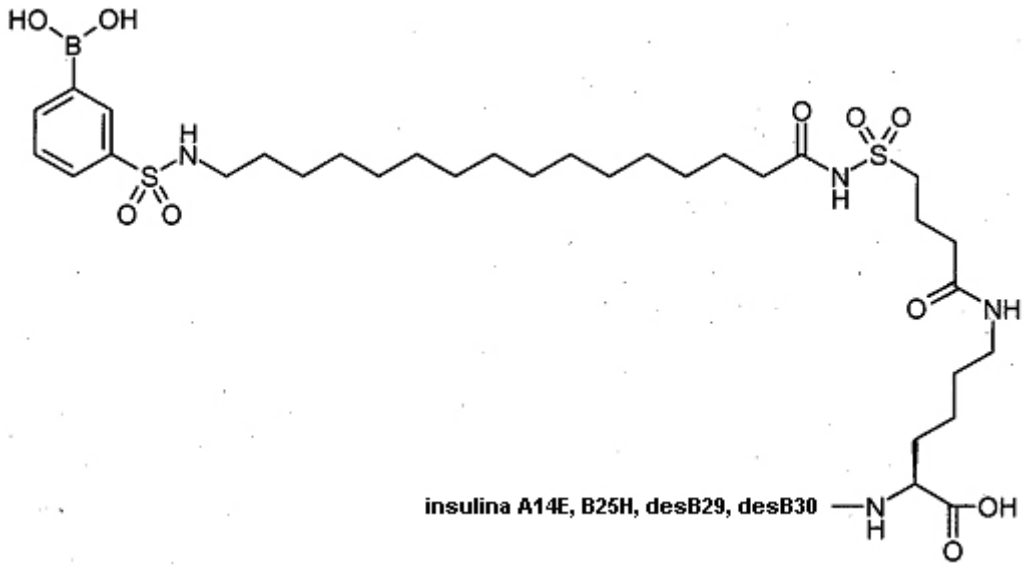
Ejemplo 18

Insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanoil-γ-L-glutamil-B29*N*$^{\varepsilon}$-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanodioil-γ-L-glutamil-A14E-A22K-B25H-desB30



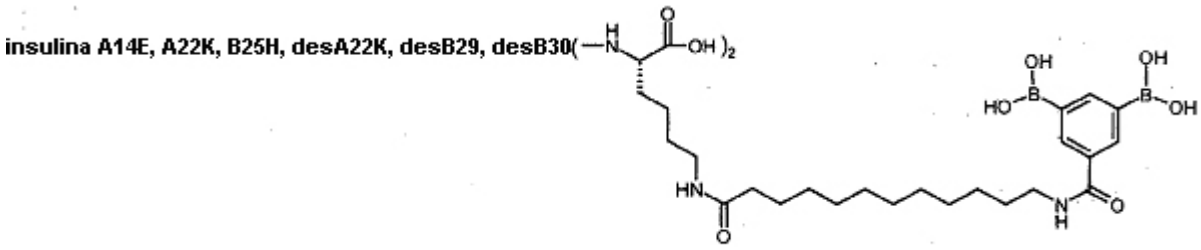
Ejemplo 19

Insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-{4-[16-(3-boronobencenosulfonilamino)hexadecanoilsulfamoil]butanoil}-A14E-B25H-desB30



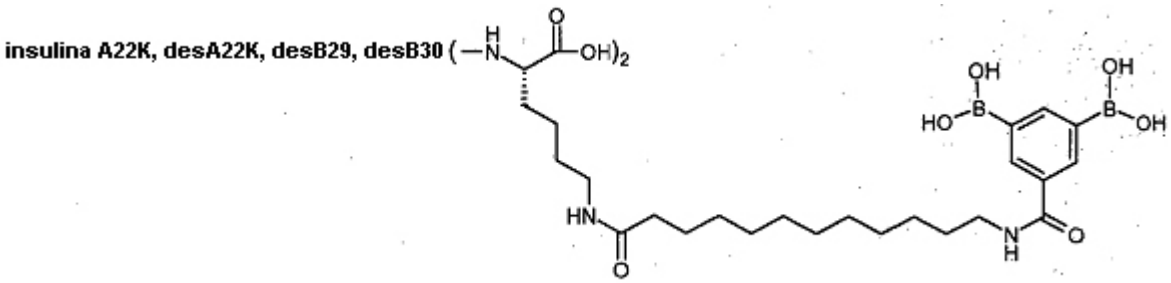
Ejemplo 20

Insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-B29*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanodioil-A14E-A22K-B25H-desB30



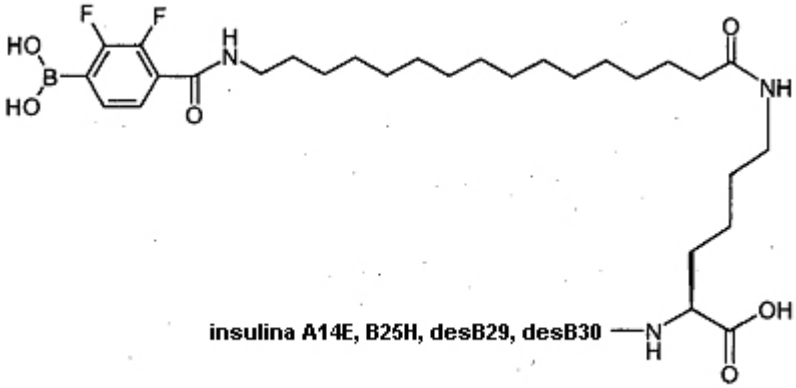
Ejemplo 21

Insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-B29*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)-dodecanodioil-A22K-desB30



Ejemplo 22

Insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-B25H-desB30



Ejemplo 23

La afinidad de albúmina de los derivados de insulina de ácidos grasos de boronato frente a la albúmina sérica humana puede evaluarse mediante la elución de los compuestos a través de una columna cromatográfica que porta albúmina inmovilizada (Chromtech Inc, columna HSA 50.3). La sensibilidad a la glucosa de la unión insulina-albúmina puede determinarse ajustando los niveles de glucosa en el tampón de elución y determinan el desplazamiento en el tiempo de retención en función de la concentración de glucosa, tabla 1 más adelante.

Tampón A: fosfato 10 mM, KCl 2,7 mM, NaCl 137 mM, pH 7,4 en agua.

Tampón B: fosfato 10 mM, KCl 2,7 mM, NaCl 137 mM, pH 7,4 en agua-iPrOH (1:1).

T 37ºC, flujo 0,7 ml/min, 20 ul de muestras 10 uM, monitor UV 220 nm.

Gradiente: tiempo (minutos)	Porcentaje B
0	0
5	40
15	50

16	0
20	0

La afinidad de glucosa de los elementos estructurales de boronato puede medirse en el ensayo competitivo de rojo de alizarina-sodio (Tetrahedron, 58, 5291-5300 (2002)).

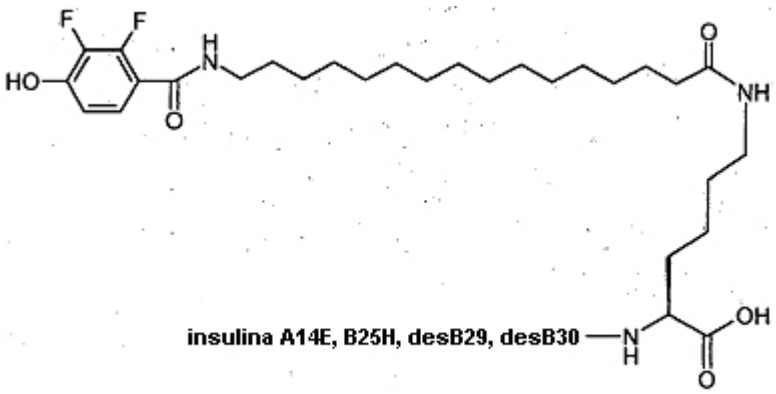
La siguiente tabla muestra los tiempos de retención de algunos compuestos de esta invención sin glucosa y con glucosa 50 mM en el eluyente. Los compuestos marcados con un asterisco se eluyeron con un gradiente de hasta el 70% de tampón B.

Número de ejemplo	Δ Rt, minutos
4	1,8
6	2,8
9	2,5
14	0,8
15 *	1,0
16 *	0,7
22	1,5

En el presente documento, iPrOH designa isopropanol.

Ejemplo 24

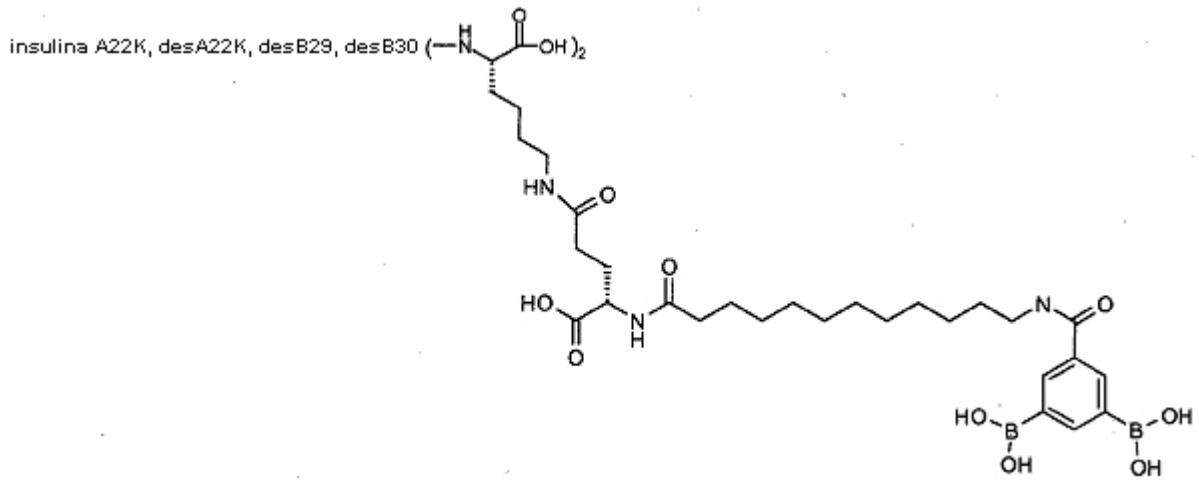
Insulina humana B29N^{ε}-16-(2,3-difluoro-4-hidroxibenzoilamino)hexadecanoil-A14E-B25H-desB30



Se disolvió la insulina del ejemplo 22 (50 mg) en peróxido de hidrógeno acuoso (500 mM, 5 ml) a temperatura ambiente y se dejó durante 20 horas. Se aisló la insulina del ejemplo 24 mediante isoprecipitación a pH 5,5 y se purificó mediante HPLC tal como se describe en el ejemplo 1; CL-EM [M^{4+}] = 1519,0 Da.

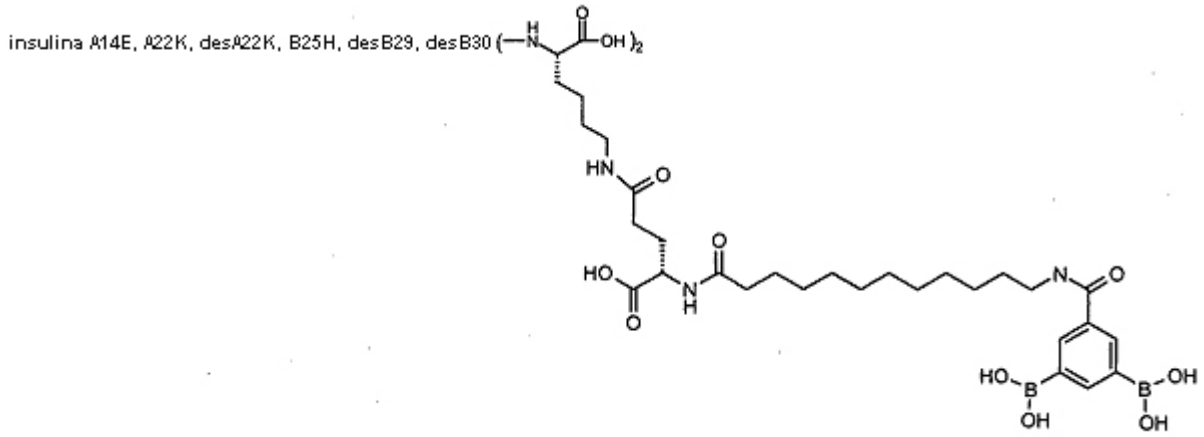
Ejemplo 25

Insulina humana A22N^{ε}-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-gamma-L-glutamil-B29N^{ε}-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanodioil-gamma-L-glutamil-A22K-desB30



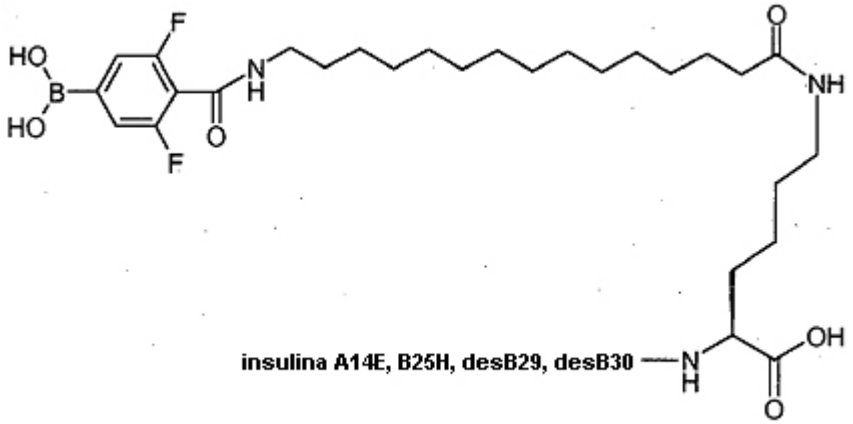
Ejemplo 26

Insulina humana A22*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-gamma-L-glutamil-B29*N*$^{\varepsilon}$-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanodioil-gamma-L-glutamil-A14E-A22K-B25H-desB30



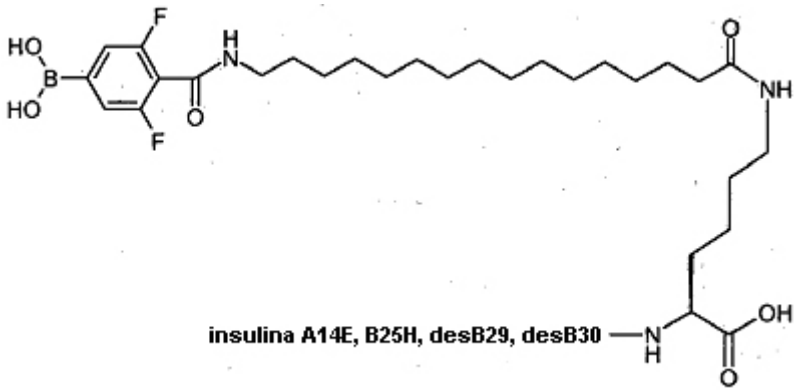
Ejemplo 27

Insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,6-difluoro-4-boronobenzoilamino)pentadecanoil-A14E-B25H-desB30



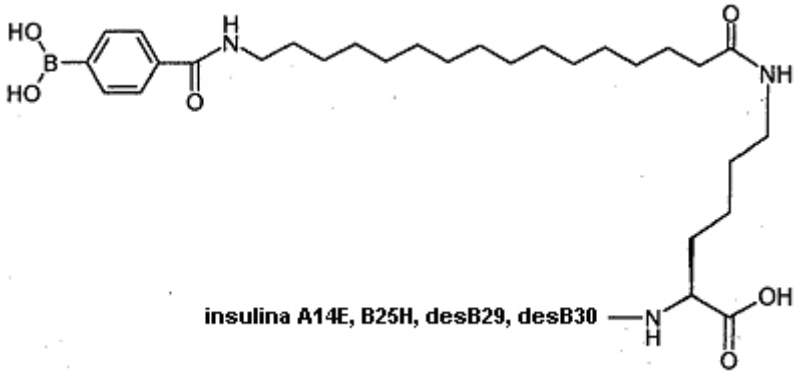
Ejemplo 28

Insulina humana B29*N*$^{\varepsilon}$-16-(2,6-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-B25H-desB30



Ejemplo 29

Insulina humana B29N^{ε}-16-(4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-B25H-desB30



Ejemplo 30

Bolo i.v. de una insulina dependiente de la glucosa del ejemplo 22 o una insulina no dependiente de la glucosa del ejemplo 24 o vehículo en ratas Wistar y ratas ZDF (UIR100205-0143)

Materiales y métodos: Se anestesiaron 30 ratas Wistar macho alimentadas (250 g) y 30 ratas ZDF macho alimentadas (350 g, de 12 semanas de edad) usando Hypnorm-Dormicum (0,081 mg/ml de citrato de fentanilo (VetaPharma Ltd.), 1,25 mg/ml de midazolam (Roche) 2 ml/kg como dosis de cebado y 1 ml/kg adicional en el momento -5 min antes de la dosificación de la sustancia de prueba, y después 1 ml/kg cada 45 minutos (4 veces). Las ratas Wistar muestran un nivel de glucosa en sangre inicial en torno a 6-7 mmol/l, mientras que las ratas ZDF muestran un nivel en torno a 20-25 mmol/l.

Tanto las ratas Wistar como las ratas ZDF se asignaron a 5 grupos, 6 ratas en cada uno (es decir 10 grupos en total). Se les administró una dosis a los animales con una inyección intravenosa en una vena de la cola (1 ml/kg) de o bien vehículo (tampón fosfato 5 mM, NaCl 140 mM, 70 ppm de polisorbato 20, pH 7,4) o bien insulina del ejemplo 22 (es decir, un compuesto según la presente invención) o bien insulina del ejemplo 24 (es decir, un compuesto que corresponde al compuesto del ejemplo 22, pero que carece del grupo $-B(OH)_2$). Se sometieron a prueba dos dosis de cada análogo: 1,2 nmol/kg o 3,6 nmol/kg en ratas Wistar, y 3,6 nmol/kg o 7,2 nmol/kg en ratas ZDF. Se tomaron muestras de sangre de 100 µl (punción capilar en la punta de la cola) para la determinación de la insulina en plasma en tubos Microvette a los 3, 15, 30, 60, 120, 180 y 240 minutos tras la dosificación de insulina.

Las figuras 3-6 muestran los perfiles de eliminación en plasma de los dos análogos (cada uno en dos dosis) tras una inyección de bolo i.v. a ratas Wistar y ratas ZDF.

Cuando se estimaron parámetros farmacocinéticos usando el programa WinNonlin 5.2 (tabla a continuación), la insulina del ejemplo 22 tuvo un tiempo de residencia medio (MRT) en ratas Wistar de 158 ± 42 min (dosis baja) y 121 ± 10 min (dosis alta), mientras que la insulina del ejemplo 24 tiene un MRT de 178 ± 22 min (dosis baja) y 175 ± 27 min (dosis alta). Los valores correspondientes para ratas ZDF fueron, para la insulina del ejemplo 22, 144 ± 21 min y 179 ± 16 min y, para la insulina del ejemplo 24, 224 ± 24 min y 203 ± 14 min. Hay una diferencia estadística

significativa entre la insulina del ejemplo 22 y 24 cuando se comparan las dosis altas de estas insulinas, tanto en ratas Wistar como en ratas ZDF (p<0,05 prueba de la t de Student). Para la dosis baja sólo se observaron diferencias significativas entre la insulina del ejemplo 22 y 24 en las ratas ZDF (p<0,05). Se observaron diferencias significativas correspondientes cuando se compararon las semividas de eliminación de la insulina del ejemplo 22 y 24. La insulina dependiente de la glucosa del ejemplo 22 (es decir, un compuesto según la presente invención) se elimina por tanto más rápidamente que el análogo de insulina no dependiente de la glucosa del ejemplo 24 en condiciones de mucha glucosa en sangre.

Insulina del ejemplo	Dosis (nmol/kg)		Vz (ml/kg)	CL (ml/kg/min)	MRT (min)	T½ (min)	Observaciones
22	1,2	MEDIA	72	0,37	158	132	n=6
		DE	11	0,05	42	30	Wistar
22	2,4	MEDIA	90	0,51	144	124	n=6
		DE	19	0,13	21	19	ZDF
22	3,6	MEDIA	80	0,49	121	112	n=6
		DE	9	0,06	10	5	Wistar
22	7,2	MEDIA	144	0,67	179	148	n=6
		DE	29	0,11	16	13	ZDF
24	1,2	MEDIA	80	0,39	178	143	n=5
		DE	6	0,05	22	16	Wistar
24	2,4	MEDIA	111	0,44	224	177	n=6
		DE	15	0,08	24	20	ZDF
24	3,6	MEDIA	90	0,43	175	140	n=6
		DE	13	0,02	27	24	Wistar
24	7,2	MEDIA	117	0,49	203	166	n=6
		DE	8	0,02	14	12	ZDF

Prueba de la T, dosis baja, Wistar	0,13	0,52	0,33	0,64
Prueba de la T, dosis baja, ZDF	0,06	0,32	0,00	0,00
Prueba de la T, dosis alta, Wistar	0,20	0,05	0,00	0,02
Prueba de la T, dosis alta, ZDF	0,07	0,01	0,02	0,04

REIVINDICACIONES

1.- Un derivado de insulina de fórmula general I: $(Z^1\text{-}Y^1\text{-}X^1)_m$-Ins-$(X\text{-}Y\text{-}Z)_n$ en la que n es cero o 1; m es cero o 1; con la condición de que n y m no sean ambos cero; Ins representa insulina o un análogo de insulina tal como se define en el presente documento del que se ha eliminado un átomo de hidrógeno de un grupo ε-amino presente en un residuo de lisina en B29 y/o presente en un residuo de lisina en A22 y en la que el grupo amino presente en el residuo de aminoácido N-terminal en la cadena A y/o B, opcionalmente, está sustituido con uno o dos grupos alquilo (preferiblemente metilo o etilo), en la que el/los grupo(s) de fórmula general -X-Y-Z y/o $-X^1\text{-}Y^1\text{-}Z^1$ está(n) unido(s) a un grupo ε-amino en un residuo de Lys (K) en la molécula de insulina; X y X^1, independientemente entre sí, es un enlace, un radical de fórmula general -CO-(alquileno C_1-C_3)-CH(COOH)-NH- en la que el grupo amino está conectado al radical Y/Y^1 o un radical de fórmula general -CO-(alquileno C_1-C_3)-SO_2-NH-, en la que el grupo amino está conectado al radical Y/Y^1; Y e Y^1, independientemente entre sí, es un grupo ω-aminoalcanoílo que contiene de 6 a 22 átomos de carbono y en el que un átomo de hidrógeno se ha eliminado del grupo ω-amino; y Z y Z^1, independientemente entre sí, es un grupo de una de las dos siguientes fórmulas generales, -SO_2-Ar o -CO-Ar, en las que Ar es un grupo fenilo sustituido con uno o más grupos -$B(OH)_2$ y, opcionalmente, sustituido con uno o más átomos de halógeno.

2.- El derivado de insulina según la reivindicación 1 que tiene la fórmula general I: $(Z^1\text{-}Y^1\text{-}X^1)_m$-Ins-$(X\text{-}Y\text{-}Z)_n$ en la que n es cero o 1; m es cero o 1; con la condición de que n y m no sean ambos cero; Ins representa insulina o un análogo de insulina tal como se define en el presente documento del que se ha eliminado un átomo de hidrógeno de un grupo ε-amino presente en un residuo de lisina en B29 y/o presente en un residuo de lisina en A22 y en la que el grupo amino presente en el residuo de aminoácido N-terminal en la cadena A y/o B, opcionalmente, está sustituido con uno o dos grupos alquilo (preferiblemente metilo o etilo), en la que el/los grupo(s) de fórmula general -X-Y-Z y/o -$X^1\text{-}Y^1\text{-}Z^1$ está(n) unido(s) a un grupo ε-amino en un residuo de Lys (K) en la molécula de insulina; X y X^1, independientemente entre sí, es un enlace, un grupo γ-glutamilo en el que el grupo amino está conectado al radical Y/Y^1 o un radical de fórmula general -CO-(alquileno C_1-C_3)-SO_2-NH-, en la que el grupo amino está conectado al radical Y/Y^1; Y e Y^1, independientemente entre sí, es un grupo ω-aminoalcanoílo que contiene de 6 a 22 átomos de carbono y en el que un átomo de hidrógeno se ha eliminado del grupo ω-amino; y Z y Z^1, independientemente entre sí, es un grupo de una de las dos siguientes fórmulas generales, -SO_2-A o –CO-Ar, en las que Ar es un grupo fenilo sustituido con uno o más grupos -$B(OH)_2$ y, opcionalmente, sustituido con uno o más átomos de halógeno.

3.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la medida posible, seleccionado del grupo que consiste en insulina humana B29N^{ε}-15-(4-boronobencenosulfonilamino)pentadecanoil-desB30; insulina humana A22N^{ε}-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-B29N(epsilon)-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-A22K-B25H-desB30; insulina humana B29N^{ε}-12-(3-boronobencenosulfonilamiho)dodecanoil-desB30; insulina humana B29N^{ε}-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-γ-L-glutamil-desB30; insulina humana B29N^{ε}-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-desB30; insulina humana B29N^{ε}-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-desB30; insulina humana B29N^{ε}-16-(3-fluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-desB30; insulina humana B29N^{ε}-16-(3-fluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-γ-L-glutamil-desB30; insulina humana B29N^{ε}-16-(2,6-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanonil-desB30; insulina humana A1(*N,N*-dimetil), B1(*N,N*-dimetil), B29N^{ε}-15-(4-boronobencenosulfonilamino)pentadecanoil-desB30; insulina humana A22N^{ε}-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-A22K-B29R-desB30; insulina humana A22N^{ε}-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-A22K-B25H-B29R-desB30; insulina humana A22N^{ε}-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-L-γ-glutamil-A14E-A22K-B25H-B29R-desB30; insulina humana B29-N^{ε}-{4-[16-(3-boronobencenosulfonilamino)hexadecanoilsulfamoil]butanoil}-desB30; insulina humana A22N^{ε}-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanoil-B29N^{ε}-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanodioil-A14E-A22K-B25H-desB30; insulina humana A22N^{ε}-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanoil-B29N^{ε}-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanodioil-A22K-desB30; insulina humana B29N^{ε}-16-(3,5-diboronobenzoilamino)hexadecanoil-L-γ-glutamil-A14E-B25H-desB30; insulina humana A22N^{ε}-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanoil-γ-L-glutamil-B29N^{ε}-15-(3,5-diboronobenzoilamino)pentadecanodioil-γ-L-glutamil-A14E-A22K-B25H-desB30; insulina humana B29N^{ε}-{4-[16-(3-boronobencenosulfonilamino)hexadecanoilsulfamoil]butanoil}-A14E-B25H-desB30; insulina humana A22N^{ε}-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-B29N^{ε}-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanodioil-A14E-A22K-B25H-desB30; insulina humana A22N^{ε}-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-B29N^{ε}-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanodioil-A22K-desB30; insulina humana B29N^{ε}-16-(2,3-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-B25H-desB30; insulina humana A22N^{ε}-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-gamma-L-glutamil-B29N^{ε}-12-(3,5-diboronobenzoilamino)-dodecanodioil-gamma-L-glutamil-A22K-desB30; insulina humana A22N^{ε}-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanoil-gamma-L-glutamil-B29N^{ε}-12-(3,5-diboronobenzoilamino)dodecanodioil-gamma-L-glutamil-A14E-A22K-B25H-desB30; insulina humana B29N^{ε}-16-(2,6-difluoro-4-borono-benzoilamino)pentadecanoil-A14E-B25H-desB30; insulina humana B29N^{ε}-16-(2,6-difluoro-4-boronobenzoilamino)hexadecanoil-A14E-B25H-desB30; e insulina humana B29N^{ε}-16-(4-borono-benzoilamino)hexadecanoil-A14E-B25H-desB30.

4.- Un derivado de insulina según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso como medicamento.

5.- Un derivado de insulina según una cualquiera de las reivindicaciones de producto anteriores para su uso en el tratamiento de la diabetes.

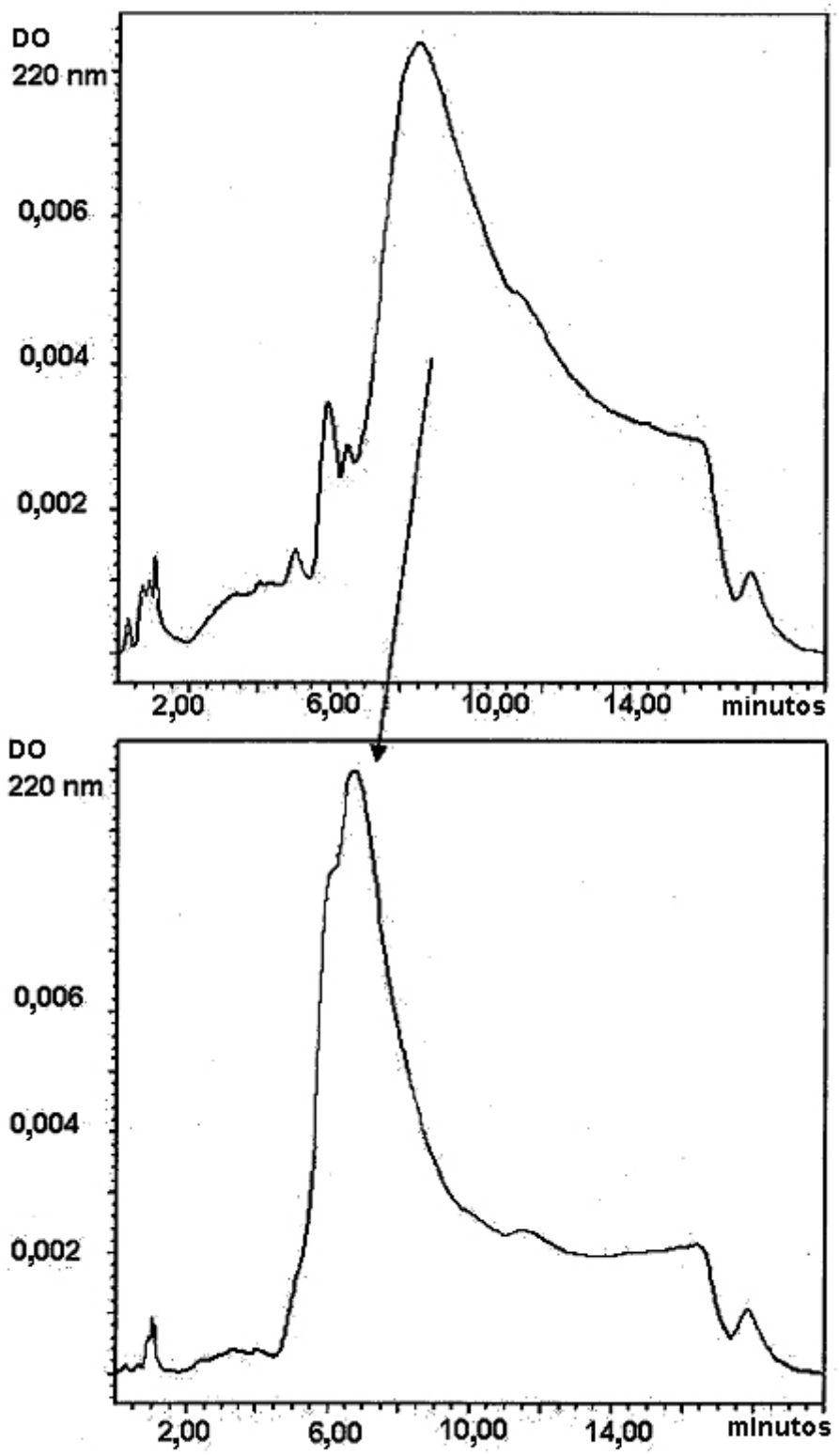

DO
220 nm
0,006
0,004
0,002
2,00
6,00
10,00
14,00
minutos
DO
220 nm
0,006
0,004
0,002
2,00
6,00
10,00
14,00
minutos

Fig. 1

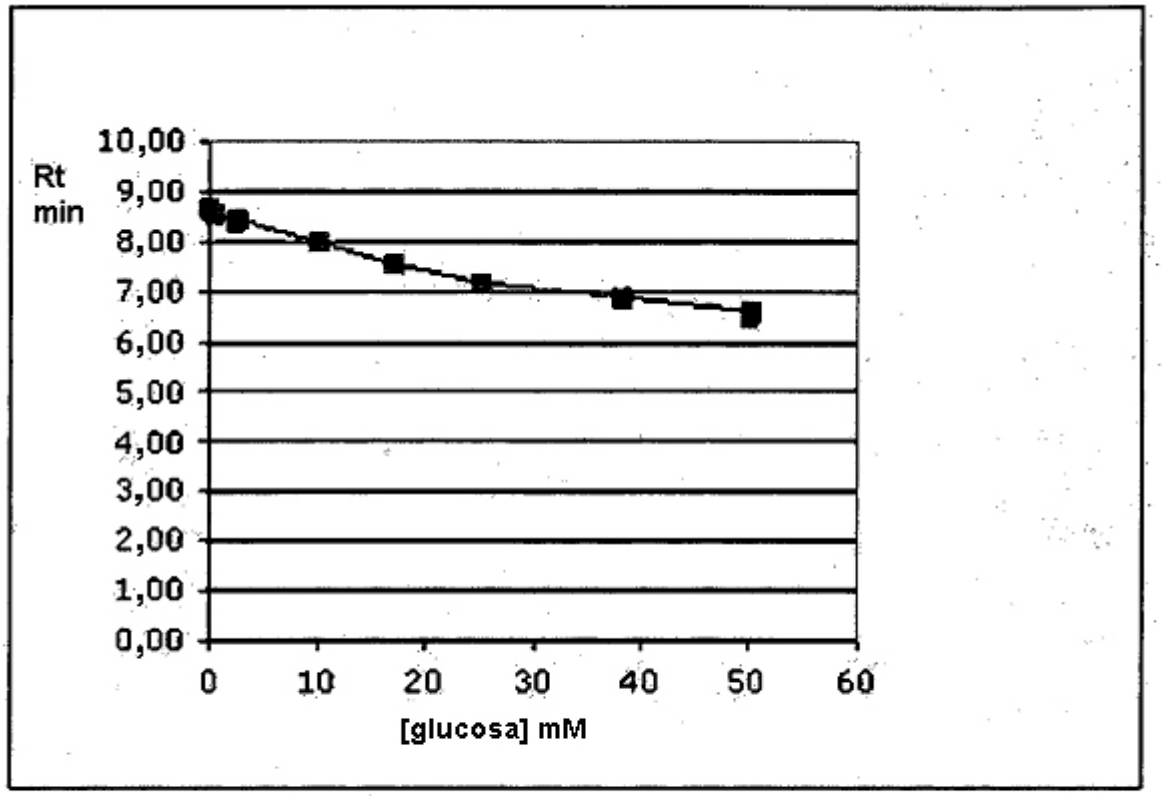

Rt
min
10,00
9,00
8,00
7,00
6,00
5,00
4,00
3,00
2,00
1,00
0,00
0
10
20
30
40
50
60
[glucosa] mM

Fig. 2

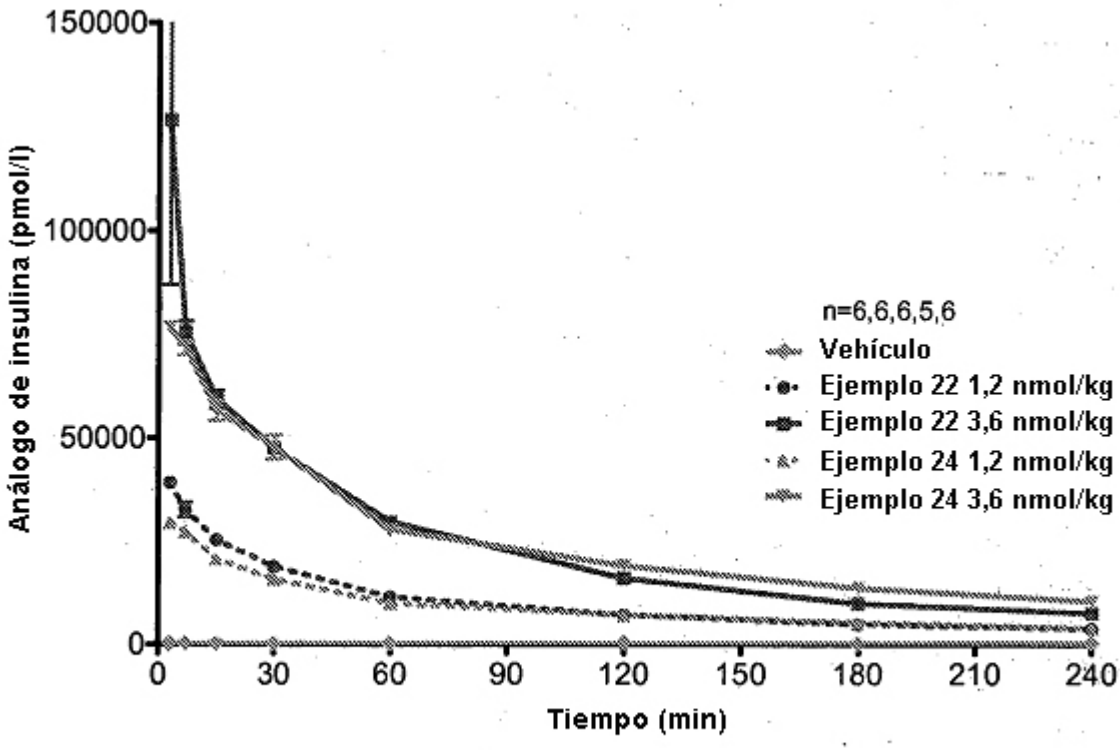

150000
100000
50000
0
Análogo de insulina (pmol/l)
0
30
60
90
120
150
180
210
240
Tiempo (min)
n=6,6,6,5,6
Vehículo
Ejemplo 22 1,2 nmol/kg
Ejemplo 22 3,6 nmol/kg
Ejemplo 24 1,2 nmol/kg
Ejemplo 24 3,6 nmol/kg

Fig. 3

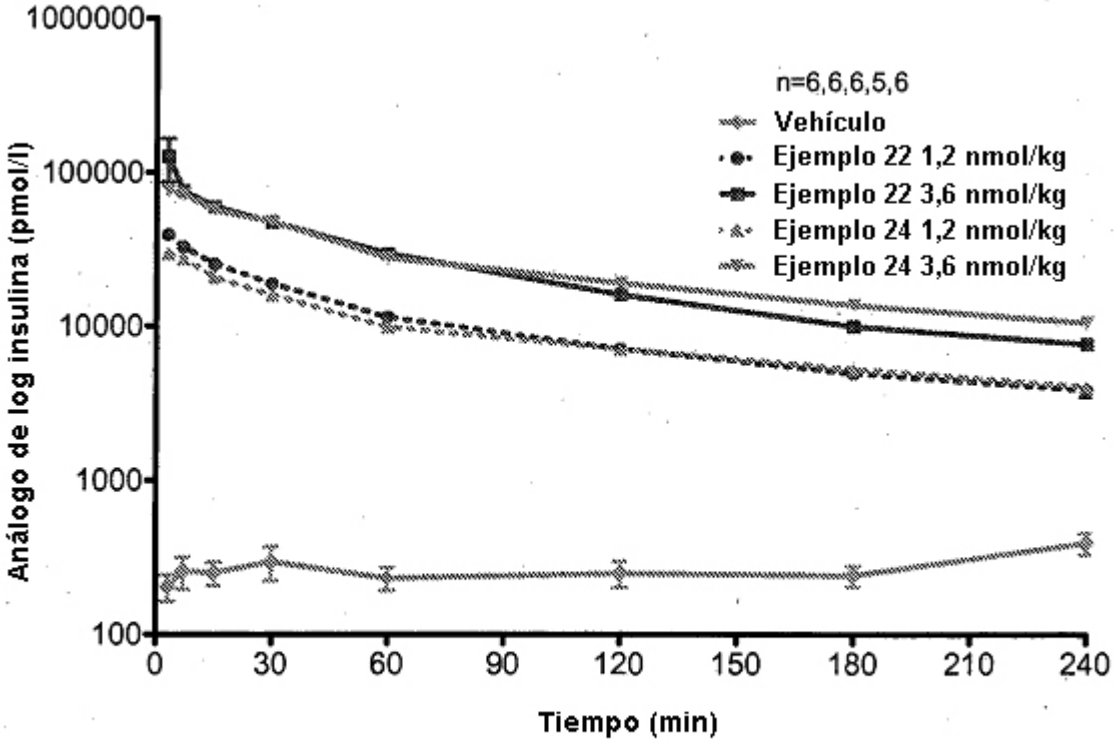

1000000
100000
10000
1000
100
Análogo de log insulina (pmol/l)
0
30
60
90
120
150
180
210
240
Tiempo (min)
n=6,6,6,5,6
Vehículo
Ejemplo 22 1,2 nmol/kg
Ejemplo 22 3,6 nmol/kg
Ejemplo 24 1,2 nmol/kg
Ejemplo 24 3,6 nmol/kg

Fig. 4

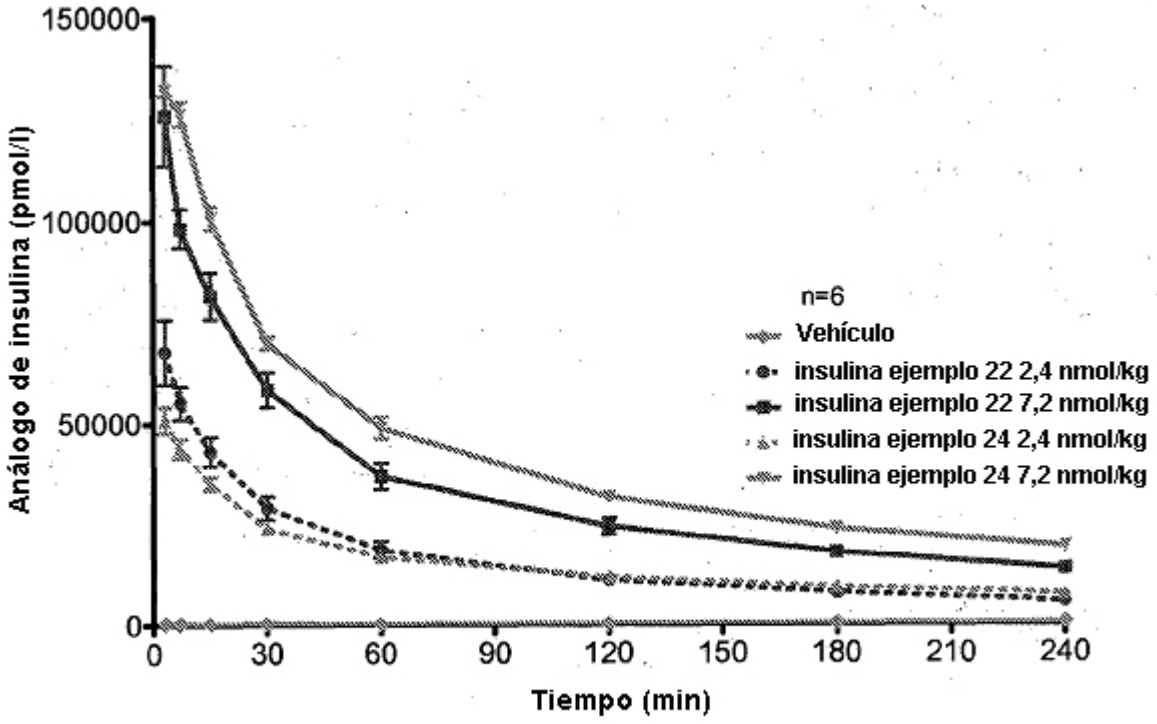

150000
100000
50000
0
Análogo de insulina (pmol/l)
0
30
60
90
120
150
180
210
240
Tiempo (min)
n=6
Vehículo
insulina ejemplo 22 2,4 nmol/kg
insulina ejemplo 22 7,2 nmol/kg
insulina ejemplo 24 2,4 nmol/kg
insulina ejemplo 24 7,2 nmol/kg

Fig. 5

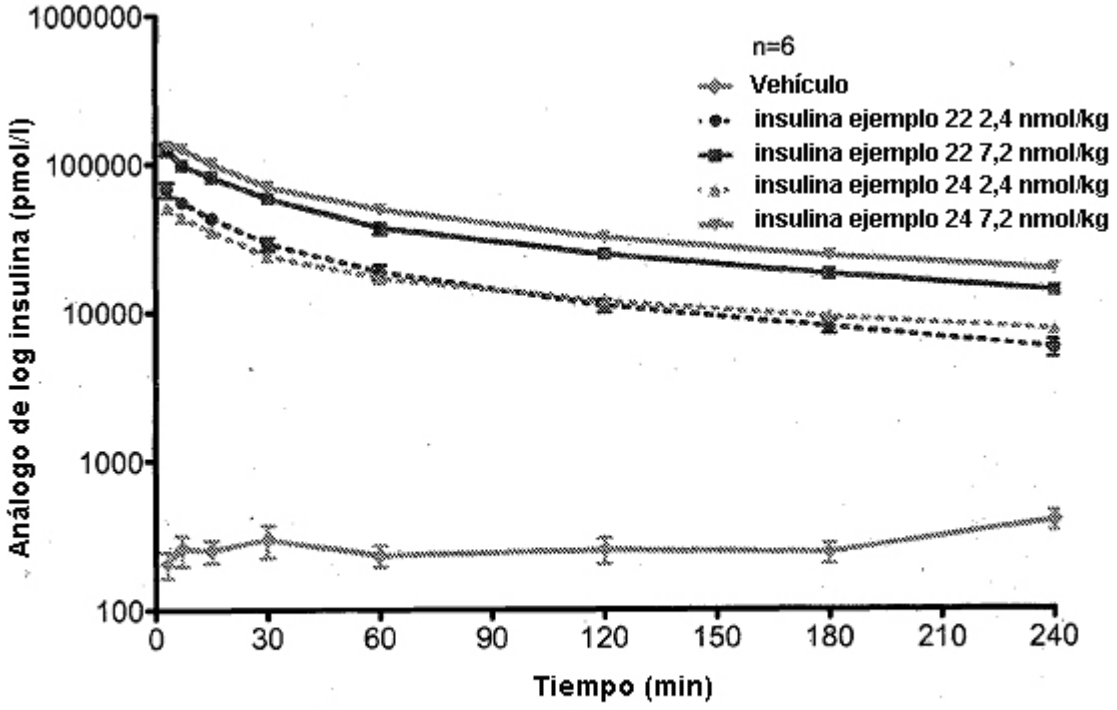

1000000
100000
10000
1000
100
Análogo de log insulina (pmol/l)
0
30
60
90
120
150
180
210
240
Tiempo (min)
n=6
Vehículo
insulina ejemplo 22 2,4 nmol/kg
insulina ejemplo 22 7,2 nmol/kg
insulina ejemplo 24 2,4 nmol/kg
insulina ejemplo 24 7,2 nmol/kg

Fig. 6