(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119060162 A
(43)申请公布日 2024.12.03

(21)申请号 202411172489.0

(22)申请日 2020.12.29

(66)本国优先权数据
201911397405.2 2019.12.30 CN
202011053306.5 2020.09.29 CN

(62)分案原申请数据
202080091240.0 2020.12.29

(71)申请人 甘李药业股份有限公司
地址 101109 北京市通州区漷县镇南凤西一路8号

(72)发明人 甘忠如 陈伟 张一宁 薛方凯 蔡玲玉 牛江红 穆彬

(51)Int.Cl.
C07K 14/605(2006.01)
A61K 38/26(2006.01)
A61K 38/28(2006.01)
A61K 47/02(2006.01)
A61K 47/10(2017.01)
A61K 47/26(2006.01)
A61K 9/00(2006.01)
A61K 9/08(2006.01)
A61P 3/00(2006.01)
A61P 3/04(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)

权利要求书14页 说明书44页
序列表（电子公布） 附图17页

(54)发明名称

长效GLP-1化合物

(57)摘要

一种新的GLP-1衍生物,其相比于利拉鲁肽、索玛鲁肽等已上市的GLP-1衍生物,具有相当或更好的效力、药效或功效、更长或相当的体内持续作用时间或体内半衰期、具有更好或相当的GLP-1受体结合亲和力、具有更好或相当的DPP-IV稳定性。

CN 119060162 A

1.式B的化合物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

[Acy-(L1)$_r$-(L2)$_q$]-G1(B),

其中G1为在对应于GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:1)的位置34处具有Arg及位置8处具有Ala或Gly的GLP-1类似物,[Acy-(L1)$_r$-(L2)$_q$]是连接至所述GLP-1类似物的位置26的Lys残基的ε氨基上的取代基,其中

r为1-10的整数,q为0或1-10的整数;

Acy是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

L1是选自下述的氨基酸残基:γGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-Asp或α-D-Asp;

L2是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

Acy、L1、和L2之间以酰胺键连接;和

L1和L2在式(B)中出现的顺序可以独立地互换。

2.如权利要求1所述的化合物,其中,

G1为[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(SEQ ID NO:2)或[Arg34]GLP-1-(7-37)肽(SEQ ID NO:3),优选为[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽;和/或

r为1、2、3、4、5或6,优选地,r为1、2、3或4,优选地,r为1或2,优选地,r为1;和/或

q为0、1、2、3、4、5、6、7或8,优选地,q为0、1、2、3或4,更优选,q为0、1、或2;和/或

Acy是包含20-23个碳原子的脂肪族二酸,优选Acy是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸。

3.如权利要求1或2所述的化合物,其中,

L2是:-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-C O-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_3$-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选L2是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-;和/或

L1选自γGlu或βAsp,优选L1为γGlu;和/或

Acy是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-,优选地,Acy是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

4.如权利要求1-3任一项所述的化合物,其中,式(B)中Acy、L1、和L2之间依次以酰胺键连接,L2的C末端连接至所述GLP-1类似物的位置26的Lys残基的ε氨基上。

5.如权利要求1所述的化合物,所述化合物选自下述化合物:

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[21-羧基二十一烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[23-羧基二十三烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[21-羧基二十一烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[23-羧基二十三烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[20-羧基二十烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[22-羧基二十二烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[20-羧基二十烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[22-羧基二十二烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、或

N-ε^{26}-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽；

优选,所述化合物选自下述化合物：

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

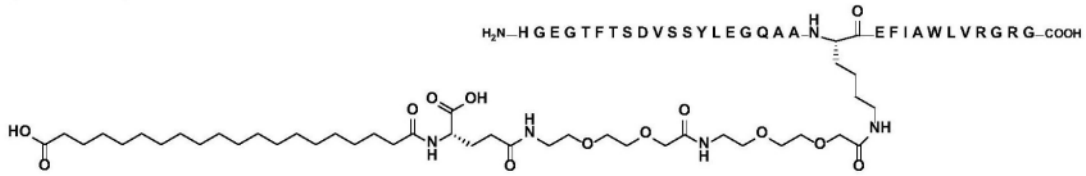
N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

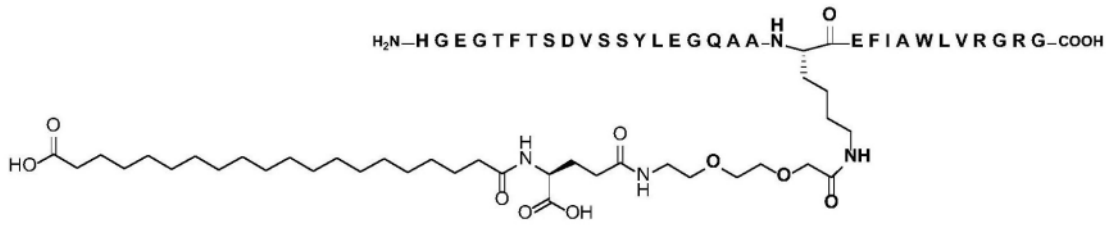
N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

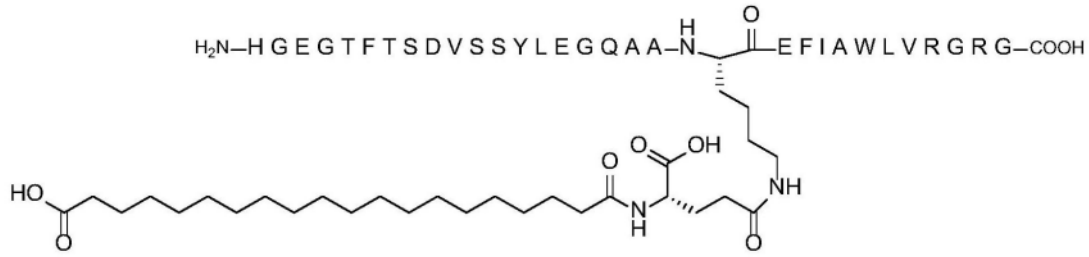
N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、或

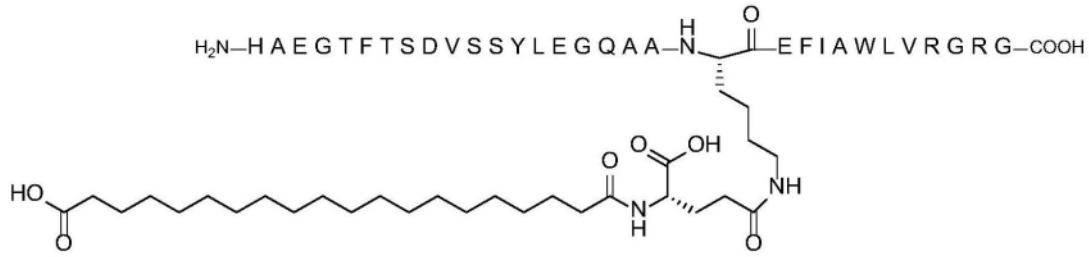
N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[21-羧基二十一烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽；

优选,所述化合物选自下述化合物：

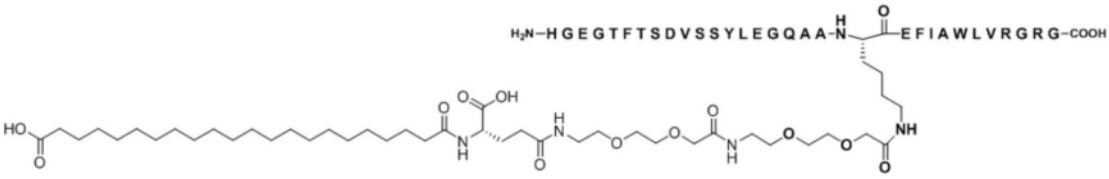








和



6.药物制剂,所述药物制剂包含权利要求1-5任一项所述的化合物和可药用赋形剂。

7.如权利要求6所述的药物制剂,所述可药用赋形剂选自缓冲剂、防腐剂、等渗剂、稳定剂和螯合剂中的一种或多种;优选所述可药用赋形剂为缓冲剂、防腐剂和等渗剂。

8.如权利要求6-7任一项所述的药物制剂,其中所述等渗剂选自氯化钠、丙二醇、甘露醇、山梨醇、甘油、葡萄糖和木糖醇的一种或多种优选为丙二醇、甘露醇或氯化钠;和/或

所述防腐剂选自苯酚、间甲酚、对-羟基苯甲酸甲酯、对-羟基苯甲酸丙酯、2-苯氧乙醇、对-羟基苯甲酸丁酯、2-苯乙醇、和苯甲醇中的一种或多种,优选为苯酚或间甲酚;和/或

所述缓冲剂选自醋酸钠、碳酸钠、柠檬酸盐、甘氨酰甘氨酸、组氨酸、甘氨酸、赖氨酸、精氨酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸钠,和三(羟甲基)-氨基甲烷中的一种或多种,优选为醋酸钠、柠檬酸盐、磷酸二氢钠、或磷酸氢二钠。

9.如权利要求6-8任一项所述的药物制剂,其中,所述制剂的pH为约6.0至约10.0,优选为约6.5至约10.0,优选为约6.5至约9.5,优选为约6.5至约8.5,更优选为约7.0至约8.5、更优选为约7.0至约8.1、进一步优选为约7.3至约8.1。

10.药物制剂,含有如下成分:

约0.1-1.2mM、优选约0.2-1mM、优选约0.3-0.7mM、更优选约0.48-0.6mM的权利要求1-5任一项所述的化合物;

约10-1500mM、优选约13-800mM、优选约65-400mM、优选约90-240mM、优选约150-250mM、优选约180-200mM、更优选约183-195mM的等渗剂,优选,所述等渗剂选自丙二醇、甘油、甘露醇或氯化钠中的一种或多种;

约1-200mM、优选约5-150mM、优选约10-100mM、优选约20-85mM、优选约30-75mM、优选约45-60mM、更优选约50-60mM的防腐剂,优选,所述防腐剂选自苯酚或间甲酚中的一种或多种;

约3-35mM、优选约5-20mM、更优选约5-15mM、更优选约7-10mM的缓冲剂,所述缓冲剂选自醋酸钠、柠檬酸盐、磷酸二氢钠或磷酸氢二钠中的一种或多种;和

所述药物制剂的pH为约6.0至约10.0,优选为约6.5至约9.5,优选为约6.5至约8.5,更优选为约7.0至约8.5、更优选为约7.0至约8.1、进一步优选为约7.3至约8.1。

11.药物制剂,其包含:

约0.3-0.7mM、更优选为约0.48-0.6mM的N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽或N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽;

约180-200mM、更优选约183-195mM的丙二醇;

约45-60mM、更优选约50-60mM的苯酚;

约5-15mM的缓冲剂,优选约7-10mM的磷酸氢二钠;和

所述药物制剂的pH为约6.5至约8.5,更优选为约7.0至约8.5、进一步优选为约7.3至约8.3。

12.药物制剂,其包含:

约0.5mM的N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽或N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽;

约184mM的丙二醇;

约58.5mM的苯酚;

约10mM的磷酸氢二钠;和

所述药物制剂的pH为约6.5至约8.5,更优选为约7.0至约8.5、更优选为约7.0至约8.1、进一步优选为约7.3至约8.1。

13.药物制剂,其包含:

约2.0mg/ml的N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-

(7-37)肽或N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽;

约14mg/ml的丙二醇;

约5.5mg/ml的苯酚;

约1.42mg/ml的磷酸氢二钠;和

所述药物制剂的pH为约6.5至约8.5,更优选为约7.0至约8.5、更优选为约7.0至约8.1、进一步优选为约7.3至约8.1。

14.药物组合物,所述药物组合物包含权利要求1-5任一项所述的化合物、和酰化胰岛素,优选,所述酰化胰岛素是B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-OEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xPEG),desB30人胰岛素;

更优选,所述酰化胰岛素为下述酰化胰岛素,所述酰化胰岛素的胰岛素母体为天然存在的胰岛素或胰岛素类似物,且包含至少一个赖氨酸残基,所述酰化胰岛素的酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基相连接,所述酰基部分如式(A)所示:

III-$(II)_m$-$(I)_n$-(A),

其中,

m为0或1-10的整数,n为5-30(优选5-20)的整数;

I是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

II是酸性的氨基酸残基;

III是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

III、II、和I之间以酰胺键连接;和

II和I在式(A)中出现的顺序可以独立地互换。

15.如权利要求14所述的药物组合物,其中,

n为5-15的整数,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11或12,优选地,n为5、6、7、8、9、或10,优选地,n为5、6、7、8或9,优选地,n为5、6、7、或8;和/或

m为1-6的整数,优选地,m为1、2、3、或4,优选地,m为1或2,优选地,m为1;和/或

III是包含20-23个碳原子的脂肪族二酸,优选III是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;和/或

所述胰岛素母体包含一个赖氨酸残基。

16.如权利要求14或15所述的药物组合物,其中,

I是:-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-

$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_3$-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选I是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-;和/或

II是选自下述的氨基酸残基:γGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-Asp或α-D-Asp;和/或

III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

17.如权利要求14-16任一项所述的药物组合物,其中,式(A)通过I的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接。

18.如权利要求14-17任一项所述的药物组合物,其中,所述酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基的ε氨基相连接。

19.如权利要求14-18任一项所述的药物组合物,其中,所述胰岛素母体的赖氨酸残基位于B29位处。

20.如权利要求14-19任一项所述的药物组合物,其中,所述胰岛素母体选自下述胰岛素或胰岛素类似物:desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素;人胰岛素;A21G人胰岛素;A21G,desB30人胰岛素;或B28D人胰岛素。

21.如权利要求14所述的药物组合物,其中,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛

素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-8xOEG),

desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),

desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K

(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,

B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛

素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-24xOEG),desB30人胰岛素;

优选,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;

优选,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二

十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;

优选,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

22.权利要求1-5任一项所述的化合物、权利要求6-13任一项所述的药物制剂或权利要求14-21任一项所述的药物组合物,其用作药物。

23.权利要求1-5任一项所述的化合物、权利要求6-13任一项所述的药物制剂或权利要求14-21任一项所述的药物组合物,其用于治疗或预防高血糖症、糖尿病、和/或肥胖症。

24.权利要求1-5任一项所述的化合物、权利要求6-13任一项所述的药物制剂或权利要求14-21任一项所述的药物组合物在制备用于治疗或预防高血糖症、糖尿病、和/或肥胖症的药物中的用途。

长效GLP-1化合物

[0001] 本申请是申请日为2020年12月29日、申请号为202080091240.0、发明名称为“长效GLP-1化合物”的中国发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2019年12月30日提交的第CN201911397405.2号、2020年9月29日提交的第CN202011053306.5号中国发明专利申请的优先权,所述申请以引用的方式并入本文。

技术领域

[0004] 本发明涉及治疗性肽领域,具体涉及新的长效GLP-1化合物、其药物制剂、其与长效胰岛素的药物组合物、及所述化合物、药物制剂和药物组合物的医药用途。

背景技术

[0005] 胰高血糖素样肽1(GLP-1)及其类似物和衍生物在治疗1和2型糖尿病中非常有效,然而高清除率限制了这些化合物的有效性。为了提供在体内作用持续时间更长的GLP-1化合物,已经将一系列不同方法用于修饰胰高血糖素样肽1(GLP-1)的结构。例如WO99/43708公开了具有连接至C-端氨基酸残基的亲脂性取代物的GLP-1(7-35)和GLP-1(7-36)衍生物。WO00/34331公开了酰化的GLP-1类似物。WO00/69911公开了用于注射进患者体内的活化的促胰岛素肽。

[0006] 目前已上市的GLP-1类药物中有例如:每天给药两次的天然的GLP-1类似物艾塞那肽(Exenatide);每天给药一次的利拉鲁肽(Liraglutide)和利司那肽(Lixisenatide),前者为十六烷酸修饰的GLP-1化合物,后者为对艾塞那肽进行结构改造修饰而得到的新分子;和每周给药一次的索玛鲁肽(Semaglutide)、艾塞那肽微球(ExenatideLAR)、阿必鲁肽(Abiglutide)、度拉糖肽(Dulaglutide)(也称杜拉鲁肽)和聚乙二醇洛塞那肽。其中,艾塞那肽微球是通过微囊化方法将艾塞那肽包裹至聚乳酸乙醇酸共聚物基质制备得到,阿必鲁肽是通过将两条修饰后的GLP-1肽链以二聚体形式与人白蛋白融合成为重组融合蛋白;度拉糖肽是将修饰后的GLP-1链通过二硫键融合到重组G4免疫球蛋白的Fc片段上得到;聚乙二醇洛塞那肽是在艾塞那肽的化学结构式基础上进行氨基酸改造和经聚乙二醇修饰而成;索玛鲁肽主要是通过在GLP-1(7-37)肽上使用非蛋白质性氨基酸Aib替换了第8位的Ala而实现了一周一次,但索玛鲁肽中非蛋白质性氨基酸的存在,相对于天然的氨基酸,在人体内可能存在未知的、各种潜在的副作用风险。

[0007] 一方面,目前仍然需要开发能够相对于已上市的同类药物例如利拉鲁肽、度拉糖肽和索玛鲁肽,具有更好的效力、药效或功效、具有更小的潜在副作用的风险、具有更好的体重减轻和抑制饮食效果、具有更长或相当的体内持续作用时间或体内半衰期的化合物,以为糖尿病患者提供更优的用药选项。

[0008] 另一方面,随着全世界2型糖尿病人群快速增加,对于给药更简单的更有效的药物存在着更大的需求。例如包含胰岛素和GLP-1肽两种活性成分的复方制剂可能是非常有效的治疗剂。因此目前也仍然需要能够协同实现具有更好的物理和化学稳定性、更长的作用

时间、以及药效更好的复方制剂。

发明内容

[0009] 为克服或改善现有技术的至少一个缺点、或提供有用的替代品,本发明第一方面提供了新的GLP-1化合物(也称GLP-1衍生物)。所述新的GLP-1化合物相比于利拉鲁肽、度拉糖肽、索玛鲁肽等已上市的GLP-1衍生物,具有更好的效力、药效或功效、更小的潜在副作用的风险、更好的减轻体重的效果、更长的体内持续作用时间或体内半衰期,更好或相当的GLP-1受体结合亲和力,以及具有更好或相当的DPP-IV稳定性。且本发明的长效GLP-1化合物和本发明提供的长效胰岛素的药物组合物或组合制剂不仅不会削弱所述GLP-1化合物和所述胰岛素化合物的物理稳定性,而且,组合制剂具有比单药制剂更好的物理稳定性。与其他长效GLP-1化合物的组合制剂(例如利拉鲁肽和德谷胰岛素的组合制剂)相比,本发明的组合制剂的物理稳定性是出乎意料的。此外,组合制剂相比于单药制剂,还使得所述GLP-1化合物和酰化胰岛素的化学稳定性增加。本发明的GLP-1化合物,及本发明提供的含所述GLP-1化合物和胰岛化合物的组合制剂均能够很好地实现长的药代动力学(下文也称PK)特征,使得对糖尿病患者一周两次、一周一次、两周一次、或更低频率的皮下治疗成为可能。

[0010] 本发明第一方面提供的GLP-1化合物为式B的化合物,或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

[0011] $[Acy-(L1)_r-(L2)_q]-G1(B)$,

[0012] 其中G1为在对应于GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:1)的位置34处具有Arg及在位置8处具有Ala或Gly的GLP-1类似物,$[Acy-(L1)_r-(L2)_q]$是连接至所述GLP-1类似物的位置26的Lys残基的ε氨基上的取代基,其中

[0013] r为1-10的整数,q为0或1-10的整数;

[0014] Acy是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0015] L1是选自下述的氨基酸残基:γGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-Asp或α-D-Asp;

[0016] L2是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0017] Acy、L1、和L2之间以酰胺键连接;和

[0018] L1和L2在式(B)中出现的顺序可以独立地互换。

[0019] 在一个实施方案中,G1为[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽或[Arg34]GLP-1-(7-37)肽,优选为[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽。

[0020] 在一个实施方案中,r为1、2、3、4、5或6,优选地,r为1、2、3或4,优选地,r为1或2,优选地,r为1。

[0021] 在另一个实施方案中,q为0、1、2、3、4、5、6、7或8,优选地,q为0、1、2、3或4,更优选,q为0、1、或2。

[0022] 在一个实施方案中,Acy是包含20-23个碳原子的脂肪族二酸,优选Acy是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除。

[0023] 在一个实施方案中,L2是:$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-CH_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-$

O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_3$-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选L2是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-。

[0024] 在一个实施方案中,L1选自γGlu或βAsp,优选L1为γGlu。

[0025] 在一个实施方案中,Acy是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-,Acy是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

[0026] 在一个实施方案中,式(B)中Acy、L1、和L2之间依次以酰胺键连接,L2的C末端连接至所述GLP-1类似物的位置26的Lys残基的ε氨基上。

[0027] 在一个实施方案中,本发明第一方面所述化合物选自下述化合物:

[0028] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0029] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0030] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0031] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[21-羧基二十一烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0032] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0033] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[23-羧基二十三烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0034] N-ε^{26}-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0035] N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0036] N-ε^{26}-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0037] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0038] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0039] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0040] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[21-羧基二十一烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0041] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0042] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[23-羧基二十三烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0043] N-ε^{26}-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0044] N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、或

[0045] N-ε^{26}-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽。

[0046] 在一个实施方案中,本发明第一方面所述化合物选自下述化合物:

[0047] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0048] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0049] N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0050] N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0051] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0052] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[21-羧基二十一烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0053] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0054] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[20-羧基二十烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0055] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0056] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[22-羧基二十二烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0057] N-ε^{26}-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0058] N-ε^{26}-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0059] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0060] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[20-羧基二十烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0061] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0062] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[22-羧基二十二烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0063] N-ε^{26}-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、或

[0064] N-ε^{26}-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽。

[0065] 在一个实施方案中,本发明第一方面所述化合物选自下述化合物:

[0066] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、或N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽。

[0067] 本发明第二方面提供了一种药物制剂,其包含本发明第一方面所述的化合物和可药用赋形剂。

[0068] 在一个实施方案中,所述可药用赋形剂选自缓冲剂、防腐剂、等渗剂、稳定剂和螯合剂中的一种或多种。在另一个实施方案中,所述可药用赋形剂为缓冲剂、防腐剂和等渗剂。

[0069] 在一个实施方案中,所述药物制剂包含:本发明第一方面所述的化合物、等渗剂、防腐剂和缓冲剂。优选地,在所述药物制剂中,本发明第一方面所述的化合物为N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、或N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽。

[0070] 在一个实施方案中,所述等渗剂选自氯化钠、丙二醇、甘露醇、山梨醇、甘油、葡萄糖和木糖醇的一种或多种,优选为丙二醇、甘露醇或氯化钠。

[0071] 在另一个实施方案中,所述防腐剂选自苯酚、间甲酚、对-羟基苯甲酸甲酯、对-羟基苯甲酸丙酯、2-苯氧乙醇、对-羟基苯甲酸丁酯、2-苯乙醇、和苯甲醇中的一种或多种,优选为苯酚或间甲酚。

[0072] 在另一个实施方案中,所述缓冲剂选自醋酸钠、碳酸钠、柠檬酸盐、甘氨酰甘氨酸、组氨酸、甘氨酸、赖氨酸、精氨酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸钠,和三(羟甲基)-氨基甲烷中的一种或多种,优选为醋酸钠、柠檬酸盐、磷酸二氢钠、或磷酸氢二钠。

[0073] 在一个实施方案中,所述制剂的pH为约6.0至约10.0,优选为约6.5至约10.0,优选为约6.5至约9.5,优选为约6.5至约8.5,更优选为约7.0至约8.5、更优选为约7.0至约8.1、进一步优选为约7.3至约8.1。

[0074] 在一个实施方案中,所述药物制剂含有如下成分:

[0075] 约0.1-1.2mM、优选约0.2-1mM、优选约0.3-0.7mM、更优选约0.48-0.6mM的本发明第一方面所述的化合物;

[0076] 约10-1500mM、优选约13-800mM、优选约65-400mM、优选约90-240mM、优选约150-250mM、优选约180-200mM、更优选约183-195mM的等渗剂,优选,所述等渗剂选自丙二醇、甘油、甘露醇或氯化钠中的一种或多种;

[0077] 约1-200mM、优选约5-150mM、优选约10-100mM、优选约20-85mM、优选约30-75mM、优选约45-60mM、更优选约50-60mM的防腐剂,优选,所述防腐剂选自苯酚或间甲酚中的一种或多种;

[0078] 约3-35mM、优选约5-20mM、更优选约5-15mM、更优选约7-10mM的缓冲剂,所述缓冲剂选自醋酸钠、柠檬酸盐、磷酸二氢钠或磷酸氢二钠中的一种或多种;和

[0079] 所述药物制剂的pH为约6.0至约10.0,优选为约6.5至约9.5,优选为约6.5至约8.5,更优选为约7.0至约8.5、更优选为约7.0至约8.1、进一步优选为约7.3至约8.1。

[0080] 在另一个实验方案中,所述药物制剂包含:约0.3-0.7mM、更优选为约0.48-0.6mM的N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽或N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽;约180-200mM、更优选约183-195mM的丙二醇;约45-60mM、更优选约50-60mM的苯酚;约5-15mM的缓冲剂,优选约7-10mM的磷酸氢二钠;和所述药物制剂的pH为约6.5至约8.5,更优选为约7.0至约8.5、进一步优选为约7.3至约8.3。

[0081] 在另一个实验方案中,所述药物制剂包含:约0.5mM的N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽或N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽;约184mM的丙二醇;约58.5mM的苯酚;约10mM的磷酸氢二钠;和所述药物制剂的pH为约6.5至约8.5,更优选为约7.0至约8.5、更优选为约7.0至约8.1、进一步优选为约7.3至约8.1。

[0082] 在另一个实验方案中,所述药物制剂包含:约2.0mg/ml的N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽或N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽;约14mg/ml的丙二醇;约5.5mg/ml的苯酚;约1.42mg/ml的磷酸氢二钠;和

[0083] 所述药物制剂的pH为约6.5至约8.5,更优选为约7.0至约8.5、更优选为约7.0至约8.1、进一步优选为约7.3至约8.1。

[0084] 本发明第三方面提供了一种药物组合物,其包含本发明第一方面所述的GLP-1化合物、和酰化胰岛素。

[0085] 在一个实施方案中,所述酰化胰岛素是B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-OEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xPEG),desB30人胰岛素。

[0086] 在一个实施方案中,所述酰化胰岛素为下述的胰岛素:所述酰化胰岛素的胰岛素母体为天然存在的胰岛素或胰岛素类似物,且包含至少一个赖氨酸残基,所述酰化胰岛素的酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基相连接,所述酰基部分如式(A)所示:

[0087] III-$(II)_m$-$(I)_n$-(A),其中,m为0或1-10的整数,n为5-20的整数;I是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;II是酸性的氨基酸残基;III是包含20-24个碳原子的脂肪族二

酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;III、II、和I之间以酰胺键连接;和II和I在式(A)中出现的顺序可以独立地互换。

[0088] 在一个实施方案中,n为5-15,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11或12,优选地,n为5、6、7、8、9、或10,优选地,n为5、6、7、8或9,优选地,n为5、6、7、或8。

[0089] 在另一个实施方案中,m为1-6,优选地,m为1、2、3、或4,优选地,m为1或2,优选地,m为1。

[0090] 在又一个实施方案中,III是包含20-23个碳原子的脂肪族二酸,优选III是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除。

[0091] 在另一个实施方案中,所述胰岛素母体包含一个赖氨酸残基。

[0092] 在一个实施方案中,I是:-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_3$-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选I是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-。

[0093] 在另一个实施方案中,II是选自下述的氨基酸残基:γGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-Asp或α-D-Asp;优选地,II选自γGlu或βAsp。

[0094] 在另一个实施方案中,III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-,优选地III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

[0095] 在一个实施方案中,式(A)通过I的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接。

[0096] 在一个实施方案中,所述酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基的ε氨基相连接。

[0097] 在一个实施方案中,所述胰岛素母体的赖氨酸残基位于B29位处。

[0098] 在一个实施方案中,所述胰岛素母体选自下述胰岛素或胰岛素类似物:desB30人胰岛素(SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:5,分别表示A链和B链);A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素(SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:7,分别表示A链和B链);A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素(SEQ IDNO:8和SEQ ID NO:9,分别表示A链和B链);人胰岛素(SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11,分别表示A链和B链);A21G人胰岛素(SEQ ID NO:12和SEQ ID NO:13,分别表示A链和B链);A21G,desB30人胰岛素(SEQID NO:14和SEQ ID NO:15,分别表示A链和B链);或B28D人胰岛素(SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:17,分别表示A链和B链)。

[0099] 在一个实施方案中,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,

B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二

酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-5xOEG),

desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N

(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γ

Glu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-24xOEG),desB30人胰岛素。

[0100] 发明人出乎意料地发现,本发明第一方面所述的化合物和酰化胰岛素的药物组合物不仅不会削弱所述化合物的物理稳定性,而且,组合制剂具有比单药制剂更好的物理稳定性。与其他长效胰岛素衍生物(例如德谷胰岛素和利拉鲁肽)的组合制剂相比,本发明的组合制剂的物理稳定性是出乎意料的。此外,组合制剂相比于单药制剂,还使得所述酰化胰岛素的化学稳定性增加。

[0101] 本发明第四方面提供了本发明第一方面所述的化合物、本发明第二方面所述的药物制剂或本发明第三方面所述的药物组合物用作药物的用途。

[0102] 在一个实施方案中,本发明第一方面所述的化合物、本发明第二方面所述的药物制剂或本发明第三方面所述的药物组合物用于治疗或预防高血糖症、糖尿病、和/或肥胖症。

[0103] 本发明第五方面提供了本发明第一方面所述的化合物、本发明第二方面所述的药

物制剂或本发明第三方面所述的药物组合物在制备用于治疗或预防高血糖症、糖尿病、和/或肥胖症的药物中的用途。

[0104] 本发明第六方面提供了治疗或预防高血糖症、糖尿病、和/或肥胖症的方法,所述方法包括施用有效量的本发明第一方面所述的化合物、本发明第二方面所述的药物制剂或本发明第三方面所述的药物组合物,所述疾病包括但不限于例如高血糖症、糖尿病和肥胖症。

附图说明

[0105] 图1a示出了本发明实施例1-3的标题化合物、利拉鲁肽、和溶媒(vehicle)对db/db小鼠的降糖效果和作用时间,其中纵坐标的百分率是指,以给药前基线血糖为基准,给药后每个监测点的血糖与之相比所得的相应时间点的血糖百分率(下同)。

[0106] 图1b与图1a相对应地示出了本发明实施例1-3的标题化合物、利拉鲁肽、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0107] 图2a示出了本发明实施例2的标题化合物、索玛鲁肽、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果和作用时间。

[0108] 图2b与图2a相对应地示出了本发明实施例2的标题化合物、索玛鲁肽、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0109] 图3a示出了本发明实施例3-4的标题化合物、利拉鲁肽、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果和作用时间。

[0110] 图3b与图3a相对应地示出了本发明实施例3-4的标题化合物、利拉鲁肽、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0111] 图4a示出了本发明实施例1-3的标题化合物、对照例3-4的标题化合物、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果和作用时间。

[0112] 图4b与图4a相对应地示出了本发明实施例1-3的标题化合物、对照例3-4的标题化合物、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0113] 图5a示出了本发明实施例11的标题化合物在100μg/kg和300μg/kg剂量时、对照例2的标题化合物、溶媒(模型对照组)对高脂饮食诱导的肥胖C57BL小鼠或正常小鼠(正常对照)降糖效果和作用时间。

[0114] 图5b与图5a相对应地示出了本发明实施例11的标题化合物、对照例2的标题化合物、溶媒(模型对照组)对高脂饮食诱导的肥胖C57BL小鼠或正常小鼠(正常对照)降糖效果的AUC。

[0115] 图5c示出了本发明实施例11的标题化合物、对照例2的标题化合物、溶媒(模型对照组)对高脂饮食诱导的肥胖C57BL小鼠或正常小鼠(正常对照)的减重效果。

[0116] 图6a示出了本发明实施例11的标题化合物、对照例2的标题化合物、溶媒(模型对照组)对高脂饮食诱导的肥胖C57BL小鼠或正常小鼠(正常对照)首次给药后48小时进行ipGTT时的降糖效果。

[0117] 图6b与图6a相对应地示出了本发明实施例11的标题化合物在、对照例2的标题化合物、溶媒(模型对照组)对高脂饮食诱导的肥胖C57BL小鼠或正常小鼠(正常对照)首次给药后48小时进行ipGTT时的降糖效果的△AUC。

[0118] 图7a示出了本发明实施例2的标题化合物、对照例2的标题化合物和溶媒对db/db小鼠的降糖效果。

[0119] 图7b与图7a相对应地示出了本发明实施例2的标题化合物、对照例2的标题化合物和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的△AUC。

[0120] 图7c示出了本发明实施例2的标题化合物、对照例2的标题化合物和溶媒对db/db小鼠的食物摄入量的控制效果。

[0121] 图7d示出了本发明实施例2的标题化合物、对照例2的标题化合物和溶媒对db/db小鼠的饮水量的控制效果

[0122] 图8a示出了本发明实施例11的标题化合物、对照例2的标题化合物和溶媒对db/db小鼠的长期降糖效果。

[0123] 图8b与图8a相对应地示出了本发明实施例11的标题化合物、对照例2的标题化合物和溶媒对db/db小鼠的长期降糖效果的AUC。

[0124] 图8c示出了本发明实施例11的标题化合物、对照例2的标题化合物和溶媒对db/db小鼠的长期减重效果。

[0125] 图8d示出了本发明实施例11的标题化合物、对照例2的标题化合物和溶媒对的db/db小鼠的长期食物摄入量的控制效果。

[0126] 图8e示出了本发明实施例11的标题化合物、对照例2的标题化合物和溶媒对db/db小鼠的长期饮水量的控制效果。

[0127] 图9a示出了本发明实施例11的标题化合物、实施例2的标题化合物、度拉糖肽和溶媒对Kkay小鼠的降糖效果。

[0128] 图9b与图9a相对应地示出了本发明实施例11的标题化合物、实施例2的标题化合物、度拉糖肽和溶媒对Kkay小鼠的降糖效果的AUC。

[0129] 图9c示出了本发明实施例11的标题化合物、实施例2的标题化合物、度拉糖肽和溶媒对Kkay小鼠的降HbA1c效果。

[0130] 图10a示出了本发明实施例11的标题化合物、度拉糖肽、溶媒(模型对照组)对db/db小鼠或正常小鼠(正常对照)中的长期降糖效果。

[0131] 图10b与图10a相对应地示出了本发明实施例11的标题化合物、度拉糖肽、溶媒(模型对照组)对db/db小鼠或正常小鼠(正常对照)中的长期降糖效果的△AUC。

[0132] 图10c示出了施用本发明实施例11的标题化合物、度拉糖肽、溶媒(模型对照组)在db/db小鼠或正常小鼠(正常对照)中注射前、第三次、第五次和第十一次注射后的随机血糖值。

[0133] 图10d示出了本发明实施例11的标题化合物、度拉糖肽、溶媒(模型对照组)对db/db小鼠或正常小鼠(正常对照组)首次给药后48小时进行ipGTT时的降糖效果。

[0134] 图10e与图10d相对应地示出了本发明实施例11的标题化合物、度拉糖肽、溶媒(模型对照组)对db/db小鼠或正常小鼠(正常对照组)首次给药后48小时进行ipGTT时的降糖效果的AUC。

[0135] 图11a示出了本发明实施例11的标题化合物、度拉糖肽、溶媒(模型对照组)对高脂饮食诱导的肥胖C57BL小鼠或正常小鼠(正常对照组)的长期减重效果。

[0136] 图11b示出了本发明实施例11的标题化合物、度拉糖肽和溶媒(模型对照组)对高

脂饮食诱导的肥胖C57BL小鼠的长期食物摄入量的控制效果。

[0137] 图11c示出了本发明实施例11的标题化合物、度拉糖肽和溶媒(模型对照组)对高脂饮食诱导的肥胖C57BL雌性小鼠的卵巢周围脂肪减少效果。

[0138] 图11d示出了本发明实施例11的标题化合物、度拉糖肽和溶媒(模型对照组)对高脂饮食诱导的肥胖C57BL雄性小鼠的附睾脂肪减少效果。

具体实施方式

[0139] 定义

[0140] GLP-1类似物、和GLP-1衍生物

[0141] 本文所用的术语“GLP-1类似物”或“GLP-1的类似物”是指作为人胰高血糖素样肽-1(GLP-1(7-37))变体的肽或化合物,其中GLP-1(7-37)的一个或多个氨基酸残基被替换、和/或其中一个或多个氨基酸残基被缺失、和/或其中增加了一个或多个氨基酸残基。具体地,GLP-1(7-37)的序列如序列表中的SEQ ID NO:1所示。具有SEQ ID NO:1所示序列的肽也可称为“天然”GLP-1或“天然”GLP-1(7-37)。

[0142] 在序列表中,SEQ ID NO:1的第一个氨基酸残基(组氨酸)编号为1。然而,在下文中,依据本领域已建立的习惯,该组氨酸残基编号定为7,并且其后的氨基酸残基也随之编号,结尾是37号甘氨酸。因此,通常,本文所涉及到的GLP-1(7-37)序列的氨基酸残基编号或位置编号是开始于位置7的His和结束于位置37的Gly的序列。

[0143] [Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽,是在对应于GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:1)位置8和位置34的位置处分别具有Gly和Arg的GLP-1类似物,[Arg34]GLP-1-(7-37)肽,是在对应于GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:1)位置34的位置处具有Arg的GLP-1类似物。具体地,[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽和[Arg34]GLP-1-(7-37)肽的氨基酸序列分别如序列表中的SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3所示。

[0144] 在GLP-1肽或其类似物的情况下,本文所用的术语“衍生物”是指经化学修饰的GLP-1肽或类似物,其中一个或多个取代基已与所述肽共价连接。取代基也可称为侧链。

[0145] 除非另有说明,否则当提及与赖氨酸残基酰化时,理解为与其ε-氨基进行。

[0146] 本发明的式(B)的GLP-1衍生物可存在不同的立体异构体形式,其具有相同分子式和所连接的原子序列,但仅在其原子空间的三维方向上不同。除非另有说明,否则本发明涉及要求保护的衍生物的所有立体异构体形式。

[0147] 术语“肽”当用于例如本发明的GLP-1类似物时,是指包含通过酰胺(或肽)键相互连接的一系列氨基酸的化合物。

[0148] 在一个具体的实施方案中,肽很大程度上或主要由通过酰胺键相互连接的氨基酸组成(例如摩尔质量的至少50%、60%、70%、80%或至少90%)。在另一个具体的实施方案中,肽由通过肽键相互连接的氨基酸组成。

[0149] 氨基酸是含有氨基和羧酸基的分子,任选含有一个或多个额外基团,通常称为侧链。

[0150] 术语“氨基酸”包含蛋白质性的氨基酸(由遗传密码所编码,包括天然氨基酸和标准氨基酸)、以及非蛋白质性(在蛋白质中未发现,和/或在标准遗传密码中未编码)、和合成氨基酸。非蛋白质源性氨基酸是可以通过肽键整合进肽的部分,但不是蛋白质源性氨基酸。

合成的非蛋白质源性氨基酸包括通过化学合成产生的氨基酸,即通过遗传密码编码的氨基酸的D-异构体例如D-丙氨酸和D-亮氨酸、Aib(α-氨基异丁酸)、Abu(α-氨基丁酸)、3-氨甲基苯甲酸、邻氨基苯甲酸、脱氨基-组氨酸、氨基酸的β类似物例如β-丙氨酸等、D-组氨酸、脱氨基-组氨酸、2-氨基-组氨酸、β-羟基-组氨酸、和高组氨酸(homohistidine)等。

[0151] 不由遗传密码所编码的氨基酸的非限制性实例是γ-羧基谷氨酸、鸟氨酸、D-丙氨酸、D-谷氨酰胺和磷酸丝氨酸。合成氨基酸的非限制性实例是氨基酸的D-异构体,例如D-丙氨酸和D-亮氨酸、Aib(α-氨基异丁酸)、β-丙氨酸和des-氨基-组氨酸(desH,替代名称咪唑丙酸,缩写Imp)。

[0152] 在下文中,并未标明旋光异构体的所有氨基酸都理解为是指L-异构体(除非另有说明)。

[0153] 药学上可接受的盐、酰胺或酯

[0154] 本发明的GLP-1衍生物、类似物和中间产物可以呈药学上可接受的盐、酰胺或酯的形式。盐可以是碱式盐、酸式盐,或者中性盐。在水中碱式盐产生氢氧离子,酸式盐产生水合氢离子。本发明衍生物的盐可以用分别与阴离子基团或阳离子基团反应的添加的阳离子或阴离子来形成。这些基团可位于肽部分内和/或在本发明衍生物的侧链内。

[0155] 本发明衍生物的阴离子基团的非限制性实例包括侧链(如果有的话)以及肽部分中的游离羧基。肽部分通常包括C-端的游离羧酸,并且它也可包括在内部酸性氨基酸残基例如Asp和Glu上的游离羧基。

[0156] 肽部分的阳离子基团的非限制性实例包括N-端的游离氨基(如果有的话)以及在内部碱性氨基酸残基例如His、Arg和Lys上的任何游离氨基。

[0157] 本发明衍生物的酯可以是例如通过游离羧酸基团与醇或酚反应而形成,其导致至少一个羟基被烷氧基或芳氧基取代。酯的形成可涉及肽的C-端的游离羧基,和/或侧链的任何游离羧基。

[0158] 本发明衍生物的酰胺可以是例如通过游离羧酸基团与胺或取代胺反应,或通过游离或取代氨基与羧酸反应而生成。酰胺的形成可涉及肽的C-端的游离羧基、侧链的任何游离羧基、肽的N-端的游离氨基、和/或在肽和/或侧链中的任何游离或取代的肽氨基。

[0159] 在一个具体的实施方案中,本发明的GLP-1化合物或GLP-1衍生物呈药学上可接受的盐的形式。在另一个具体的实施方案中,呈药学上可接受的酰胺的形式,优选在肽的C-端具有酰胺基。在再进一步的具体的实施方案中,肽或衍生物呈药学上可接受的酯的形式。

[0160] 本发明的GLP-1(7-37)的肽和GLP-1类似物的制备方法是本领域公知的。例如,可以通过经典的肽合成,例如使用t-Boc或Fmoc化学法的固相肽合成或其他完善的技术,来生产本发明衍生物的GLP-1肽部分(或其片段)以及本发明的GLP-1类似物,参见,例如,Greene和Wuts,“Protective Groups in Organic Synthesis”,John Wiley&Sons,1999,Florencio Zaragoza“Organic Synthesis on solid Phase”,Wiley-VCH VerlagGmbH,2000,以及由W.C.Chan和P.D.White编著的“Fmoc SolidPhasePeptide Synthesis”,Oxford University Press,2000。

[0161] 在一个实施方案中,本发明的完整GLP-1类似物例如[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽可以通过重组方法产生,即通过培养宿主细胞,该宿主细胞含有编码该类似物的DNA序列并能够在允许该肽表达的条件下在合适的营养培养基中表达该肽。适合表达这些肽的宿主

细胞的非限制性实例是:大肠杆菌(Escherichia coli)、酿酒酵母(Saccharomycescerevisiae)以及哺乳动物BHK或CHO细胞系。在一些实施方案中,生产工艺方法的这种完全重组发酵步骤是满足需要的,例如出于生产经济性方面的考虑。

[0162] 将含有GPL-1化合物主链的融合蛋白包涵体经过变性、复性,得到含有正确构象的融合蛋白,经酶切、调沉、离心等一系列处理后,得到含量较高的GLP-1化合物主链。通过离子交换层析纯化,处理后得到纯度较高的GLP-1化合物主链。

[0163] 术语"赋形剂"广义上是指除了活性治疗成分之外的任何成分。赋形剂可以是惰性物质、无活性物质和/或并非药物活性物质。

[0164] 赋形剂可用于多种目的,例如作为载体、溶媒、稀释剂、片剂助剂、和/或用于改善给药、和/或活性物质的吸收。

[0165] 药物活性成分与不同赋形剂的配制是本领域已知的,参见例如Remington:The Science and Practice of Pharmacy(例如第19版(1995),和任何更新版本)。

[0166] 赋形剂的非限制性实例是:溶剂、稀释剂、缓冲剂、防腐剂、等渗剂、螯合剂和稳定剂。

[0167] 本发明的GLP-1衍生物和类似物具有GLP-1活性。具有GLP-1活性是指与GLP-1受体结合并引发信号转导途径而产生促胰岛素作用或其它生理效应的能力。

[0168] 在一个具体的实施方案中,效力、功效和/或活性是指体外功效,即在功能性GLP-1受体测定中的表现,更尤其是在表达克隆的人GLP-1受体的细胞系中刺激cAMP形成的能力。

[0169] 在另一个具体的实施方案中,本发明的衍生物在体内是强效的,其可在任何合适的动物模型以及在临床试验中按照本领域已知方式来测定。例如糖尿病性db/db小鼠是合适动物模型的一个实例,在这样的小鼠体内可测定血糖降低效应,例如按照本发明的实施例部分所述。

[0170] 术语"胰岛素"包括天然存在的胰岛素,例如人胰岛素,以及其胰岛素类似物、胰岛素衍生物。

[0171] 术语"胰岛素类似物"包含这样的多肽,其具有在形式上可以通过缺失和/或置换(替换)在天然胰岛素中存在的一个或多个氨基酸残基和/或添加至少一个氨基酸残基,而衍生自天然存在的胰岛素(例如人胰岛素)的结构的分子结构。优选地,置换的氨基酸残基是可编码氨基酸残基。

[0172] 此处,术语"胰岛素衍生物"指的是已被化学方式修饰过的天然存在的胰岛素或胰岛素类似物,该修饰可以是例如在胰岛素骨架的一个或多个位置上引入侧链或者氧化或还原胰岛素上氨基酸残基的基团或者将游离羧基转化成酯基或酰化游离氨基或羟基。本发明的酰化胰岛素即属于胰岛素衍生物。

[0173] 术语"胰岛素母体"是指胰岛素衍生物或酰化胰岛素的胰岛素部分(在本文中也称作母体胰岛素),例如在本发明中是指酰化胰岛素的没有附加酰基的部分。胰岛素母体可以为天然存在的胰岛素,诸如人胰岛素或猪胰岛素。另一方面,母体胰岛素可以是胰岛素类似物。

[0174] 此处,术语"氨基酸残基"包含从其中氢原子已从氨基中去除和/或羟基已从羧基中去除和/或氢原子已从巯基中去除的氨基酸。不精确地,氨基酸残基可以叫做氨基酸。

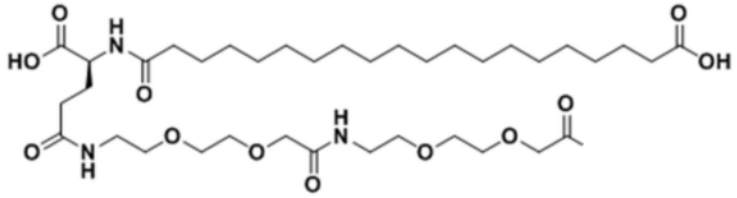
[0175] 除非另有说明,本文提及的氨基酸都是L-氨基酸。

[0176] 此处,术语亚烷基二醇包含寡和聚亚烷基二醇部分以及单亚烷基二醇部分。单亚烷基二醇和聚亚烷基二醇包括例如基于单和聚乙二醇、基于单和聚丙二醇、和基于单和聚丁二醇的链,即基于重复单位-CH_2CH_2O-、-$CH_2CH_2CH_2O$-或-$CH_2CH_2CH_2CH_2O$-的链。亚烷基二醇部分可以是单分散(具有定义明确的长度/分子量)以及多分散(具有定义较不明确的长度/平均分子量)。单亚烷基二醇部分包括在每个末端处包含不同基团的-OCH_2CH_2O-、-$OCH_2CH_2CH_2O$-或-$OCH_2CH_2CH_2CH_2O$-。

[0177] 术语“脂肪酸”包括直链或支链脂族羧酸,其具有至少两个碳原子并为饱和或不饱和的。脂肪酸的非限定实例为例如肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸和二十烷酸。

[0178] 此处,术语“脂肪族二酸”包括直链或支链脂族二羧酸,其具有至少两个碳原子并为饱和或不饱和的。脂肪族二酸的非限定实例为己二酸、辛二酸、癸二酸、十二烷二酸、十四烷二酸、十六烷二酸、十七烷二酸、十八烷二酸、二十烷二酸、二十二烷二酸和二十四烷二酸。

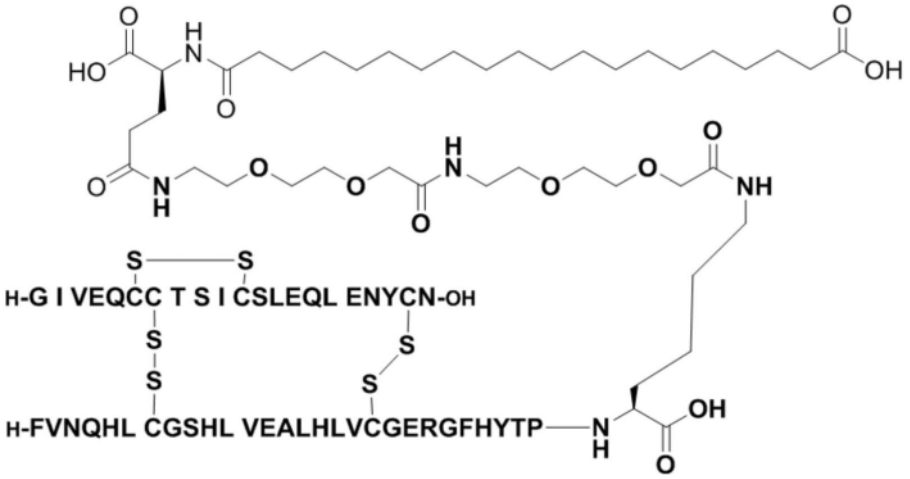
[0179] 在本文中,胰岛素或GLP-1化合物的命名按照以下原则进行:按相对于人胰岛素的突变和修饰(例如酰化)、或天然GLP-1(7-37)的突变和修饰(例如酰化)给予名称。对于酰基部分的命名,按照IUPAC命名法和在其它情况下按肽命名法进行命名。例如,命名下述酰基部分:

[0180] 

[0181] 可例如命名为“二十烷二酰基-γGlu-OEG-OEG”、“二十烷二酰基-γGlu-2xOEG”或“二十烷二酰基-gGlu-2xOEG”、“19-羧基十九烷酰基-γGlu-2xOEG”或“19-羧基十九烷酰基-γGlu-OEG-OEG”,其中OEG表示基团-$NH(CH_2)_2O(CH_2)_2OCH_2CO$-(即,2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙酰基)的简写,γGlu(以及gGlu)是呈L构型的氨基酸γ谷氨酸的简写表示。或者,酰基部分可按照IUPAC命名法(OpenEye,IUPAC格式)命名。根据该命名法,本发明的上述酰基部分被称为以下名称:“[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(19-羧基十九烷酰基氨基)丁酰基]-氨基]-乙氧基]-乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]”或“[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基]”。

[0182] 例如,本发明实施例6的胰岛素(具有下文给出的序列/结构)被称为“B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素”、“B29K(Nε-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素”、或“B29K(Nε-二十烷二酰基-gGlu-5xOEG),desB30人胰岛素”以表示人胰岛素中位置B29的氨基酸K已通过在B29的赖氨酸残基的ε氮(称为Nε或(N(ε))上被残基二十烷二酰基-gGlu-2xOEG酰化而修饰,且人胰岛素中位置B30的氨基酸T已被缺失。又例如,对照例5的胰岛素(具有下文给出的序列/结构)被称为“A14E,B16H,B25H,B29K(Nε二十烷二酰基-gGlu-2xOEG),desB30人胰岛素”或“A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素”,表示人胰岛素中位置A14的氨基酸Y已被突变为E,人胰岛素中位置B16的氨基酸Y已被突变为H,人胰岛素中位置B25的氨基酸F已被突变为H,人胰岛素中位置B29的氨基酸K已通过在B29的赖氨酸残基的ε氮(称为Nε)上被残基二十烷二酰基-gGlu-

2xOEG酰化而修饰,和人胰岛素中位置B30的氨基酸T已被缺失。

[0183] 

[0184] 本文中“nxPEG”表示-NH(CH$_2$CH$_2$O)$_n$CH$_2$CO-,其中n为整数。例如,“12xPEG”表示基团-NH(CH$_2$CH$_2$O)$_{12}$CH$_2$CO-。

[0185] 胰岛素是由胰脏中β-细胞分泌的多肽激素,由A和B两条多肽链构成,所述A链和B链由两个链间二硫键连接。此外,所述A链特征为有一个链内二硫键。

[0186] 主要有三种方法用于在微生物中制备人胰岛素。两种涉及大肠杆菌,一种通过在细胞质中表达融合蛋白(Frank et al.(1981)in Peptides:Proceedings of the 7th American Peptide Chemistry Symposium(Rich&Gross,eds.),Pierce Chemical Co.,Rockford,III.第729-739页),另一种是使用信号肽以使之能够分泌至周质空间(Chan et al.(1981)PNAS78:5401-5404)。第三种方法是利用酿酒酵母使胰岛素前体分泌到培养基中(Thim et al.(1986)PNAS 83:6766-6770)。现有技术公开了许多在大肠杆菌或酿酒酵母中表达的胰岛素前体的方法,参照例如美国专利第5,962,267号、WO95/16708、EP0055945、EP0163529、EP0347845和EP0741188。

[0187] 胰岛素类似物的载体的构建、表达、处理和纯化可使用本领域技术人员公知的技术进行。例如可以通过美国专利第6500645号中所公开的众所周知的技术,通过在合适的宿主细胞中表达编码目标胰岛素类似物的DNA序列来制备所述胰岛素类似物。例如也可以通过下述文献中报道的方法来制备胰岛素类似物:Glendorf T,Sørensen AR,Nishimura E,Pettersson I,&Kjeldsen T:Importance of the Solvent-Exposed Residues ofthe Insulin B Chainα-Helix for Receptor Binding;Biochemistry 2008 474743-4751。该文献中使用重叠延伸PCR将突变引入胰岛素编码载体。胰岛素类似物作为具有Ala-Ala-Lys小C-肽的前胰岛素样融合蛋白在酿酒酵母菌株MT663中表达。使用水解无色杆菌(A.lyticus)内切蛋白酶,单链前体经酶促转化为双链desB30类似物。

[0188] 经过分离的胰岛素类似物可通过本领域公知的酰化方法在所需位置酰化,这样的胰岛素类似物的实例在例如公布号为CN1029977C、CN1043719A和CN1148984A的中国专利申请中已有描述。

[0189] 编码的各胰岛素类似物多肽的核酸序列可由已建立的标准方法通过合成来制备,例如由Beaucage等(1981)Tetrahedron Letters 22:1859-1869中所描述的方法、或Matthes等(1984)EMBO Journal 3:801-805中描述的方法。

[0190] 以下通过实施例对本发明作进一步的说明。需要注意的是,这些实施例不构成对本发明保护范围的限制。

[0191] 实施例

[0192] 缩略语

[0193] cAMP是环磷酸腺苷;

[0194] BHK是幼仓鼠肾细胞;

[0195] DNA是脱氧核糖核酸;

[0196] Na_2HPO_4是磷酸氢二钠;

[0197] NaOH是氢氧化钠;

[0198] OEG是氨基酸残基-NH$(CH_2)_2O(CH_2)_2OCH_2CO$-;

[0199] OSu是琥珀酰亚胺基-1-基氧基-2,5-二氧代-吡咯烷-1-基氧基;

[0200] OtBu是氧叔丁基;

[0201] HCl是氯化氢;

[0202] γGlu或gGlu是γL-谷氨酰基;

[0203] NHS是N-羟基琥珀酰亚胺;

[0204] DCC是二环已基碳二亚胺;

[0205] AEEA是2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙酸;

[0206] OH是氢氧根;

[0207] Gly是甘氨酸;

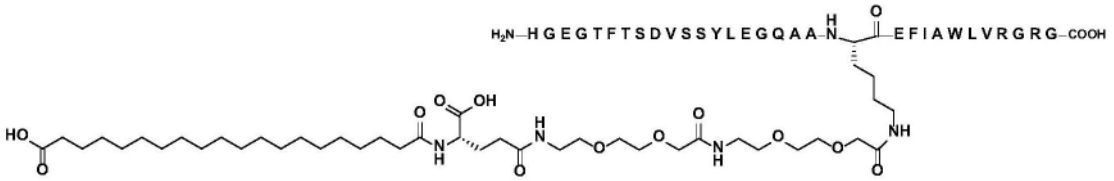
[0208] Arg是精氨酸;

[0209] TFA是三氟乙酸;

[0210] HbA1c是糖化血红蛋白。

[0211] 实施例1

[0212] 标题化合物:N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物1)

[0213] 

[0214] 1、N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽的制备

[0215] 通过一般的蛋白质重组表达方法制备[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(具体方法参见Molecular Cloning:A Laboratory Manual(Fourth Edition),Michael R.Green,Cold Spring Harbor Press,2012)。使[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(5g,1.48mmol)溶解于100mM Na_2HPO_4水溶液(150mL)中,并且加入乙腈(100mL),并用1N NaOH将pH调整至pH10-12.5。使叔丁基二十烷二酰-γGlu(2xOEG-OSu)-OtBu(1.59g,1.63mmol)溶解于乙腈(50mL)中,并且缓慢加入[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽溶液中。使pH维持在10-12.5。在120分钟

后,将反应混合物加入水(150mL)中,并且用1N HCl水溶液将pH调整至5.0。通过离心分离沉淀,并且冻干。将粗产物加入三氟乙酸(60mL)与二氯甲烷(60ml)混合溶液中,并且在室温下搅拌30分钟。将混合物浓缩至约30ml,倾注到冰冷的正庚烷(300mL)中,通过过滤分离沉淀的产物,并用正庚烷洗涤2次。真空干燥后,真空干燥后,产物通过离子交换层析(Ressource Q,在42.5%乙醇中的0.25%-1.25%乙酸铵梯度,pH7.5)、反相层析(乙腈,水,TFA)纯化,将纯化的级分合并,用1N HCl将pH调整至5.2,分离沉淀物,并冻干得到标题化合物。

[0216] LC-MS(电喷雾):m/z=1028.79$[M+4H]^{4+}$

[0217] 2、中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu的制备

[0218] 2.1叔丁基二十烷二酰-OSu

[0219] 氮气保护条件下,将二十烷二酸单叔丁酯(20g,50.17mmol)和NHS(5.77g,50.17mmol)在二氯甲烷(400mL)中混合,加入三乙胺(13.95mL),将得到的浑浊混合物在室温下搅拌,然后加入DCC(11.39g,55.19mmol),将其进一步搅拌过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水进行水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到24.12g(收率97%)的叔丁基二十烷二酰-OSu。

[0220] LC-MS(Scie×100API):m/z=496.36$(M+1)^{+}$

[0221] 2.2叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu

[0222] 将叔丁基二十烷二酰-OSu(24.12g,48.66mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次加入H-Glu-OtBu(10.88g,53.53mmol),三乙胺(12.49mL),水(25mL),将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10%柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水进行水洗,分液后下层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到27.27g(收率96%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu。

[0223] LC-MS(Scie×100API):m/z=584.44$(M+1)^{+}$

[0224] 2.3叔丁基二十烷二酰-γGlu(OSu)-OtBu。

[0225] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu(27.27g,46.71mmol)溶于二氯甲烷(300mL),加入三乙胺(11.99mL)搅拌10分钟,再加入NHS(5.38g,50.17mmol),接着加入DCC(10.60g,51.38mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水进行水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,加入甲基叔丁基醚,搅拌30分钟,抽滤,滤饼真空干燥过夜,得到25.76g(收率81%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu。

[0226] LC-MS(Scie×100API):m/z=681.46$(M+1)^{+}$

[0227] 2.4叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu

[0228] 将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu(25.76g,37.83mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次加入2xAEEA(11.66g,37.83mmol),三乙胺(9.71mL),水(25mL),将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10%柠檬酸水溶液(200mL)分液,下层有机相加入饱和盐水进行水洗,分液后下层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到30.75g(收率93%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu。

[0229] LC-MS(Scie×100API):m/z=874.59(M+1)$^+$

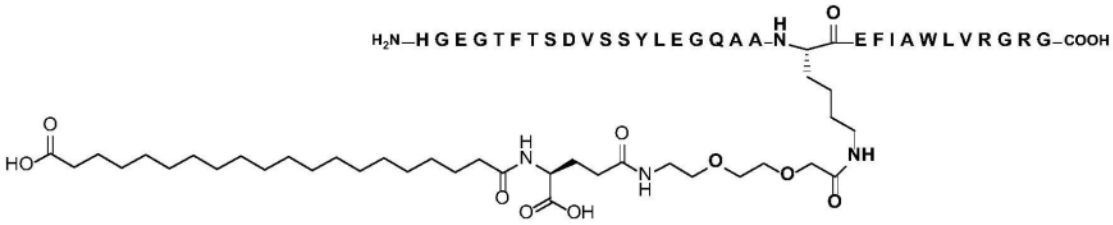
[0230] 2.5叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0231] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu(30.75g,35.18mmol)溶于二氯甲烷(300mL),加入三乙胺(9.03mL)搅拌10分钟,再加入NHS(4.05g,35.18mmol),接着加入DCC(7.98g,38.70mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水进行水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥、过滤,将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到31.09g(收率91%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0232] LC-MS(Scie×100API):m/z=971.61(M+1)$^+$

[0233] 实施例2

[0234] 标题化合物:N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物2)

[0235] 

[0236] 以与实施例1第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

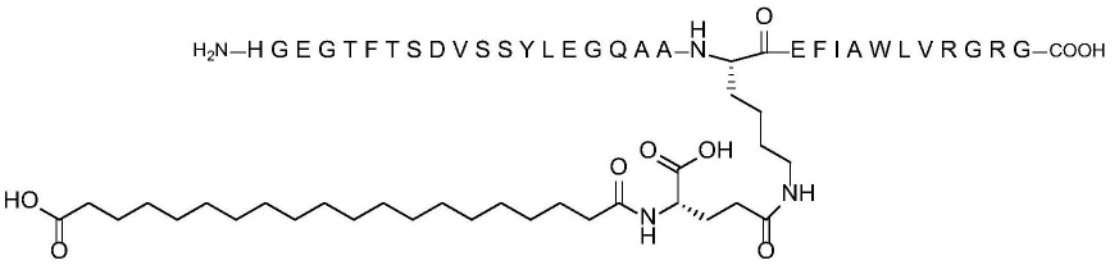
[0237] LC-MS(电喷雾):m/z=992.52[M+4H]$^{4+}$

[0238] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OEG-OSu)-OtBu以与实施例1第2部分类似的步骤进行制备。

[0239] LC-MS(Scie×100API):m/z=826.54(M+1)$^+$

[0240] 实施例3

[0241] 标题化合物:N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物3)

[0242] 

[0243] 以与实施例1第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

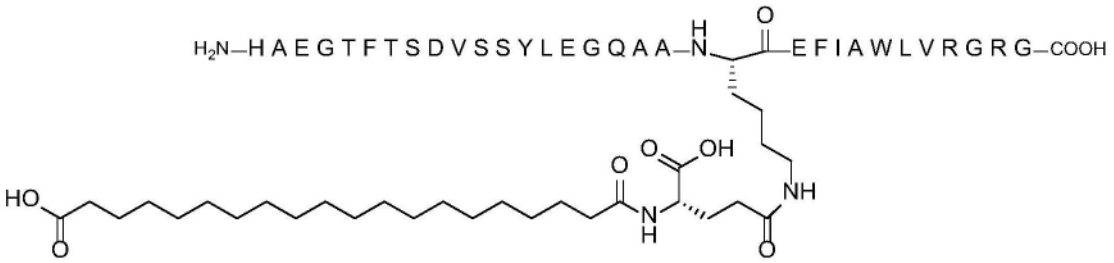
[0244] LC-MS(电喷雾):m/z=956.25[M+4H]$^{4+}$

[0245] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu以与实施例1第2部分类似的步骤进行制备。

[0246] LC-MS(Scie×100API):m/z=681.46(M+1)$^+$

[0247] 实施例4

[0248] 标题化合物:N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物4)

[0249] 

[0250] 以与实施例1第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽

[0251] LC-MS(电喷雾):m/z=959.75[M+4H]$^{4+}$

[0252] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu以与实施例1第2部分类似的步骤进行制备。

[0253] LC-MS(Scie×100API):m/z=681.46(M+1)$^{+}$

[0254] 对照例1

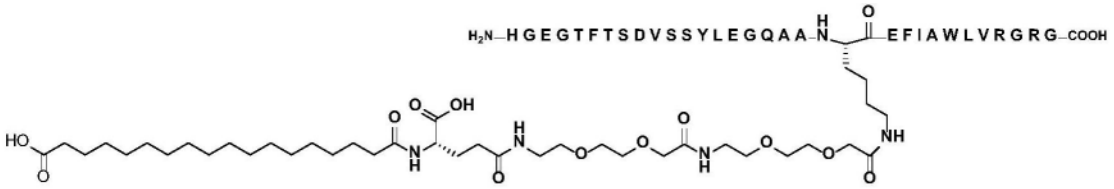
[0255] 对照化合物利拉鲁肽,按照专利CN1232470A的实施例37进行制备。

[0256] 对照例2

[0257] 对照化合物索玛鲁肽,按照专利CN101133082A的实施例4进行制备。

[0258] 对照例3

[0259] 标题化合物:N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

[0260] 

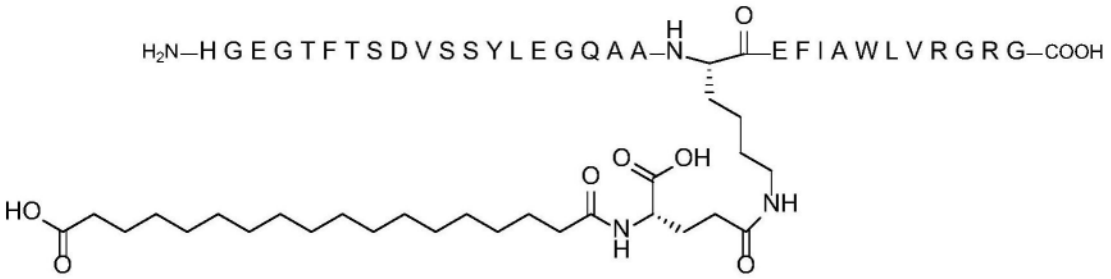
[0261] 以与实施例1第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)

[0262] 乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

[0263] LC-MS(电喷雾):m/z=1021.78[M+4H]$^{4+}$

[0264] 对照例4

[0265] 标题化合物:N-ε^{26}-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

[0266] 

[0267] 以与实施例1第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

[0268] LC-MS(电喷雾):m/z=949.24[M+4H]$^{4+}$

[0269] 中间体叔丁基十八烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu以与实施例1第2部分类似的步骤进行制备。

[0270] LC-MS(Scie×100API):m/z=653.43(M+1)$^{+}$

[0271] 实施例5:在db/db小鼠中的药效学研究

[0272] 本研究的目的在于在糖尿病情况下证实本发明GLP-1衍生物对高血糖(BG)的调控效应。

[0273] 在肥胖的2型糖尿病(T2DM)小鼠模型(db/db小鼠)上,在单剂量研究中测试实施例1-4和对照例1-4的标题化合物(也称GLP-1衍生物)。以100μg/kg的不同剂量测试所述GLP-1衍生物的降低血糖的药效效果。

[0274] 8-9周龄雄性db/db(BKS/Lepr)小鼠于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中,自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在相对湿度为40%-60%,温度为22℃-24℃。1-2周的适应期后,开始用于实验。

[0275] 于当日实验开始前,在时间约上午约9:30点评估基础血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将小鼠匹配分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射GLP-1衍生物100μg/kg,其中溶媒包含:丙二醇14mg/ml、苯酚5.5mg/ml、磷酸氢二钠1.133mg/ml,所述溶媒的pH为8.12。

[0276] 将所述GLP-1衍生物溶解在溶媒中至20μg/ml的给药浓度,给药体积为5ml/kg(即50μl/10g体重)。采用皮下给药方式,颈背部皮下注射给药一次。在大约上午10:30(时间0)给予相应的GLP-1衍生物,给药期间动物自由摄食和饮水,在给药后2、4、6、8、10、12、24、48和72小时评估小鼠血糖。用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪及配套试纸(罗氏)进行测定。给药24、48和72h分别测量小鼠摄食量和每只小鼠体重。

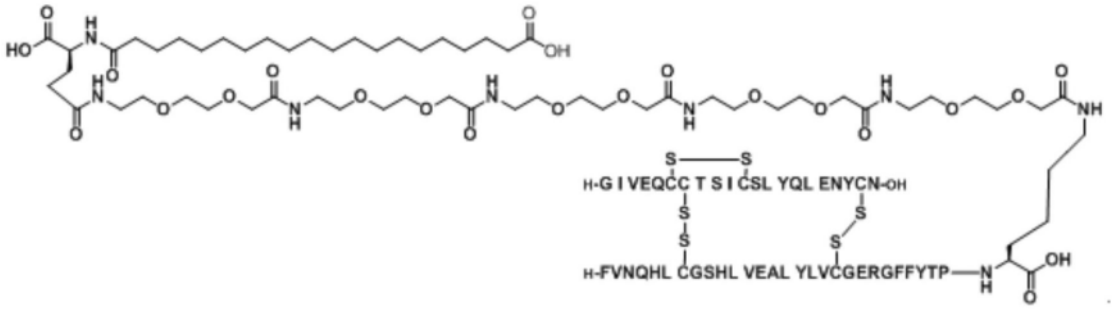
[0277] 以给药前基线血糖为基准,给药后每个监测点的血糖与之相比得相应时间点的血糖百分率,对于每个单剂量的GLP-1衍生物绘制血糖百分率对时间的剂量反应曲线,为了定量说明GLP-1衍生物对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至72小时的血糖百分率-时间的曲线下面积(AUC_{0-72h})。其中,AUC是时间-血糖百分率曲线的曲线下面积,AUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0278] 图1a-4b显示了本发明的GLP-1衍生物具有预料不到的增加的药效,例如实施例1-4的标题化合物对db/db小鼠的降糖效果明显优于利拉鲁肽、和对照例3-4的化合物。特别是本发明实施例2的化合物的降糖效果优于索玛鲁肽。此外,本发明的GLP-1衍生物例如实施例1-4的化合物在db/db小鼠中的有效作用时间相比于利拉鲁肽和对照例3-4的化合物有明

显延长,特别是实施例2的化合物在db/db小鼠中的降糖有效作用时间长于索玛鲁肽。

[0279] 实施例6

[0280] B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素(化合物5)

[0281] 

[0282] 1、des(B30)人胰岛素的合成

[0283] des(B30)人胰岛素根据中国专利CN1056618C实施例101中所述方法制备。

[0284] 2、目标胰岛素的制备

[0285] 将desB30人胰岛素(5g,0.876mmol)溶解于100mM Na_2HPO_4水溶液(150mL)中,并且加入乙腈(100mL),并用1N NaOH将pH调整至pH10-12.5。使叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OSu)-OtBu(1.36g,0.964mmol)溶解于乙腈(50mL)中,并且缓慢加入胰岛素溶液中。使pH维持在10-12.5。在120分钟后,将反应混合物加入水(150mL)中,并且用1N HCl水溶液将pH调整至5.0。通过离心分离沉淀,并冻干。将粗产物加入三氟乙酸(60mL)与二氯甲烷(60ml)混合溶液中,并且在室温下搅拌30分钟。将混合物浓缩至约30ml,倾注到冰冷的正庚烷(300mL)中,通过过滤分离沉淀的产物,并用正庚烷洗涤2次。真空干燥后,通过离子交换层析(Ressource Q,在42.5%乙醇中的0.25%-1.25%乙酸铵梯度,pH7.5)、反相层析(乙腈,水,TFA)纯化,将纯化的级分合并,用1N HCl将pH调整至5.2,并分离沉淀物,冻干、得到标题化合物化合物5。

[0286] LC-MS(电喷雾):m/z=1377.53$[M+5H]^{5+}$

[0287] 3、中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OSu)-OtBu的制备

[0288] 3.1叔丁基二十烷二酰-OSu

[0289] 氮气保护条件下,将二十烷二酸单叔丁酯(20g,50.17mmol)和NHS(5.77g,50.17mmol)在二氯甲烷中混合,加入三乙胺(13.95mL),将得到的浑浊混合物在室温下搅拌,然后加入DCC(11.39g,55.19mmol),并进一步搅拌过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水进行水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到24.12g(收率97%)的叔丁基二十烷二酰-OSu。

[0290] LC-MS(Scie×100API):m/z=496.36$(M+1)^+$

[0291] 3.2叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu

[0292] 将叔丁基二十烷二酰-OSu(24.12g,48.66mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次加入H-Glu-OtBu(10.88g,53.53mmol),三乙胺(12.49mL),水,将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10%柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水进行水洗,分液后下层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到27.27g(收率96%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu。

[0293] LC-MS(Scie×100API):m/z=584.44(M+1)$^+$

[0294] 3.3叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu。

[0295] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu(27.27g,46.71mmol)溶于二氯甲烷(300mL),依次加入三乙胺(11.99mL)搅拌10分钟,再加入NHS(5.38g,50.17mmol),接着加入DCC(10.60g,51.38mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水进行水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,加入甲基叔丁基醚,搅拌30分钟,抽滤,滤饼真空干燥过夜,得到25.76g(收率81%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu。

[0296] LC-MS(Scie×100API):m/z=681.46(M+1)$^+$

[0297] 3.4叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu

[0298] 将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu(25.76g,37.83mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次加入2xAEEA(11.66g,37.83mmol),三乙胺(9.71mL),水(25mL),将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10%柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水进行水洗,分液后下层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到30.75g(收率93%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu。

[0299] LC-MS(Scie×100API):m/z=874.59(M+1)$^+$

[0300] 3.5叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0301] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu(30.75g,35.18mmol)溶于二氯甲烷(300mL),加入三乙胺(9.03mL)搅拌10分钟,再加入NHS(4.05g,35.18mmol),接着加入DCC(7.98g,38.70mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水进行水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到31.09g(收率91%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0302] LC-MS(Scie×100API):m/z=971.61(M+1)$^+$

[0303] 3.6叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OH)-OtBu

[0304] 将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu(31.09g,32.01mmol)溶于二氯甲烷(350mL)搅拌,依次加入3xAEEA(14.52g,32.01mmol),三乙胺(8.90mL),水(25mL),将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10%柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水进行水洗,分液后下层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤、将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到38.99g(收率93%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OH)-OtBu。

[0305] LC-MS(Scie×100API):m/z=1309.81(M+1)+

[0306] 3.7叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OSu)-OtBu

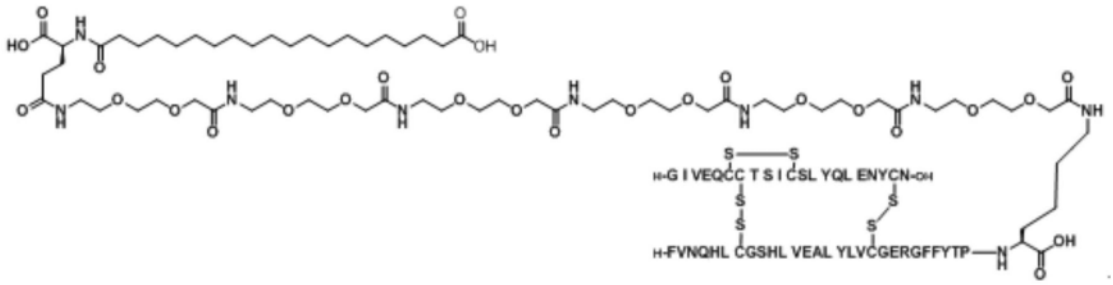
[0307] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OH)-OtBu(38.99g,29.77mmol)溶于二氯甲烷(400mL),加入三乙胺(8.28mL)搅拌10分钟,再加入NHS(3.43g,29.77mmol),接着加入DCC(6.76g,32.75mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的

滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水洗涤,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到38.11g(收率91%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OSu)-OtBu。

[0308] LC-MS(Scie×100API):m/z=1406.83(M+1)$^{+}$

[0309] 实施例7:

[0310] B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素(化合物6)

[0311] 

[0312] 以与实施例6第2部分类似的步骤制备化合物6。

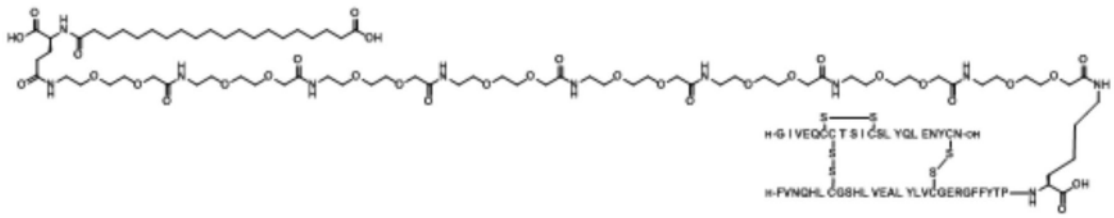
[0313] LC-MS(电喷雾):m/z=1406.28[M+5H]$^{5+}$

[0314] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(6xOEG-OSu)-OtBu以与实施例6第3部分类似的步骤进行。

[0315] LC-MS(Scie×100API):m/z=1551.90(M+1)$^{+}$

[0316] 实施例8:

[0317] B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素(化合物7)

[0318] 

[0319] 以与实施例6第2部分类似的步骤制备化合物7。

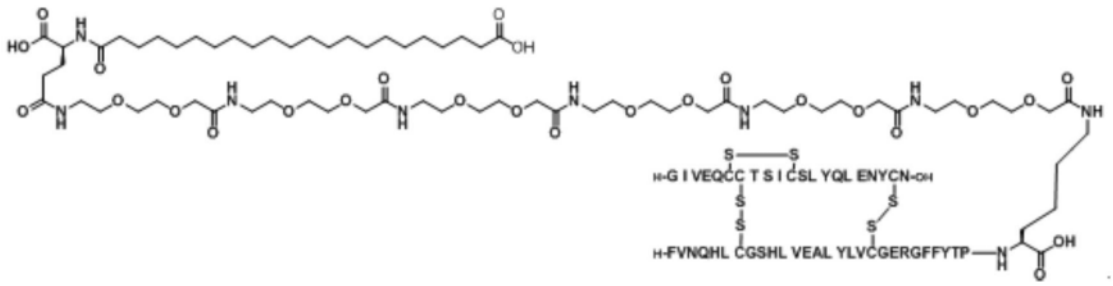
[0320] LC-MS(电喷雾):m/z=1464.30[M+5H]$^{5+}$

[0321] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(8xOEG-OSu)-OtBu以与实施例6第3部分类似的步骤进行。

[0322] LC-MS(Scie×100API):m/z=1814.02(M+1)$^{+}$

[0323] 实施例9:

[0324] B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素(化合物8)

[0325] 

[0326] 以与实施例6第2部分类似的步骤制备化合物8。

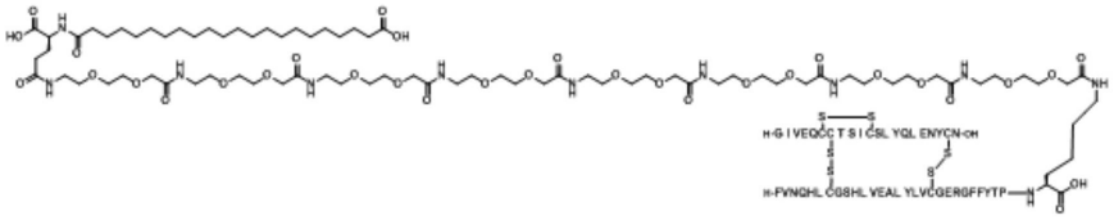
[0327] LC-MS(电喷雾):m/z＝1411.88[M+5H]$^{5+}$

[0328] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(6xOEG-OSu)-OtBu的制备以与实施例6第3部分类似的步骤进行。

[0329] LC-MS(Scie×100API):m/z＝1579.94(M+1)$^{+}$

[0330] 实施例10:

[0331] B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素(化合物9)

[0332] 

[0333] 以与实施例6第2部分类似的步骤制备化合物9。

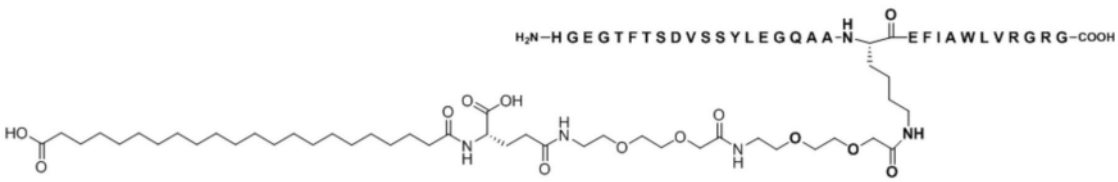
[0334] LC-MS(电喷雾):m/z＝1469.91[M+5H]$^{5+}$

[0335] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(8xOEG-OSu)-OtBu的制备以与实施例6第3部分类似的步骤进行。

[0336] LC-MS(Scie×100API):m/z＝1870.08(M+1)$^{+}$

[0337] 实施例11:

[0338] 标题化合物:N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物10)

[0339] 

[0340] 以与实施例1第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

[0341] LC-MS(电喷雾):m/z＝1035.80[M+4H]$^{4+}$

[0342] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu以与实施例1第2部分类似的步骤进行制备。

[0343] LC-MS(Scie×100API):m/z＝999.64(M+1)$^{+}$

[0344] 实施例12:体外效力或活性

[0345] 本实施例的目的是测试本发明的GLP-1衍生物的体外效力或活性

[0346] 复苏表达GLP-1R的细胞,使用ham's-F12培养基,将所述细胞接种至25mL细胞培养瓶中,37℃,5％CO_2培养过夜。实验当天分别配制本发明的实施例11的标题化合物(化合物10)和利拉鲁肽至150μg/mL,然后梯度稀释样品至750ng/ml、150ng/ml、30ng/ml、6ng/ml、1.2ng/ml、0.24ng/ml、0.048ng/ml、0.0096ng/ml和0.00192ng/ml。调整细胞浓度至1×10^{5}个细胞/ml,每孔加入200μl细胞和200μl稀释后样品,混匀后吸取100μl至新96孔板中,3复

孔,在细胞培养箱中,培养4小时后加入荧光素酶试剂,振荡混匀后从96孔板中转至新96孔白色平底板,酶标仪读取信号值,数据用GraphPad Prism 6处理,计算EC_{50}。体外效力实验在不同日期重复4次。

[0347] 表1:体外效力

[0348]

实验对象	EC_{50}(nM)
利拉鲁肽	0.439
化合物10	0.677

[0349] 由实验结果可知,本发明的GLP-1衍生物具有令人满意的体外效力,其体外活性与利拉鲁肽接近,这证实了其具有GLP-1受体激动活性。

[0350] 实施例13:在高脂饮食诱导肥胖C57BL小鼠中的药效学实验

[0351] 本研究的目的在于证实本发明的GLP-1衍生物在高脂饮食诱导肥胖C57BL小鼠中对血糖的调节效果及减重效果。

[0352] 将5周龄、体重17-22g的C57BL小鼠(雌雄各半),于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中(3-5只/盒),高脂饮食诱导组自由获取高脂饲料和纯化水,正常对照组自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在相对湿度40%-60%,温度为22℃-24℃,饲养10周,选择体重超过正常对照组小鼠体重的30%-50%的小鼠进行药效评价。

[0353] 于当日实验开始前,在时间-1/1h(上午9:30)评估基础血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将高脂饮食诱导组小鼠匹配分配到溶媒组(即模型对照组)或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射对照化合物索玛鲁肽100μg/kg,或皮下注射本发明实施例11的标题化合物100μg/kg和300μg/kg。其中溶媒包含:丙二醇14mg/ml、苯酚5.5mg/ml、磷酸氢二钠1.133mg/ml,所述溶媒的pH为7.4。

[0354] 采用皮下给药方式,颈背部皮下给药一次(5μl/g体重)。在大约上午10:30(时间0)给予GLP-1衍生物,在给药后3、6、24、48和72小时评估小鼠血糖。同时,每天监测测小鼠体重。

[0355] 对每个单剂量的GLP-1衍生物绘制Δ血糖-时间曲线。其中,Δ是指给定时间的实际血糖减去基线,其中基线为在时间0时的血糖。因此,在这些曲线中,y=0表示基线。对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间曲线下面积差(ΔAUC),ΔAUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0356] 首次给药48小时后进行一次腹腔糖耐量试验(ipGTT)实验,步骤如下:于指定时间点尾尖采血测定空腹血糖(0min),之后腹腔给予葡萄糖溶液(200mg/ml,10ml/kg),然后于糖负荷后30min、60min和120min测定血糖。

[0357] 用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪(罗氏)及配套试纸进行测定。

[0358] 对于每个单剂量的GLP-1衍生物绘制血糖对时间的剂量响应曲线、每日体重变化对时间的剂量响应曲线。为了更直观及定量说明本发明的GLP-1衍生物对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的相对血糖-时间曲线下面积差(ΔAUC)。其中,ΔAUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0359] 图5a-6b显示了本发明的GLP-1衍生物具有预料不到的增加的药效,例如实施例11的化合物10对高脂饮食诱导的肥胖C57BL小鼠的降糖效果在同剂量下与已上市的对照化合

物索玛鲁肽没有明显差异,甚至由定量的图5b和6b可以看出,本发明的GLP-1衍生物的降糖效果还略优于索玛鲁肽。尤其在药后72h时,同剂量的化合物10组血糖平均值低于同剂量的索玛鲁肽组血糖平均值。此外,本发明的GLP-1衍生物的降糖效果具有剂量依赖性,随着本发明的GLP-1剂量的增加,其降糖效果也随之明显提高。

[0360] 图6a-6b显示,在ipGTT实验中,实施例11的化合物10,相比于溶媒,在高脂饮食诱导肥胖C57BL小鼠的首次给药后48小时进行ipGTT实验后,对血糖具有明显的抑制作用,且略优于同剂量的索玛鲁肽的降糖效果。

[0361] 图5c显示本发明的GLP-1衍生物例如实施例11的化合物10具有优异的体重减轻效果,其减重效果优于索玛鲁肽。

[0362] 实施例14:在II型糖尿病db/db小鼠中的药效学研究

[0363] 本研究的目的在于在糖尿病情况下证实本发明的GLP-1衍生物对血糖的调节效果。

[0364] 在db/db小鼠上,以0.3、1、3、10、30和100nmol/kg的不同剂量测试实施例11的标题化合物和对照化合物利拉鲁肽的降低血糖效果,求算ED_{50}。

[0365] 8-9周龄雄性db/db(BKS/Lepr)小鼠于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中,自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在在相对湿度40%-60%,温度为22℃-24℃。1-2周的适应期后,开始用于实验。

[0366] 于当日实验开始前,在时间上午9:00评估基础血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将糖尿病小鼠匹配分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射实施例11的化合物或对照组化合物利拉鲁肽0.3、1、3、10、30和100nmol/kg,其中溶媒包含:丙二醇14mg/ml,苯酚5.5mg/ml,磷酸氢二钠1.133mg/ml,所述溶媒的pH为7.4。

[0367] 采用皮下给药方式(50μl/10g体重),颈背部皮下注射给药一次。在大约上午10:00(时间0)给予实施例11化合物,在给药后1、2、3、6、12、24、48和72小时评估小鼠血糖。

[0368] 用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪(罗氏)及配套试纸进行测定。

[0369] 对于每个单剂量的GLP-1衍生物绘制Δ血糖对时间的剂量响应曲线。Δ是指给定时间的实际血糖减去基线,其中基线为在时间0时的血糖。为了说明GLP-1衍生物对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至72小时的Δ血糖的曲线下面积ΔAUC,并针对ΔAUC计算有效剂量50%(ED_{50},产生在基线与最大效应之间的一半响应的GLP-1衍生物剂量)。以下表2中示出了所获得的ED_{50}值。

[0370] 表2:在db/db小鼠中对血糖影响的ED_{50}值

[0371]

样品名称	ED_{50}(nmol/kg)
利拉鲁肽	9.68
化合物10	8.42

[0372] 由试验结果可知,本发明的化合物10的体内降糖药效明显优于利拉鲁肽。

[0373] 实施例15在II型糖尿病db/db小鼠中的药效学研究

[0374] 本研究的目的在于证实本发明GLP-1衍生物对血糖、摄食量和饮水量的控制。

[0375] 在II型糖尿病db/db小鼠上,在单剂量研究中测试实施例2的标题化合物和对照化合物索玛鲁肽。

[0376] 8-9周龄雄性db/db(BKS/Lepr)小鼠于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中,自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在在相对湿度40%-60%,温度为22℃-24℃。1-2周的适应期后,开始用于实验。

[0377] 于当日实验开始前,在时间约上午9:00评估基础血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将糖尿病小鼠匹配分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射实施例2的化合物或对照组化合物索玛鲁肽100μg/kg,其中溶媒包含丙二醇14mg/ml,苯酚5.5mg/ml,和磷酸氢二钠1.133mg/ml,pH7.4。

[0378] 将所述GLP-1衍生物溶解在溶媒中至20μg/ml的给药浓度,采用皮下给药方式(50μl/10g体重),颈背部皮下注射给药一次。在大约上午10:00(时间0)给予实施例2化合物,在给药后1、2、3、6、12、24、48和72小时评估小鼠血糖。用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪(罗氏)及配套试纸进行测定。同时,每天测量小鼠摄食量及饮水量。

[0379] 对于每个单剂量的GLP-1衍生物绘制血糖对时间的剂量响应曲线、摄食量对时间的剂量响应曲线、及饮水量对时间的剂量响应曲线。为了说明本发明的GLP-1衍生物对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积差(ΔAUC)。其中,ΔAUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0380] 图7a-图7d显示了本发明的GLP-1衍生物在给药后具有预料不到的增加的降糖药效、对食物摄入量和饮水量的提高的抑制效果。这进一步证明了实施例2的标题化合物在给药后对db/db小鼠的降糖效果优于同剂量下的索玛鲁肽。此外,实施例2的标题化合物可以有效的控制食物摄入量和饮水量,其效果优于索玛鲁肽,提示本发明的GLP-1衍生物具有更好的体重减轻效果。

[0381] 实施例16在II型糖尿病db/db小鼠中的长期药效学研究

[0382] 本研究的目的在于证实本发明GLP-1衍生物对II型糖尿病db/db小鼠的长期降糖效果、减重、及控制饮食效果。

[0383] 在II型糖尿病db/db小鼠上测试实施例11的GLP-1衍生物和对照化合物索玛鲁肽。GLP-1衍生物以100和300μg/kg的不同剂量及索玛鲁肽以100μg/kg的剂量给予小鼠,测定所述GLP-1衍生物及对照化合物索玛鲁肽降低血糖、降低体重、减少食物摄入量和饮水量的效果。

[0384] 8-9周龄雄性db/db(BKS/Lepr)小鼠于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中,自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在在相对湿度40%-60%,温度为22℃-24℃。1-2周的适应期后,开始用于实验。

[0385] 于当日实验开始前,在时间大约上午9:00评估基础血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将糖尿病小鼠匹配分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射GLP-1衍生物100和300μg/kg,或皮下注射对照化合物索玛鲁肽100μg/kg。其中溶媒包含:丙二醇14mg/ml,苯酚5.5mg/ml,磷酸氢二钠1.133mg/ml,所述溶媒的pH值为7.4。

[0386] 采用皮下给药方式(50μl/10g体重),颈背部皮下注射给药,在大约上午10:00(时间0)给予GLP-1衍生物,分别于第0、3、7、10、13、16、19、22、25、28天给药,在每次给药前及最后一次给药后72小时评估小鼠血糖。第0-17天每天测量小鼠体重、摄食量和饮水量,第17天后每3天监测一次小鼠体重、摄食量和饮水量。

[0387] 图8a-8e显示了本发明的GLP-1衍生物在长期给药后仍具有预料不到的增加的降糖药效、提高的体重减轻效果、及抑制摄食和饮水量的效果。如图8a和8b显示,相比于同剂量的索玛鲁肽,实施例11的化合物10在长期给药后对db/db小鼠具有更优的降糖效果。图8c-8d显示,相比于同剂量的索玛鲁肽,本发明的GLP-1衍生物例如实施例11的标题化合物具有更好的体重减轻效果、及抑制摄食和饮水量的效果。

[0388] 实施例17在II型糖尿病Kkay小鼠中的长期药效学研究

[0389] 本研究的目的在于证实本发明GLP-1衍生物对II型糖尿病Kkay小鼠的降糖效果

[0390] 在II型糖尿病Kkay小鼠上测试实施例11的化合物10、实施例2的化合物2、和对照化合物度拉糖肽(又称杜拉鲁肽)。化合物10和化合物2以100和300μg/kg的不同剂量、度拉糖肽以600μg/kg的剂量给予小鼠,测定本发明的GLP-1衍生物及对照化合物度拉糖肽降低血糖效果和HbA1c的效果。

[0391] 12-14周龄雄性Kkay小鼠于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中,自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在在相对湿度40%-60%,温度为22℃-24℃。1-2周的适应期后,开始用于实验。

[0392] 于当日实验开始前,在时间大约上午9:00评估基础血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将糖尿病小鼠匹配分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射本发明的GLP-1衍生物100和300μg/kg,或皮下注射对照化合物度拉糖肽600μg/kg。其中溶媒包含:丙二醇14mg/ml,苯酚5.5mg/ml,磷酸氢二钠1.133mg/ml,pH7.4。

[0393] 采用皮下给药方式(50μl/10g体重),颈背部皮下注射给药,在大约上午10:00(时间0)给予本发明的GLP-1衍生物、度拉糖肽或溶媒,每2天给药1次,连续给药16次,在首次给药后3h、6h,1天和2天评估小鼠血糖,末次给药48h后取EDTA抗凝检测HbA1c。

[0394] 图9a-9b显示了本发明的GLP-1衍生物给药后具有预料不到的增加的降糖药效,实施例11和实施例2的标题化合物对Kkay小鼠的降糖效果明显优于度拉糖肽。图9c显示本发明的GLP-1衍生物对II型糖尿病Kkay小鼠降低HbA1c的效果明显优于度拉糖肽。

[0395] 实施例18:药代动力学

[0396] 本实施例的目的在于说明本发明化合物的体内药代动力学性质。

[0397] SD大鼠的药代动力学

[0398] SD大鼠32只,每组8只(雌雄各半),分为化合物10低剂量组、化合物10中剂量组、和化合物10高剂量组,分别皮下注射给药15、90、540μg/kg,以及化合物10静脉注射组,经静脉注射给药90μg/kg。化合物10低中高剂量组分别于给药前(0min)、给药后1、3、5、8、12、16、24、36、48、72、96、120h采血测定血药浓度,化合物10静脉注射组于给药前(0min)、给药后1min、10min、1、3、5、8、12、24、48、72、96、120h采血测定血药浓度。使用WinNonLin v6.4软件的非房室模型计算药代参数C_{max}、T_{max}、$T_{1/2}$、AUC_{0-t}、MRT,试验结果示出在表3中。

[0399] 表3:向SD大鼠皮下注射化合物10后药代动力学参数

[0400]

剂量(μg/kg)	C_{max}(ng/ml)	T_{max}(hr)	$T_{1/2}$(hr)	AUC_{0-t} (hr*ng/ml)	MRT(hr)
15	48.6	12	12.5	1489.9	21.2
90	296	14	13.0	9952.3	25.2
540	1490	16	13.3	61497.1	30.4
90(*i.v.*)	2540	—	13.0	23800	12.9

[0401] C_{max}＝最大实测血浆浓度,T_{max}＝最大实测血药浓度对应的时间,$T_{1/2}$＝末端消除半衰期,AUC_{0-t}＝0-t时间-血药浓度时间曲线下面积,MRT＝平均驻留时间

[0402] 食蟹猴中的药代动力学

[0403] 食蟹猴24只,每组6只(雌雄各半),分为化合物10低剂量组、化合物10中剂量组、化合物10高剂量组,分别皮下注射给予10、60、360μg/kg,以及化合物10静脉注射组,经静脉注射60μg/kg化合物10。化合物10低中高剂量组分别于给药前(0min)、给药后1、3、6、8、10、12、16、24、48、72、120、168、240h采血测定血药浓度,化合物10静脉注射组于给药前(0min)、给药后1min、10min、1、3、6、8、10、12、24、48、72、120、168、240h采血测定血药浓度。使用WinNonLin v6.4软件的非房室模型计算药代参数,C_{max}、T_{max}、$T_{1/2}$、AUC_{0-t}、MRT,试验结果示出在表4中。

[0404] 表4:向食蟹猴皮下注射化合物10后药代动力学参数

[0405]

剂量(μg/kg)	C_{max}(ng/ml)	T_{max}(hr)	$T_{1/2}$(hr)	AUC_{0-t} (hr*ng/ml)	MRT(hr)

[0406]

10	80.7	9	58.4	7387	73.6
60	455	11	59.2	42256	76.0
360	2895	14	62.9	278528	74.5
60(*i.v.*)	1720	—	65.6	74200	63.5

[0407] 由上述实验结果可知,本发明的GLP-1衍生物化合物10在大鼠和食蟹猴体内均表现出较长的半衰期、较大的AUC_{0-t}、较长的MRT。且本发明的GLP-1衍生物均具有剂量依赖性,其药效随着剂量的增加而提高。

[0408] 实施例19

[0409] 本实验的目的在于测量本发明的GLP-1衍生物制剂的化学稳定性。

[0410] GLP-1衍生物制剂

[0411] 将化合物10溶解于5.68mg/ml的磷酸氢二钠溶液中至8mg/ml的最终浓度,根据在下表中各组分的量,依次加入含有丙二醇和苯酚的辅液,调节pH至下表中的值,产生最终GLP-1化合物浓度为2mg/ml。

[0412] 本实施例中制剂的化学稳定性能够用在37℃存储27天后,高分子量蛋白(HMWP)相对于0天时的变化来显示,同时也能够用在37℃存储28天后测得的有关物质的量的变化来

表示。

[0413] 高分子量蛋白(HMWP)的测定

[0414] 通过高效液相色谱法(HPLC)测定高分子量蛋白(HMWP)的含量,在Waters TSKgel G2000SWXL(7.8*300mm),5μm柱上,在柱温为30℃、样品池温度为5℃时,用流动相以0.5ml/min的流速进行测试,其中,所述流动相包含300ml异丙醇,400ml冰醋酸和300ml纯化水。检测波长为276nm,进样量为25μl。表5示出了,在37℃存储27天相对于第0天时的HMWP的增加量。

[0415] 有关物质的量的测定

[0416] 通过高效液相色谱法(HPLC)测定GLP-1衍生物有关杂质的含量,在Waters Kromasil 100-3.5-C8(4.6*250mm)柱上,在柱温为35℃、样品池温度为5℃时,用洗脱相以1.0ml/min的流速进行测试。洗脱用由以下组成的流动相进行:

[0417] A相包含90mM磷酸二氢钾和10%乙腈(v/v),pH2.4

[0418] B相为75%(v/v)乙腈。

[0419] 梯度:0-5min的75%/25%A/B至55%/45%A/B的线性变化,5-12min至50%/50%A/B的线性变化,12-42min至40%/60%A/B的线性变化,42-60min的10%/90%A/B的线性变化,60-61min至75%/25%A/B的线性变化,61-70min的85%/15%A/B的等度梯度。

[0420] 检测波长为214nm,流速为1.0ml/min,进样量为15μl。表5示出了,在37℃存储28天相对于第0天时有关物质的增加量。

[0421] 表5

[0422]

2mg/ml 化合物 10 14mg/ml 丙二醇 5.65 mg/ml 苯酚 1.42 mg/ml 无水磷酸二氢钠	37℃ 第 27 天时相对于第 0 天时 HMWP 的增加量（%）	37℃ 第 28 天时相对于第 0 天时有关物质的增加量（%）
pH 值 6.5	0.822	4.35
pH 值 7.0	0.956	3.74
pH 值 7.7	1.808	2.92
pH 值 8.0	2.572	3.63
pH 值 8.4	4.048	4.62

[0423] 有上表可知,制剂在pH值6.5-8.4之间时,均具有良好的化学稳定性,并且在pH值处于7.0-8.0之间时,制剂的化学稳定性最好。

[0424] 实施例20

[0425] 本实验的目的在于测量本发明的GLP-1衍生物制剂的化学稳定性。

[0426] 根据下表6和表7中各个组分的量,按照与实施例19类似的步骤,配制表6和表7中的GLP-1衍生物制剂。并按照与实施例19类似的步骤测定HMWP和有关物质的变化。下表6和表7示出了不同配方的GLP-1衍生物制剂的HMWP和有关物质的变化。

[0427] 表6

[0428]

2mg/ml 化合物 10 14mg/ml 丙二醇 pH 7.3	25℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的 增加量(%)	25℃ 第 21 天 相对于第 0 天 HMWP 的增加量 ((%)	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 ((%)	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 ((%)
5.5 mg/ml 苯酚+ 1.42mg/ml 无水磷酸氢二钠	0.16	0.21	0.41	0.62

[0429]

5.65mg/ml 苯酚+ 1.42mg/ml 无水磷酸氢二钠	0.13	0.17	0.36	0.58
6.2mg/ml 苯酚+ 1.42mg/ml 无水磷酸氢二钠	0.12	0.18	0.41	0.60
5.5mg/ml 苯酚+ 1.133mg/ml 无水磷酸氢二钠	0.16	0.2	0.67	1.00

[0430] 表7

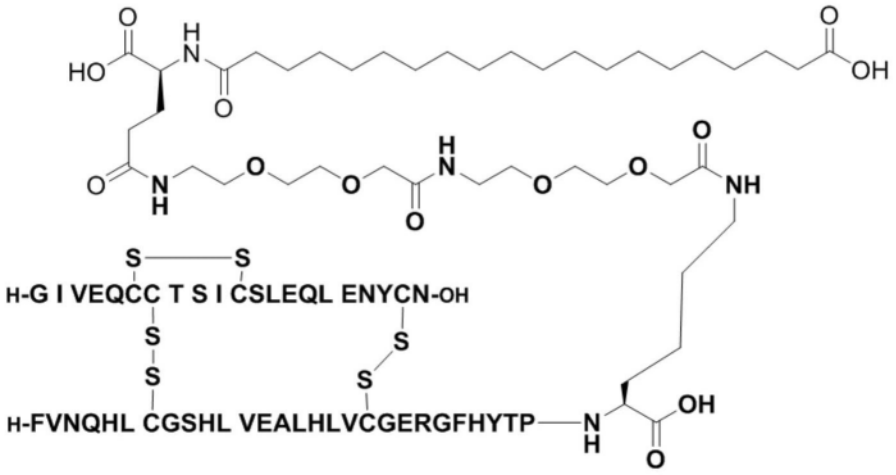
[0431]

2mg/ml 化合物 10 14mg/ml 丙二醇 pH 7.3	25℃ 第 14 天 相对于第 0 天时有关物 质的增加 (%)	25℃ 第 21 天 相对于第 0 天有关 物质的增 加 (%)	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天 时有关物质 的增加 (%)	37℃ 第 35 天 相对于第 0 天 时有关物质 的增加 (%)
5.5 mg/ml 苯酚+ 1.42mg/ml 无水磷酸氢二钠	0.64	1.04	2.06	4.00
5.65mg/ml 苯酚+ 1.42mg/ml 无水磷酸氢二钠	0.50	1.15	2.15	4.08
6.2mg/ml 苯酚+ 1.42mg/ml 无水磷酸氢二钠	0.94	1.16	1.73	4.07
5.5mg/ml 苯酚+ 1.133mg/ml 无水磷酸氢二钠	0.71	1.15	1.90	4.27

[0432] 由上表可知,本发明的上述GLP-1衍生物制剂中HMWP的量和有关物质的量随着时间的变化增加非常缓慢,表明上述GLP-1衍生物制剂均具有优异的化学稳定性。

[0433] 对照例5

[0434] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素(对照化合物5)

[0435] 

[0436] 1、A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素的制备

[0437] 通过常规的制备胰岛素类似物的方法制备A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素(具体方法参见Glendorf T,Sørensen AR,Nishimura E,Pettersson I,&Kjeldsen T:Importance of the Solvent-Exposed Residues ofthe Insulin B Chainα-Helix for Receptor Binding;Biochemistry 2008 474743-4751)。将A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素(5g,0.888mmol)溶解于100mM Na_2HPO_4水溶液(150mL)中,并且加入乙腈(100mL),并用1N NaOH将pH调整至pH 10-12.5。使叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu(0.948g,0.976mmol)溶解于乙腈(50mL)中,并且缓慢加入胰岛素溶液中。使pH维持在10-12.5。在120分钟后,将反应混合物加入水(150mL)中,并且用1N HCl水溶液将pH调整至5.0。通过离心分离沉淀,并冻干。将冻干的粗产物加入三氟乙酸(60mL)与二氯甲烷(60ml)混合溶液中,并在室温下搅拌30分钟。将混合物浓缩至约30ml,倾注到冰冷的正庚烷(300mL)中,并且通过过滤分离沉淀的产物,并且用正庚烷洗涤2次。真空干燥后,通过离子交换层析((RessourceQ,在42.5%乙醇中的0.25%-1.25%乙酸铵梯度,pH7.5)、反相层析(乙腈,水,TFA)纯化,将纯化的级分合并,用1N HCl将pH调整至5.2,并分离沉淀物,冻干、得到对照化合物5。

[0438] LC-MS(电喷雾):m/z=1063.6852$[M+6H]^{6+}$

[0439] 2、中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu的制备:以与实施例1第3部分类似的步骤进行。

[0440] 2.1叔丁基二十烷二酰-OSu

[0441] 氮气保护条件下,将二十烷二酸单叔丁酯(20g,50.17mmol)和NHS(5.77g,50.17mmol)在二氯甲烷中混合,加入三乙胺(13.95mL),使得到的浑浊混合物在室温下搅拌,然后加入DCC(11.39g,55.19mmol),并进一步搅拌过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水洗涤,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到24.12g(收率97%)的叔丁基二十烷二酰-OSu。

[0442] LC-MS(Scie×100API):m/z=496.36$(M+1)^+$

[0443] 2.2叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu

[0444] 将叔丁基二十烷二酰-OSu(24.12g,48.66mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次

加入H-Glu-OtBu(10.88g,53.53mmol),三乙胺(12.49mL),水,将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10％柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水洗,分液后下层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到27.27g(收率96％)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu。

[0445] LC-MS(Scie×100API):m/z＝584.44$(M+1)^+$

[0446] 2.3叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu。

[0447] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu(27.27g,46.71mmol)溶于二氯甲烷(300mL),加入三乙胺(11.99mL)搅拌10min,再加入NHS(5.38g,50.17mmol),接着加入DCC(10.60g,51.38mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,加入甲基叔丁基醚,搅拌30min,抽滤,滤饼真空干燥过夜,得到25.76g(收率81％)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu。

[0448] LC-MS(Scie×100API):m/z＝681.46$(M+1)^+$

[0449] 2.4叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu

[0450] 将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu(25.76g,37.83mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次加入2xAEEA(11.66g,37.83mmol),三乙胺(9.71mL),水(25mL),将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10％柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水洗,分液后下层层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到30.75g(收率93％)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu。

[0451] LC-MS(Scie×100API):m/z＝874.59$(M+1)^+$

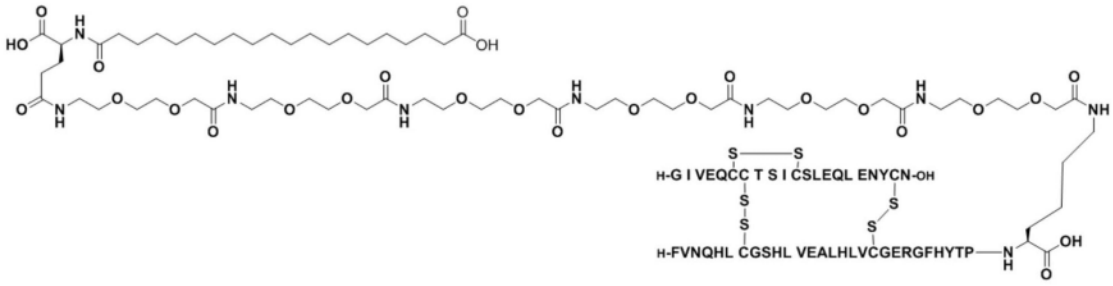
[0452] 2.5叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0453] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu(30.75g,35.18mmol)溶于二氯甲烷(300mL),加入三乙胺(9.03mL)搅拌10分钟,再加入NHS(4.05g,35.18mmol),接着加入DCC(7.98g,38.70mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到31.09g(收率91％)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0454] LC-MS(Scie×100API):m/z＝971.61$(M+1)^+$

[0455] 实施例21

[0456] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素(化合物11)

[0457] 

[0458] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素

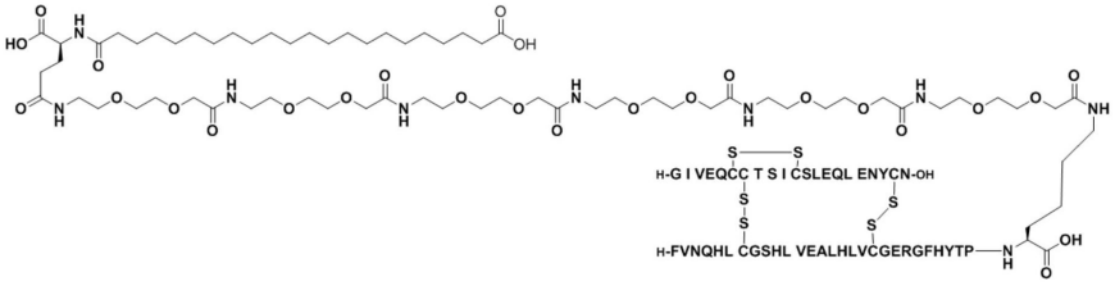
[0459] LC-MS(电喷雾):m/z=1160.3997[M+6H]$^{6+}$

[0460] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(6xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0461] LC-MS(Scie×100API):m/z=1551.90(M+1)$^{+}$

[0462] 实施例22

[0463] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素(化合物12)

[0464] 

[0465] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素

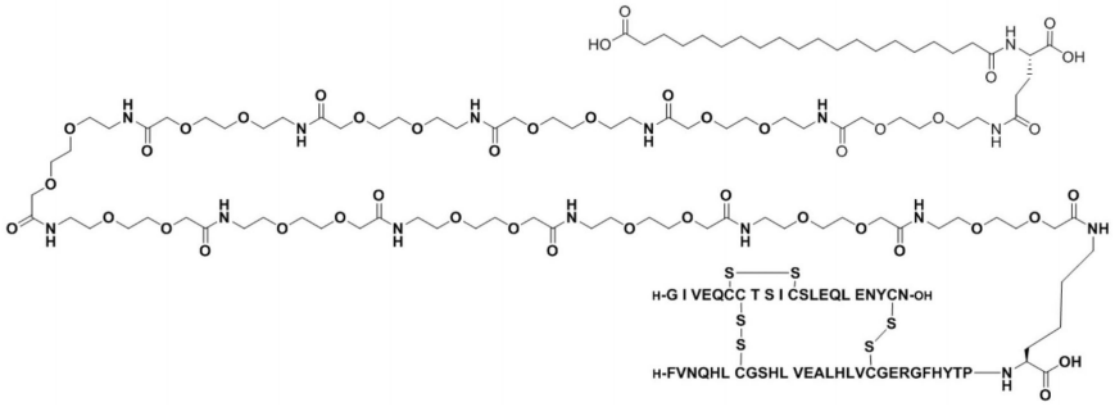
[0466] LC-MS(电喷雾):m/z=1165.0674[M+6H]$^{6+}$

[0467] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(6xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0468] LC-MS(Scie×100API):m/z=1579.94(M+1)$^{+}$

[0469] 实施例23

[0470] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素(化合物13)

[0471] 

[0472] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素

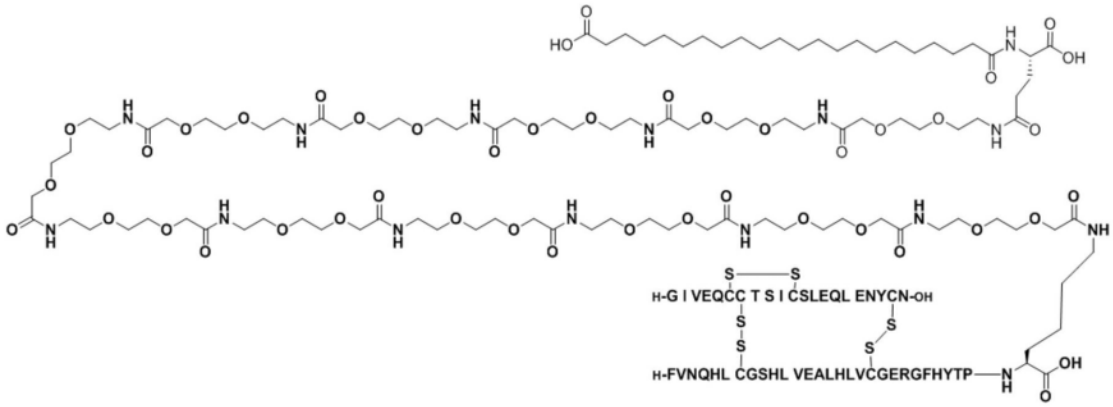
[0473] LC-MS(电喷雾):m/z=1305.4716[M+6H]$^{6+}$

[0474] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(12xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0475] LC-MS(Scie×100API):m/z=2423.35(M+1)$^{+}$

[0476] 实施例24

[0477] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素(化合物14)

[0478] 

[0479] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素

[0480] LC-MS(电喷雾):m/z=1310.1425[M+6H]$^{6+}$

[0481] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(12xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0482] LC-MS(Scie×100API):m/z=2451.38(M+1)$^{+}$

[0483] 实施例25GLP-1受体结合

[0484] 本实施例的目的是测试本发明的GLP-1衍生物的体外受体结合亲和力,以及白蛋白的存在如何潜在地影响结合。受体结合是GLP-1衍生物对人GLP-1受体的亲和力的量度。

[0485] 本发明的GLP-1衍生物及对照化合物与人GLP-1受体的结合亲和力测定如下:即通过测定它们从受体中取代^{125}I-GLP-1的能力。为了测定GLP-1衍生物与白蛋白(HSA)的结合,用低浓度白蛋白(0.005%(w/v))、以及用高浓度白蛋白(2%(w/v))进行测定。结合亲和力

IC_{50}的变化表明GLP-1衍生物与白蛋白结合,由此在动物模型中预测GLP-1衍生物的潜在延长的药物动力学特征。

[0486] 对于存在低HSA(0.005%(w/v))的受体结合试验,向测定板的每个孔中添加50μl的测定缓冲液。对于存在高HSA(2%(w/v))的受体结合试验,向测定板的每个孔中添加50μl的8%(w/v)白蛋白储备液。用pH7.3的10mM Na_2HPO_4配制测试化合物,参考对照品GLP-1(7-37),用超纯水配制成1mM储备液。0.005%HSA条件下,将所有测试化合物和参考对照品用测定缓冲液稀释至2μM,然后进行4倍连续梯度稀释,共10个浓度梯度。2%HSA条件下,将参考对照品GLP-1(7-37)稀释至2μM,利拉鲁肽稀释至20μM,化合物10和索玛鲁肽稀释至800μM,然后所有样品进行4倍连续梯度稀释,共10个浓度梯度。将25μl不同浓度测试化合物或参考对照品分别添加至测定板的适当孔中。将细胞膜蛋白等份解冻并稀释至其工作浓度(40μg/mL),向测定板的每个孔中添加50μl含细胞膜的溶液。通过向测定板的每个孔中添加25μl的[^{125}I]-GLP-1的600pM溶液来开始孵育。将测定板在室温下孵育1h。孵育完毕后,用细胞收集器将反应液收集到GF/C过滤板上,用洗板缓冲液洗6次,50℃干燥箱干燥1h。加入50μl闪烁液,并封闭,使用Microbeta2读数。利用GraphPad Prism中的非线性回归分析,用该软件计算IC_{50}值并以nM为单位报告。对每个测试化合物最少重复三次。所报告的值为每种测试化合物的所有测量值的平均值。

[0487] 表8:GLP-1受体结合亲和力

[0488]

实验对象	0.005% HSA IC_{50}(nM)(SD)	2% HSA IC_{50}(nM)(SD)	比率
化合物 10	3.67（1.95）	5552.33（378.83）	1513
利拉鲁肽	0.52（0.34）	29.44（13.01）	57
索玛鲁肽	0.75（0.29）	609.57（51.33）	813
GLP-1(7-37)	2.82（1.07）	1.50（0.24）	0.53

[0489] “比率”是指[(IC_{50}/nM)高HSA]/[(IC_{50}/nM)低HSA]

[0490] 通常,在低白蛋白浓度时与GLP-1受体的结合应当尽可能好,这对应于低IC_{50}值。在高白蛋白浓度时IC_{50}值是白蛋白对GLP-1衍生物与GLP-1受体结合的影响的度量。正如所知,GLP-1衍生物也与白蛋白结合,这通常是所需的效应,这种效应将延长它们的血浆寿命。因此,在高白蛋白时IC_{50}值通常高于在低白蛋白时的IC_{50}值,对应于与GLP-1受体的结合降低,这是由与GLP-1受体结合竞争的白蛋白结合所致。因此,可采用高比率(IC_{50}值(高白蛋白)/IC_{50}值(低白蛋白)),作为目标衍生物与白蛋白结合良好(由此可确定具有长的半衰期)、并且自身与GLP-1受体也结合良好(IC_{50}值(高白蛋白)高,IC_{50}值(低白蛋白)低)的指示。

[0491] 由上表可以看出本发明的GLP-1衍生物的比率高于对照化合物索玛鲁肽、利拉鲁肽及GLP-1(7-37),预示着本发明的化合物具有更长的半衰期、并且自身与GLP-1受体也结合良好。

[0492] 实施例26在II型糖尿病db/db小鼠中的长期药效学研究

[0493] 参照实施例16的类似的实验步骤,在II型糖尿病db/db小鼠中进行长期药效学研究,不同之处在于所用的对照化合物为度拉糖肽,度拉糖肽的给药剂量为300μg/kg。采用皮

下给药方式(50μl/10g体重),颈背部皮下注射给药,在大约上午10:00(时间0)给予GLP-1衍生物,分别于第0、3、6、9、12、15、18、21、24、27、30天给药。在首次给药后3、6、9、12、24、48和72小时评估小鼠血糖,并计算血糖-时间曲线下面积的变化(ΔAUC)。给药前、第3、5、11次给药后48h禁食6h监测空腹血糖。首次给药后48h进行腹腔糖耐量试验(ipGTT)实验,步骤如下:于指定时间点尾尖采血测定空腹血糖(0min),之后腹腔给予葡萄糖溶液(200mg/ml,10ml/kg),然后于糖负荷后30min、60min和120min测定血糖。用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪(罗氏)及配套试纸进行测定,绘制时间血糖曲线,并计算时间-血糖曲线下面积(AUC)。

[0494] 图10a-10e显示了本发明的GLP-1衍生物在长期给药后仍具有预料不到的增加的降糖药效。如图10a和10b显示,相比于度拉糖肽,实施例11的化合物10在给药后对db/db小鼠具有更优的降糖效果。如图10c显示,相比于度拉糖肽,化合物10在长期给药后对db/db小鼠具有更优的降糖效果。如图10d-10e显示,相比于度拉糖肽,本发明的GLP-1衍生物对血糖具有更明显的抑制作用,优于度拉糖肽的降糖效果。

[0495] 实施例27在高脂饮食诱导肥胖C57BL小鼠中的药效学实验

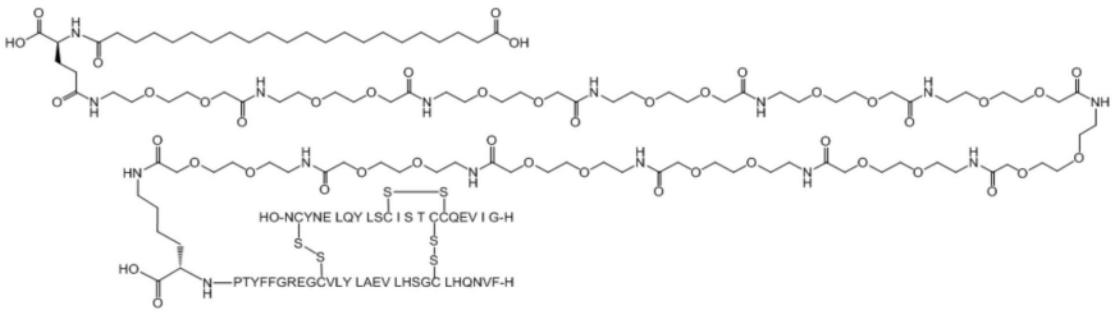
[0496] 参照实施例13的类似的实验步骤,在高脂饮食诱导肥胖C57BL小鼠中进行药效学实验,不同之处在于所用的对照化合物为度拉糖肽,度拉糖肽的给药剂量为300μg/kg。

[0497] 采用皮下给药方式,颈背部皮下给药一次(5μl/g体重),每3天给药一次,共11次。在大约上午10:30(时间0)给予GLP-1衍生物,在给药后3、6、9、12、24、48和72小时评估小鼠血糖。同时,每3天监测小鼠体重与摄食量。试验结束时称量皮下脂肪、肾周脂肪、生殖器周围脂肪。

[0498] 图11a-11d显示了本发明的GLP-1衍生物具有预料不到的提高的体重减轻效果、控制饮食效果、及降脂效果。

[0499] 实施例28

[0500] B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素(化合物15)

[0501] 

[0502] 以与实施例6第2部分类似的步骤制备化合物B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

[0503] LC-MS(电喷雾):m/z=1585.98$[M+5H]^{5+}$

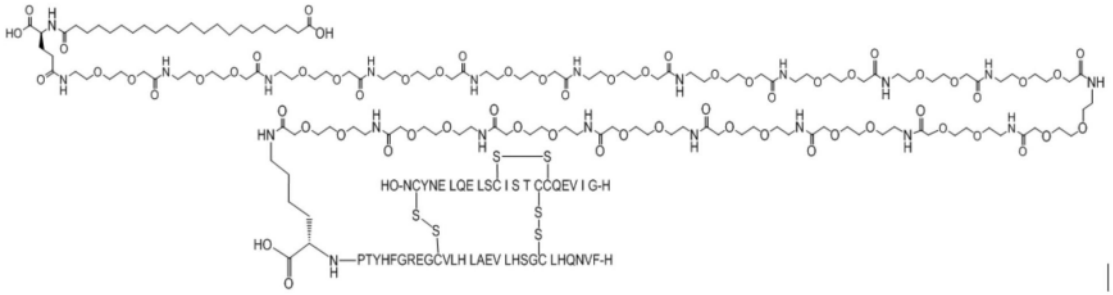
[0504] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(12xOEG-OSu)-OtBu以与实施例6第3部分类似的步骤进行。

[0505] LC-MS(Scie×100API):m/z=2451.38$(M+1)^{+}$

[0506] 实施例29

[0507] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素

(化合物16)

[0508] 

[0509] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素

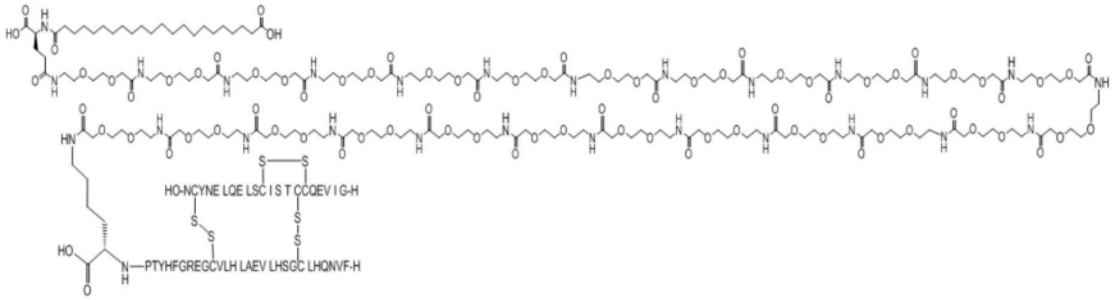
[0510] LC-MS(电喷雾):m/z=1247.47[M+7H]$^{7+}$

[0511] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(18xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0512] LC-MS(Scie×100API):m/z=3320.83(M+1)$^{+}$

[0513] 实施例30

[0514] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-24xOEG),desB30人胰岛素(化合物17)

[0515] 

[0516] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-24xOEG),desB30人胰岛素

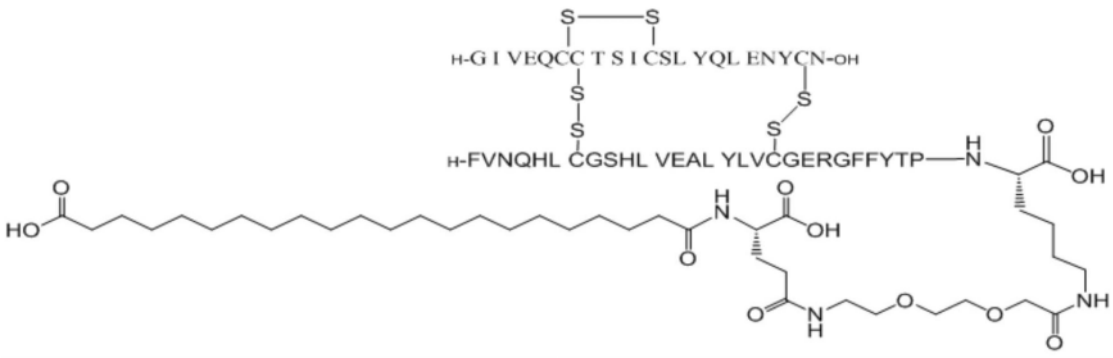
[0517] LC-MS(电喷雾):m/z=873.35[M+11H]$^{11+}$

[0518] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(24xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0519] LC-MS(Scie×100API):m/z=4192.27(M+1)$^{+}$

[0520] 实施例31

[0521] B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-OEG),desB30人胰岛素(化合物18)

[0522] 

[0523] 以与实施例6第2部分类似的步骤制备化合物B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-OEG),desB30人胰岛素。

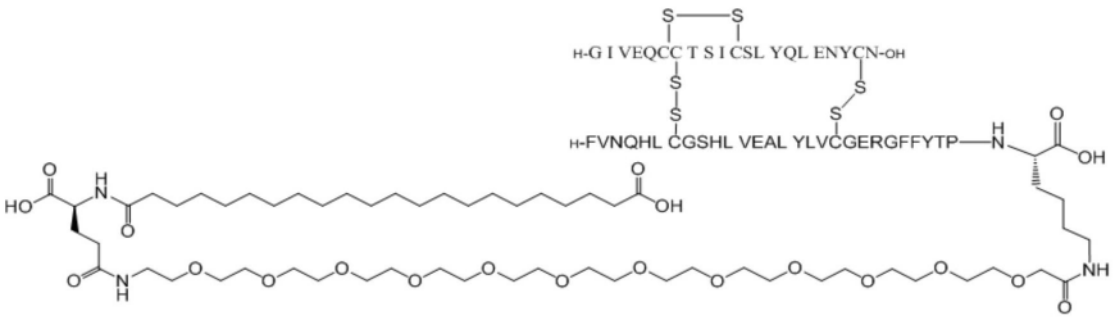
[0524] LC-MS(电喷雾):m/z=1266.8122[M+5H]$^{5+}$

[0525] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(OEG-OSu)-OtBu以与实施例6第3部分类似的步骤进行。

[0526] LC-MS(Scie×100API):m/z=854.57(M+1)$^{+}$

[0527] 实施例32

[0528] B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xPEG),desB30人胰岛素(化合物19)

[0529] 

[0530] 以与实施例6第2部分类似的步骤制备化合物B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xPEG),desB30人胰岛素。

[0531] LC-MS(电喷雾):m/z=1354.8667[M+5H]$^{5+}$

[0532] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(12xPEG-OSu)-OtBu以与实施例6第3部分类似的步骤进行。

[0533] LC-MS(Scie×100API):m/z=1294.83(M+1)$^{+}$

[0534] 本发明已经通过上述实施例进行了说明,但应当理解的是,上述实施例只是用于举例和说明的目的,而非意在将本发明限制于所描述的实施例范围内。此外本领域技术人员可以理解的是,本发明并不局限于上述实施例,根据本发明的教导还可以做出更多种的变型和修改,这些变型和修改均落在本发明所要求保护的范围以内。本发明的保护范围由附属的权利要求书及其等效范围所界定。

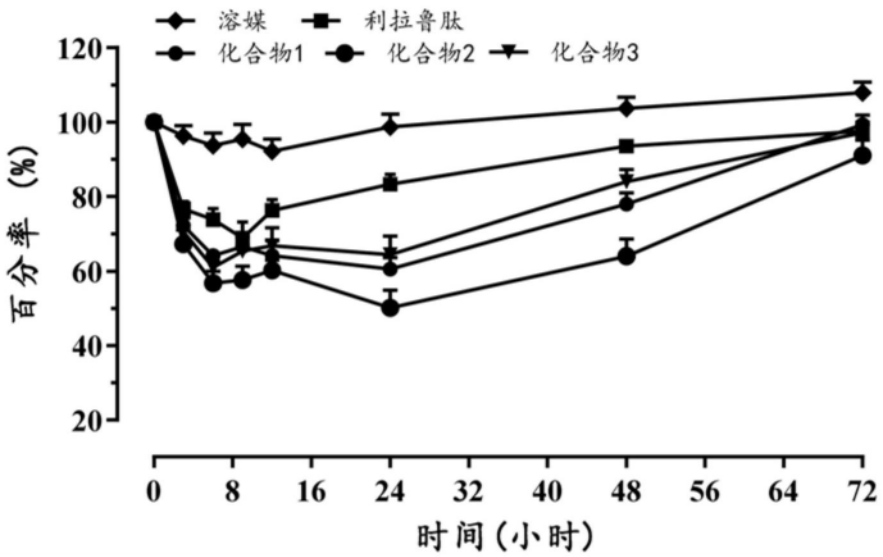

溶媒
利拉鲁肽
化合物1
化合物2
化合物3
百分率（%）
120
100
80
60
40
20
0
8
16
24
32
40
48
56
64
72
时间（小时）

图1a

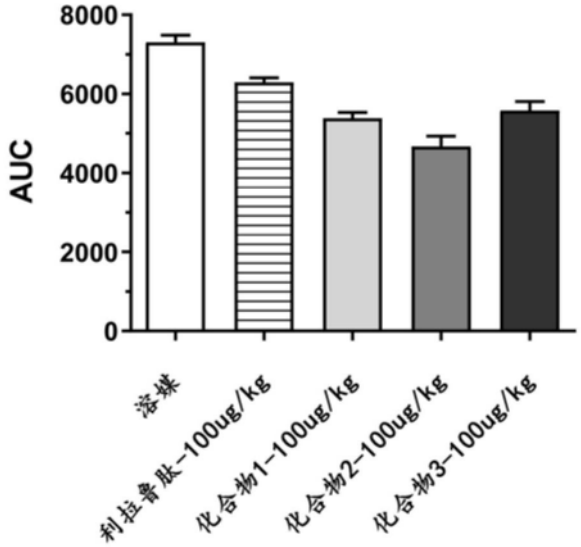
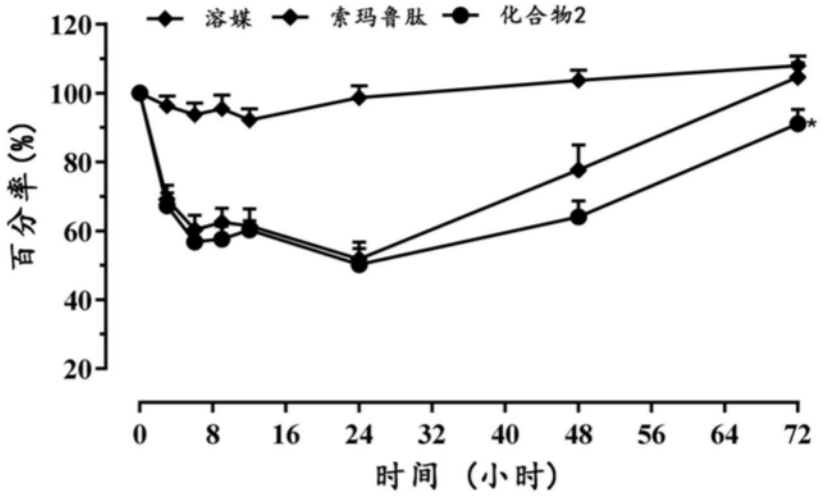

AUC
8000
6000
4000
2000
0
溶媒
利拉鲁肽-100ug/kg
化合物1-100ug/kg
化合物2-100ug/kg
化合物3-100ug/kg

图1b



*p<0.05 化合物 2 与索玛鲁肽相比

图2a

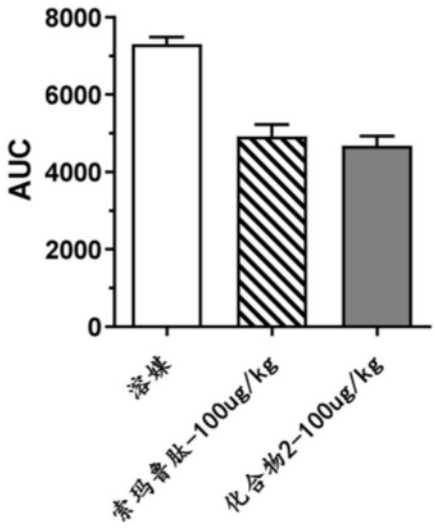


图2b

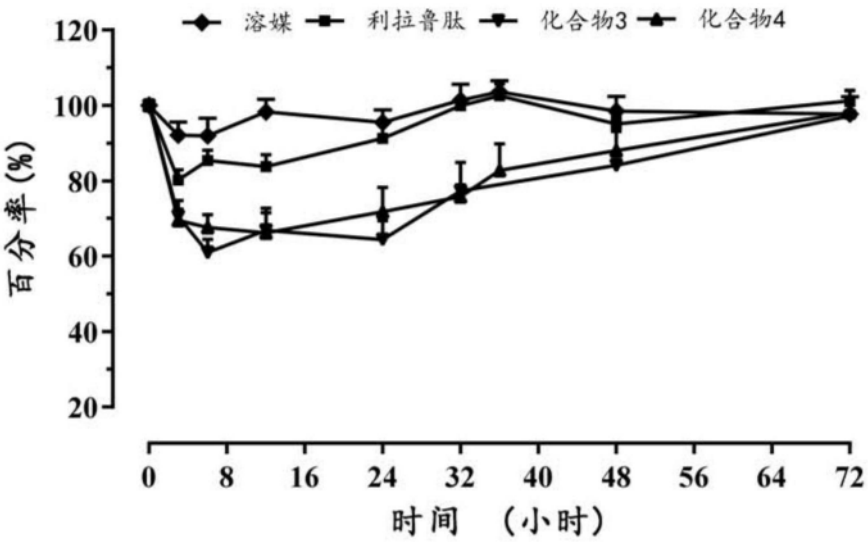

溶媒
利拉鲁肽
化合物3
化合物4
百分率(%)
120
100
80
60
40
20
0
8
16
24
32
40
48
56
64
72
时间 (小时)

图3a

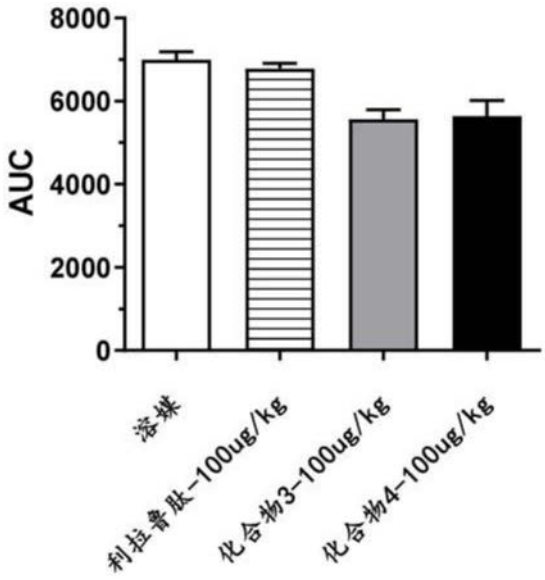

AUC
8000
6000
4000
2000
0
溶媒
利拉鲁肽-100ug/kg
化合物3-100ug/kg
化合物4-100ug/kg

图3b

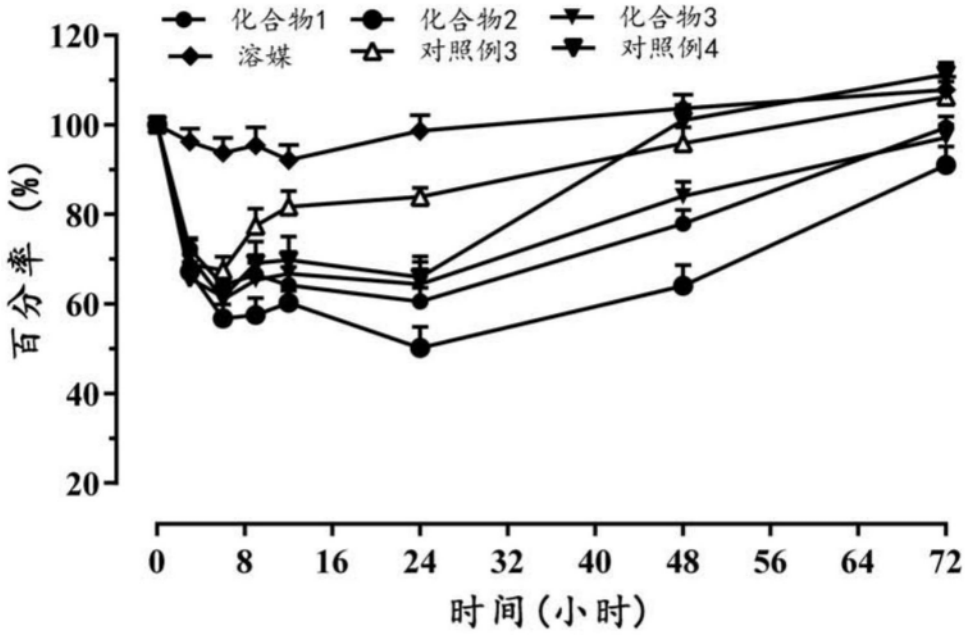

化合物1
化合物2
化合物3
溶媒
对照例3
对照例4
百分率（%）
120
100
80
60
40
20
0
8
16
24
32
40
48
56
64
72
时间（小时）

图4a

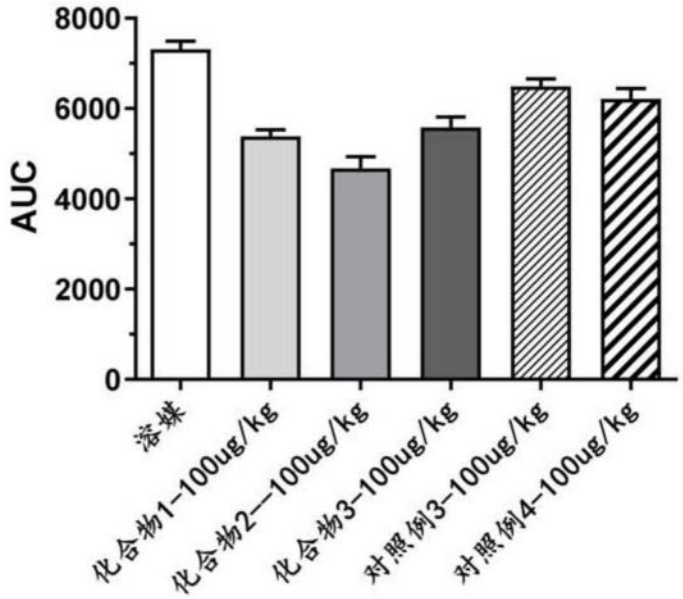

AUC
8000
6000
4000
2000
0
溶媒
化合物1-100ug/kg
化合物2--100ug/kg
化合物3-100ug/kg
对照例3-100ug/kg
对照例4-100ug/kg

图4b

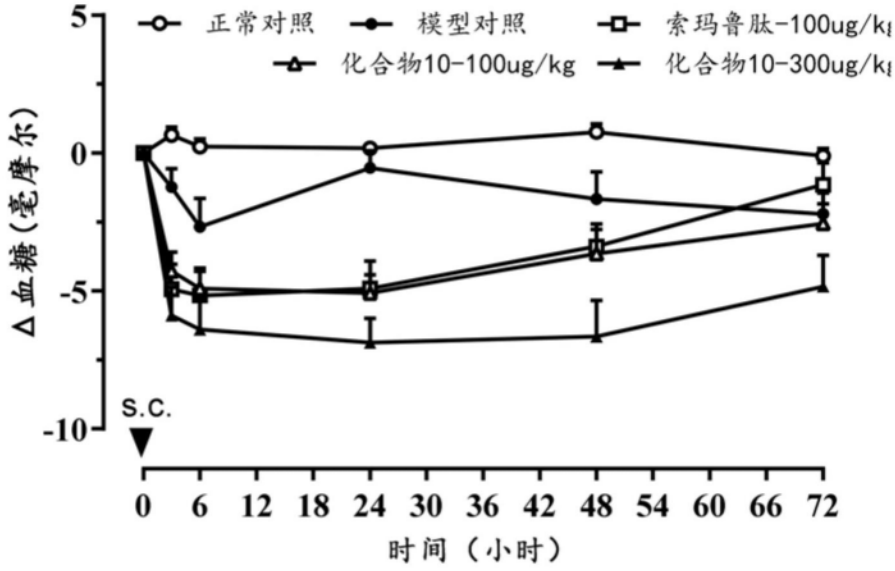

正常对照
模型对照
索玛鲁肽-100ug/kg
化合物10-100ug/kg
化合物10-300ug/kg
Δ血糖（毫摩尔）
5
0
-5
-10
S.C.
0 6 12 18 24 30 36 42 48 54 60 66 72
时间（小时）

图5a

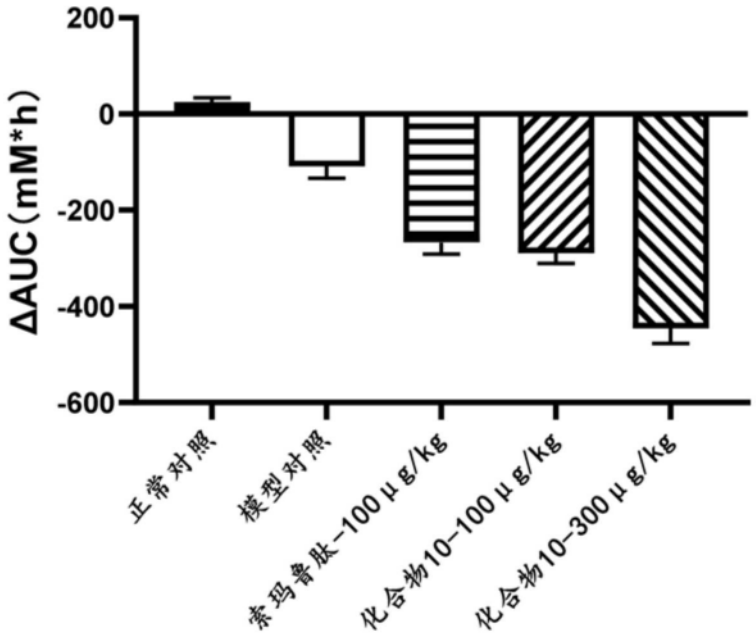

ΔAUC（mM*h）
200
0
-200
-400
-600
正常对照
模型对照
索玛鲁肽-100μg/kg
化合物10-100μg/kg
化合物10-300μg/kg

图5b

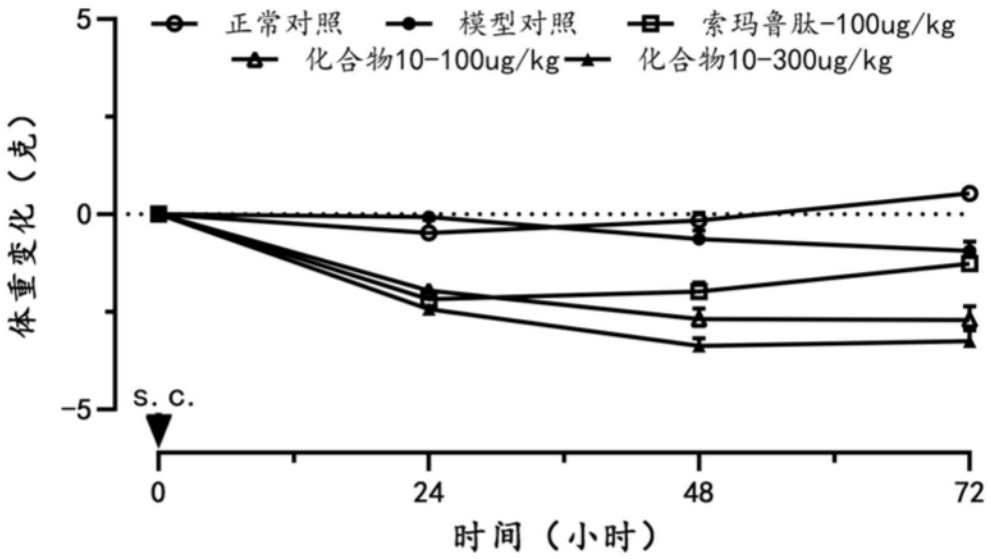

正常对照
模型对照
索玛鲁肽-100ug/kg
化合物10-100ug/kg
化合物10-300ug/kg
体重变化（克）
5
0
-5
s.c.
0
24
48
72
时间（小时）

图5c

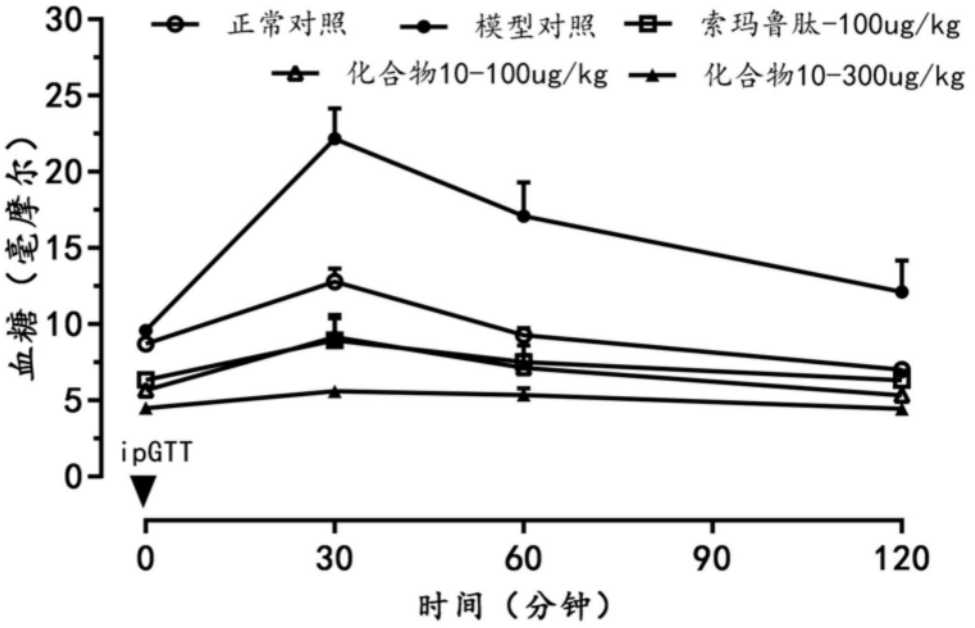

正常对照
模型对照
索玛鲁肽-100ug/kg
化合物10-100ug/kg
化合物10-300ug/kg
血糖（毫摩尔）
30
25
20
15
10
5
0
ipGTT
0
30
60
90
120
时间（分钟）

图6a

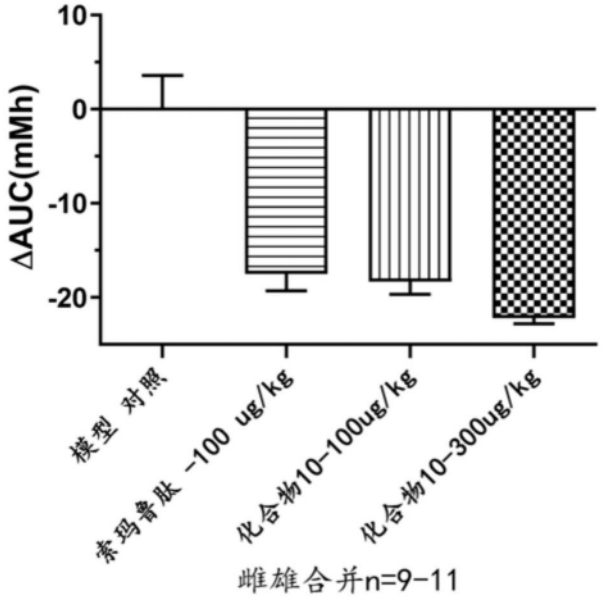

10
0
-10
-20
ΔAUC(mMh)
模型 对照
索玛鲁肽 -100 ug/kg
化合物10-100ug/kg
化合物10-300ug/kg
雌雄合并n=9-11

图6b

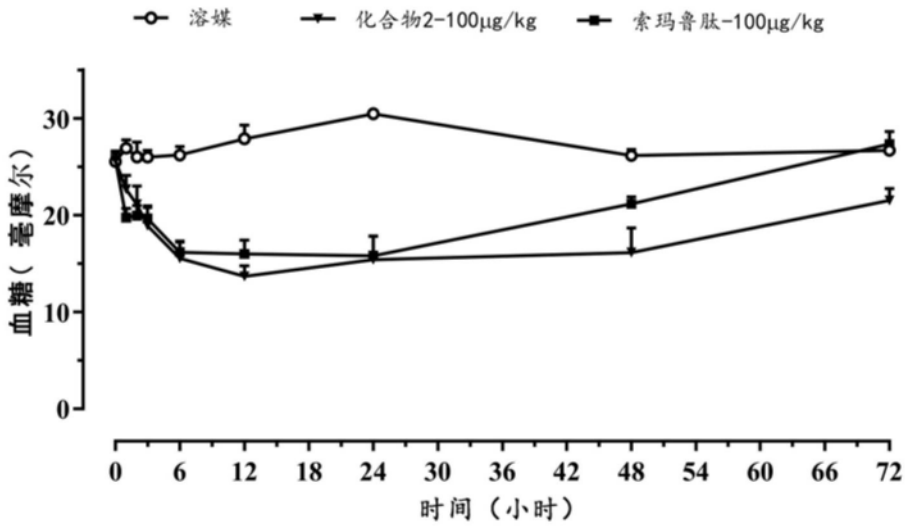

溶媒
化合物2-100μg/kg
索玛鲁肽-100μg/kg
血糖（毫摩尔）
30
20
10
0
0
6
12
18
24
30
36
42
48
54
60
66
72
时间（小时）

图7a

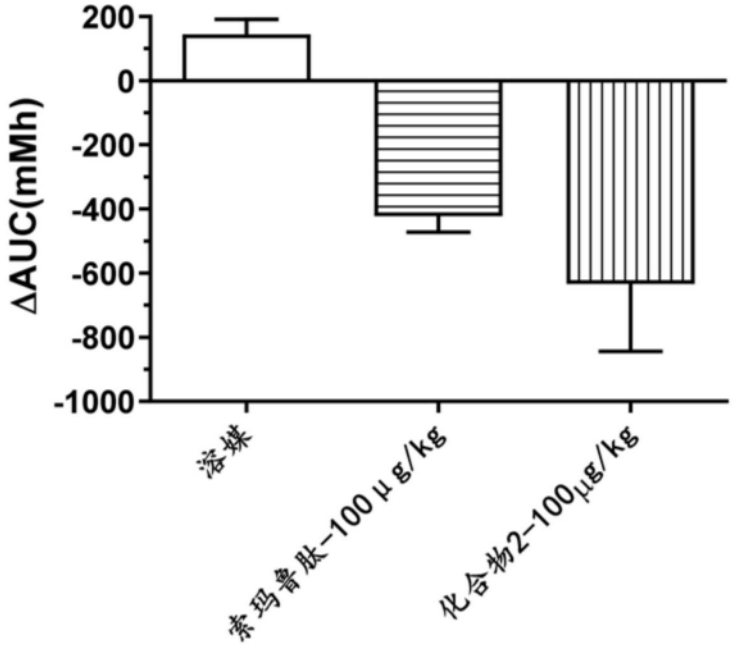

200
0
-200
-400
-600
-800
-1000
ΔAUC(mMh)
溶媒
索玛鲁肽-100μg/kg
化合物2-100μg/kg

图7b

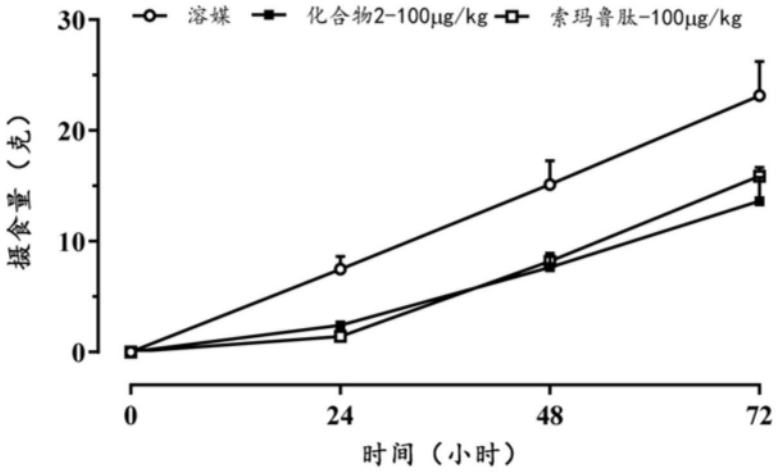

溶媒
化合物2-100μg/kg
索玛鲁肽-100μg/kg
30
20
10
0
摄食量（克）
0
24
48
72
时间（小时）

图7c

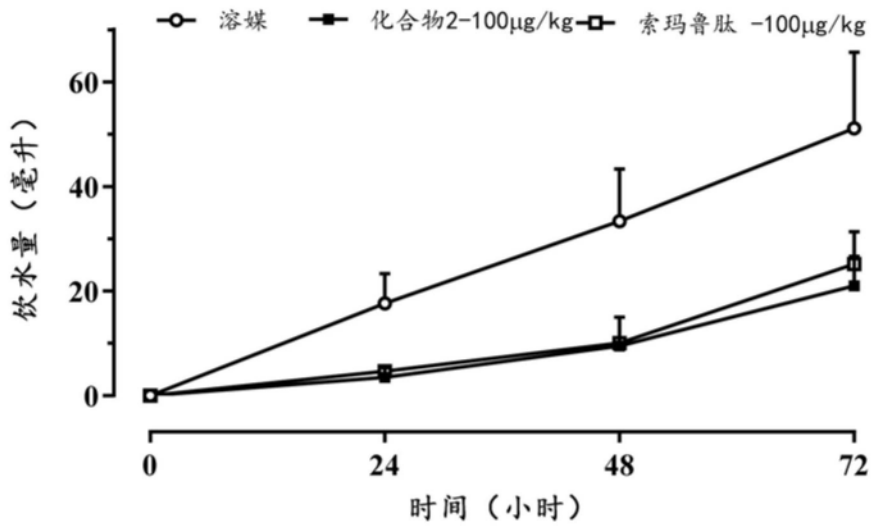

溶媒
化合物2-100μg/kg
索玛鲁肽 -100μg/kg
饮水量（毫升）
60
40
20
0
0
24
48
72
时间（小时）

图7d

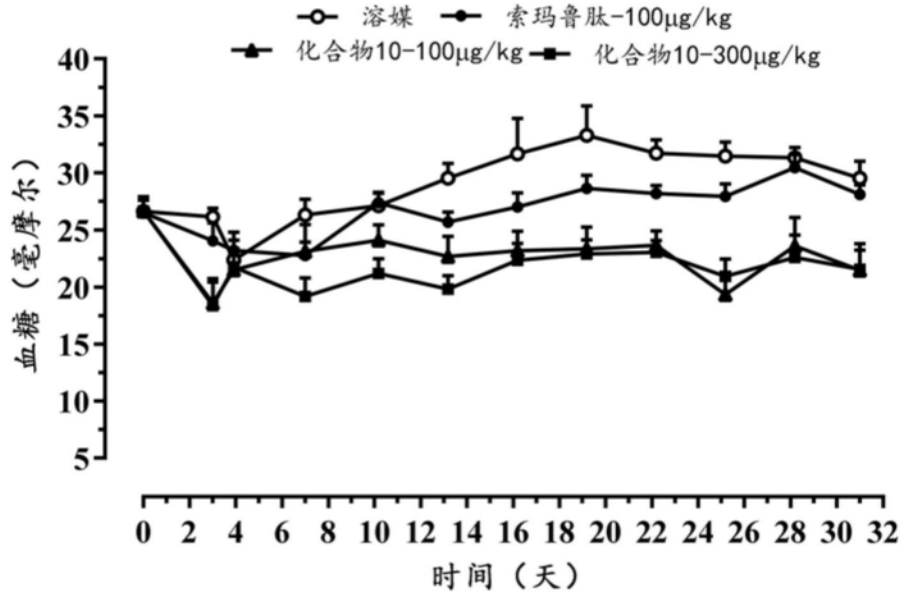

溶媒
索玛鲁肽-100μg/kg
化合物10-100μg/kg
化合物10-300μg/kg
血糖（毫摩尔）
40
35
30
25
20
15
10
5
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32
时间（天）

图8a

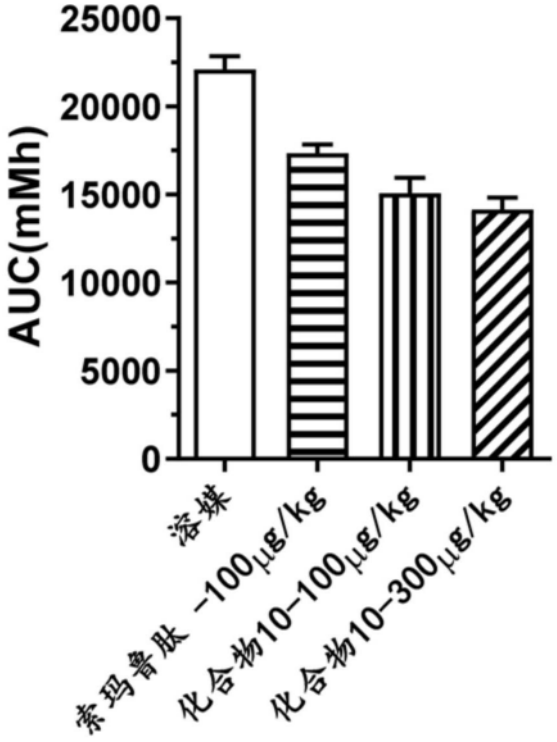

AUC(mMh)
25000
20000
15000
10000
5000
0
溶媒
索玛鲁肽 -100μg/kg
化合物10-100μg/kg
化合物10-300μg/kg

图8b

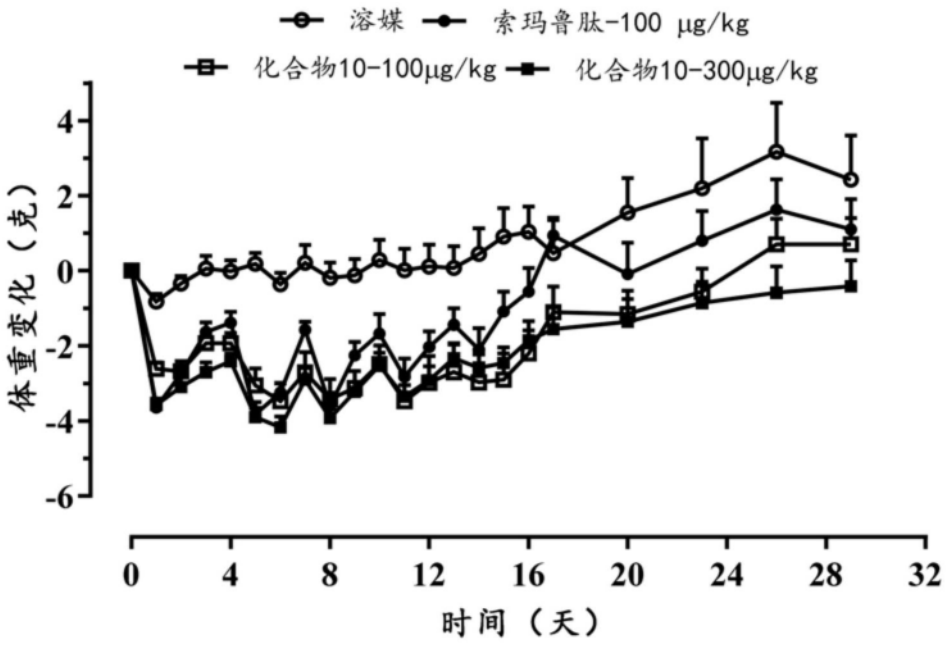

溶媒
索玛鲁肽-100 μg/kg
化合物10-100μg/kg
化合物10-300μg/kg
体重变化（克）
4
2
0
-2
-4
-6
0
4
8
12
16
20
24
28
32
时间（天）

图8c

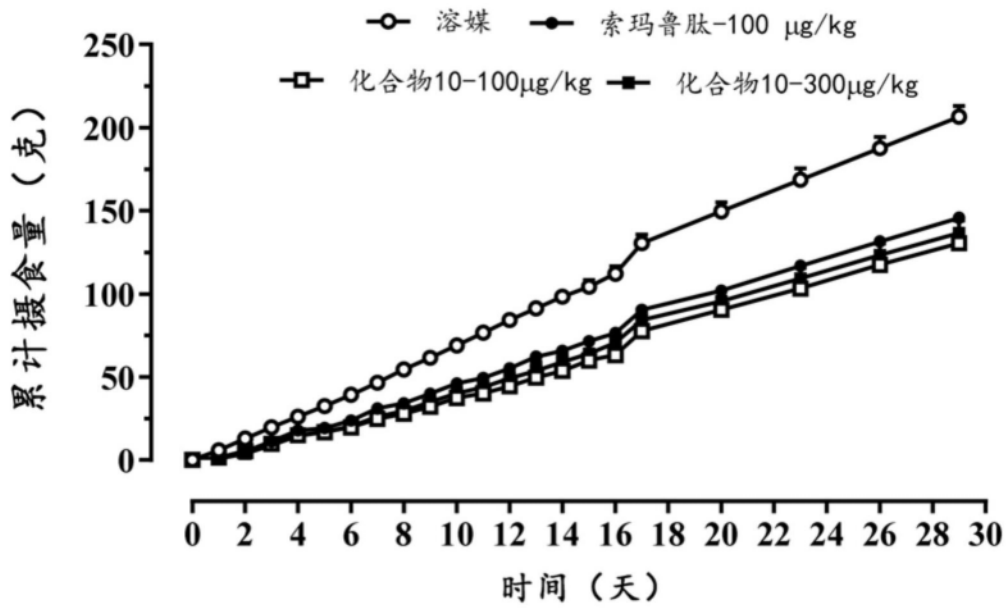

溶媒
索玛鲁肽-100 μg/kg
化合物10-100μg/kg
化合物10-300μg/kg
累计摄食量（克）
250
200
150
100
50
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
时间（天）

图8d

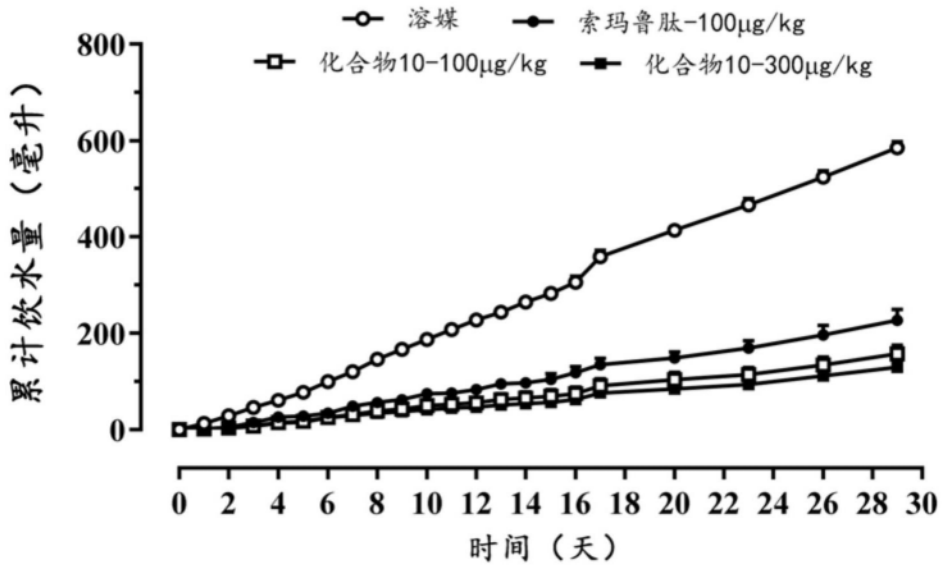

溶媒
索玛鲁肽-100μg/kg
化合物10-100μg/kg
化合物10-300μg/kg
累计饮水量（毫升）
800
600
400
200
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
时间（天）

图8e

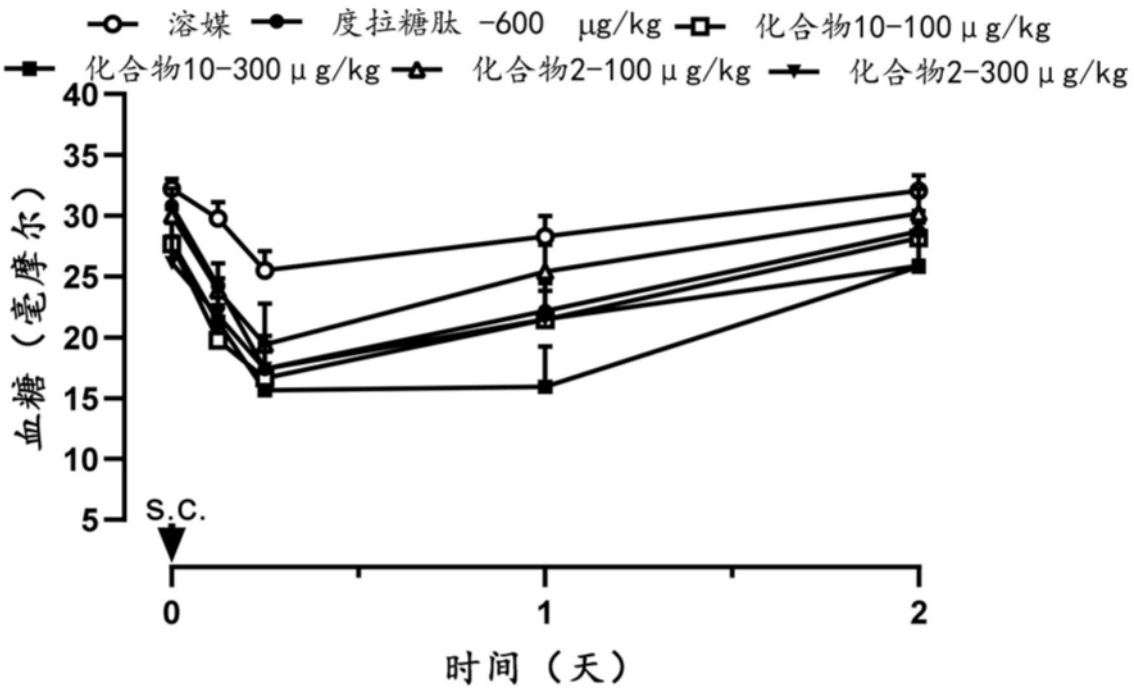

溶媒
度拉糖肽 -600 μg/kg
化合物10-100μg/kg
化合物10-300μg/kg
化合物2-100μg/kg
化合物2-300μg/kg
血糖（毫摩尔）
40
35
30
25
20
15
10
5
S.C.
0
1
2
时间（天）

图9a

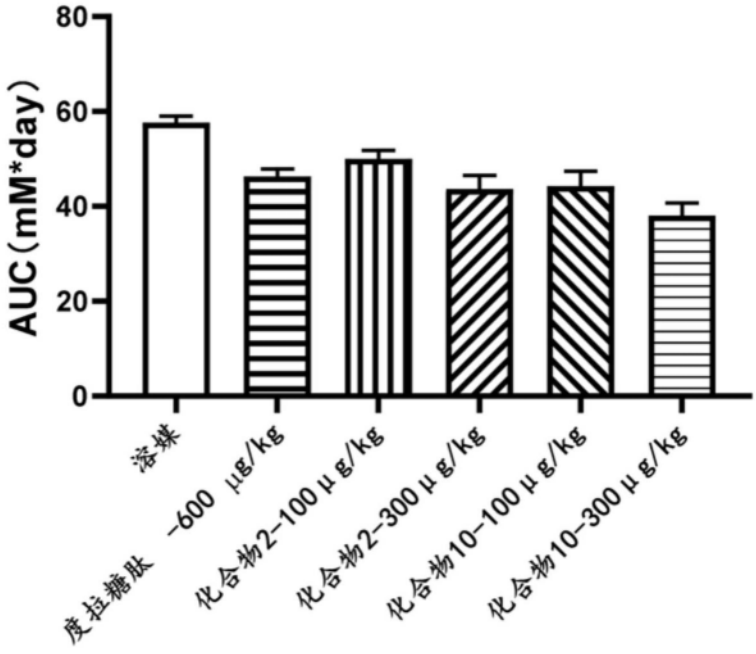

AUC(mM*day)
80
60
40
20
0
溶媒
度拉糖肽 -600 μg/kg
化合物2-100μg/kg
化合物2-300μg/kg
化合物10-100μg/kg
化合物10-300μg/kg

图9b

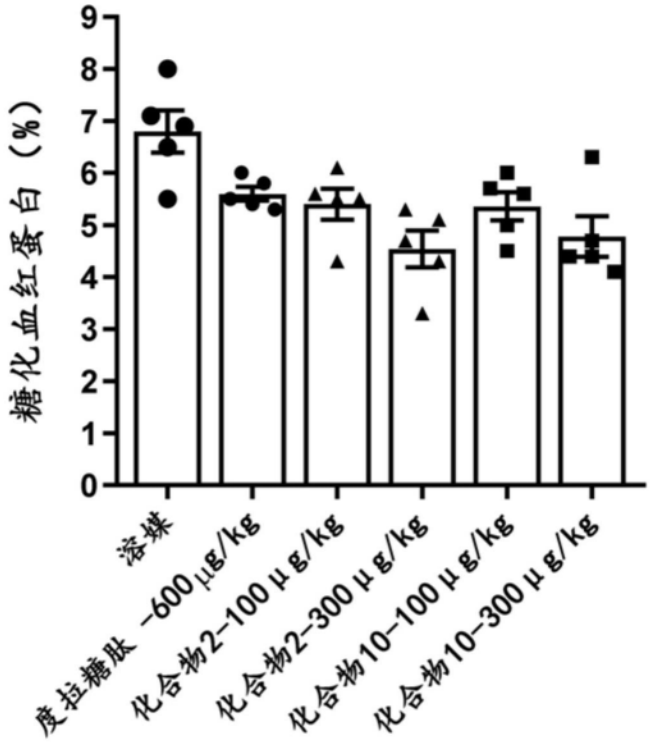

糖化血红蛋白（%）
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
溶媒
度拉糖肽 -600 μg/kg
化合物2-100 μg/kg
化合物2-300 μg/kg
化合物10-100 μg/kg
化合物10-300 μg/kg

图9c

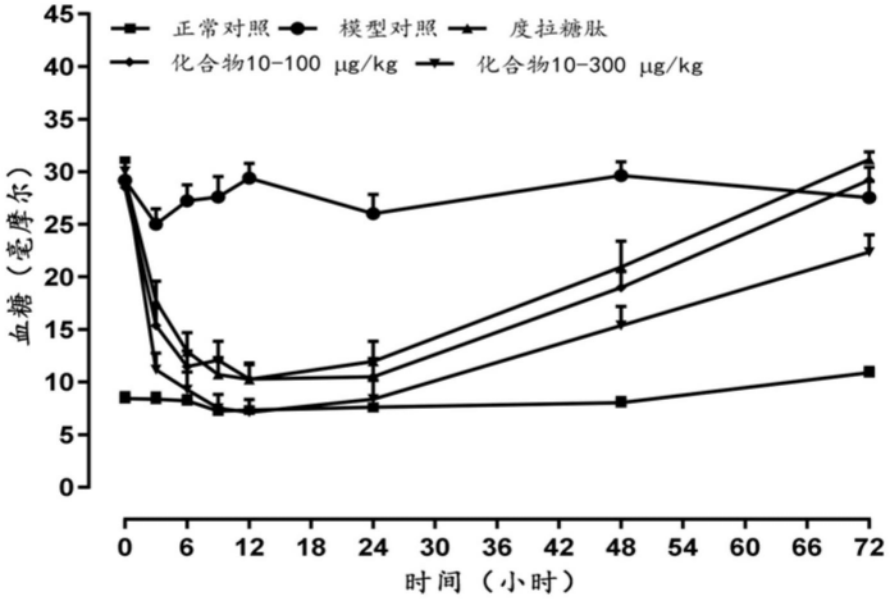

正常对照
模型对照
度拉糖肽
化合物10-100 μg/kg
化合物10-300 μg/kg
血糖（毫摩尔）
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
0 6 12 18 24 30 36 42 48 54 60 66 72
时间（小时）

图10a

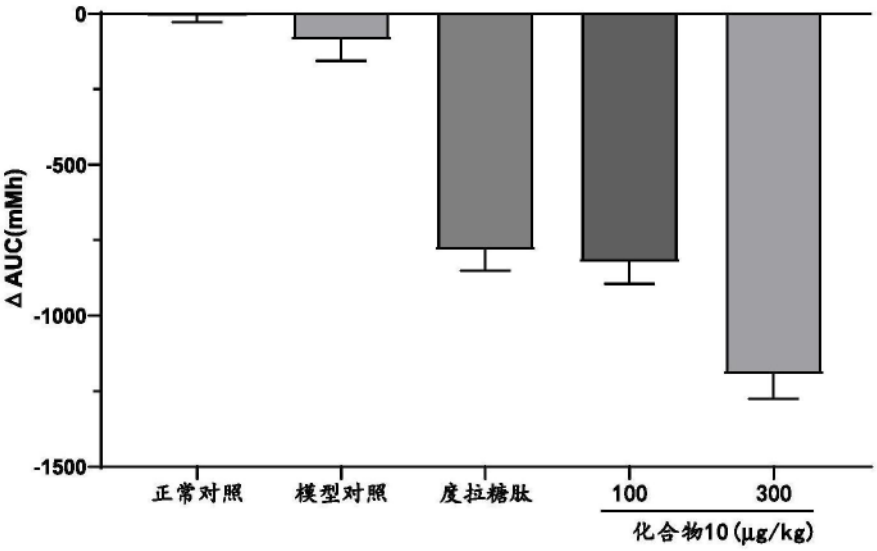

0
-500
-1000
-1500
Δ AUC(mMh)
正常对照
模型对照
度拉糖肽
100
300
化合物10(μg/kg)

图10b

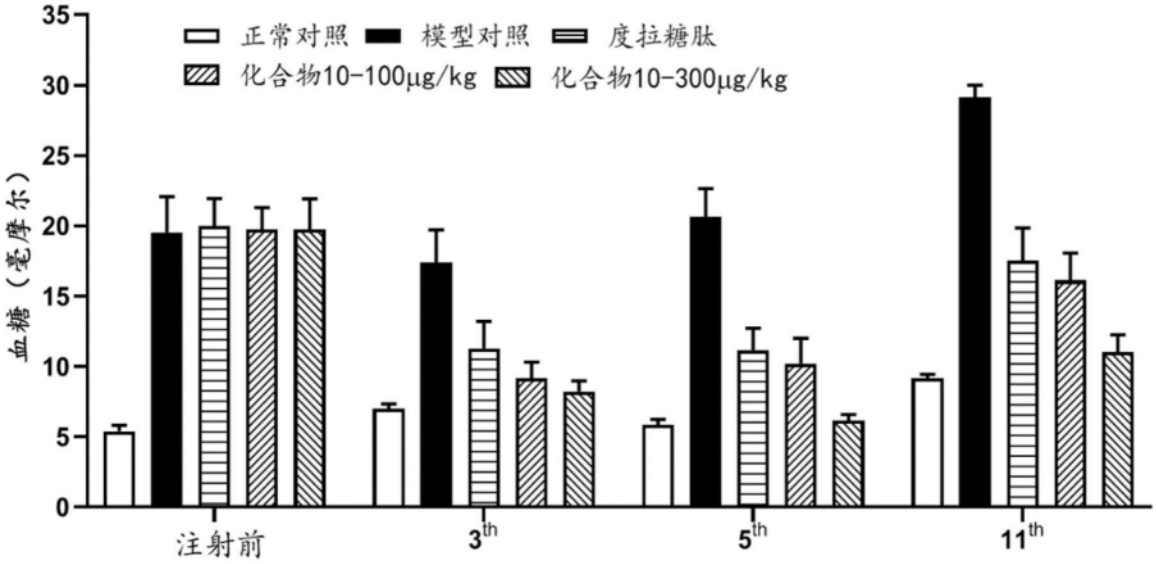

正常对照
模型对照
度拉糖肽
化合物10-100μg/kg
化合物10-300μg/kg
血糖（毫摩尔）
35
30
25
20
15
10
5
0
注射前
3th
5th
11th

图10c

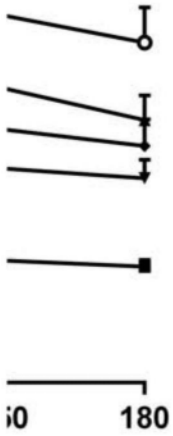

60
180

图10d

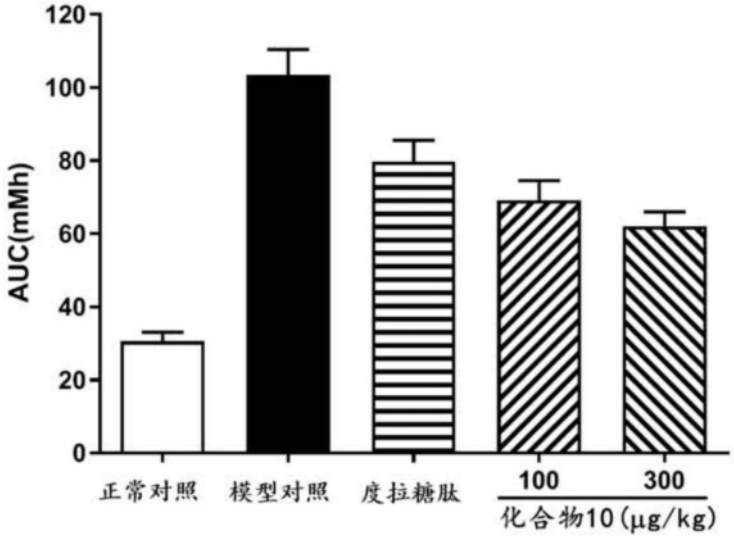

AUC(mMh)
120
100
80
60
40
20
0
正常对照
模型对照
度拉糖肽
100
300
化合物10(μg/kg)

图10e

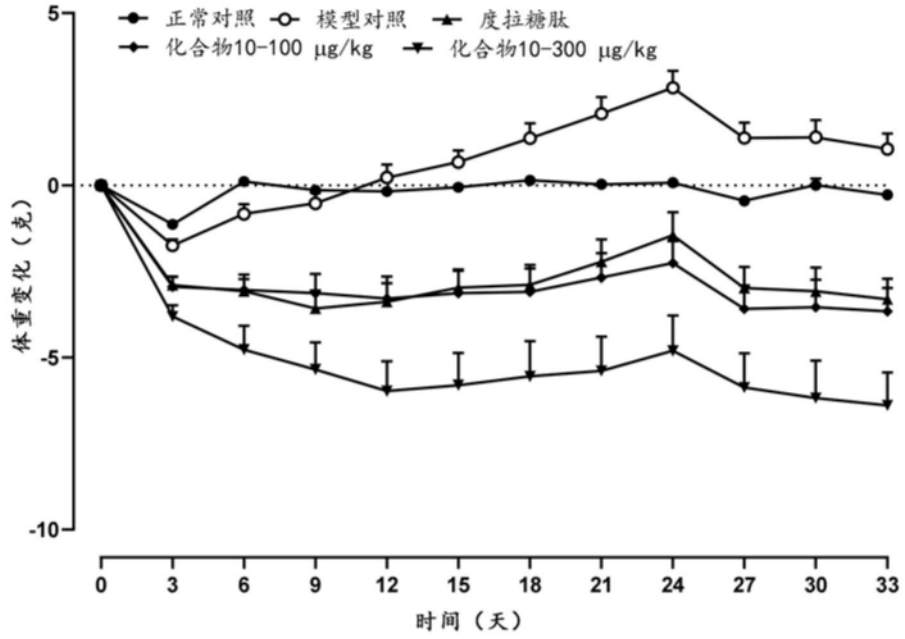

正常对照
模型对照
度拉糖肽
化合物10-100 μg/kg
化合物10-300 μg/kg
体重变化（克）
5
0
-5
-10
0
3
6
9
12
15
18
21
24
27
30
33
时间（天）

图11a

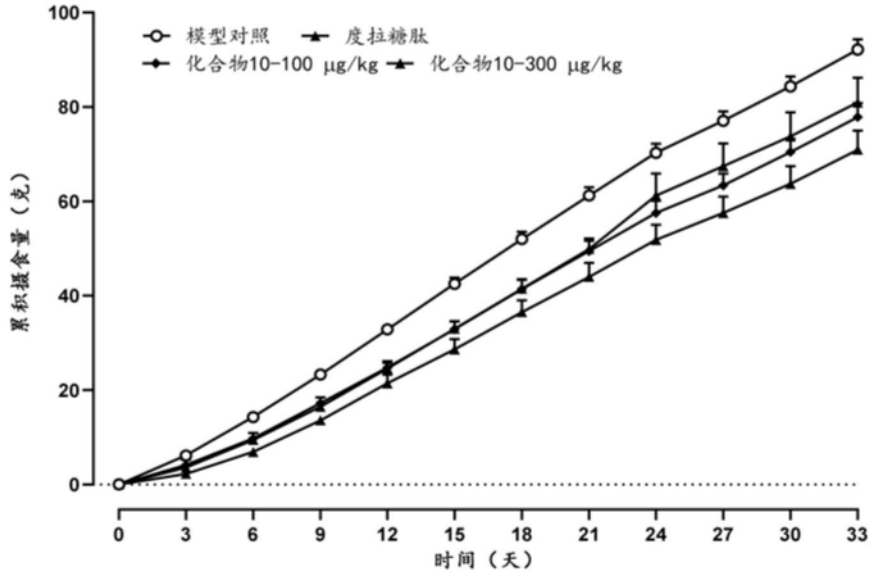

模型对照
度拉糖肽
化合物10-100 μg/kg
化合物10-300 μg/kg
累积摄食量（克）
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
15
18
21
24
27
30
33
时间（天）

图11b

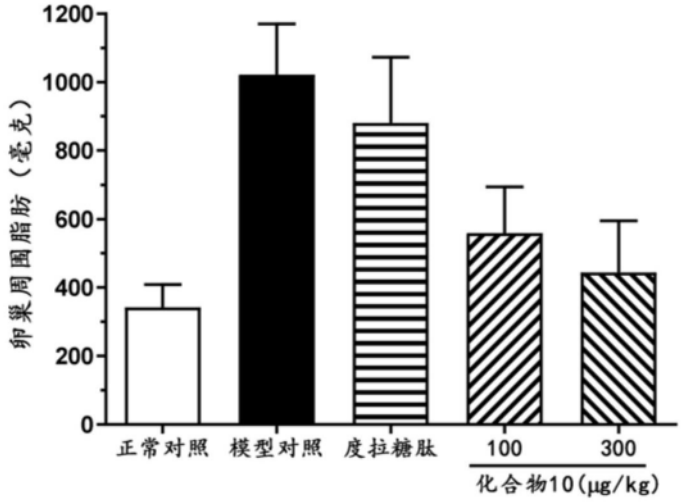

卵巢周围脂肪（毫克）
1200
1000
800
600
400
200
0
正常对照
模型对照
度拉糖肽
100
300
化合物10(μg/kg)

图11c

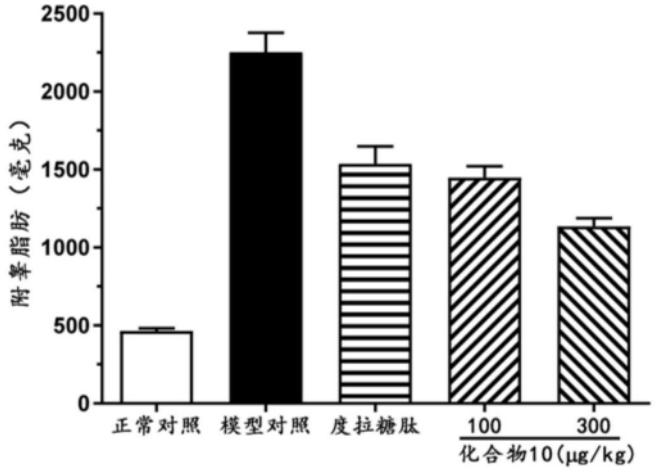

附睾脂肪（毫克）
2500
2000
1500
1000
500
0
正常对照
模型对照
度拉糖肽
100
300
化合物10(μg/kg)

图11d