



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107952065 A

(43)申请公布日 2018.04.24

(21)申请号 201711087798.8

(22)申请日 2013.11.13

(30)优先权数据

12/60808 2012.11.13 FR

12/60855 2012.11.14 FR

61/725,775 2012.11.13 US

61/726,349 2012.11.14 US

(62)分案原申请数据

201380059092.4 2013.11.13

(71)申请人 阿道恰公司

地址 法国里昂

(72)发明人 奥利维耶·索拉 格拉尔德·索拉

埃马努埃尔·多蒂

里夏尔·沙尔韦

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 郑斌 尹玉峰

(51)Int.Cl.

A61K 38/28(2006.01)

A61K 47/26(2006.01)

A61K 47/36(2006.01)

A61K 47/30(2006.01)

A61K 47/12(2006.01)

A61K 47/34(2017.01)

A61K 47/18(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

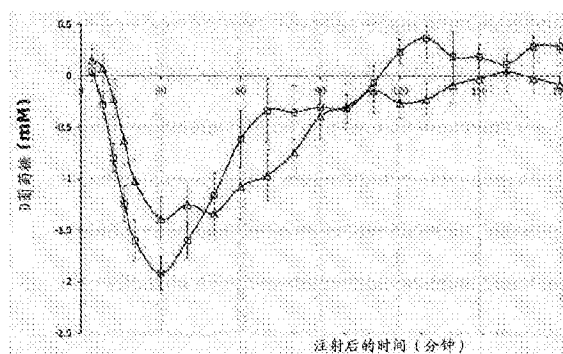
权利要求书4页 说明书61页 附图10页

(54)发明名称

包含经取代阴离子化合物的速效胰岛素制剂

(57)摘要

本发明涉及包含经取代阴离子化合物的速效胰岛素制剂。本发明涉及水溶液中的组合物，其包含胰岛素和至少一种经取代阴离子化合物，所述经取代阴离子化合物选自自由通过相同或不同的糖苷键键合的1至8之间的离散数 u ($1 \leq u \leq 8$)个相同或不同的糖单元构成的骨架组成的经取代阴离子化合物，所述糖单元选自包含环状形式或开环还原形式的己糖的组，所述化合物包含部分取代的羧基官能团，未经取代的羧基官能团是可成盐的。本发明还涉及包含根据前述权利要求中任一项所述组合物的药物制剂。



1. 水溶液中的组合物,其包含:六聚体形式的胰岛素、至少一种经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物:

-所述经取代阴离子化合物选自分离形式或作为混合物的经取代阴离子化合物,所述经取代阴离子化合物由通过相同或不同的糖苷键连接的1至8之间的离散数 u ($1 \leq u \leq 8$)个相同或不同的糖单元形成的骨架组成,所述糖单元选自环状形式或开环还原形式的己糖,其中它们被以下取代:

a) 至少一个通式I的取代基:

$-[R_1]_a-[AA]_m$ 式I

• 当具有至少两个取代基时,所述取代基是相同的或不同的,其中:

• 基团 $-[AA]$ 表示氨基酸残基

• 基团 $-R_1-$:

-为键,则 $a=0$,并且氨基酸残基 $-[AA]$ 通过官能团G与所述骨架直接连接,

-或者为C2至C15碳基链,则 $a=1$,任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子以及在与氨基酸反应前包含至少一个酸官能团,所述链与所述氨基酸残基 $-[AA]$ 形成酰胺官能团并且通过官能团F与所述骨架连接,所述官能团F通过所述骨架所带有的羟基官能团与所述基团 $-R_1-$ 的前体所带有的官能团或取代基之间的反应产生,

• F是选自醚、酯和氨基甲酸酯官能团的官能团,

• G是氨基甲酸酯官能团,

• m 等于1或2,

• $-[R_1]_a-[AA]_m$ 对糖单元的取代度 j 严格大于0并且小于或等于6, $0 < j \leq 6$,

b) 以及任选地一个或更多个取代基 $-R'_1$,

• 所述取代基 $-R'_1$ 是C2至C15碳基链,其任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子以及碱金属阳离子盐形式的至少一个酸官能团,所述链通过官能团F' 与所述骨架连接,所述官能团F' 通过所述骨架所带有的羟基官能团或羧酸官能团与所述取代基 $-R'_1$ 的前体所带有的官能团或取代基之间的反应产生,

• F' 是醚、酯或氨基甲酸酯官能团,

• $-R'_1$ 对糖单元的取代度 i 在0至6- j 之间, $0 \leq i \leq 6-j$, 并且

• F和F' 相同或不同,

• F和G相同或不同,

• $i+j \leq 6$,

• $-R'_1$ 与 $-R_1-$ 相同或不同,

• 所述取代基 $-R'_1$ 所带有的游离的可成盐的酸官能团是碱金属阳离子盐的形式,

• 所述糖苷键可以是相同的或不同的,选自 α 或 β 几何构型的(1,1)、(1,2)、(1,3)、(1,

4) 或(1,6)型糖苷键,

并且

-所述聚阴离子化合物为非聚合物聚阴离子(NPP)化合物,其对锌的亲合力小于胰岛素对锌的亲合力,并且其解离常数 $K_{dCa} = [NPP化合物]^r [Ca^{2+}]^s / [(NPP化合物)^r - (Ca^{2+})^s]$ 小于或等于 $10^{-1.5}$ 。

2. 如权利要求1所述的组合物,其中所述阴离子分子选自聚羧酸及其 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+}

盐。

3. 如权利要求2所述的组合物,其中所述聚羧酸选自柠檬酸和酒石酸,及其 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 盐。

4. 如权利要求1所述的组合物,其中所述阴离子分子选自聚磷酸及其 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 盐。

5. 如权利要求4所述的组合物,其中所述聚磷酸是三磷酸及其 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 盐。

6. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述聚阴离子化合物是由离散数个糖单元形成的糖骨架组成的化合物,所述糖单元由选自海藻糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖、纤维二糖、异麦芽糖、麦芽糖醇和异麦芽糖醇的二糖化合物获得。

7. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述胰岛素是人胰岛素。

8. 如权利要求1至6中任一项所述的组合物,其中所述胰岛素是胰岛素类似物。

9. 如权利要求8所述的组合物,其中所述胰岛素类似物选自:赖脯胰岛素(**Humalog[®]**)、门冬胰岛素(**Novolog[®]**、**Novorapid[®]**)和赖谷胰岛素(**Apidra[®]**)。

10. 如权利要求8所述的组合物,其中所述胰岛素类似物是赖脯胰岛素(**Humalog[®]**)。

11. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中经取代阴离子化合物/胰岛素的质量比为0.5至10。

12. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中经取代阴离子化合物的浓度为1.8至36mg/mL。

13. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述经取代阴离子化合物选自分离形式或作为混合物的经取代阴离子化合物,所述经取代阴离子化合物由通过相同或不同的糖苷键连接的1至8之间的离散数 u ($1 \leq u \leq 8$)个相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖单元选自环状形式或开环还原形式的己糖,其中所述经取代阴离子化合物被以下取代:

a) 至少一个通式I的取代基:

$-\text{[R}_1\text{]}_a-\text{[AA]}_m$ 式I

• 当具有至少两个取代基时,所述取代基是相同的或不同的,其中:

• 基团 $-\text{[AA]}-$ 表示氨基酸残基,

• 基团 $-\text{R}_1-$:

为键,则 $a=0$,并且氨基酸残基 $-\text{[AA]}$ 通过官能团G与所述骨架直接连接,

或者为C2至C15碳基链,则 $a=1$,任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子以及在与氨基酸反应前包含至少一个酸官能团,所述链与氨基酸残基 $-\text{[AA]}$ 形成酰胺官能团并且通过官能团F与所述骨架连接,所述官能团F通过骨架所带有的羟基官能团与所述基团 $-\text{R}_1-$ 的前体所带有的官能团或取代基之间的反应产生,

• F是选自醚、酯和氨基甲酸酯官能团的官能团,

• G是氨基甲酸酯官能团,

• m 等于1或2,

• $-\text{[R}_1\text{]}_a-\text{[AA]}_m$ 对糖单元的取代度 j 严格大于0并且小于或等于6, $0 < j \leq 6$,

b) 以及任选地一个或更多个取代基 $-\text{R}'_1$,

• 所述取代基 $-\text{R}'_1$ 是C2至C15碳基链,其任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一

个杂原子以及碱金属阳离子盐形式的至少一个酸官能团,所述链通过官能团F'与所述骨架连接,所述官能团F'通过所述骨架所带有的羟基官能团或羧酸官能团与所述取代基-R'₁的前体所带有的官能团或取代基之间的反应产生,

- F' 是醚、酯或氨基甲酸酯官能团,
- -R'₁对糖单元的取代度i在0至6-j之间, $0 \leq i \leq 6-j$, 并且
- F和F' 相同或不同,
- F和G相同或不同,
- $i+j \leq 6$,
- -R'₁与-R₁-相同或不同,
- 所述取代基-R'₁所带有的游离的可成盐的酸官能团是碱金属阳离子盐的形式,
- 所述糖苷键可以是相同的或不同的,选自 α 或 β 几何构型的(1,1)、(1,2)、(1,3)、(1,4)或(1,6)型糖苷键。

14. 如权利要求1至8中任一项所述的组合物,其中所述聚阴离子化合物选自天然地带有羧基或被羧基取代的由通过相同或不同的糖苷键连接的1至3之间的离散数u ($1 \leq u \leq 3$)个相同或不同的糖单元形成的骨架组成的化合物、阴离子分子和阴离子聚合物。

15. 药物制剂,其包含如前述权利要求中任一项所述的化合物。

16. 如权利要求11所述的药物制剂,其中所述胰岛素的浓度为240至3000 μ M (40至500IU/mL)。

17. 如权利要求12所述的药物制剂,其中所述胰岛素的浓度为600至1200 μ M (100至200IU/mL)。

18. 至少一种由通过相同或不同的糖苷键连接的1至3之间的离散数u ($1 \leq u \leq 3$)个相同或不同的糖单元形成的骨架组成的官能化阴离子化合物用于制备胰岛素药物制剂的用途,所述糖单元选自环状形式或开环还原形式的己糖,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,所述胰岛素药物制剂使得在施用后,与不含至少与作为非聚合物聚阴离子(NPP)化合物的所述聚阴离子化合物组合的经取代阴离子化合物的制剂相比,可加速胰岛素进入血液的过程并且更迅速地降低血糖,所述聚阴离子化合物对锌的亲合力小于胰岛素对锌的亲合力,并且其解离常数 $K_{dCa} = [NPP化合物]_r [Ca^{2+}]^s / [(NPP化合物)^r - (Ca^{2+})^s]$ 小于或等于 $10^{-1.5}$ 。

19. 如权利要求14所述的用途,其中所述官能化阴离子化合物处于与聚阴离子化合物的混合物中。

20. 如权利要求14或15所述的用途,其中所述经取代阴离子化合物选自经取代阴离子化合物,所述经取代阴离子化合物由通过相同或不同的糖苷键连接的1至8之间的离散数u ($1 \leq u \leq 8$)个相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖单元选自环状形式或开环还原形式的己糖,其中:

a) 它们被以下随机取代:

➤ 至少一个通式I的取代基:

$-[R_1]_a-[AA]_m$ 式I

- 当具有至少两个取代基时,所述取代基是相同的或不同的,其中:
- 基团-[AA]-表示氨基酸残基,所述氨基酸选自苯丙氨酸、 α -甲基苯丙氨酸、3,4-二羟

基苯丙氨酸、酪氨酸、 α -甲基酪氨酸、O-甲基酪氨酸、 α -苯基甘氨酸、4-羟基苯基甘氨酸和3,5-二羟基苯基甘氨酸及其碱金属阳离子盐,所述衍生物是L或D绝对构型,-[AA]-通过连接臂-R₁-与分子的骨架连接或通过官能团G与所述骨架直接连接,

- -R₁-:

- 为键G,则a=0,

- 或者为C1至C15碳基链,则a=1,其任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子以及在与氨基酸反应前具有至少一个酸官能团,所述链与所述氨基酸残基-[AA]形成酰胺键,并且通过官能团F与所述糖骨架连接,所述官能团F通过所述骨架所带有的羟基官能团与R₁的前体所带有的官能团之间的反应产生,

- F是醚、酯或氨基甲酸酯官能团,

- G是酯或氨基甲酸酯官能团,

- m等于1或2,

- -[R₁]_a-[AA]_m的取代度j严格大于0并且小于或等于6,0<j≤6,

以及,任选地

➤一个或多个取代基-R'₁,

- -R'₁是C2至C15碳基链,其任选地被取代和/或包含至少一个杂原子(例如O、N和S)并且带有碱金属阳离子盐形式的至少一个酸官能团,所述链通过官能团F'与所述糖骨架连接,所述官能团F'通过所述骨架所带有的羟基官能团与-R'₁的前体所带有的官能团之间的反应产生,

- F'是醚、酯或氨基甲酸酯官能团,

- -R'₁的取代度i在0至6-j之间,0≤i≤6-j,并且

- -R'₁与-R₁相同或不同,

- F和F'相同或不同,

- F'和G相同或不同,

- 游离的可成盐的酸官能团是碱金属阳离子盐的形式,

b) 所述糖苷键可以是相同的或不同的,选自 α 或 β 几何构型的(1,1)、(1,2)、(1,3)、(1,4)或(1,6)型糖苷键,

c) i+j≤6。

21. 如权利要求15和16中任一项所述的用途,其中所述聚阴离子化合物选自天然地带羧基或被羧基取代的由通过相同或不同的糖苷键连接的1至3之间的离散数u (1≤u≤3)个相同或不同的糖单元形成的骨架组成的化合物、阴离子分子和阴离子聚合物。

22. 用于制备胰岛素浓度为240至3000μM (40至500IU/mL) 并且在人中的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物的相同胰岛素浓度的参考制剂的作用延迟更低的人胰岛素制剂的方法,所述方法包括向所述制剂中添加至少一种包含部分取代的羧基官能团的阴离子化合物的步骤。

23. 用于制备胰岛素浓度为240至3000μM (40至500IU/mL) 并且在人中的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物的相同胰岛素浓度的参考制剂的作用延迟更低的胰岛素类似物制剂的方法,所述方法包括向所述制剂中添加至少一种包含部分取代的羧基官能团的阴离子化合物的步骤。

包含经取代阴离子化合物的速效胰岛素制剂

[0001] 本申请是申请号为201380059092.4的中国专利申请的分案申请,原申请是2013年11月13日提交的PCT国际申请PCT/FR2013/052736于2015年5月12日进入中国国家阶段的申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及速效胰岛素制剂。

背景技术

[0003] 自二十世纪80年代初通过基因工程生产胰岛素以来,糖尿病患者受益于人胰岛素对他们的治疗。由于消除了与使用非人胰岛素(特别是猪胰岛素)相关的免疫学风险,这种产品极大改善了这种治疗。但是,皮下注射人胰岛素仅仅在60分钟后具有降血糖效果,这意味着用人胰岛素治疗的糖尿病患者必须在餐前30分钟进行注射。

[0004] 为了改善糖尿病患者的健康和舒适度,一个需要解决的问题是向他们提供比人胰岛素更快速赋予降血糖应答的胰岛素制剂,如果可能的话,接近健康人的降血糖应答的应答。健康个体中内源胰岛素的分泌通过血糖过多立即触发。目标是尽可能缩短注射胰岛素与开始用餐之间的延迟。

[0005] 目前,接受的是,为了使患者接受尽可能好的医疗保健,提供这种制剂是有用的。

[0006] 基因工程已经能够用速效胰岛素类似物的开发来提供这种应答。这些胰岛素是对一个或两个氨基酸进行修饰以便在皮下注射后更迅速吸收到血液室中。这些胰岛素中,赖脯胰岛素(**Humalog[®]**, Lilly)、门冬胰岛素(**Novolog[®]**, Novo)和赖谷胰岛素(**Apidra[®]**, Sanofi Aventis)是具有比人胰岛素更快的降血糖应答的稳定胰岛素溶液。因此,用这些速效胰岛素类似物治疗的患者可在餐前仅15分钟时进行胰岛素注射。

[0007] 速效胰岛素类似物的原理是形成浓度为100IU/mL的六聚体以确保胰岛素在商业产品中稳定,同时在皮下注射后促进这些六聚体非常迅速的分解以获得速效作用。

[0008] 以商业形式配制的人胰岛素不能获得在动力学方面接近于开始进餐产生的生理学应答(血糖增加)的降血糖应答,因为在工作浓度(100IU/mL),其在锌和其他赋形剂如苯酚或间甲酚的存在下聚集形成六聚体,但是其在单体和二聚体形式中才有活性。人胰岛素被配制成六聚体形式以在4℃稳定长达2年,因为在单体形式下,其具有非常高的聚集然后原纤维化使得其失去活性的趋势。此外,在这种聚集形式下,其对患者具有免疫风险。

[0009] 与速效胰岛素类似物相比,六聚体分解为二聚体以及二聚体分解为单体使其作用延迟近20分钟(Brange J.,等,Advanced Drug Delivery Review,35,1999,307-335)。

[0010] 另外,胰岛素类似物进入血液的过程的动力学及其降血糖动力学不是最佳的,因此对具有甚至更短动作时间以接近于健康个体的内源胰岛素分泌的动力学的制剂具有实际需要。

[0011] Biodel公司通过包含EDTA和柠檬酸的人胰岛素制剂为这个问题提出了一种解决方案,如专利申请US200839365中描述的。EDTA与锌原子络合的能力以及柠檬酸与胰岛素表

面存在的阳离子区域的相互作用被描述为降低六聚体形式胰岛素的稳定性,因此降低其动作时间。

[0012] 但是,这种制剂尤其具有使胰岛素的六聚体形式分解的缺点,而这种六聚体是唯一能够满足药物条规的稳定性要求的稳定形式。

[0013] 本申请人名下的PCT专利申请W0 2010/122385也是已知的,其描述了可通过添加包含羧基的经取代多糖来解决上述多种问题的人胰岛素或胰岛素类似物制剂。

[0014] 但是,长期和集约使用或甚至儿科使用这种制剂的要求使得本领域技术人员寻求使用摩尔质量和尺寸尽可能小的赋形剂,以便有利于其清除。

[0015] 专利申请W0 2010/122385A1和US 2012/094902A1中描述为赋形剂的多糖是由长度在统计学上可变并且非常富含与蛋白质活性成分相互作用的可能位点的链构成的化合物。这种富含可能诱导相互作用方面特异性的缺乏,并且更小和更好限定的分子可能使得其能够在这个方面更具特异性。

[0016] 另外,当与在质谱中通常产生非常弥散的噪声信号的聚合物相比,具有清楚定义的骨架的分子在药物代谢动力学或ADME(施用、分布、代谢、消除)实验中通常更容易在生物介质中追踪(例如,MS/MS)。

[0017] 相反地,不排除的是清楚定义且较短的分子可能具有与蛋白质活性成分相互作用的可能位点的不足。特别地,由于其尺寸减小,其不具有与多糖型聚合物相同的特性,因为有聚合物效果的损失,如在实验部分的比较例中证明的。尤其参见在等电点溶解胰岛素的测试和与模型蛋白质(例如白蛋白)相互作用的测试。

[0018] 尽管这些令人沮丧的结果,申请人成功开发了能够通过使用与聚阴离子化合物组合的经取代阴离子化合物加速胰岛素的制剂。

[0019] 此外,在使用多糖的情况下,胰岛素的六聚体性质不受影响,因此制剂的稳定性不受影响,如根据本发明在经取代阴离子化合物的存在下通过圆二色谱说明人胰岛素和胰岛素类似物的缔合的实例进一步验证的。

发明内容

[0020] 本发明可以解决上述多个问题,因为其尤其能够制备与相应商业胰岛素产品相比,在施用后能够加速人胰岛素或其类似物进入血液的过程并且更快速降低血糖的人胰岛素或胰岛素类似物制剂。

[0021] 本发明由水溶液中的组合物组成,所述组合物包含六聚体形式的胰岛素、至少一种经取代阴离子化合物和非聚合物聚阴离子化合物。

[0022] 术语“经取代阴离子化合物”意指由通过相同或不同的糖苷键连接的1至8之间的离散数 u ($1 \leq u \leq 8$)个相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成的化合物,所述糖单元选自环状形式或开环还原形式的己糖,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的。

[0023] 在一个实施方案中,胰岛素是六聚体形式。

[0024] 在一个实施方案中,胰岛素是人胰岛素。

[0025] 术语“人胰岛素”意指通过合成或重组获得的肽序列为人胰岛素序列的胰岛素,包括等位变体和同源物。

[0026] 在一个实施方案中,胰岛素是欧洲药典和美国药典中描述的重组人胰岛素。

[0027] 在一个实施方案中,胰岛素是胰岛素类似物。

[0028] 术语“胰岛素类似物”意指相对于人胰岛素的一级序列,一级序列中包含至少一个改变的重组胰岛素。

[0029] 在一个实施方案中,胰岛素类似物选自赖脯胰岛素(**Humalog[®]**)、门冬胰岛素(**Novolog[®]**, **Novorapid[®]**)和赖谷胰岛素(**Apidra[®]**)。

[0030] 在一个实施方案中,胰岛素类似物是赖脯胰岛素(**Humalog[®]**)。

[0031] 在一个实施方案中,胰岛素类似物是门冬胰岛素(**Novolog[®]**, **Novorapid[®]**)。

[0032] 在一个实施方案中,胰岛素类似物是赖谷胰岛素(**Apidra[®]**)。

[0033] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自分离形式或作为混合物的经取代阴离子化合物,所述经取代阴离子化合物由通过相同或不同的糖苷键连接的1至8之间的离散数 u ($1 \leq u \leq 8$)个相同或不同的糖单元形成的骨架组成,所述糖单元选自环状形式或开环还原形式的己糖,特征在于其被以下取代:

[0034] a) 至少一个通式I的取代基:

[0035] $-[R_1]_a-[AA]_m$ 式I

[0036] ●当具有至少两个取代基时,所述取代基是相同的或不同的,其中:

[0037] ●基团 $-[AA]$ 表示氨基酸残基

[0038] ●基团 $-R_1-$:

[0039] $-$ 为键,则 $a=0$,并且氨基酸残基 $-[AA]$ 通过官能团G与骨架直接连接,

[0040] $-$ 或者为C2至C15碳基链,则 $a=1$,任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子,以及在与氨基酸反应前包含至少一个酸官能团,所述链与氨基酸残基 $-[AA]$ 形成酰胺官能团并且通过官能团F与所述骨架连接,所述官能团F通过骨架所带有的羟基官能团与基团 $-R_1-$ 的前体所带有的官能团或取代基之间的反应产生,

[0041] ●F是选自醚、酯和氨基甲酸酯官能团的官能团,

[0042] ●G是氨基甲酸酯官能团,

[0043] ● m 等于1或2,

[0044] ● $-[R_1]_a-[AA]_m$ 对糖单元的取代度 j 严格大于0并且小于或等于6, $0 < j \leq 6$,

[0045] b) 以及任选地一个或更多个取代基 $-R'_1$,

[0046] ●取代基 $-R'_1$ 是C2至C15碳基链,其任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子以及碱金属阳离子盐形式的至少一个酸官能团,所述链通过官能团F'与骨架连接,所述官能团F'通过骨架所带有的羟基官能团与取代基 $-R'_1$ 的前体所带有的官能团或取代基之间的反应产生,

[0047] ●F'是醚、酯或氨基甲酸酯官能团,

[0048] ● $-R'_1$ 对糖单元的取代度 i 在0至6- j 之间, $0 \leq i \leq 6-j$,并且

[0049] ●F和F'相同或不同,

[0050] ●F和G相同或不同,

[0051] ● $i+j \leq 6$,

[0052] ●-R'₁与-R₁相同或不同,

[0053] ●取代基-R'₁所带有的游离的可成盐的酸官能团是碱金属阳离子盐的形式,

[0054] ●所述糖苷键可以是相同的或不同的,选自α或β构型的(1,1)、(1,2)、(1,3)、(1,4)或(1,6)型糖苷键。

[0055] 在一个实施方案中,分离形式或作为混合物的经取代阴离子化合物选自经取代阴离子化合物:所述经取代阴离子化合物由通过相同或不同的糖苷键连接的1至8之间的离散数u (1≤u≤8)个相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖单元选自环状形式或开环还原形式的己糖,所述经取代阴离子化合物的特征在于:

[0056] a) 其任选地被以下取代:

[0057] ➤至少一个通式I的取代基:

[0058] -[R₁]_a-[AA]_m 式I

[0059] ●当具有至少两个取代基时,所述取代基是相同的或不同的,其中:

[0060] ●基团-[AA]-表示氨基酸残基,所述氨基酸选自苯丙氨酸、α-甲基苯丙氨酸、3,4-二羟基苯丙氨酸、酪氨酸、α-甲基酪氨酸、0-甲基酪氨酸、α-苯基甘氨酸、4-羟基苯基甘氨酸和3,5-二羟基苯基甘氨酸及其碱金属阳离子盐,所述衍生物是L或D绝对构型,-[AA]通过连接臂-R₁-与分子的骨架连接或通过官能团G与所述骨架直接连接,

[0061] ●-R₁-:

[0062] -为键G,则a=0,

[0063] -或者为C₂至C₁₅碳基链,此时a=1,其任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子以及在与氨基酸反应前具有至少一个酸官能团,所述链与氨基酸残基-[AA]形成酰胺键,并且通过官能团F与所述糖骨架连接,所述官能团F通过骨架所带有的羟基官能团与R₁的前体所带有的官能团之间的反应产生,

[0064] ●F是醚、酯或氨基甲酸酯官能团,

[0065] ●G是氨基甲酸酯官能团,

[0066] ●m等于1或2,

[0067] ●-[R₁]_a-[AA]_m的取代度j严格大于0并且小于或等于6,0<j≤6,以及,任选地

[0068] ➤一个或更多个取代基-R'₁,

[0069] ●-R'₁是C₂至C₁₅碳基链,其任选地被取代和/或包含至少一个杂原子(例如O、N和S)并且具有碱金属阳离子盐形式的至少一个酸官能团,所述链通过官能团F'与糖骨架连接,所述官能团F'通过骨架所带有的羟基官能团和-R'₁的前体所带有的官能团之间的反应产生,

[0070] ●F'是醚、酯或氨基甲酸酯官能团,

[0071] ●-R'₁的取代度i在0至6-j之间,0≤i≤6-j,并且

[0072] ●-R'₁与-R₁相同或不同,

[0073] ●F和F'相同或不同

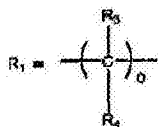
[0074] ●F'和G相同或不同

[0075] ●游离的可成盐的酸官能团是碱金属阳离子盐的形式,

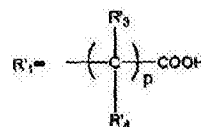
[0076] b) 所述糖苷键可以是相同的或不同的,选自α或β几何构型的(1,1)、(1,2)、(1,3)、(1,4)或(1,6)型糖苷键,

- [0077] c) $i+j \leq 6$ 。
- [0078] 在一个实施方案中, m 等于 1。
- [0079] 在一个实施方案中, $-R_1$ 和 $-R'_1$ 可以相同或不同, 并且是 C2 至 C8 的碳基链。
- [0080] 在一个实施方案中, $-R_1$ 和 $-R'_1$ 可以相同或不同, 并且是 C2 至 C4 的碳基链。
- [0081] i 和 j 是统计学取代度, 代表每个糖单元上取代基的平均数。由于每个糖单元具有不同反应性的多个羟基官能团, 经取代阴离子化合物上取代基的分布可在同一聚阴离子化化合物的不同糖单元之间不同。
- [0082] 在一个实施方案中, $0.3 \leq i$ 。
- [0083] 在一个实施方案中, $0.4 \leq i$ 。
- [0084] 在一个实施方案中, $i \leq 3$ 。
- [0085] 在一个实施方案中, $i \leq 2.5$ 。
- [0086] 在一个实施方案中, $0.3 \leq j$ 。
- [0087] 在一个实施方案中, $0.4 \leq j$ 。
- [0088] 在一个实施方案中, $j \leq 2$ 。
- [0089] 在一个实施方案中, $j \leq 1.8$ 。
- [0090] 在一个实施方案中, i 和 j 满足 $0 < i+j \leq 6$ 。
- [0091] 在一个实施方案中, $0 < i+j \leq 5$ 。
- [0092] 在一个实施方案中, $0 < i+j \leq 4$ 。
- [0093] 在一个实施方案中, $0 < i+j \leq 3$ 。
- [0094] 在一个实施方案中, $0 < i+j \leq 2.5$ 。
- [0095] 在一个实施方案中, $0 < i+j \leq 2$ 。
- [0096] 在一个实施方案中, $0.5 \leq i+j \leq 3$ 。
- [0097] 在一个实施方案中, $0.5 \leq i+j \leq 2.5$ 。
- [0098] 在一个实施方案中, $0.5 \leq i+j \leq 2$ 。
- [0099] 在一个实施方案中, $0.6 \leq i+j \leq 3.5$ 。
- [0100] 在一个实施方案中, $0.8 \leq i+j \leq 2.5$ 。
- [0101] 在一个实施方案中, $0.7 \leq i+j \leq 2.5$ 。
- [0102] 在一个实施方案中, $0.7 \leq i+j \leq 2$ 。
- [0103] 在一个实施方案中, $1 < i+j \leq 2.5$ 。
- [0104] 在一个实施方案中, $1 < i+j \leq 2$ 。
- [0105] 在一个实施方案中, $-R_1$ 和 $-R'_1$ 通过醚键与骨架连接。
- [0106] 在一个实施方案中, $-R_1$ 是碳基链, 其通过醚键直接与骨架连接。
- [0107] 在一个实施方案中, $-R_1$ 是碳基链, 其任选地包含选自 O、N 和 S 的杂原子。
- [0108] 在一个实施方案中, $-R_1$ 与氨基酸残基 AA 形成酰胺键, 并且通过醚官能团 F 直接与骨架连接。
- [0109] 在一个实施方案中, $-R_1$ 与氨基酸残基 AA 形成酰胺键, 并且通过氨基甲酸酯官能团 F 直接与骨架连接。
- [0110] 在一个实施方案中, $-R_1$ 与氨基酸残基 AA 形成酰胺键, 并且通过酯官能团 F 直接与骨架连接。

[0111] 在一个实施方案中, -R₁-和-R'₁选自式II和式III的基团



式 II



式 III

[0113] 其中:

[0114] ●o和p可以是相同的或不同的,大于或等于1并且小于或等于12,以及

[0115] ●-R₃、-R'₃、-R₄和-R'₄可以是相同的或不同的,选自氢原子、饱和或不饱和直链、支链或环状C1至C6烷基、苄基、C7至C10烷基芳基,并且任选地包含选自O、N和/或S的杂原子,或者选自羧酸、胺、醇和巯基官能团的官能团。

[0116] 在一个实施方案中,-R₁-在与-AA-连接之前是-CH₂-COOH。

[0117] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于基团-R'₁是-CH₂-COOH。

[0118] 在一个实施方案中,-R₁-在任选地与-AA-连接之前来自柠檬酸。

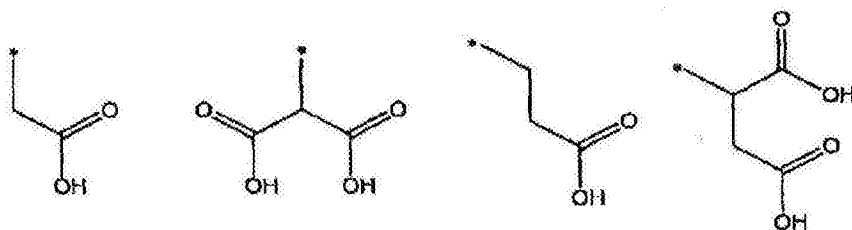
[0119] 在一个实施方案中,-R₁-在任选地与-AA-连接之前来自苹果酸。

[0120] 在一个实施方案中,-R'₁来自柠檬酸。

[0121] 在一个实施方案中,-R'₁来自苹果酸。

[0122] 在一个实施方案中,-R₁-在与-AA-连接之前选自以下基团,其中*表示与F连接的位点:

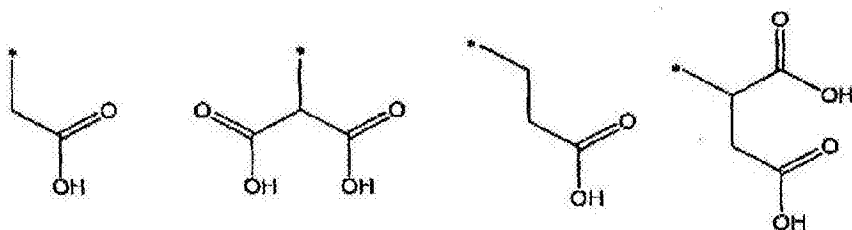
[0123]



[0124] 或者其具有选自Na⁺和K⁺的碱金属阳离子的盐。

[0125] 在一个实施方案中,-R'₁选自以下基团,其中*表示与F连接的位点:

[0126]



[0127] 或者其具有选自Na⁺和K⁺的碱金属阳离子的盐。

[0128] 在一个实施方案中,基团-[AA]是L、D或外消旋绝对构型的苯丙氨酸及其碱金属阳离子盐的残基。

[0129] 在一个实施方案中,基团-[AA]是L、D或外消旋绝对构型的α-甲基苯丙氨酸及其碱金属阳离子盐的残基。

[0130] 在一个实施方案中,基团-[AA]是L、D或外消旋绝对构型的3,4-二羟基苯丙氨酸及其碱金属阳离子盐的残基。

[0131] 在一个实施方案中,基团-[AA]是L或D或外消旋绝对构型的酪氨酸及其碱金属阳离子盐的残基。

[0132] 在一个实施方案中,基团-[AA]是L或D或外消旋绝对构型的 α -甲基酪氨酸及其碱金属阳离子盐的残基。

[0133] 在一个实施方案中,基团-[AA]是L或D或外消旋绝对构型的O-甲基酪氨酸及其碱金属阳离子盐的残基。

[0134] 在一个实施方案中,基团-[AA]是L或D或外消旋绝对构型的 α -苯基甘氨酸及其碱金属阳离子盐的残基。

[0135] 在一个实施方案中,基团-[AA]是L或D或外消旋绝对构型的4-羟基苯基甘氨酸及其碱金属阳离子盐的残基。

[0136] 在一个实施方案中,基团-[AA]是L或D或外消旋绝对构型的3,5-二羟基苯基甘氨酸及其碱金属阳离子盐的残基。

[0137] 在一个实施方案中,基团-[AA]是外消旋混合物形式的氨基酸残基。

[0138] 在一个实施方案中,基团-[AA]是D绝对构型的分离异构体形式的氨基酸残基。

[0139] 在一个实施方案中,基团-[AA]是L绝对构型的分离异构体形式的氨基酸残基。

[0140] 在一个实施方案中,u在1至5之间。

[0141] 在一个实施方案中,u在3至5之间。

[0142] 在一个实施方案中,u=8。

[0143] 在一个实施方案中,u=7。

[0144] 在一个实施方案中,u=6。

[0145] 在一个实施方案中,u=5。

[0146] 在一个实施方案中,u=4。

[0147] 在一个实施方案中,u=3。

[0148] 在一个实施方案中,u=2。

[0149] 在一个实施方案中,u=1。

[0150] 在一个实施方案中,己糖选自:甘露糖、葡萄糖、果糖、山梨糖、塔格糖、阿洛酮糖、半乳糖、阿洛糖、阿卓糖、塔洛糖、艾杜糖、古洛糖、岩藻糖、墨角藻糖、鼠李糖、甘露醇、山梨醇和半乳糖醇(卫矛醇)。

[0151] 在一个实施方案中,糖苷键为(1,4)或(1,6)型。

[0152] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由通过相同(1,1)型糖苷键连接的离散数u=2个选自己糖的相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成。

[0153] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由通过(1,1)型糖苷键连接的离散数u=2个选自己糖的不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖骨架选自海藻糖和蔗糖。

[0154] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由通过(1,2)型糖苷键连接的离散数u=2个选自己糖的相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成。

[0155] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由通过(1,2)型糖苷键连接的离散数u=2个选自己糖的相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖骨架是曲二糖。

[0156] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由通过(1,3)型糖苷键连接的离散数 $u=2$ 个选自己糖的相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成。

[0157] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由通过(1,3)型糖苷键连接的离散数 $u=2$ 个选自己糖的不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖骨架选自黑曲霉糖和昆布二糖。

[0158] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由通过(1,4)型糖苷键连接的离散数 $u=2$ 个选自己糖的相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成。

[0159] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由通过(1,4)型糖苷键连接的离散数 $u=2$ 个选自己糖的相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖骨架选自麦芽糖、乳糖和纤维二糖。

[0160] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由通过(1,6)型糖苷键连接的离散数 $u=2$ 个选自己糖的相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成。

[0161] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由通过(1,6)型糖苷键连接的离散数 $u=2$ 个选自己糖的相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖骨架选自异麦芽糖、蜜二糖和龙胆二糖。

[0162] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由通过(1,6)型糖苷键连接的离散数 $u=2$ 个选自己糖的相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖骨架是异麦芽糖。

[0163] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由离散数 $u=2$ 个糖单元形成的糖骨架组成,一个所述糖单元是环状形式,另一个是开环还原形式。

[0164] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物选自阴离子化合物,其由离散数 $u=2$ 个糖单元形成的糖骨架组成,一个所述糖单元是环状形式,另一个是开环还原形式,所述糖骨架选自麦芽糖醇和异麦芽糖醇。

[0165] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架由离散数 $3 \leq u \leq 8$ 个相同或不同的糖单元形成。

[0166] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,构成由离散数 $3 \leq u \leq 8$ 个糖单元形成的糖骨架的所述相同或不同的糖单元中至少一个选自通过相同或不同的糖苷键连接的己糖单元。

[0167] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,构成由离散数 $3 \leq u \leq 8$ 个糖单元形成的糖骨架的所述相同或不同的糖单元选自己糖并且通过至少一个(1,2)型糖苷键连接。

[0168] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,构成由离散数 $3 \leq u \leq 8$ 个糖单元形成的糖骨架的所述相同或不同的糖单元选自己糖并且通过至少一个(1,3)型糖苷键连接。

[0169] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,构成由离散数 $3 \leq u \leq 8$ 个糖单元形成的糖骨架的所述相同或不同的糖单元选自己糖并且通过至少一个(1,4)型糖苷键连接。

[0170] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,构成由离散数 $3 \leq u \leq 8$ 个糖单元形成的糖骨架的所述相同或不同的糖单元选自己糖并且通过至少一个

(1,6)型糖苷键连接。

[0171] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架由离散数 $u=3$ 个相同或不同的糖单元形成。

[0172] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,其包含至少一个选自环状形式己糖的糖单元和至少一个选自开环形式式的己糖的糖单元。

[0173] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,三个糖单元是相同的。

[0174] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,三个糖单元中的两个是相同的。

[0175] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,相同的糖单元选自己糖,其中两个是环状形式,一个是开环还原形式,并且通过(1,4)型糖苷键连接。

[0176] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,相同的糖单元选自己糖,其中两个是环状形式,一个是开环还原形式,并且通过(1,6)型糖苷键连接。

[0177] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,相同或不同的糖单元选自己糖,并且中央己糖通过(1,2)型糖苷键和(1,4)型糖苷键连接。

[0178] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,相同或不同的糖单元选自己糖,并且中央己糖通过(1,3)型糖苷键和(1,4)型糖苷键连接。

[0179] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,相同或不同的糖单元选自己糖,并且中央己糖通过(1,2)型糖苷键和(1,6)型糖苷键连接。

[0180] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,相同或不同的糖单元选自己糖,并且中央己糖通过(1,2)型糖苷键和(1,3)型糖苷键连接。

[0181] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,相同或不同的糖单元选自己糖,并且中央己糖通过(1,4)型糖苷键和(1,6)型糖苷键连接。

[0182] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是吡喃葡萄糖基蔗糖(erlose)。

[0183] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,三个相同或不同的糖单元是选自甘露糖和葡萄糖的己糖单元。

[0184] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是麦芽三糖。

[0185] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是异麦芽三糖。

[0186] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架由离散数 $u=4$ 个相同或不同的糖单元形成。

[0187] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,4个糖单元是相同的。

[0188] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,4个糖单元中的3个是相同的。

[0189] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,4个糖单元是选自甘露糖和葡萄糖的己糖单元。

[0190] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是麦芽四糖。

[0191] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,相同或不同的糖单元选自己糖,并且末端己糖通过(1,2)型糖苷键连接,而且其他己糖通过(1,6)型糖苷键连接在一起。

[0192] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,相同或不同的糖单元选自己糖,并且通过(1,6)型糖苷键连接。

[0193] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架由离散数 $u=5$ 个相同或不同的糖单元形成。

[0194] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,5个糖单元是相同的。

[0195] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,5个糖单元是选自甘露糖和葡萄糖的己糖单元。

[0196] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,相同或不同的糖单元选自己糖,并且通过(1,4)型糖苷键连接。

[0197] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是麦芽五糖。

[0198] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架由离散数 $u=6$ 个相同或不同的糖单元形成。

[0199] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,6个糖单元是相同的。

[0200] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,所述相同或不同的糖单元选自己糖,并且通过(1,4)型糖苷键连接。

[0201] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,6个相同或不同的糖单元是选自甘露糖和葡萄糖的己糖单元。

[0202] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是麦芽六糖。

[0203] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架由离散数 $u=7$ 个相同或不同的糖单元形成。

[0204] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,7个糖单元是相同的。

[0205] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,所述相同或不同的糖单元选自己糖,并且通过(1,4)型糖苷键连接。

[0206] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,所述7个糖单元选自甘露糖和葡萄糖的己糖单元。

[0207] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是麦芽七糖。

[0208] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架由离散数 $u=8$ 个相同或不同的糖单元形成。

[0209] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,8个糖单元是相同的。

[0210] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,所述相同或不同的糖单元选自己糖,并且通过(1,4)型糖苷键连接。

[0211] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,所述8个糖单元是选自甘露糖和葡萄糖的己糖单元。

[0212] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是麦芽八糖。

[0213] 在一个实施方案中,包含离散数个糖单元的经取代阴离子化合物是天然化合物。

[0214] 在一个实施方案中,包含离散数个糖单元的经取代阴离子化合物是合成化合物。

[0215] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,其通过多糖的酶促降解接着纯化来获得。

[0216] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,其通过多糖的化学降解接着纯化来获得。

[0217] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,其通过低分子量前体的共价偶联化学地获得。

[0218] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是槐糖。

[0219] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是蔗糖。

[0220] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是乳果糖。

[0221] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是麦芽酮糖。

[0222] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是明串珠菌二糖(leucrose)。

[0223] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是芸香糖。

[0224] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是异麦芽酮糖。

[0225] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是岩藻糖基乳糖。

[0226] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是龙胆三糖。

[0227] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是棉子糖。

[0228] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是松三糖。

[0229] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是潘

糖。

[0230] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是蔗糖三糖。

[0231] 在一个实施方案中,根据本发明的经取代阴离子化合物的特征在于,糖骨架是水苏糖。

[0232] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物是非聚合物聚阴离子(NPP)化合物,其对锌的亲合力小于胰岛素对锌的亲合力,并且解离常数 $K_{dca} = [NPP化合物]^r [Ca^{2+}]^s / [(NPP化合物)^r - (Ca^{2+})^s]$ 小于或等于 $10^{-1.5}$ 。

[0233] 使用钙离子特异性电极(Mettler-Toledo)和参考电极通过外部校准测定多种聚阴离子化合物相对于钙离子的解离常数(Kd)。所有测量在pH 7的150mM NaCl中进行。仅游离钙离子的浓度被测定,与聚阴离子化合物结合的钙离子不诱导任何电极电位。

[0234] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物选自聚羧酸及其 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 盐。

[0235] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物选自柠檬酸和酒石酸,及其 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 盐。

[0236] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物选自聚磷酸及其 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 盐。

[0237] 在一个实施方案中,聚磷酸是三磷酸及其 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 盐。

[0238] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物是柠檬酸及其 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 盐。

[0239] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物是酒石酸及其 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 盐。

[0240] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物是三磷酸及其 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 盐。

[0241] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物是由离散数个糖单元形成的糖骨架组成的化合物,是由选自海藻糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖、纤维二糖、异麦芽糖、麦芽糖醇和异麦芽糖醇的二糖化合物获得的。

[0242] 在一个实施方案中,由离散数个糖单元形成的糖骨架组成的聚阴离子化合物是由离散数个选自麦芽三糖、麦芽四糖、麦芽五糖、麦芽六糖、麦芽七糖、麦芽八糖和异麦芽三糖的糖单元形成的糖骨架组成的化合物获得的。

[0243] 在一个实施方案中,由离散数个糖单元形成的糖骨架组成的聚阴离子化合物选自:羧甲基麦芽三糖、羧甲基麦芽四糖、羧甲基麦芽五糖、羧甲基麦芽六糖、羧甲基麦芽七糖、羧甲基麦芽八糖和羧甲基异麦芽三糖。

[0244] 在一个实施方案中,比值(聚阴离子化合物带有的酸官能团的摩尔数/阴离子化合物的摩尔数)大于或等于3。

[0245] 在一个实施方案中,比值(聚阴离子化合物带有的酸官能团的摩尔数/阴离子化合物的摩尔数)大于或等于4。

[0246] 在一个实施方案中,比值(由糖骨架组成的聚阴离子化合物带有的酸官能团的摩尔数/阴离子化合物的摩尔数)大于或等于5。

[0247] 在一个实施方案中,比值(由糖骨架组成的聚阴离子化合物带有的酸官能团的摩尔数/阴离子化合物的摩尔数)大于或等于8。

[0248] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物/胰岛素的摩尔比为0.6至75。

[0249] 在一个实施方案中,所述摩尔比为0.7至50。

[0250] 在一个实施方案中,所述摩尔比为1.4至35。

- [0251] 在一个实施方案中,所述摩尔比为1.9至30。
- [0252] 在一个实施方案中,所述摩尔比为2.3至30。
- [0253] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物/胰岛素的摩尔比等于8。
- [0254] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物/胰岛素的摩尔比等于12。
- [0255] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物/胰岛素的摩尔比等于16。
- [0256] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物/胰岛素的质量比为0.5至10。
- [0257] 在一个实施方案中,所述质量比为0.6至7。
- [0258] 在一个实施方案中,所述质量比为1.2至5。
- [0259] 在一个实施方案中,所述质量比为1.6至4。
- [0260] 在一个实施方案中,所述质量比为2至4。
- [0261] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物/胰岛素的质量比为2。
- [0262] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物/胰岛素的质量比为3。
- [0263] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物/胰岛素的质量比为4。
- [0264] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物/胰岛素的质量比为6。
- [0265] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物的浓度为1.8至36mg/mL。
- [0266] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物的浓度为1.8至36.5mg/mL。
- [0267] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物的浓度为2.1至25mg/mL。
- [0268] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物的浓度为4.2至18mg/mL。
- [0269] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物的浓度为5.6至15mg/mL。
- [0270] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物的浓度为7至15mg/mL。
- [0271] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物的浓度为7.3mg/mL。
- [0272] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物的浓度为10.5mg/mL。
- [0273] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物的浓度为14.6mg/mL。
- [0274] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物的浓度为21.9mg/mL。
- [0275] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为2至150mM。
- [0276] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为2至100mM。
- [0277] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为2至75mM。
- [0278] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为2至50mM。
- [0279] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为2至30mM。
- [0280] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为2至20mM。
- [0281] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为2至10mM。
- [0282] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为5至150mM。
- [0283] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为5至100mM。
- [0284] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为5至75mM。
- [0285] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为5至50mM。
- [0286] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为5至30mM。
- [0287] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为5至20mM。
- [0288] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为5至10mM。
- [0289] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为0.5至30mg/mL。

- [0290] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为0.5至25mg/mL。
- [0291] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为0.5至10mg/mL。
- [0292] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为0.5至8mg/mL。
- [0293] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为1至30mg/mL。
- [0294] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为1.5至25mg/mL。
- [0295] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为2至25mg/mL。
- [0296] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为2至10mg/mL。
- [0297] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物的浓度为2至8mg/mL。
- [0298] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物是苯丙氨酸钠修饰的麦芽三糖甲基羧酸钠, $u=3, i=0.65, j=1.0$ 。
- [0299] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物是苯丙氨酸钠修饰的麦芽三糖甲基羧酸钠, $u=3, i=1.0, j=0.65$ 。
- [0300] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物是苯丙氨酸钠修饰的麦芽三糖甲基羧酸钠, $u=3, i=0.46, j=1.2$ 。
- [0301] 在一个实施方案中,经取代阴离子化合物是苯丙氨酸钠修饰的麦芽三糖甲基羧酸钠, $u=3, i=0.35, j=0.65$ 。
- [0302] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物是麦芽三糖甲基羧酸钠。
- [0303] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物是柠檬酸钠。
- [0304] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物是酸形式或碱形式的钠盐或钾盐形式的三磷酸盐。
- [0305] 在一个实施方案中,聚阴离子化合物是酸形式或碱形式的钠盐或钾盐形式的酒石酸盐。
- [0306] 本发明涉及包含根据本发明的组合物的胰岛素药物制剂,其中胰岛素是六聚体形式。
- [0307] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物制剂,其特征在于胰岛素的浓度在240至3000 μ M(40至500IU/mL)之间。
- [0308] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物制剂,其特征在于胰岛素的浓度在600至3000 μ M(100至500IU/mL)之间。
- [0309] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物制剂,其特征在于胰岛素的浓度在600至2400 μ M(100至400IU/mL)之间。
- [0310] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物制剂,其特征在于胰岛素的浓度在600至1800 μ M(100至300IU/mL)之间。
- [0311] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物制剂,其特征在于胰岛素的浓度在600至1200 μ M(100至200IU/mL)之间。
- [0312] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物制剂,其特征在于胰岛素的浓度为600 μ M(100IU/mL)。
- [0313] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物制剂,其特征在于胰岛素的浓度为1200 μ M(200IU/mL)。
- [0314] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物制剂,其特征在于胰岛素的浓度为1800 μ M(300IU/mL)。

M (300IU/mL)。

[0315] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物制剂,其特征在于胰岛素的浓度为2400 μ M (400IU/mL)。

[0316] 在一个实施方案中,本发明涉及一种药物制剂,其特征在于胰岛素的浓度为3000 μ M (500IU/mL)。

[0317] 本发明涉及至少一种经取代阴离子化合物与聚阴离子化合物和任选的阴离子化合物组合来制备人胰岛素的药物制剂的用途,所述经取代阴离子化合物由通过相同或不同的糖苷键连接的1至8之间的离散数 u ($1 \leq u \leq 8$) 个相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖单元选自环状形式或开环还原形式的己糖,所述经取代阴离子化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,所述聚阴离子化合物使得所述药物制剂在施用后,与不含经取代阴离子化合物的制剂相比,可加速胰岛素进入血液的过程并且更迅速地降低血糖。

[0318] 在一个实施方案中,本发明涉及至少一种经取代阴离子化合物与聚阴离子化合物和任选的阴离子化合物组合来制备人胰岛素的药物制剂的用途,所述经取代阴离子化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,所述聚阴离子化合物使得所述药物制剂在施用后,与不含经取代阴离子化合物的制剂相比,可加速人胰岛素进入血液的过程并且更迅速地降低血糖。

[0319] 在一个实施方案中,本发明涉及至少一种经取代阴离子化合物与聚阴离子化合物和任选的阴离子化合物组合来制备胰岛素类似物制剂的用途,所述经取代阴离子化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,所述聚阴离子化合物使得所述制剂在施用后,与不含经取代阴离子化合物的制剂相比,可加速胰岛素类似物进入血液的过程并且更迅速地降低血糖。

[0320] 在一个实施方案中,胰岛素是人胰岛素。

[0321] 术语“人胰岛素”意指通过合成或重组获得的肽序列为人胰岛素序列的胰岛素,包括等位基因变体和同源物。

[0322] 在一个实施方案中,胰岛素是欧洲药典和美国药典中所描述的重组人胰岛素。

[0323] 在一个实施方案中,胰岛素是胰岛素类似物。

[0324] 术语“胰岛素类似物”意指相对于人胰岛素的一级序列,一级序列包含至少一个改变的重组胰岛素。

[0325] 在一个实施方案中,胰岛素类似物选自:赖脯胰岛素(**Humalog[®]**)、门冬胰岛素(**Novolog[®], Novorapid[®]**)和赖谷胰岛素(**Apidra[®]**)。

[0326] 在一个实施方案中,胰岛素类似物是赖脯胰岛素(**Humalog[®]**)。

[0327] 在一个实施方案中,胰岛素类似物是门冬胰岛素(**Novolog[®], Novorapid[®]**)。

[0328] 在一个实施方案中,胰岛素类似物是赖谷胰岛素(**Apidra[®]**)。

[0329] 在一个实施方案中,所述用途的特征在于经取代阴离子化合物选自分离形式或作为混合物的经取代阴离子化合物,其由通过相同或不同的糖苷键连接的1至8之间的离散数 u ($1 \leq u \leq 8$) 个相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖单元选自环状形式或开环还

原形式的己糖,所述经取代阴离子化合物的特征在于其被以下取代:

[0330] a) 至少一个通式I的取代基:

[0331] $-[R_1]_a-[AA]_m$ 式I

[0332] ●当具有至少两个取代基时,所述取代基是相同的或不同的,其中:

[0333] ●基团 $-[AA]$ 表示氨基酸残基

[0334] ●基团 $-R_1-$:

[0335] $-$ 为键,则 $a=0$,氨基酸残基 $-[AA]$ -通过官能团G与骨架直接连接,

[0336] $-$ 或者为C2至C15碳基链,则 $a=1$,任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子以及在与氨基酸反应前包含至少一个酸官能团,所述链与氨基酸残基 $-[AA]$ -形成酰胺官能团并且通过官能团F与所述骨架连接,所述官能团F通过骨架所带有的羟基官能团与基团 $-R_1-$ 的前体所带有的官能团或取代基之间的反应产生,

[0337] ●F是选自醚、酯和氨基甲酸酯官能团的官能团,

[0338] ●G是氨基甲酸酯官能团,

[0339] ● m 等于1或2,

[0340] ● $-[R_1]_a-[AA]_m$ 对糖单元的取代度 j 严格大于0并且小于或等于6, $0 < j \leq 6$,

[0341] b) 以及任选地一个或更多个取代基 $-R'_1$,

[0342] ●取代基 $-R'_1$ 是C2至C15碳基链,其任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子以及碱金属阳离子盐形式的至少一个酸官能团,所述链通过官能团 F' 与骨架连接,所述官能团 F' 通过骨架所带有的羟基官能团和取代基 $-R'_1$ 的前体所带有的官能团或取代基之间的反应产生,

[0343] ● F' 是醚、酯或氨基甲酸酯官能团,

[0344] ● $-R'_1$ 对糖单元的取代度 i 在0至6- j 之间, $0 \leq i \leq 6-j$,并且

[0345] ●F和 F' 相同或不同,

[0346] ●F和G相同或不同,

[0347] ● $i+j \leq 6$,

[0348] ● $-R'_1$ 与 $-R_1-$ 相同或不同,

[0349] ●取代基 $-R'_1$ 所带有的游离的可成盐的酸官能团是碱金属阳离子盐的形式,

[0350] ●所述糖苷键可以是相同的或不同的,选自 α 或 β 构型的(1,1)、(1,2)、(1,3)、(1,4)或(1,6)型糖苷键。

[0351] 在一个实施方案中,所述用途的特征在于分离形式或作为混合物的经取代阴离子化合物选自经取代阴离子化合物,其由通过相同或不同的糖苷键连接的1至8之间的离散数 u ($1 \leq u \leq 8$)个相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖单元选自环状形式或开环还原形式的己糖,所述经取代阴离子化合物的特征在于:

[0352] a) 其任选地被以下随机取代:

[0353] ➤至少一个通式I的取代基:

[0354] $-[R_1]_a-[AA]_m$ 式I

[0355] ●当具有至少两个取代基时,所述取代基是相同的或不同的,其中:

[0356] ●基团 $-[AA]$ -表示氨基酸残基,所述氨基酸选自苯丙氨酸、 α -甲基苯丙氨酸、3,4-二羟基苯丙氨酸、酪氨酸、 α -甲基酪氨酸、O-甲基酪氨酸、 α -苯基甘氨酸、4-羟基苯基甘氨酸

和3,5-二羟基苯基甘氨酸及其碱金属阳离子盐,所述衍生物是L或D绝对构型,-[AA]-通过连接臂-R_i-与分子的骨架连接或通过官能团G与所述骨架直接连接,

[0357] ●-R_i-:

[0358] -为键G,则a=0,

[0359] -或者为C2至C15碳基链,则a=1,其任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子以及在与氨基酸反应前具有至少一个酸官能团,所述链与氨基酸残基-[AA]形成酰胺键,并且通过官能团F与所述骨架连接,所述官能团F通过骨架所带有的羟基官能团与R_i的前体所带有的官能团之间的反应产生,

[0360] ●F是醚、酯或氨基甲酸酯官能团,

[0361] ●G是氨基甲酸酯官能团,

[0362] ●m等于1或2,

[0363] ●-[R_i]_a-[AA]_m的取代度j严格大于0并且小于或等于6,0<j≤6,以及,任选地

[0364] ➤一个或多个取代基-R'₁,

[0365] ●-R'₁是C2至C15碳基链,其任选地被取代和/或包含至少一个杂原子(例如O、N和S)并且具有碱金属阳离子盐形式的至少一个酸官能团,所述链通过官能团F'与骨架连接,所述官能团F'通过骨架所带有的羟基官能团与-R'₁的前体所带有的官能团之间的反应产生,

[0366] ●F'是醚、酯或氨基甲酸酯官能团,

[0367] ●-R'₁的取代度i在0至6-j之间,0≤i≤6-j,并且

[0368] ●-R'₁与-R_i相同或不同,

[0369] ●F和F'相同或不同

[0370] ●F'和G相同或不同

[0371] ●游离的可成盐的酸官能团是碱金属阳离子盐的形式,

[0372] b) 所述糖苷键可以是相同的或不同的,选自α或β构型的(1,1)、(1,2)、(1,3)、(1,4)或(1,6)型糖苷键,

[0373] c) i+j≤6。

[0374] 在一个实施方案中,m等于1。

[0375] 在一个实施方案中,-R_i和-R'₁可以相同或不同,并且是C1至C8的碳基链。

[0376] 在一个实施方案中,-R_i和-R'₁可以相同或不同,并且是C1至C4的碳基链。

[0377] 在一个实施方案中,-R_i和-R'₁可以相同或不同,并且是C1至C2的碳基链。

[0378] 本领域技术人员知晓,胰岛素的作用延迟取决于胰岛素浓度。仅记载了100IU/mL的制剂的作用延迟值。

[0379] 市场上浓度为600μM(100IU/mL)的“常规”人胰岛素制剂在人中的作用延迟在50至90分钟之间,作用结束在360至420分钟。在人血液达到最大胰岛素浓度的时间在90至180分钟之间。

[0380] 市场上浓度为600μM(100IU/mL)的速效胰岛素类似物制剂在人中的作用延迟在30至60分钟之间,作用结束在约240-300分钟。在人血液达到最大胰岛素浓度的时间在50至90分钟之间。

[0381] 本发明还涉及用于制备人胰岛素制剂的方法,所述人胰岛素制剂的胰岛素浓度为

240至3000 μ M (40至500IU/mL), 在人中的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的相同胰岛素浓度的参考制剂的作用延迟更低, 所述方法的特征在于其包括: (1) 向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤, 所述化合物包含部分取代的羧基官能团, 未经取代的羧基官能团是可成盐的, 以及 (2) 向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0382] 在一个实施方案中, 所述胰岛素是六聚体形式。

[0383] 本发明还涉及用于制备人胰岛素制剂的方法, 所述人胰岛素制剂的胰岛素浓度在600至1200 μ M (100至200IU/mL), 在人中的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的相同胰岛素浓度的参考制剂的作用延迟更低, 所述方法的特征在于包括: (1) 向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤, 所述化合物包含部分取代的羧基官能团, 未经取代的羧基官能团是可成盐的, 以及 (2) 向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0384] 在一个实施方案中, 所述胰岛素是六聚体形式。

[0385] 本发明还涉及用于制备人胰岛素制剂的方法, 所述人胰岛素制剂的胰岛素浓度为600 μ M (100IU/mL), 其在人中的作用延迟小于60分钟, 所述方法的特征在于包括: (1) 向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤, 所述化合物包含部分取代的羧基官能团, 未经取代的羧基官能团是可成盐的, 以及 (2) 向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0386] 在一个实施方案中, 所述胰岛素是六聚体形式。

[0387] 本发明还涉及用于制备人胰岛素制剂的方法, 所述人胰岛素制剂的胰岛素浓度为1200 μ M (200IU/mL), 其在人中的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的相同浓度 (200IU/mL) 的人胰岛素的作用延迟短至少10%, 所述方法的特征在于包括: (1) 向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤, 所述化合物包含部分取代的羧基官能团, 未经取代的羧基官能团是可成盐的, 以及 (2) 向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0388] 在一个实施方案中, 所述胰岛素是六聚体形式。

[0389] 本发明还涉及用于制备人胰岛素制剂的方法, 所述人胰岛素制剂的胰岛素浓度为1800 μ M (300IU/mL), 其在人中的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的相同浓度 (300IU/mL) 的人胰岛素的作用延迟短至少10%, 所述方法的特征在于包括: (1) 向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤, 所述化合物包含部分取代的羧基官能团, 未经取代的羧基官能团是可成盐的, 以及 (2) 向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0390] 在一个实施方案中, 所述胰岛素是六聚体形式。

[0391] 本发明还涉及用于制备人胰岛素制剂的方法, 所述人胰岛素制剂的胰岛素浓度为2400 μ M (400IU/mL), 其在人中的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的相同浓度 (400IU/mL) 的人胰岛素的作用延迟短至少10%, 所述方法的特征在于包括: (1) 向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤, 所述化合物包含部分取代的羧基官能团, 未经取代的羧基官能团是可成盐的, 以及 (2) 向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0392] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0393] 本发明还涉及用于制备人胰岛素制剂的方法,所述人胰岛素制剂的胰岛素浓度为3000 μ M (500IU/mL),其在人中的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的相同浓度(500IU/mL)的人胰岛素的作用延迟短至少10%,所述方法的特征在于包括:(1)向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,以及(2)向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0394] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0395] 本发明在于制备速效人胰岛制剂,其特征在于包括:(1)向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,以及(2)向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0396] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0397] 本发明还涉及用于制备人胰岛素制剂的方法,所述人胰岛素制剂的浓度为600 μ M (100IU/mL),在人中的作用延迟小于60分钟,优选小于45分钟,更有选小于30分钟,所述方法的特征在于包括:(1)向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,以及(2)向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0398] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0399] 本发明还涉及用于制备胰岛素类似物制剂的方法,所述胰岛素类似物制剂的浓度在240至3000 μ M (40至500IU/mL),在人中的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的相同胰岛素浓度的参考制剂的作用延迟短,所述方法的特征在于包括:(1)向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,以及(2)向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0400] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0401] 本发明还涉及用于制备胰岛素类似物制剂的方法,所述胰岛素类似物制剂的浓度在600至1200 μ M (100至200IU/mL),在人中的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的相同胰岛素类似物浓度的参考制剂的作用延迟更低,所述方法的特征在于包括:(1)向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,以及(2)向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0402] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0403] 本发明还涉及用于制备胰岛素浓度为600 μ mol/L (100IU/mL)的胰岛素类似物制剂的方法,所述胰岛素类似物制剂在人中的作用延迟小于30分钟,所述方法的特征在于包括:(1)向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,以及(2)向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0404] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0405] 本发明还涉及用于制备胰岛素浓度为1200 μ M (200IU/mL)的胰岛素类似物制剂的

方法,所述胰岛素类似物制剂的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的胰岛素类似物制剂的作用延迟短至少10%,所述方法的特征在于包括:(1)向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,以及(2)向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0406] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0407] 本发明还涉及用于制备胰岛素浓度为1800 μ M (300IU/mL)的胰岛素类似物制剂的方法,所述胰岛素类似物制剂的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的胰岛素类似物制剂的作用延迟短至少10%,所述方法的特征在于包括:(1)向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,以及(2)向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0408] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0409] 本发明还涉及用于制备胰岛素浓度为2400 μ M (400IU/mL)的胰岛素类似物制剂的方法,所述胰岛素类似物制剂的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的胰岛素类似物制剂的作用延迟短至少10%,所述方法的特征在于包括:(1)向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,以及(2)向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0410] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0411] 本发明还涉及用于制备胰岛素浓度为3000 μ M (500IU/mL)的胰岛素类似物制剂的方法,所述胰岛素类似物制剂的作用延迟比不存在经取代阴离子化合物和聚阴离子化合物的胰岛素类似物制剂的作用延迟短至少10%,所述方法的特征在于包括:(1)向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的,以及(2)向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0412] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0413] 本发明在于制备速效胰岛素类似物制剂,其特征包括向所述制剂中添加至少一种经取代阴离子化合物的步骤,所述化合物包含部分取代的羧基官能团,未经取代的羧基官能团是可成盐的。

[0414] 在一个方案中,所述制备还包括向所述制剂中添加至少一种聚阴离子化合物的步骤。

[0415] 在一个实施方案中,所述胰岛素是六聚体形式。

[0416] 在一个实施方案中,胰岛素类似物选自:赖脯胰岛素(**Humalog[®]**)、门冬胰岛素(**Novolog[®]**, **Novorapid[®]**)和赖谷胰岛素(**Apidra[®]**)。

[0417] 在一个实施方案中,胰岛素类似物是赖脯胰岛素(**Humalog[®]**)。

[0418] 在一个实施方案中,胰岛素类似物是门冬胰岛素(**Novolog[®]**, **Novorapid[®]**)。

- [0419] 在一个实施方案中,胰岛素类似物是赖谷胰岛素(**Apidra[®]**)。
- [0420] 在一个实施方案中,胰岛素是欧洲药典和美国药典中描述的重组人胰岛素。
- [0421] 在一个实施方案中,胰岛素是选自赖脯胰岛素(**Humalog[®]**)、门冬胰岛素(**Novolog[®]**, **Novorapid[®]**)和赖谷胰岛素(**Apidra[®]**)的胰岛素类似物。
- [0422] 此外,所述组合物可通过将人胰岛素或胰岛素类似物的水溶液与作为和聚阴离子化合物的混合物的经取代阴离子化合物的水溶液简单混合来制备。
- [0423] 在一个实施方案中,所述组合物可通过将人胰岛素或胰岛素类似物的水溶液、经取代阴离子化合物的水溶液以及溶液或冻干形式的聚阴离子化合物简单混合来制备。
- [0424] 在一个实施方案中,所述组合物可通过将人胰岛素或胰岛素类似物的水溶液、冻干形式的经取代阴离子化合物以及溶液或冻干形式的聚阴离子化合物简单混合来制备。
- [0425] 优选地,该组合物为可注射溶液。
- [0426] 在一个实施方案中,人胰岛素或胰岛素类似物的浓度为240至3000 μ M (40至500IU/mL)。
- [0427] 在一个实施方案中,人胰岛素或胰岛素类似物的浓度为600至3000 μ M (100至500IU/mL)。
- [0428] 在一个实施方案中,人胰岛素或胰岛素类似物的浓度为600至2400 μ M (100至400IU/mL)。
- [0429] 在一个实施方案中,人胰岛素或胰岛素类似物的浓度在600至1800 μ M (100至300IU/mL)。
- [0430] 在一个实施方案中,人胰岛素或胰岛素类似物的浓度为600至1200 μ M (100至200IU/mL)。
- [0431] 在一个实施方案中,人胰岛素或胰岛素类似物的浓度为600 μ M (100IU/mL)。
- [0432] 在一个实施方案中,人胰岛素或胰岛素类似物的浓度为1200 μ M (200IU/mL)。
- [0433] 在一个实施方案中,可通过简单稀释来降低600 μ M (100IU/mL)的人胰岛素或胰岛素类似物的浓度,尤其是用于儿科应用。
- [0434] 在一个实施方案中,人胰岛素或胰岛素类似物的浓度为1800 μ M (300IU/mL)。
- [0435] 在一个实施方案中,人胰岛素或胰岛素类似物的浓度为2400 μ M (400IU/mL)。
- [0436] 在一个实施方案中,人胰岛素或胰岛素类似物的浓度为3000 μ M (500IU/mL)。
- [0437] 本发明还涉及根据本发明的药物制剂,其特征在于通过干燥和/冻干获得。
- [0438] 在一个实施方案中,根据本发明的组合物还包含浓度为0至500 μ M的添加的锌盐。
- [0439] 在一个实施方案中,根据本发明的组合物还包含浓度为0至300 μ M的添加的锌盐。
- [0440] 在一个实施方案中,根据本发明的组合物还包含浓度为0至200 μ M的添加的锌盐。
- [0441] 在一个实施方案中,根据本发明的组合物还包含浓度为0至100 μ M、优选为0至50 μ M或15至50 μ M的添加的锌盐。
- [0442] 在一个实施方案中,缓冲剂是Tris。
- [0443] 在一个实施方案中,根据本发明的组合物还包含防腐剂。
- [0444] 在一个实施方案中,所述防腐剂选自单独或作为混合物的间甲酚和苯酚。
- [0445] 在一个实施方案中,防腐剂的浓度为10至50mM。

- [0446] 在一个实施方案中,防腐剂的浓度为10至40mM。
- [0447] 根据本发明的组合物还可包含添加剂,例如张度剂,如甘油、氯化钠(NaCl)、甘露醇和甘氨酸。
- [0448] 根据本发明的组合物还可包含根据药典的添加剂,例如表面活性剂,如聚山梨醇酯。
- [0449] 根据本发明的组合物还可包含根据药典的任何赋形剂,所述赋形剂在使用浓度与所使用胰岛素相容。
- [0450] 在局部和全身释放的情况下,考虑的施用模式是静脉内、皮下、皮内或肌内。
- [0451] 还考虑经皮、经口、经鼻、经阴道、经眼、经口和经肺施用途径。
- [0452] 本发明还涉及根据本发明的组合物用于配制旨在用于植入式或便携式胰岛素泵的浓度为100IU/mL胰岛素或胰岛素类似物的溶液的用途。
- [0453] 本发明还涉及根据本发明的组合物用于配制旨在用于植入式或便携式胰岛素泵的浓度为200IU/mL胰岛素或胰岛素类似物的溶液的用途。
- [0454] 本发明还涉及分离形式或作为混合物的经取代阴离子化合物,其选自经取代阴离子化合物,其由通过相同或不同的糖苷键连接的1至8之间的离散数 u ($1 \leq u \leq 8$) 个相同或不同的糖单元形成的糖骨架组成,所述糖单元选自环状形式或开环还原形式的己糖,所述经取代阴离子化合物的特征在于其被以下取代:
- [0455] a) 至少一个通式I的取代基:
- [0456] $-[R_1]_a-[AA]_m$ 式I
- [0457] ●当具有至少两个取代基时,所述取代基是相同的或不同的,其中:
- [0458] ●基团 $-[AA]$ 表示氨基酸残基
- [0459] ●基团 $-R_1-$:
- [0460] $-$ 为键,则 $a=0$,氨基酸残基 $-[AA]-$ 通过官能团G与骨架直接连接,
- [0461] $-$ 或者为C2至C15碳基链,则 $a=1$,任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子,以及在与氨基酸反应前包含至少一个酸官能团,所述链与氨基酸残基 $-[AA]-$ 形成酰胺官能团并且通过官能团F与所述骨架连接,所述官能团F通过所述骨架所带有的羟基官能团和基团 $-R_1-$ 的前体所带有的官能团或取代基之间的反应产生,
- [0462] ●F是选自醚、酯和氨基甲酸酯官能团的官能团,
- [0463] ●G是氨基甲酸酯官能团,
- [0464] ● m 等于1或2,
- [0465] ● $-[R_1]_a-[AA]_m$ 对糖单元的取代度 j 严格大于0且小于或等于6, $0 < j \leq 6$,
- [0466] b) 以及任选地一个或更多个取代基 $-R'_1$,
- [0467] ●取代基 $-R'_1$ 是C2至C15碳基链,其任选地被取代和/或包含选自O、N和S的至少一个杂原子以及碱金属阳离子盐形式的至少一个酸官能团,所述链通过官能团F'与所述骨架连接,所述官能团F'通过所述骨架所带有的羟基官能团和取代基 $-R'_1$ 的前体所带有的官能团或取代基之间的反应产生,
- [0468] ●F'是醚、酯或氨基甲酸酯官能团,
- [0469] ● $-R'_1$ 对糖单元的取代度 i 在0至6- j 之间, $0 \leq i \leq 6-j$, 并且
- [0470] ●F和F'相同或不同,

- [0471] ●F和G相同或不同,
- [0472] ● $i+j \leq 6$,
- [0473] ● $-R'_1$ 于 $-R_1$ -相同或不同,
- [0474] ●取代基 $-R'_1$ 所带有的游离的可成盐的酸官能团是碱金属阳离子盐的形式,
- [0475] ●所述糖苷键可以是相同的或不同的,选自 α 或 β 构型的(1,1)、(1,2)、(1,3)、(1,4)或(1,6)型糖苷键。
- [0476] 在上述制剂中,不同变量具有上述值。
- [0477] 根据本发明的经取代阴离子化合物可通过将取代基随机接枝在糖骨架上获得。
- [0478] 在一个实施方案中,选自被式I或II取代基取代的阴离子化合物的经取代阴离子化合物的特征在于,其可通过包括对骨架天然带有的醇或羧酸基团进行保护/去保护之步骤的方法将取代基接枝在糖单元上的精确位置来获得。这种策略导致将取代基选择性接枝(尤其是区域选择性接枝)到骨架上。保护基团包括但不限于出版物(Wuts, P.G.M.等, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis 2007)中描述的那些。
- [0479] 糖骨架可通过高分子量多糖的降解获得。降解方式包括但不限于化学降解和/或酶促降解。
- [0480] 糖骨架还可以通过使用化学或酶促偶联策略在单糖或寡糖之间形成糖苷键来获得。偶联策略包括出版物(Smooth, J.T.等, Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry 2009, 62, 162-250)和出版物(Lindhorst, T.K., Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry 2007, 157-208)中描述的那些。偶联反应可在溶液中或固体载体上进行。糖分子在偶联前可具有感兴趣的取代基和/或一旦偶联在一起可随机地或区域选择性地官能化。
- [0481] 因此,例如,根据本发明的化合物可根据以下方法之一获得:
- [0482] ■将取代基随机接枝到糖骨架上
- [0483] ■具有取代基的单糖或寡糖分子之间的一个或更多个糖基化步骤
- [0484] ■一个或更多个单糖或寡糖分子和具有取代基的一个或更多个单糖或寡糖分子之间的一个或更多个糖基化步骤
- [0485] ■向糖骨架上天然带有的醇或酸引入保护基团的一个或更多个步骤,接着进行一个或更多个取代基接枝反应,最后除去保护基团的步骤
- [0486] ■在糖骨架上天然带有的醇或酸上带有有保护基团的一个或更多个单糖或寡糖之间的一个或更多个糖基化步骤,将取代基接枝到所获得的糖骨架上的一个或更多个步骤,然后除去保护基团的步骤
- [0487] ■一个或更多个单糖或寡糖和在糖骨架上天然带有的醇或酸上带有有保护基团的一个或更多个单糖或寡糖之间的一个或更多个糖基化步骤,一个或更多个取代基接枝步骤,然后除去保护基团的步骤。
- [0488] 分离的或作为混合物的根据本发明的化合物可以通过多种方式分离和/或纯化,尤其是在通过上文所述方法获得之后。
- [0489] 特别要提到色谱法,尤其是“制备”方法,例如:
- [0490] ■快速色谱,尤其是在二氧化硅上,以及
- [0491] ■色谱,如HPLC(高效液相色谱),特别是RP-HPLC(反相HPLC)。

- [0492] 还可使用选择性沉淀方法。
- [0493] 通过以下实施例来举例说明本发明。

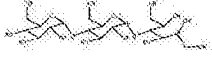
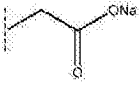
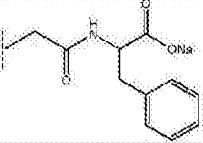
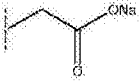
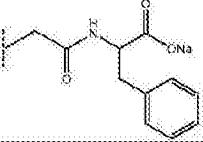
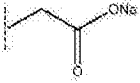
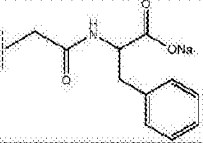
附图说明

- [0494] 图1显示用实施例B2和B8所述的制剂获得的药效学结果。
- [0495] 图2显示用实施例B2和B8所述的制剂获得的药代动力学结果。
- [0496] 图3显示用实施例B2和B10所述的制剂获得的药效学结果。
- [0497] 图4显示用实施例B2和B10所述的制剂获得的药代动力学结果。
- [0498] 图5显示用实施例B2和B7所述的制剂获得的药效学结果。
- [0499] 图6显示用实施例B2和B7所述的制剂获得的药代动力学结果。
- [0500] 图7显示用实施例B1和B3所述的制剂获得的药效学结果。
- [0501] 图8显示用实施例B1和B3所述的制剂获得的药代动力学结果。
- [0502] 图9显示用实施例B1和B39所述的制剂获得的药效学结果。
- [0503] 图10显示用实施例B1和B39所述的制剂获得的药代动力学结果。
- [0504] 图11显示EDTA和EDTA/柠檬酸盐混合物使赖脯胰岛素的R6形式完全变性。
- [0505] 图12显示EDTA和EDTA/柠檬酸盐组合对人胰岛素的六聚结构有非常显著的影响。
- [0506] 图13显示用实施例B2和B11所述的制剂获得的药效学结果。
- [0507] 图14表现出用实施例B2和B11所述的制剂获得的药代动力学结果。
- [0508] 图15显示用实施例B1和B38所述的制剂获得的药效学结果。
- [0509] 图16显示用实施例B1和B38所述的制剂获得的药代动力学结果。
- [0510] 图17显示用实施例B1和B53所述的制剂获得的药效学结果。
- [0511] 图18显示用实施例B1和B53所述的制剂获得的药代动力学结果。
- [0512] 图19示出在化合物1至11的存在下通过圆二色谱评价缔合态赖脯胰岛素的结果。
- [0513] 图20示出在化合物1至11的存在下通过圆二色谱评价缔合态人胰岛素的结果。

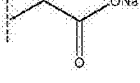
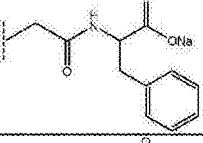
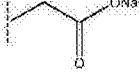
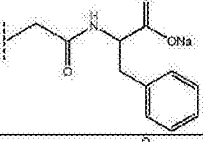
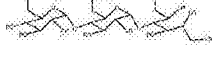
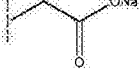
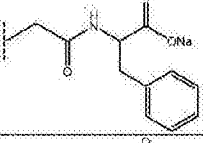
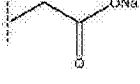
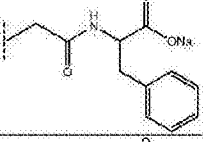
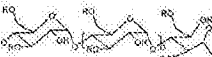
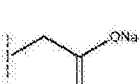
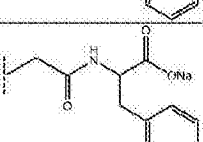
具体实施方式

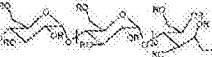
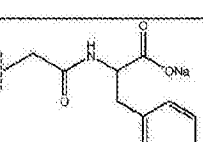
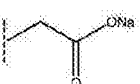
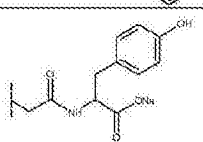
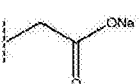
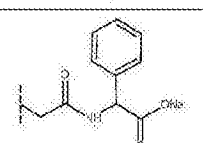
- [0514] 实施例
- [0515] 表1中示出根据本发明的经取代阴离子化合物的结构。表2中示出多糖对比实施例的结构。
- [0516] AA经取代阴离子化合物
- [0517] 表1
- [0518] $R=H, R'_1, -[R_1]_a-[AA]_m$

[0519]

化合物	i	j	糖链	取代基 -R ₁	取代基 -[R ₁] _a -[AA] _m
1	0.65	1.0			
2	1.0	0.65			
3	0.46	1.2			

[0520]

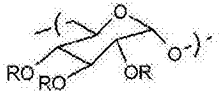
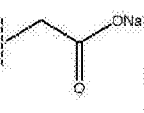
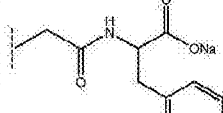
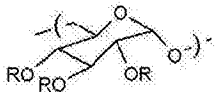
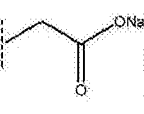
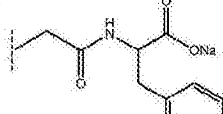
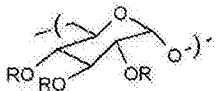
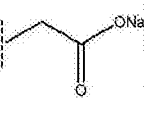
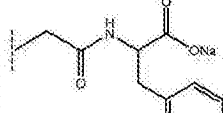
4	0.35	0.65			
5	1.25	0.4			
6	0.8	0.65			
7	2.65	0.65			
8	1.0	0.75			

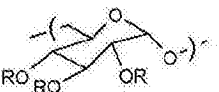
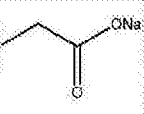
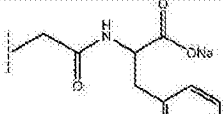
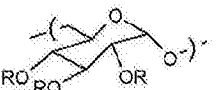
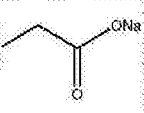
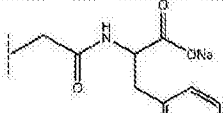
9	1.0	0.65			
10	0.83	0.81			
11	1.12	0.52			

[0521] AB多糖对比实施例

[0522] 表2

[0523]

多糖对比 实施例	i	j	糖链	重均分子量 (kg/mol)	取代基 - R _i	取代基 - [R _i] _a -[AA] _m
多糖对比实施例 AB1, AB2, AB3, AB4 和 AB5: R = H, R _i , -[R _i] _a -[AA] _m						
AB1	0.6	0.46		10		
AB2	1.01	0.64		5		
AB3	0.65	0.45		5		

AB4	1.01	0.64		10		
AB5	0.45	0.65		5		

[0524] AA1. 化合物1: 用L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠

[0525] 在65℃下向溶于水的8g (143mmol)的羟基官能团) 麦芽三糖 (CarboSynth) 中添加0.6g (16mmol)的硼氢化钠。在搅拌30分钟后, 添加28g (238mmol) 的氯乙酸钠。然后向该溶液中逐滴添加24mL的10N NaOH (24mmol), 然后在65℃下将混合物加热90分钟。然后向反应介质中添加16.6g (143mmol)的氯乙酸钠, 同时逐滴添加14mL的10N NaOH (14mmol)。在加热1小时后, 混合物用水稀释, 用乙酸中和并且然后通过1kDa PES膜上针对水超滤来进行纯化。根据干提取物确定最终溶液的分子浓度, 并且然后在50/50 (V/V) 的水/丙酮混合物中进行酸/碱测定以确定被甲基羧酸酯的取代度。

[0526] 根据干提取物: [化合物] = 32.9mg/g

[0527] 根据酸/碱测定, 每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为1.65。

[0528] 使麦芽三糖甲基羧酸钠溶液在Purolite树脂 (阴离子性) 上酸化以获得麦芽三糖甲基羧酸, 然后将其冻干18小时。

[0529] 将10g的麦芽三糖甲基羧酸 (63mmol的甲基羧酸官能团) 溶解于DMF中并且然后冷

却至0℃。制备DMF的苯丙氨酸乙酯盐酸盐(8.7g, 38mmol)的混合物。向该混合物中添加3.8g的三乙胺(38mmol)。然后在0℃下向该混合物中添加NMM(6.3g, 63mmol)和EtOCOC1(6.8g, 63mmol)溶液。然后添加苯丙氨酸乙酯溶液并在10℃下搅拌混合物。添加咪唑水溶液并且然后将混合物加热至30℃。介质经水稀释并且然后通过1kDa PES膜上针对0.1N NaOH、0.9% NaCl和水超滤来纯化所获得的溶液。根据干提取物确定最终溶液的分子浓度。将样品溶液冻干并且通过¹H NMR在D₂O中对其进行分析以确定被L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度。

[0530] 根据干提取物:[化合物1]=29.4mg/g

[0531] 根据酸/碱测定,每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为0.65。

[0532] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为1.0。

[0533] AA2. 化合物2:用L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠

[0534] 经由类似于用于制备化合物1的方法获得经L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠。根据酸/碱测定,每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为1.0。

[0535] 根据干提取物:[化合物2]=20.2mg/g

[0536] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.65。

[0537] AA3. 化合物3:用L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠

[0538] 经由类似于用于制备化合物1的方法获得经L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠。根据酸/碱测定,每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为0.46。

[0539] 根据干提取物:[化合物3]=7.2mg/g

[0540] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为1.2。

[0541] AA4. 化合物4:用L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠

[0542] 经由类似于用于制备化合物1的方法获得经L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠。根据酸/碱测定,每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为0.35。

[0543] 根据干提取物:[化合物4]=3.1mg/g

[0544] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.65。

[0545] AA5. 化合物5:用L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠

[0546] 经由类似于用于制备化合物1的方法获得经L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠。

[0547] 根据干提取物:[化合物5]=10.9mg/g

[0548] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.40。

[0549] 每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为1.25。

[0550] AA6. 化合物6:用L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠

[0551] 在65℃下向溶于水的8g(143mmol的羟基官能团)麦芽三糖(CarboSynth)中添加0.6g(16mmol)的硼氢化钠。在搅拌30分钟后,添加28g(237mmol)的氯乙酸钠。然后向该溶液中逐滴添加24mL的10N NaOH(240mmol)。在65℃下加热90分钟后,混合物用水稀释,通过添加乙酸中和并且然后通过1kDa PES膜上针对水超滤来进行纯化。根据干提取物确定最终溶液的化合物浓度,并且然后在50/50(V/V)水/丙酮混合物中进行酸/碱测定以确定甲基羧酸钠的取代度。

[0552] 根据干提取物:[化合物]=14.5mg/g

- [0553] 根据酸/碱测定,每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为1.45。
- [0554] 使麦芽三糖甲基羧酸钠溶液在Purolite树脂(阴离子性)上酸化以获得麦芽三糖甲基羧酸,然后将其冻干18小时。
- [0555] 经由类似于用于制备化合物1的方法获得经L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠。
- [0556] 根据干提取物:[化合物6]=10.8mg/g
- [0557] 根据¹H NMR:,每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.65。
- [0558] 每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为0.8。
- [0559] AA7. 化合物7:用L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠
- [0560] 经由类似于化合物1的制备中所述的方法合成8g的由甲基羧酸钠的取代度为1.76表征的麦芽三糖甲基羧酸钠并将其冻干。
- [0561] 在65℃下将8g (58mmol的羟基官能团)的冻干物和15g (129mmol)的氯乙酸钠溶解于水中。向该溶液中逐滴添加13mL的10N NaOH(130mmol)并然后将混合物在65℃下加热90分钟。然后向反应介质中添加9g (78mmol)的氯乙酸钠,同时逐滴添加8mL的10N NaOH(80mmol)。在加热1小时后,混合物用水稀释,用乙酸中和并且然后通过1kDa PES膜上针对水超滤来进行纯化。根据干提取物确定最终溶液的化合物浓度,并且然后在50/50 (V/V)的水/丙酮混合物中进行酸/碱测定以确定甲基羧酸钠的取代度。
- [0562] 根据干提取物:[化合物]=11.7mg/g
- [0563] 根据酸/碱测定,每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为3.30。
- [0564] 使麦芽三糖甲基羧酸钠溶液在Purolite树脂(阴离子性)上酸化以获得麦芽三糖甲基羧酸,然后将其冻干18小时。
- [0565] 经由类似于用于制备化合物1的方法获得经L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠。
- [0566] 根据干提取物:[化合物7]=14.9mg/g
- [0567] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.65。
- [0568] 每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为2.65。
- [0569] AA8. 化合物8:用L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽五糖甲基羧酸钠
- [0570] 除了采用麦芽五糖(CarboSynth)实施之外,经由类似于化合物1的制备中所述的方法获得10g的麦芽五糖甲基羧酸并将其冻干,其每个糖单元的甲基羧酸的取代度为1.75。
- [0571] 经由类似于用于制备化合物1的方法获得经L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽五糖甲基羧酸钠。
- [0572] 根据干提取物:[化合物8]=7.1mg/g
- [0573] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.75。
- [0574] 每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为1.0。
- [0575] AA9. 化合物9:用L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽八糖甲基羧酸钠
- [0576] 除了采用麦芽八糖(CarboSynth)实施之外,经由类似于化合物1的制备中所述的方法获得10g的麦芽八糖甲基羧酸并将其冻干,其每个糖单元的甲基羧酸的取代度为1.65。
- [0577] 经由类似于用于制备化合物1的方法获得经L-苯丙氨酸钠官能化的麦芽八糖甲基羧酸钠。

- [0578] 根据干提取物:[化合物9]=26.3mg/g
- [0579] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.65。
- [0580] 每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为1.0。
- [0581] AA10.化合物10:用L-酪氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠
- [0582] 除了采用L-酪氨酸甲酯盐酸盐(Bachem)实施之外,经由类似于化合物1的制备中所述的方法采用L-酪氨酸钠来官能化由每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为1.64表征的麦芽三糖甲基羧酸钠。
- [0583] 根据干提取物:[化合物10]=9.1mg/g
- [0584] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-酪氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.81。
- [0585] 每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为0.83。
- [0586] AA11.化合物11:用α-苯基甘氨酸钠官能化的麦芽三糖甲基羧酸钠
- [0587] 经由类似于化合物1的制备中所述的方法获得每个糖单元的甲基羧酸的取代度为1.64的10g麦芽三糖甲基羧酸并且然后将其冻干。
- [0588] 将8g的麦芽三糖甲基羧酸(50mmol的甲基羧酸官能团)溶解于DMF中并且然后将其冷却至0℃。在水中制备α-苯基甘氨酸钠(Bachem, 5g; 33mmol)与三乙胺(33mmol)的混合物。然后在0℃下向麦芽三糖甲基羧酸溶液中添加NMM(4.9g, 49mmol)和EtOCOC1(5.3g, 49mmol)溶液。然后添加α-苯基甘氨酸钠和三乙胺溶液并在30℃下搅拌混合物。90分钟后添加咪唑水溶液(340g/L)。介质用水稀释并且然后通过1kDa PES膜上针对150mM NaHCO₃/Na₂CO₃ pH 10.4缓冲液、0.9%NaCl和水超滤来纯化所获得的溶液。根据干提取物来确定最终溶液的化合物浓度。将样品溶液冻干并且通过¹H NMR在D₂O中对其进行分析以确定被α-苯基甘氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度。
- [0589] 根据干提取物:[化合物11]=9.1mg/g
- [0590] 根据¹H NMR:每个糖单元的α-苯基甘氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.52。
- [0591] 每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为1.12。
- [0592] AB多糖对比实施例
- [0593] AB1.多糖1:用L-苯丙氨酸钠官能化的葡聚糖甲基羧酸钠
- [0594] 多糖1为根据公开号为FR 2 914 305的专利申请FR 07/02316中所述的方法获自重均分子量为10kg/mol (DP=39, Pharmacosmos)的葡聚糖的采用L-苯丙氨酸钠进行官能化的葡聚糖甲基羧酸钠。根据酸/碱测定,每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为0.6。
- [0595] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.46。
- [0596] 该多糖对应于专利申请FR 09/01478的多糖1。
- [0597] AB2.多糖2:用L-苯丙氨酸钠官能化的葡聚糖甲基羧酸钠
- [0598] 多糖2为根据公开号为FR 2 914 305的专利申请FR 07/02316中所述的方法获自重均分子量为5kg/mol (DP=19, Pharmacosmos)的葡聚糖的采用L-苯丙氨酸钠进行官能化的葡聚糖甲基羧酸钠。根据酸/碱测定,每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为1.01。
- [0599] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.64。
- [0600] AB3.多糖3:用L-苯丙氨酸钠官能化的葡聚糖甲基羧酸钠
- [0601] 多糖3为根据公开号为FR 2 914 305的专利申请FR 07/02316中所述的方法获自

重均分子量为5kg/mol (DP=19,Pharmacosmos)的葡聚糖的采用L-苯丙氨酸钠进行官能化的葡聚糖甲基羧酸钠。根据酸/碱测定,每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为0.65。

[0602] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.45。

[0603] AB4.多糖4:用L-苯丙氨酸钠官能化的葡聚糖甲基羧酸钠

[0604] 多糖4为根据公开号为FR 2 914 305的专利申请FR 07/02316中所述的方法获自重均分子量为10kg/mol (DP=39,Pharmacosmos)的葡聚糖的采用L-苯丙氨酸钠进行官能化的葡聚糖甲基羧酸钠。根据酸/碱测定,每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为1.01。

[0605] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.64。

[0606] AB5.多糖5:用L-苯丙氨酸钠官能化的葡聚糖甲基羧酸钠

[0607] 多糖5为根据公开号为FR 2 914 305的专利申请FR 07/02316中所述的方法获自重均分子量为5kg/mol (DP=19,Pharmacosmos)的葡聚糖的采用L-苯丙氨酸钠进行官能化的葡聚糖甲基羧酸钠。根据酸/碱测定,每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为0.45。

[0608] 根据¹H NMR:每个糖单元的L-苯丙氨酸钠官能化的甲基羧酸盐的取代度为0.65。

[0609] AC聚阴离子化合物

[0610] 聚阴离子化合物1:麦芽三糖甲基羧酸钠

[0611] 在65℃下向溶于水的8g (143mmol)的羟基官能团的麦芽三糖 (CarboSynth) 中添加0.6g (16mmol)的硼氢化钠。在搅拌30分钟后,添加28g (238mmol)的氯乙酸钠。然后向该溶液中逐滴添加24mL的10N NaOH (240mmol),然后在65℃下将混合物加热90分钟。然后向反应介质中添加16.6g (143mmol)的氯乙酸钠,同时逐滴添加14mL的10N NaOH (140mmol)。在加热1小时后,混合物用水稀释,用乙酸中和并且然后通过1kDa PES膜上针对水超滤来纯化。根据干提取物确定最终溶液的化合物浓度,并且然后在50/50 (V/V)的水/丙酮混合物中进行酸/碱测定以确定甲基羧酸盐的取代度。

[0612] 根据干提取物:[聚阴离子化合物1]=32.9mg/g

[0613] 根据酸/碱测定:每个糖单元的甲基羧酸钠的取代度为1.65。

[0614] B溶液的制备

[0615] B1. 100IU/mL的速效胰岛素类似物**Novolog[®]**的溶液

[0616] 该溶液为来自所售名为**Novolog[®]**的Novo Nordisk的门冬胰岛素市售溶液。该产品为门冬速效胰岛素类似物。

[0617] B2. 100IU/mL的速效胰岛素类似物**Humalog[®]**的溶液

[0618] 该溶液为来自所售名为**Humalog[®]**的Eli Lilly的赖脯胰岛素的市售溶液。该产品为速效胰岛素类似物。

[0619] B3. 100IU/mL的常规人胰岛素**Actrapid[®]**的溶液

[0620] 该溶液为来自所售名为**Actrapid[®]**的Novo Nordisk的人胰岛素的市售溶液。该产品为常规人胰岛素。

[0621] B4. 100IU/mL的常规人胰岛素**Humulin[®]**R的溶液

[0622] 该溶液为来自所售名为**Humulin[®]**R的Eli Lilly的人胰岛素的市售溶液。该产品为常规人胰岛素。

[0623] B5.赋形剂溶液的制备

[0624] 通过测量其关于钙离子以及不会使胰岛素的六聚形式不稳定的能力的离解常数来选择非聚合聚阴离子化合物。

[0625] 关于对钙离子的离解常数,按如下方式进行测定。

[0626] 制备包含2.5mM的CaCl₂、150mM的NaCl和增大浓度的聚阴离子化合物(0mM至20mM)的溶液。对所有这些制剂的电势进行测量并测定制剂中游离钙离子的浓度。在通过Scatchard方法线性化后,建立离解常数。这些数据使得能够比较Ca的多种聚阴离子化合物的羧酸盐和磷酸盐的亲合力。

[0627] 关于其不会使胰岛素的六聚形式不稳定的能力,通过与单独胰岛素(不具有阴离子化合物或聚阴离子化合物)的圆二色谱比较来测量该性质,参见实验部分D的实验方案。

[0628] 1.188M的柠檬酸钠溶液的制备

[0629] 通过在量瓶中将9.0811g的柠檬酸钠(30.9mmol)溶解于25ml的水中获得柠檬酸钠溶液。通过添加1mL的1M HCl将pH精确调节至7.4。通过0.22μm过滤器来过滤溶液。

[0630] 130mM间甲酚溶液的制备

[0631] 通过在1L的量瓶将14.114g的间甲酚(130mmol)溶解于986.4mL的水中来获得间甲酚溶液。

[0632] 间甲酚和甘油溶液的制备(96.6mM的间甲酚和566mM的甘油)

[0633] 将73.3g的130mM间甲酚溶液添加至5.26g的甘油中并且然后通过添加22.25g的水对其进行稀释。使所获得的间甲酚和甘油溶液均质化30分钟并且然后通过0.22μm膜过滤。

[0634] 32.7mM Tween 20溶液的制备

[0635] 通过在量瓶中将2.0079g的Tween 20(1.636mmol)溶解于50mL的水中获得Tween 20溶液。通过0.22μm膜过滤溶液。

[0636] B6. 500IU/mL人胰岛素溶液的制备

[0637] 将15g的水添加至563.6mg的人胰岛素中并且然后通过添加5.98g的0.1N HCl将pH降低至酸性pH。在酸性pH下完全溶解胰岛素后,通过添加8.3mL的0.1N NaOH将溶液中和至7.2的pH。然后通过添加0.76g的水将浓度调节至500IU/mL。最终通过0.22μm膜过滤溶液。

[0638] B7. 化合物1存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0639] 对[化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0640] 经冻干化合物1 730mg

[0641] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL

[0642] 将最终pH调节至7.4±0.4。

[0643] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[0644] B8. 化合物1和柠檬酸盐存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0645] 对[化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0646] 经冻干化合物1 730mg

[0647] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL

- [0648] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL
- [0649] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0650] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0651] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0652] B9. 化合物1和聚阴离子化合物1存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0653] 对[化合物1]/[聚阴离子化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0/2.0/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0654] 经冻干化合物1 730mg
- [0655] 经冻干聚阴离子化合物1 730mg
- [0656] 100IU/mL **Humalog[®]** 市售溶液 100mL
- [0657] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0658] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0659] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0660] B10. 化合物1和聚阴离子化合物1存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0661] 对[化合物1]/[聚阴离子化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0/5.5/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0662] 经冻干化合物1 730mg
- [0663] 经冻干聚阴离子化合物1 2000mg
- [0664] 100IU/mL **Humalog[®]** 市售溶液 100mL
- [0665] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0666] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0667] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0668] B11. 化合物2和柠檬酸盐存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0669] 对[化合物2]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0670] 经冻干化合物2 730mg
- [0671] 100IU/mL **Humalog[®]** 市售溶液 100mL
- [0672] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL
- [0673] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0674] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0675] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0676] B12. 化合物2和聚阴离子化合物1存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0677] 对[化合物2]/[聚阴离子化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0/2.0/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

- [0678] 经冻干化合物2 730mg
- [0679] 经冻干聚阴离子化合物1 730mg
- [0680] 100IU/mL **Humalog[®]** 市售溶液 100mL
- [0681] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0682] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0683] 通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0684] B13. 化合物2和聚阴离子化合物1存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0685] 对[化合物2]/[聚阴离子化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0/5.5/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0686] 经冻干化合物2 730mg
- [0687] 经冻干聚阴离子化合物1 2000mg
- [0688] 100IU/mL **Humalog[®]** 市售溶液 100mL
- [0689] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0690] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0691] 通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0692] B14. 化合物1存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0693] 对[化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为4的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量添加多种试剂:
- [0694] 冻干形式的化合物1 1460mg
- [0695] 100 IU/mL **Humalog[®]** 市售溶液 100mL
- [0696] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0697] B15. 化合物2存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0698] 对[化合物2]/[赖脯胰岛素]质量比为4的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量添加多种试剂:
- [0699] 冻干形式的化合物2 1460mg
- [0700] 100IU/mL **Humalog[®]** 市售溶液 100mL
- [0701] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0702] B16. 化合物1和酒石酸钠存在下100IU/mL赖脯胰岛素类似物溶液的制备
- [0703] 对[化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且酒石酸钠浓度为80mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量添加多种试剂:
- [0704] 冻干形式的化合物1 730mg
- [0705] 100IU/mL **Humalog[®]** 市售溶液 100mL
- [0706] 酒石酸钠 1.552g
- [0707] 对酒石酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

- [0708] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0709] 通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [0710] B17. 化合物1和聚阴离子化合物1存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0711] 对[化合物1]/[聚阴离子化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2/4/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量添加多种试剂:
- [0712] 冻干形式的化合物1 730mg
- [0713] 冻干形式的聚阴离子化合物1 1460mg
- [0714] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL
- [0715] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0716] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [0717] B18. 化合物1和三磷酸钠存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0718] 对于最终体积为100mL的制剂,以如下指定的量添加多种试剂:
- [0719] 冻干形式的化合物1 730mg
- [0720] 三磷酸钠 184mg
- [0721] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL
- [0722] 对三磷酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0723] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [0724] B19. 化合物2和酒石酸钠存在下100IU/mL赖脯胰岛素类似物溶液的制备
- [0725] 对[化合物2]/[赖脯胰岛素]/质量比为2.0并且酒石酸钠浓度为80mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量添加多种试剂:
- [0726] 冻干形式的化合物2 730mg
- [0727] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL
- [0728] 酒石酸钠 1.552g
- [0729] 对酒石酸钠而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0730] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [0731] B20. 化合物2和聚阴离子化合物1存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0732] 对[化合物2]/[聚阴离子化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2/4/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量添加多种试剂:
- [0733] 冻干形式的化合物2 730mg
- [0734] 冻干形式的聚阴离子化合物1 1460mg
- [0735] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL
- [0736] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0737] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [0738] B21. 在化合物2和三磷酸钠的存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0739] 对于最终体积为100mL的制剂,以如下指定的量添加多种试剂:

[0740] 冻干形式的化合物2 730mg

[0741] 三磷酸钠 184mg

[0742] 100IU/mL **Humalog[®]** 市售溶液 100mL

[0743] 对三磷酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0744] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[0745] B22. 200IU/mL胰岛素类似物(赖脯胰岛素)溶液的制备

[0746] 使用截留阈值为3kDa的Amicon Ultra-15离心管来浓缩赖脯胰岛素的市售制剂(**Humalog[®]**)。首先用12mL的去离子水冲洗Amicon管。在20℃和4000g下将12mL的市售制剂离心35分钟。对保留物的体积进行测量并因此对浓度进行估算。合并所有的保留物并估算总浓度(>200IU/mL)。

[0747] 通过添加市售赖脯胰岛素制剂(**Humalog[®]**)将该浓缩的赖脯胰岛素溶液的浓度调节至200IU/mL。浓缩的市售赖脯胰岛素制剂具有与赋形剂(间甲酚、甘油、磷酸盐)相同的浓度,如100IU/mL的市售制剂。

[0748] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[0749] B23. 化合物1和柠檬酸盐存在下200IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0750] 对[化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量来混合多种试剂:

[0751] 200IU/mL赖脯胰岛素 100mL

[0752] 化合物1的冻干物 1460mg

[0753] 1.188M柠檬酸钠溶液 1566 μ L

[0754] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[0755] B24. 化合物1和聚阴离子化合物1存在下200IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0756] 对[化合物1]/[聚阴离子化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2/2/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[0757] 200IU/mL赖脯胰岛素 100mL

[0758] 化合物1的冻干物 1460mg

[0759] 聚阴离子化合物1的冻干物 1460mg

[0760] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0761] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[0762] B25. 化合物1和聚阴离子化合物1存在下200IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0763] 对[化合物1]/[聚阴离子化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2/4/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[0764] 200IU/mL赖脯胰岛素 100mL

[0765] 化合物1的冻干物 1460mg

[0766] 聚阴离子化合物1的冻干物 2920mg

[0767] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0768] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。

[0769] B26. 化合物2和聚阴离子化合物1存在下200IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0770] 对[化合物2]/[聚阴离子化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2/4/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[0771] 200IU/mL赖脯胰岛素 100mL

[0772] 化合物2的冻干物 1460mg

[0773] 聚阴离子化合物1的冻干物 2920mg

[0774] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0775] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。

[0776] B27. 化合物1和酒石酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备

[0777] 对[化合物1]/[人胰岛素]质量比为2并且酒石酸盐为80mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

500 IU/mL 人胰岛素 20 mL

36.01 mg/mL 的化合物 1 的溶液 20.27 mL

[0778] **96.6 mM 间甲酚/566 mM 甘油溶液 30 mL**

水 28.95 mL

酒石酸钠 1.552 g

[0779] 对酒石酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0780] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 $+4^\circ\text{C}$ 下储存。

[0781] B28. 化合物1和三磷酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备

[0782] 对100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

500 IU/mL 人胰岛素 20 mL

[0783] **36.01 mg/mL 的化合物 1 的溶液 20.27 mL**

96.6 mM 间甲酚/566 mM 甘油溶液 30 mL

水 28.95 mL

[0784] **三磷酸钠 184 mg**

[0785] 对三磷酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0786] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 $+4^\circ\text{C}$ 下储存。

[0787] B29. 化合物2和酒石酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备

[0788] 对[化合物2]/[人胰岛素]质量比为2并且酒石酸为80mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

500 IU/mL 人胰岛素	20 mL
36.01 mg/mL 的化合物 2 的溶液	20.27 mL
[0789] 96.6 mM 的间甲酚/566 mM 甘油溶液	30 mL
水	28.95 mL
酒石酸钠	1.552 g

[0790] 对酒石酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0791] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。

[0792] 通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在+4℃下放置。

[0793] B30.在化合物2和三磷酸盐的存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备

[0794] 对100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

500 IU/mL 人胰岛素	20 mL
36.01 mg/mL 的化合物 2 的溶液	20.27 mL
[0795] 96.6 mM 间甲酚/566 mM 甘油溶液	30 mL
水	28.95 mL
三磷酸钠	184 mg

[0796] 对三磷酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0797] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在+4℃下放置。

[0798] B31. 200IU/mL人胰岛素溶液的制备

[0799] 使用截留阈值为3kDa的Amicon Ultra-15离心管来浓缩人胰岛素的市售制剂(**Humulin[®]**R)。首先用12mL的去离子水润洗Amicon管。在20℃和4000g下将12mL的市售制剂离心35分钟。对保留物的体积进行测量并因此对浓度进行估算。合并所有的保留物并且估算总浓度(>200IU/mL)。

[0800] 通过添加市售人胰岛素制剂(**Humulin[®]**R)将该浓缩的人胰岛素溶液的浓度调节至200IU/mL。浓缩的人胰岛素制剂具有与100IU/mL的市售制剂的赋形剂(间甲酚、甘油)相同的浓度。

[0801] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[0802] B32.化合物1和柠檬酸盐存在下200IU/mL人胰岛素溶液的制备

[0803] 对[化合物1]/[人胰岛素]质量比为2的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[0804] 200IU/mL人胰岛素	100mL
---------------------	-------

- [0805] 化合物1的冻干物 1460mg
- [0806] 1.188M柠檬酸钠溶液 1566μL
- [0807] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0808] B33. 化合物1和聚阴离子化合物1存在下200IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0809] 对[化合物1]/[聚阴离子化合物1]/[人胰岛素]质量比为2/2/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [0810] 200IU/mL人胰岛素 100mL
- [0811] 化合物1的冻干物 1460mg
- [0812] 聚阴离子化合物1的冻干物 1460mg
- [0813] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0814] B34. 化合物1和聚阴离子化合物1存在下200IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0815] 对[化合物1]/[聚阴离子化合物1]/[人胰岛素]质量比为2/4/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [0816] 200IU/mL人胰岛素 100mL
- [0817] 化合物1的冻干物 1460mg
- [0818] 聚阴离子化合物1的冻干物 2920mg
- [0819] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0820] 最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0821] B35. 化合物2和柠檬酸盐存在下200IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0822] 对[化合物2]/[人胰岛素]质量比为2的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [0823] 200IU/mL人胰岛素 100mL
- [0824] 化合物2的冻干物 1460mg
- [0825] 1.188M柠檬酸钠溶液 1566μL
- [0826] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0827] B36. 化合物2和聚阴离子化合物1存在下200IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0828] 对[化合物2]/[聚阴离子化合物1]/[人胰岛素]质量比为2/2/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [0829] 200IU/mL人胰岛素 100mL
- [0830] 化合物2的冻干物 1460mg
- [0831] 聚阴离子化合物1的冻干物 1460mg
- [0832] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0833] 最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0834] B37. 化合物2和聚阴离子化合物1存在下200IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0835] 对[化合物2]/[聚阴离子化合物1]/[人胰岛素]质量比为2/4/1的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [0836] 200IU/mL人胰岛素 100mL

- [0837] 化合物2的冻干物 1460mg
- [0838] 聚阴离子化合物1的冻干物 2920mg
- [0839] 可将聚阴离子化合物1用于钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0840] 最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。

[0841] B38.在化合物2和柠檬酸盐的存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备

[0842] 对[化合物2]/[人胰岛素]质量比为2并且柠檬酸盐为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[0843]	500 IU/mL 人胰岛素	20 mL
	36.01 mg/mL 的化合物 2 的溶液	20.27 mL
	96.6 mM 间甲酚/566 mM 甘油溶液	30 mL
[0844]	水	28.95 mL
	1.188 M 柠檬酸钠溶液	783 μL

[0845] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0846] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 $+4^\circ\text{C}$ 下放置。

[0847] B39.化合物1和柠檬酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备

[0848] 对[化合物1]/[人胰岛素]质量比为2并且柠檬酸盐为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

	500 IU/mL 人胰岛素	20 mL
	36.01 mg/mL 的化合物 1 的溶液	27 mL
[0849]	96.6 mM 间甲酚/566 mM 甘油溶液	30 mL
	水	28.95 mL
	1.188 M 柠檬酸钠溶液	783 μL

[0850] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0851] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 $+4^\circ\text{C}$ 下放置。

[0852] B40.化合物1和柠檬酸盐存在下100IU/mL门冬胰岛素溶液的制备

[0853] 对[化合物1]/[门冬胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0854]	经冻干化合物1	730mg
[0855]	100IU/mL Novolog[®] 市售溶液	100mL
[0856]	1.188M柠檬酸钠溶液	783 μL

[0857] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式

或碱形式。

[0858] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。

[0859] 通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。

[0860] B41. 100IU/mL的速效胰岛素类似物**Apidra[®]**

[0861] 该溶液为来自所售名为**Apidra[®]**的来自Sanofi-Aventis的谷赖胰岛素的市售溶液。该产品为速效胰岛素类似物。

[0862] B42. 化合物1和柠檬酸盐存在下100IU/mL谷赖胰岛素溶液的制备

[0863] 对[化合物1]/[谷赖胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0864] 经冻干化合物1 730mg

[0865] 100IU/mL**Apidra[®]**市售溶液 100mL

[0866] 1.188M柠檬酸钠溶液 783 μL

[0867] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0868] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。

[0869] 通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。

[0870] B43. 化合物2和柠檬酸盐存在下100IU/mL门冬胰岛素溶液的制备

[0871] 对[化合物2]/[门冬胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0872] 经冻干化合物2 730mg

[0873] 100IU/mL**Novolog[®]**市售溶液 100mL

[0874] 1.188M柠檬酸钠溶液 783 μL

[0875] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0876] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。

[0877] 通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。

[0878] B44. 化合物2和柠檬酸盐存在下100IU/mL谷赖胰岛素溶液的制备

[0879] 对[化合物2]/[谷赖胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0880] 经冻干化合物2 730mg

[0881] 100IU/mL**Apidra[®]**市售溶液 100mL

[0882] 1.188M柠檬酸钠溶液 783 μL

[0883] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0884] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。

[0885] 通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。

[0886] B45. 化合物5和柠檬酸盐存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0887] 对[化合物5]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0888] 经冻干化合物5 730mg

[0889] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL

[0890] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL

[0891] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0892] 将最终pH调节至7.4±0.4。

[0893] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[0894] B46. 化合物6和柠檬酸盐存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0895] 对[化合物6]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0896] 经冻干化合物6 730mg

[0897] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL

[0898] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL

[0899] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0900] 将最终pH调节至7.4±0.4。

[0901] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[0902] B47. 化合物7和柠檬酸盐存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0903] 对[化合物7]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0904] 经冻干化合物7 730mg

[0905] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL

[0906] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL

[0907] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0908] 将最终pH调节至7.4±0.4。

[0909] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[0910] B48. 化合物8和柠檬酸盐存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0911] 对[化合物8]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0912] 经冻干化合物8 730mg

[0913] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL

[0914] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL

[0915] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0916] 将最终pH调节至7.4±0.4。

- [0917] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0918] B49. 化合物9和柠檬酸盐存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0919] 对[化合物9]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0920] 经冻干化合物9 730mg
- [0921] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL
- [0922] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL
- [0923] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0924] 将最终pH调节至7.4±0.4。
- [0925] B50. 化合物5和柠檬酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0926] 对[化合物5]/[人胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0927] 经冻干化合物5 730mg
- [0928] 100IU/mL **Humulin**[®] R市售溶液 100mL
- [0929] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL
- [0930] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0931] 将最终pH调节至7.4±0.4。
- [0932] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0933] B51. 化合物6和柠檬酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0934] 对[化合物6]/[人胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0935] 经冻干化合物6 730mg
- [0936] 100IU/mL **Humulin**[®] R市售溶液 100mL
- [0937] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL
- [0938] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0939] 将最终pH调节至7.4±0.4。
- [0940] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [0941] B52. 化合物7和柠檬酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0942] 对[化合物7]/[人胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0943] 经冻干化合物7 730mg
- [0944] 100IU/mL **Humulin**[®] R市售溶液 100mL
- [0945] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL
- [0946] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

- [0947] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0948] 通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [0949] B53. 化合物8和柠檬酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0950] 对[化合物8]/[人胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0951] 经冻干化合物8 730mg
- [0952] 100IU/mL **Humulin**[®]R市售溶液 100mL
- [0953] 1.188M柠檬酸钠溶液 783 μL
- [0954] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0955] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0956] 通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [0957] B54. 化合物9和柠檬酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0958] 对[化合物9]/[人胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0959] 经冻干化合物9 730mg
- [0960] 100IU/mL **Humulin**[®]R市售溶液 100mL
- [0961] 1.188M柠檬酸钠溶液 783 μL
- [0962] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [0963] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0964] 通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [0965] B55. 化合物2的存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0966] 对[化合物2]/[人胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0967] 经冻干化合物2 730mg
- [0968] 100IU/mL **Humulin**[®]R市售溶液 100mL
- [0969] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0970] 通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [0971] B56. 化合物7存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [0972] 对[化合物7]/[人胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:
- [0973] 经冻干化合物7 730mg
- [0974] 100IU/mL **Humulin**[®]R市售溶液 100mL
- [0975] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [0976] 通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [0977] B57. 化合物10和柠檬酸盐存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [0978] 对[化合物10]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的

最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0979] 经冻干化合物10 730mg

[0980] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL

[0981] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL

[0982] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0983] 将最终pH调节至7.4±0.4。

[0984] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[0985] B58. 化合物11和柠檬酸盐存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[0986] 对[化合物11]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0987] 经冻干化合物11 730mg

[0988] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL

[0989] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL

[0990] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0991] 将最终pH调节至7.4±0.4。

[0992] B59. 化合物10和柠檬酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备

[0993] 对[化合物10]/[人胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[0994] 经冻干化合物10 730mg

[0995] 100IU/mL **Humulin**[®]R市售溶液 100mL

[0996] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL

[0997] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[0998] 将最终pH调节至7.4±0.4。

[0999] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1000] B60. 化合物11和柠檬酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备

[1001] 对[化合物11]/[人胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[1002] 经冻干化合物11 730mg

[1003] 100IU/mL **Humulin**[®]R市售溶液 100mL

[1004] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL

[1005] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[1006] 将最终pH调节至7.4±0.4。

[1007] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1008] B61. 200IU/mL门冬胰岛素溶液的制备

[1009] 使用截留阈值为3kDa的Amicon Ultra-15离心管来浓缩门冬胰岛素的市售制剂(**Novolog[®]**)。首先用12mL的去离子水润洗Amicon管。在20℃和4000g下将12mL的市售制剂离心35分钟。对保留物的体积进行测量并因此对浓度进行估算。合并所有的保留物并且估算总浓度(>200IU/mL)。

[1010] 通过添加市售门冬胰岛素制剂(**Novolog[®]**)将该浓缩的门冬胰岛素溶液的浓度调节至200IU/mL。浓缩的门冬胰岛素制剂具有与100IU/mL的市售制剂的赋形剂(间甲酚、甘油)相同的浓度。

[1011] 通过修改离心时间并用市售制剂进行最终稀释,可以以相同的方式制备300IU/mL、400IU/mL或500IU/mL的门冬胰岛素制剂。

[1012] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1013] B62. 200IU/mL谷赖胰岛素溶液的制备

[1014] 使用截留阈值为3kDa的Amicon Ultra-15离心管来浓缩谷赖胰岛素的市售制剂(**Apidra[®]**)。首先用12mL的去离子水润洗Amicon管。在20℃和4000g下将12mL的市售制剂离心35分钟。对保留物的体积进行测量并因此对其浓度进行估算。合并所有的保留物并且估算总浓度(>200IU/mL)。

[1015] 通过添加市售谷赖胰岛素制剂(**Apidra[®]**)将该浓缩的谷赖胰岛素溶液的浓度调节至200IU/mL。浓缩的谷赖胰岛素制剂具有与100IU/mL的市售制剂的赋形剂(间甲酚、NaCl、TRIS)相同的浓度。

[1016] 通过修改离心时间并用市售制剂进行最终稀释,可以以相同的方式制备300IU/mL、400IU/mL或500IU/mL的谷赖胰岛素制剂。

[1017] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1018] B63. 在14.6mg/mL的化合物1和18.6mM柠檬酸盐的存在下200IU/mL门冬胰岛素溶液的制备

[1019] 对[化合物1]/[门冬胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[1020] 化合物1的经冻物 1460mg

[1021] 200IU/mL门冬胰岛素 100mL

[1022] 1.188M柠檬酸钠溶液 1566 μ L

[1023] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1024] B64. 300IU/mL、400IU/mL和500IU/mL的人胰岛素、赖脯胰岛素、门冬胰岛素或谷赖胰岛素溶液的制备

[1025] 在涉及制备200IU/mL谷赖胰岛素溶液的实施例B62的方案的基础上制备300IU/mL、400IU/mL或500IU/mL(并且也在所有中间浓度)的人胰岛素、赖脯胰岛素、门冬胰岛素或谷赖胰岛素的浓缩制剂。使用截留阈值为3kDa的Amicon Ultra-15离心管来浓缩市售胰岛素制剂。首先用12mL的去离子水润洗Amicon管。在20℃和4000g下对12mL的市售制剂进行离心。通过修改离心时间,可以调节制剂中胰岛素的最终浓度。对保留物的体积进行测量并因此对其浓度进行估算。合并所有的保留物并且估算总浓度(>300IU/mL、400IU/mL或500IU/mL)。

[1026] 通过添加胰岛素制剂(**Humulin[®]R**、**Novolog[®]**、**Humalog[®]**或**Apidra[®]**)将该浓缩的胰岛素溶液的浓度调节至期望的浓度(例如300IU/mL、400IU/mL或500IU/mL)。浓缩的胰岛素制剂具有与赋形剂相同的浓度,如100IU/mL的市售制剂。

[1027] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1028] B65. 化合物1和柠檬酸盐存在下200IU/mL谷赖胰岛素溶液的制备

[1029] 对[化合物1]/[谷赖胰岛素]质量比为2的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序混合多种试剂:

[1030] 化合物1的冻干物 1460mg

[1031] 200IU/mL谷赖胰岛素 100mL

[1032] 1.188M柠檬酸钠溶液 1566 μ L

[1033] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1034] B66. 化合物1和柠檬酸盐存在下300IU/mL门冬胰岛素溶液的制备

[1035] 对[化合物1]/[门冬胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1036] 300IU/mL门冬胰岛素 100mL

[1037] 化合物1的冻干物 2190mg

[1038] 柠檬酸钠 720mg

[1039] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1040] B67. 化合物1和柠檬酸盐存在下300IU/mL谷赖胰岛素溶液的制备

[1041] 对[化合物1]/[谷赖胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1042] 300IU/mL谷赖胰岛素 100mL

[1043] 化合物1的冻干物 2190mg

[1044] 柠檬酸钠 720mg

[1045] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1046] B68. 化合物1和柠檬酸盐存在下400IU/mL门冬胰岛素溶液的制备

[1047] 对[化合物1]/[门冬胰岛素]质量比为2的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1048] 400IU/mL门冬胰岛素 100mL

[1049] 化合物1的冻干物 2920mg

[1050] 柠檬酸钠 960mg

[1051] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1052] B69. 化合物1和柠檬酸盐存在下400IU/mL谷赖胰岛素溶液的制备

[1053] 对[化合物1]/[谷赖胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1054] 400IU/mL谷赖胰岛素 100mL

[1055] 化合物1的冻干物 2920mg

[1056] 柠檬酸钠 960mg

[1057] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1058] B70. 化合物1和柠檬酸盐存在下500IU/mL门冬胰岛素溶液的制备

[1059] 对[化合物1]/[门冬胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1060] 500IU/mL门冬胰岛素 100mL

[1061] 化合物1的冻干物 3650mg

[1062] 柠檬酸钠 1200mg

[1063] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1064] B71. 化合物1和柠檬酸盐存在下500IU/mL谷赖胰岛素溶液的制备

[1065] 对[化合物1]/[谷赖胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1066] 500IU/mL谷赖胰岛素 100mL

[1067] 化合物1的冻干物 3650mg

[1068] 柠檬酸钠 1200mg

[1069] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1070] B72. 化合物1和柠檬酸盐存在下300IU/mL人胰岛素溶液的制备

[1071] 对[化合物1]/[人胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1072] 300IU/mL人胰岛素 100mL

[1073] 化合物1的冻干物 2190mg

[1074] 柠檬酸钠 720mg

[1075] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1076] B73. 化合物1和柠檬酸盐存在下300IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[1077] 对[化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1078] 300IU/mL赖脯胰岛素 100mL

[1079] 化合物1的冻干物 2190mg

[1080] 柠檬酸钠 720mg

[1081] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1082] B74. 化合物1和柠檬酸盐存在下400IU/mL人胰岛素溶液的制备

[1083] 对[化合物1]/[人胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1084] 400IU/mL人胰岛素 100mL

[1085] 化合物1的冻干物 2920mg

[1086] 柠檬酸钠 960mg

[1087] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1088] B75. 化合物1和柠檬酸盐存在下400IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[1089] 对[化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1090] 400IU/mL赖脯胰岛素 100mL

- [1091] 化合物1的冻干物 2920mg
- [1092] 柠檬酸钠 960mg
- [1093] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1094] B76. 化合物1和柠檬酸盐存在下500IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [1095] 对[化合物1]/[人胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [1096] 500IU/mL人胰岛素 100mL
- [1097] 化合物1的冻干物 3650mg
- [1098] 柠檬酸钠 1200mg
- [1099] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1100] B77. 化合物1和柠檬酸盐存在下500IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [1101] 对[化合物1]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [1102] 500IU/mL赖脯胰岛素 100mL
- [1103] 化合物1的冻干物 3650mg
- [1104] 柠檬酸钠 1200mg
- [1105] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1106] B78. 化合物2和柠檬酸盐存在下200IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [1107] 对[化合物2]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [1108] 200IU/mL赖脯胰岛素 100mL
- [1109] 化合物2的冻干物 1460mg
- [1110] 1.188M柠檬酸钠溶液 1566 μL
- [1111] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1112] B79. 化合物2和柠檬酸盐存在下200IU/mL门冬胰岛素溶液的制备
- [1113] 对[化合物2]/[门冬胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [1114] 200IU/mL门冬胰岛素 100mL
- [1115] 化合物2的冻干物 1460mg
- [1116] 1.188M柠檬酸钠溶液 1566 μL
- [1117] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1118] B80. 化合物2和柠檬酸盐存在下200IU/mL谷赖胰岛素溶液的制备
- [1119] 对[化合物2]/[谷赖胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [1120] 200IU/mL谷赖胰岛素 100mL
- [1121] 化合物2的冻干物 1460mg
- [1122] 1.188M柠檬酸钠溶液 1566 μL
- [1123] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1124] B81. 化合物2和柠檬酸盐存在下300IU/mL门冬胰岛素溶液的制备

[1125] 对[化合物2]/[门冬胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1126] 300IU/mL门冬胰岛素 100mL

[1127] 化合物2的冻干物 2190mg

[1128] 柠檬酸钠 720mg

[1129] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1130] B82. 化合物2和柠檬酸盐存在下300IU/mL谷赖胰岛素溶液的制备

[1131] 对[化合物2]/[谷赖胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1132] 300IU/mL谷赖胰岛素 100mL

[1133] 化合物2的冻干物 2190mg

[1134] 柠檬酸钠 720mg

[1135] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1136] B83. 化合物2和柠檬酸盐存在下400IU/mL门冬胰岛素溶液的制备

[1137] 对[化合物2]/[门冬胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1138] 400IU/mL门冬胰岛素 100mL

[1139] 化合物2的冻干物 2920mg

[1140] 柠檬酸钠 960mg

[1141] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1142] B84. 化合物2和柠檬酸盐存在下400IU/mL谷赖胰岛素溶液的制备

[1143] 对[化合物2]/[谷赖胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1144] 400IU/mL谷赖胰岛素 100mL

[1145] 化合物2的冻干物 2920mg

[1146] 柠檬酸钠 960mg

[1147] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1148] B85. 化合物2和柠檬酸盐存在下500IU/mL门冬胰岛素溶液的制备

[1149] 对[化合物2]/[门冬胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1150] 500IU/mL门冬胰岛素 100mL

[1151] 化合物2的冻干物 3650mg

[1152] 柠檬酸钠 1200mg

[1153] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1154] B86. 化合物2和柠檬酸盐存在下500IU/mL谷赖胰岛素溶液的制备

[1155] 对[化合物2]/[谷赖胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:

[1156] 500IU/mL谷赖胰岛素 100mL

[1157] 化合物2的冻干物 3650mg

- [1158] 柠檬酸钠 1200mg
- [1159] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1160] B87. 化合物2和柠檬酸盐存在下300IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [1161] 对[化合物2]/[人胰岛素]质量比为2的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [1162] 300IU/mL谷赖胰岛素 100mL
- [1163] 化合物2的冻干物 2190mg
- [1164] 柠檬酸钠 720mg
- [1165] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1166] B88. 化合物2和柠檬酸盐存在下300IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [1167] 对[化合物2]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [1168] 300IU/mL赖脯胰岛素 100mL
- [1169] 化合物2的冻干物 2190mg
- [1170] 柠檬酸钠 720mg
- [1171] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1172] B89. 化合物2和柠檬酸盐存在下400IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [1173] 对[化合物2]/[人胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [1174] 400IU/mL谷赖胰岛素 100mL
- [1175] 化合物2的冻干物 2920mg
- [1176] 柠檬酸钠 960mg
- [1177] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1178] B90. 化合物2和柠檬酸盐存在下400IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [1179] 对[化合物2]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [1180] 400IU/mL赖脯胰岛素 100mL
- [1181] 冻干的化合物2 2920mg
- [1182] 柠檬酸钠 960mg
- [1183] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1184] B91. 化合物2和柠檬酸盐存在下500IU/mL人胰岛素溶液的制备
- [1185] 对[化合物2]/[人胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量混合多种试剂:
- [1186] 500IU/mL谷赖胰岛素 100mL
- [1187] 化合物2的冻干物 3650mg
- [1188] 柠檬酸钠 1200mg
- [1189] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过 $0.22\mu\text{m}$ 膜过滤澄清溶液并在 4°C 下储存。
- [1190] B92. 化合物2和柠檬酸盐存在下500IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备
- [1191] 对[化合物2]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0的100mL的最终体积的制剂而言,以如下

指定的量添加多种试剂:

[1192] 500IU/mL赖脯胰岛素 100mL

[1193] 化合物2的冻干物 3650mg

[1194] 柠檬酸钠 1200mg

[1195] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1196] B93. 化合物3和柠檬酸盐存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[1197] 对[化合物3]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[1198] 经冻干化合物3 730mg

[1199] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL

[1200] 1.188M柠檬酸钠溶液 783 μ L

[1201] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[1202] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。

[1203] 通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1204] B94. 化合物4和柠檬酸盐存在下100IU/mL赖脯胰岛素溶液的制备

[1205] 对[化合物4]/[赖脯胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[1206] 经冻干化合物4 730mg

[1207] 100IU/mL **Humalog**[®] 市售溶液 100mL

[1208] 1.188M柠檬酸钠溶液 783 μ L

[1209] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[1210] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。

[1211] 通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1212] B95. 化合物3和柠檬酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备

[1213] 对[化合物3]/[人胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

[1214] 经冻干化合物3 730mg

[1215] 100IU/mL **Humulin**[®]R 市售溶液 100mL

[1216] 1.188M柠檬酸钠溶液 783 μ L

[1217] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。

[1218] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。

[1219] 通过0.22 μ m膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。

[1220] B96. 化合物4和柠檬酸盐存在下100IU/mL人胰岛素溶液的制备

[1221] 对[化合物4]/[人胰岛素]质量比为2.0并且柠檬酸盐浓度为9.3mM的100mL的最终体积的制剂而言,以如下指定的量和以下顺序添加多种试剂:

- [1222] 经冻干化合物4 730mg
- [1223] 100IU/mL **Humulin**[®]R市售溶液 100mL
- [1224] 1.188M柠檬酸钠溶液 783μL
- [1225] 对柠檬酸盐而言,可使用钠盐、钾盐或与可注射制剂相容的其他盐形式的酸形式或碱形式。
- [1226] 将最终pH调节至 7.4 ± 0.4 。
- [1227] 通过0.22μm膜过滤澄清溶液并在4℃下储存。
- [1228] C药效学和药代动力学
- [1229] C1:用于测定胰岛素溶液药效的方案
- [1230] 在实验开始前使十二只颈静脉中预先插入导管的重量为约50kg的驯养猪禁食2.5小时。在注射胰岛素之前的一小时内,采集三个血液样品以测定葡萄糖和胰岛素的基础水平。
- [1231] 使用配置有31G针的Novopen胰岛素笔将0.09IU/kg剂量的赖脯胰岛素和0.125IU/kg剂量的人胰岛素以及门冬胰岛素在动物耳下的颈内进行皮下注射。
- [1232] 然后每4分钟采集血液样品,进行20分钟,并且然后每10分钟采集直至3个小时。在采集每份样品后,用稀释的肝素溶液冲洗导管。
- [1233] 取出一滴血以用葡萄糖仪测定血糖。
- [1234] 然后绘制葡萄糖药效学曲线并且对每只猪测定达到最低血糖水平所需时间并记录为葡萄糖Tmin。然后计算葡萄糖Tmin值的平均值。
- [1235] 将残留血液收集于干燥管中并离心以分离血清。经由夹心ELISA免疫酶方法测定每只猪的血清样品中的胰岛素水平。
- [1236] 然后绘制药代动力学曲线。对每只猪测定达到血清中最大胰岛素浓度所需时间并记录为胰岛素Tmax。然后计算胰岛素Tmax值的平均值。
- [1237] C2:实施例B2和B8的胰岛素溶液的药效学和药代动力学结果
- [1238]

实施例	胰岛素	化合物	聚阴离子化合物	猪的数目
B2	赖脯	-	-	11
B8	赖脯	1	9.3mM柠檬酸盐	10

[1239] 图1显示用实施例B2和B8所述的制剂获得的药效学结果。根据本发明,这些曲线的分析示出与用实施例B2的**Humalog**[®]市售制剂(用对应于实施例B2的三角形绘制的曲线,葡萄糖Tmin=44±14min)获得的作用相比,包含化合物1和9.3mM作为赋形剂的柠檬酸盐的实施例B8的制剂(用对应于实施例B8的方块绘制的曲线,葡萄糖Tmin=30±11min)可获得更迅速的作用。

[1240] 图2显示用实施例B2和B8所述的制剂获得的药代动力学结果。根据本发明,这些曲线的分析示出与实施例B2的**Humalog**[®]市售制剂(用对应于实施例B2的三角形绘制的曲线,胰岛素Tmax=18±8min)相比,包含化合物1和9.3mM作为赋形剂的柠檬酸盐的实施例B8的制剂(用相应于实施例B8的方块绘制的曲线,胰岛素Tmax=11±6min)诱导更迅速地吸收赖脯胰岛素。

[1241] C3:实施例B2和B10的胰岛素溶液的药效学和药代动力学结果

[1242]

实施例	胰岛素	化合物	聚阴离子化合物	猪的数目
B2	赖脯	—	—	11
B10	赖脯	1	聚阴离子化合物1	11

[1243] 图3显示用实施例B2和B10所述的制剂获得的药效学结果。根据本发明,这些曲线的分析示出与用实施例B2的**Humalog**[®]市售制剂(用对应于实施例B2的三角形绘制的曲线,葡萄糖T_{min}=44±14min)获得的作用相比,包含化合物1和20mg/mL作为赋形剂的聚阴离子化合物1的实施例B10的制剂(用对应于实施例B10的方块绘制的曲线,葡萄糖T_{min}=33±13min)可获得更快的作用。

[1244] 图4显示用实施例B2和B10所述的制剂获得的药代动力学结果。根据本发明,这些曲线的分析示出与实施例B2的**Humalog**[®]市售制剂(用对应于实施例B2的三角形绘制的曲线,胰岛素T_{max}=18±8min)相比,包含化合物1和20mg/mL作为赋形剂的聚阴离子化合物1的实施例B10的制剂(用对应于实施例B10的方块绘制的曲线,胰岛素T_{max}=15±9min)诱导更迅速地吸收赖脯胰岛素。

[1245] C4:实施例B2和B7的胰岛素溶液的药效学和药代动力学结果

[1246]

实施例	胰岛素	化合物	聚阴离子化合物	猪的数目
B2	赖脯	—	—	12
B7	赖脯	1	—	12

[1247] 图5显示用实施例B2和B7所述的制剂获得的药效学结果。根据本发明,这些曲线的分析示出与用实施例B2的**Humalog**[®]市售制剂(用对应于实施例B2的三角形绘制的曲线,葡萄糖T_{min}=50±14min)获得的作用相比,包含作为赋形剂的化合物1的实施例B7的制剂(用对应于实施例B7的方块绘制的曲线,葡萄糖T_{min}=41±16min)诱导更迅速地起效。

[1248] 图6显示用实施例B2和B7所述的制剂获得的药代动力学结果。根据本发明,这些曲线的分析示出与实施例B2的**Humalog**[®]市售制剂(用对应于实施例B2的三角形绘制的曲线,胰岛素T_{max}=20±9min)相比,包含作为赋形剂的化合物1的制剂(用对应于实施例B2的方块绘制的曲线,胰岛素T_{max}=21±10min)并不诱导更迅速地吸收赖脯胰岛素。因此,单独的化合物1不足以诱导赖脯胰岛素药代动力学的显著加速。

[1249] C5:实施例B1和B3的胰岛素溶液的药效学和药代动力学结果

[1250]

实施例	胰岛素	化合物	聚阴离子化合物	猪的数目
B1	门冬	—	—	11
B3	人	—	—	11

[1251] 图7显示用实施例B1和B3所述的制剂获得的药效学结果。这些曲线的分析示出与实施例B1的门冬胰岛素市售制剂(用对应于实施例B1的三角形绘制的曲线,葡萄糖T_{min}=44±13min)相比,实施例B3的人胰岛素制剂(用对应于实施例B3的方块绘制的曲线,葡萄糖T_{min}=61±31min)确实具有更慢的作用。

[1252] 图8显示用实施例B1和B3所述的制剂获得的药代动力学结果。这些曲线的分析示出与实施例B1的门冬胰岛素市售制剂(**Novolog[®]**) (用对应于实施例B1的三角形绘制的曲线,胰岛素T_{max}=28±13min) 相比,实施例B3的单独的人胰岛素制剂(用对应于实施例B3的方块绘制的曲线,胰岛素T_{max}=36±33min) 确实诱导更慢的吸收。

[1253] 这些结果与文献结果一致,相对于人胰岛素,速效胰岛素类似物加速血糖的降低和胰岛素的吸收。

[1254] C6:实施例B1和B39的胰岛素溶液的药效学和药代动力学结果

[1255]

实施例	胰岛素	化合物	聚阴离子化合物	猪的数目
B1	门冬	-	-	14
B39	人	1	9.3mM柠檬酸盐	5

[1256] 图9显示用实施例B1和B39所述的制剂获得的药效学结果。这些曲线的分析示出与用实施例B1的门冬胰岛素市售制剂(**Novolog[®]**) (用对应于实施例B1的三角形绘制的曲线,葡萄糖T_{min}=53±24min) 获得的作用相比,基于包含化合物1和作为赋形剂的9.3mM柠檬酸盐的实施例B39的人胰岛素的制剂(用对应于实施例B39的方块绘制的曲线,葡萄糖T_{min}=46±9min) 可获得类似的作用。

[1257] 图10显示用实施例B1和B39所述的制剂获得的药代动力学结果。这些曲线的分析示出与实施例B1的门冬胰岛素市售制剂(**Novolog[®]**) (用对应于实施例B1的三角形绘制的曲线,胰岛素T_{max}=22±10min) 相比,包含化合物1和作为赋形剂的9.3mM柠檬酸盐的实施例B39的制剂诱导类似的胰岛素吸收(用对应于实施例B39的方块绘制的曲线,胰岛素T_{max}=20±7min)。

[1258] 因为实施例C5与C6的门冬胰岛素(**Novolog[®]**)的时间参数类似,所以可通过外推推断出相对于人胰岛素的市售制剂(实施例B3),实施例B39的制剂诱导加速血糖的降低和人胰岛素的吸收。

[1259] C7:实施例B2和B11的胰岛素溶液的药效学和药代动力学结果

[1260]

实施例	胰岛素	化合物	聚阴离子化合物	猪的数目
B2	赖脯	-	-	26
B11	赖脯	2	9.3mM柠檬酸盐	23

[1261] 图13显示用实施例B2和B11所述的制剂获得的药效学结果。根据本发明,这些曲线的分析示出与用实施例B2的**Humalog[®]**市售制剂(用对应于实施例B2的三角形绘制的曲线,葡萄糖T_{min}=41±21min) 获得的作用相比,包含化合物2和作为赋形剂的9.3mM柠檬酸盐的实施例B11的制剂(用对应于实施例B11的方块绘制的曲线,葡萄糖T_{min}=32±10min) 可获得更迅速的作用。

[1262] 图14表现出用实施例B2和B11所述的制剂获得的药代动力学结果。根据本发明,这些曲线的分析示出与实施例B2的**Humalog[®]**市售制剂相比(用对应于实施例B2的三角形绘制的曲线,胰岛素T_{max}=22±13min),包含化合物2和作为赋形剂的9.3mM柠檬酸盐的实

施例B11的制剂(用对应于实施例B11的方块绘制的曲线,胰岛素 $T_{\max}=13\pm5\text{min}$)诱导更迅速地吸收赖脯胰岛素。

[1263] C8:实施例B1和B38的胰岛素溶液的药效学和药代动力学结果

[1264]

实施例	胰岛素	化合物	聚阴离子化合物	猪的数目
-----	-----	-----	---------	------

[1265]

B1	门冬	-	-	37
B38	人	2	9.3 mM 柠檬酸盐	31

[1266] 图15显示用实施例B1和B38所述的制剂获得的药效学结果。这些曲线的分析示出与用实施例B1的门冬胰岛素市售制剂(**Novolog[®]**)(用对应于实施例B1的三角形绘制的曲线,葡萄糖 $T_{\min}=47\pm15\text{min}$)获得的作用相比,基于包含化合物2和作为赋形剂的9.3mM柠檬酸盐的实施例B38的人胰岛素的制剂(用对应于实施例B102的方块绘制的曲线,葡萄糖 $T_{\min}=47\pm30\text{min}$)能够获得类似的作用。

[1267] 图16显示用实施例B1和B38所述的制剂获得的药代动力学结果。这些曲线的分析示出包含化合物2和作为赋形剂的9.3mM柠檬酸盐的实施例B38的制剂(用对应于实施例B38的方块绘制的曲线,胰岛素 $T_{\max}=22\pm21\text{min}$)诱导与实施例B1的门冬胰岛素市售制剂(**Novolog[®]**)(用对应于实施例B1的三角形绘制的曲线,胰岛素 $T_{\max}=19\pm12\text{min}$)类似的人胰岛素的吸收。

[1268] 因为实施例C5与C8的门冬胰岛素(**Novolog[®]**)的时间参数类似,所以可通过外推推断出相对于人胰岛素的市售制剂(实施例B3),实施例B38的制剂诱导加速血糖的降低和人胰岛素的吸收。

[1269] C9:实施例B1和B53的胰岛素溶液的药效学和药代动力学结果

[1270]

实施例	胰岛素	化合物	聚阴离子化合物	猪的数目
B1	门冬	-	-	12
B53	人	化合物 8	9.3 mM 柠檬酸盐	8

[1271] 图17显示用实施例B1和B53所述的制剂获得的药效学结果。这些曲线的分析示出与用实施例B1的门冬胰岛素市售制剂(**Novolog[®]**)(用对应于实施例B1的三角形绘制的曲线,葡萄糖 $T_{\min}=53\pm19\text{min}$)获得的作用相比,基于包含化合物8和作为赋形剂的9.3mM柠檬酸盐的实施例B53的人胰岛素的制剂(用对应于实施例B53的方块绘制的曲线,葡萄糖 $T_{\min}=63\pm36\text{min}$)可获得基本上一样迅速的作用。

[1272] 图18显示用实施例B1和B53所述的制剂获得的药代动力学结果。这些曲线的分析

示出包含化合物8和作为赋形剂的9.3mM柠檬酸盐的实施例B53的制剂(用对应于实施例B53的方块绘制的曲线,胰岛素 $T_{\max}=19\pm 12\text{min}$)诱导与实施例B1的门冬胰岛素市售制剂(**Novolog[®]**)(用对应于实施例B1的三角形绘制的曲线,胰岛素 $T_{\max}=19\pm 6\text{min}$)类似的人胰岛素的吸收。

[1273] 因为实施例C5与C9的门冬胰岛素(**Novolog[®]**)的时间参数类似,所以可通过外推推断出相对于人胰岛素的市售制剂(实施例B3),实施例B53的制剂诱导加速糖血的降低和人胰岛素的吸收。

[1274] D圆二色谱

[1275] D1:在化合物1的存在下通过圆二色谱评价缔合态赖脯胰岛素

[1276] 圆二色谱使得可研究胰岛素的二级和四级结构。胰岛素单体组织为二聚物和六聚物。六聚物为物理和化学上最稳定形式的胰岛素。存在两种六聚形式即R6形式和T6形式。赖脯胰岛素在251nm处具有较强的CD信号,这为六聚形式R6(最稳定形式)的特征。251nm处CD信号的损失与六聚物的去稳定作用相联系(并因此为六聚物转化为二聚物的第一迹象)。

[1277] EDTA和EDTA/柠檬酸盐混合物使赖脯胰岛素的R6形式完全变性(图11)。因此EDTA对六聚物具有显著的影响。

[1278] 与此相反,单独的柠檬酸盐、单独的化合物1以及化合物1/柠檬酸盐和化合物1/聚阴离子化合物1的混合物几乎不影响251nm处的CD信号。因此这些化合物几乎对六聚物的R6结构并因此对六聚结构影响更小。

[1279] D2:在化合物1的存在下通过圆二色谱评价缔合态人胰岛素

[1280] 圆二色谱使得可研究胰岛素的二级和四级结构。胰岛素单体组织为二聚物和六聚物。六聚物为物理和化学上最稳定形式的胰岛素。275nm处的CD信号为胰岛素的六聚形式的特征(六聚物信号在约 -300° 处,二聚物的信号为 -200° 至 -250° 并且单体的信号低于 -200°)。因此275nm处CD信号的损失为六聚物去稳定化为二聚物或单体的特征。

[1281] EDTA和EDTA/柠檬酸盐组合对人胰岛素的六聚结构有非常显著的影响(六聚物完全离解为二聚物,图12)。与此相反,单独的柠檬酸盐、单独的化合物1、单独的聚阴离子化合物1以及化合物1/柠檬酸盐和化合物1/聚阴离子化合物1的组合对人胰岛素的六聚结构没有影响。与EDTA不同,包含化合物1和柠檬酸盐或聚阴离子化合物1的人胰岛素制剂未显示任何离解的人胰岛素六聚物。

[1282] D3:在化合物1至11的存在下通过圆二色谱评价缔合态赖脯胰岛素

[1283] 圆二色谱使得能够研究胰岛素的二级和四级结构。胰岛素单体组织为二聚物和六聚物。六聚物为物理和化学上最稳定形式的胰岛素。存在两种六聚形式即R6形式和T6形式。赖脯胰岛素在251nm处具有强的CD信号,这为六聚形式R6(最稳定形式)的特征。251nm处CD信号的损失与六聚物的去稳定作用相联系(并因此为六聚物转化为二聚物的第一迹象)。图19示出所得结果。该图描述了x轴上:

[1284] -A:赖脯胰岛素(100IU/mL)

[1285] -B:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物2

[1286] -C:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物2+9.3mM的柠檬酸盐

[1287] -D:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物1

- [1288] -E:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物1+9.3mM的柠檬酸盐
- [1289] -F:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物3
- [1290] -G:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物3+9.3mM的柠檬酸盐
- [1291] -H:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物4
- [1292] -I:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物4+9.3mM的柠檬酸盐
- [1293] -J:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物5
- [1294] -K:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物5+9.3mM的柠檬酸盐
- [1295] -L:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物6
- [1296] -M:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物6+9.3mM的柠檬酸盐
- [1297] -N:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物7
- [1298] -O:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物7+9.3mM的柠檬酸盐
- [1299] -P:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物8
- [1300] -Q:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物8+9.3mM的柠檬酸盐
- [1301] -R:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物9
- [1302] -S:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物9+9.3mM的柠檬酸盐
- [1303] -T:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物10
- [1304] -U:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物10+9.3mM的柠檬酸盐
- [1305] -V:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物11
- [1306] -W:赖脯胰岛素+7.3mg/mL的化合物11+9.3mM的柠檬酸盐
- [1307] 和y轴上251nm处的圆二色谱信号 ($\text{deg} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{dmol}^{-1}$)。
- [1308] 单独的化合物1至11以及与柠檬酸盐组合的化合物1至11对251nm处赖脯胰岛素的CD信号没有影响。因此化合物1至11对赖脯胰岛素的六聚物的R6结构并由此对六聚结构没有影响。
- [1309] D4:在化合物1至11的存在下通过圆二色谱评价缔合态人胰岛素
- [1310] 圆二色谱使得可研究胰岛素的二级和四级结构。胰岛素单体组织为二聚物和六聚物。六聚物为物理和化学上最稳定形式的胰岛素。275nm处的CD信号为胰岛素的六聚形式的特征(六聚物信号在约 -300° 处,二聚物的信号为 -200° 至 -250° 并且单体的信号低于 -200°)。因此275nm处CD信号的损失为六聚物去稳定化为二聚物或单体的特征。所得结果示出于图20中。该图描述了x轴上:
- [1311] A:人胰岛素(100IU/mL)
- [1312] B:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物2
- [1313] C:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物2+9.3mM的柠檬酸盐
- [1314] D:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物1
- [1315] E:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物1+9.3mM的柠檬酸盐
- [1316] F:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物3
- [1317] G:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物3+9.3mM的柠檬酸盐
- [1318] H:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物4
- [1319] I:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物4+9.3mM的柠檬酸盐
- [1320] J:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物5

- [1321] K:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物5+9.3mM的柠檬酸盐
- [1322] L:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物6
- [1323] M:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物6+9.3mM的柠檬酸盐
- [1324] N:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物7
- [1325] O:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物7+9.3mM的柠檬酸盐
- [1326] P:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物8
- [1327] Q:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物8+9.3mM的柠檬酸盐
- [1328] R:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物9
- [1329] S:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物9+9.3mM的柠檬酸盐
- [1330] T:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物10
- [1331] U:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物10+9.3mM的柠檬酸盐
- [1332] V:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物11
- [1333] W:人胰岛素+7.3mg/mL的化合物11+9.3mM的柠檬酸盐
- [1334] 和y轴上275nm处的圆二色谱信号 ($\text{deg} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{dmol}^{-1}$)。
- [1335] 单独的化合物1至11以及与柠檬酸盐结合的化合物1至11对在275nm处人胰岛素的CD信号没有影响。因此,化合物1至11对人胰岛素的六聚结构没有影响。
- [1336] E人胰岛素和胰岛素类似物在等电点的溶解
- [1337] E1.人胰岛素在其等电点的溶解
- [1338] 人胰岛素的等电点为5.3。在该pH(5.3)下,人胰岛素沉淀。显示出使用多种化合物形成人胰岛素复合物的测试在等电点进行。如果存在相互作用,则可在其等电点溶解胰岛素。
- [1339] 制备200IU/mL的人胰岛素溶液。在水中制备不同浓度(8mg/mL、30mg/mL或100mg/mL)的化合物溶液。制备人胰岛素溶液与化合物溶液的等体积(50/50)混合物以使得溶液包含100IU/mL的人胰岛素和期望浓度(4mg/mL、15mg/mL或50mg/mL)的化合物。通过添加200mM的乙酸将多种溶液的pH调节至pH 5.3。
- [1340] 对溶液的外观进行记录。如果溶液是浑浊的,则测试浓度的化合物不允许人胰岛素溶解。如果溶液是半透明的,则化合物允许测试浓度的人胰岛素溶解。通过该方式,可确定人胰岛素在其等电点溶解所需的化合物浓度。该浓度越低,化合物对人胰岛素的亲和力越大。
- [1341] 所得结果示出于表3。结果显示对于人胰岛素溶解,化合物和多糖并不具有相同的性质。
- [1342] 表3

[1343]

化合物(实施例) 或多糖(对比实施例)	具有 4 mg/mL 化 合物的 100 IU/mL 人 胰岛素溶解	具有 15 mg/mL 化合物的 100 IU/mL 人胰岛素溶解	具有 50 mg/mL 化合物的 100 IU/mL 人胰岛素溶解
对比实施例			
多糖 1	是	是	是
多糖 4	是	是	是
多糖 3	是	是	是
多糖 2	是	是	是
多糖 5	是	是	是
实施例			
化合物 1	否	否	是
化合物 2	否	否	是
化合物 3	否	否	是
化合物 4	否	否	是
化合物 6	否	否	是
化合物 8	否	否	是
化合物 9	否	否	是
化合物 10	否	否	是

[1344] E2. 赖脯胰岛素在其等电点的离解

[1345] 赖脯胰岛素的等电点为5.3。在该pH下,赖脯胰岛素沉淀。显示出使用多种化合物形成赖脯胰岛素复合物的测试在等电点进行。如果存在相互作用,则可在其等电点溶解赖脯胰岛素。

[1346] 用1mM PO₄缓冲液(pH 7)对赖脯胰岛素的市售制剂(**Humalog[®]**)进行透析。在透析后,赖脯胰岛素浓度为约90IU/mL。称取经冻干化合物并将其溶解于赖脯胰岛素溶液中以使得制剂包含90IU/mL的赖脯胰岛素和期望浓度(4mg/mL、15mg/mL或50mg/mL)的化合物。通过添加200mM的柠檬酸将多种溶液的pH调节至pH 5.3。

[1347] 对溶液的外观进行记录。如果溶液是浑浊的,则测试浓度的化合物不允许赖脯胰岛素的溶解。如果溶液是半透明的,则化合物允许测试浓度的赖脯胰岛素溶解。通过该方式,可确定赖脯胰岛素在其等电点溶解所需的化合物浓度。该浓度越低,化合物对赖脯胰岛素的亲和力越大。

[1348] 所得结果示出于表4。结果显示对于赖脯胰岛素离解,化合物和多糖并不具有相同的性质。

[1349] 表4

[1350]

化合物(实施例) 或多糖(对比实施例)	具有 4 mg/mL 化 合物的 90 IU/mL 赖 脯胰岛素溶解	具有 15 mg/mL 化合物的 90 IU/mL 赖脯胰岛素溶解	具有 50 mg/mL 化合物的 90 IU/mL 赖脯胰岛素的溶解
对比实施例			
多糖 1	是	是	是
多糖 3	是	是	是
多糖 2	是	是	是
实施例			
化合物 1	否	否	是
化合物 2	否	否	是
化合物 3	否	否	是

[1351] F与白蛋白的相互作用

[1352] F1:为了测定多种多糖或化合物与模型蛋白质(例如白蛋白)之间的相互作用,进行Centricon测试(具有50kDa的截止阈值的膜)。在PBS的BSA(20mg/mL,牛血清白蛋白)溶液中,将7.3mg/mL的多糖或化合物的溶液稀释三倍(混合物中浓度:2.43mg/mL的多糖或化合物、13.3mg/mL的白蛋白和约100mM的盐)。

[1353] 在Centricon上对该混合物进行离心以使得约一半体积通过膜。白蛋白定量截留在Centricon膜上。单独的分析的多糖和化合物大部分通过膜(对具有最大摩尔质量的多糖而言,约20%的多糖被截留下来)。

[1354] 在离心后,通过UV来测定滤出液中的多糖或化合物。经由以下公式计算与白蛋白结合的多糖或化合物的百分比:

[1355] $(1 - [\text{白蛋白存在下滤出液中的多糖或化合物}] / [\text{不存在白蛋白时滤出液中的多糖或化合物}]) \times 100$

[1356] 所得结果示出于表5。可以很清楚地观察到,在该测试中,白蛋白强烈保留5kDa至15kDa摩尔质量的多糖。与此相反,在该测试中,白蛋白明显较少保留较低摩尔质量的本发明化合物。

[1357] 表5

[1358]

多糖或化合物	与 BSA 结合的多糖%或化合物%
对比实施例	
多糖 4	97%
多糖 1	95%
多糖 3	77%
多糖 5	86%
多糖 2	82%
实施例	
化合物 2	21%
化合物 1	20%
化合物 3	27%
化合物 4	24%
化合物 5	24%
化合物 6	26%
化合物 7	27%

[1359]

化合物 8	27%
化合物 9	43%
化合物 11	35%

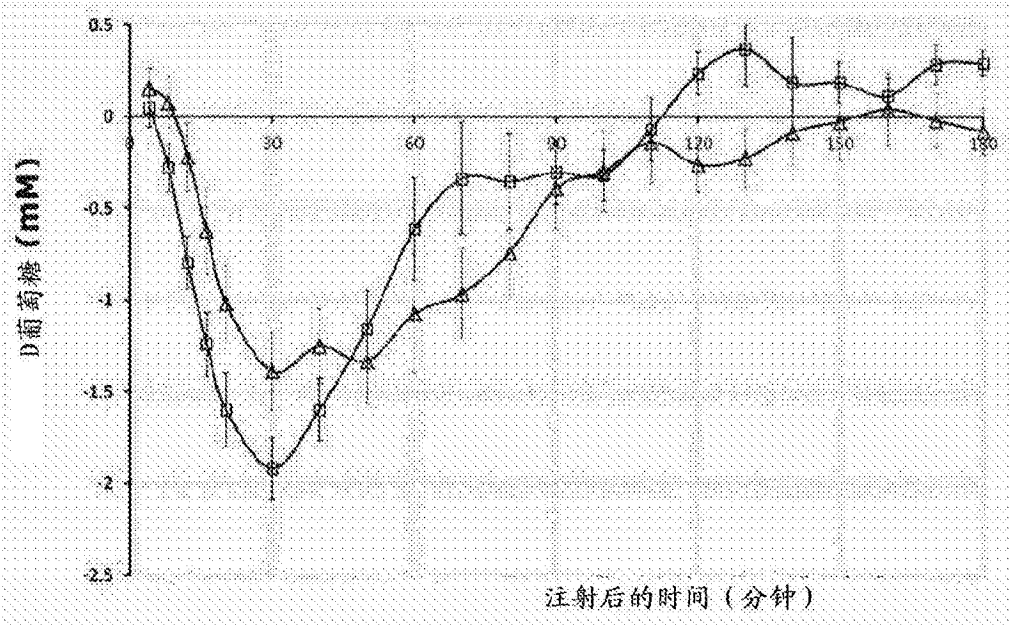


图1

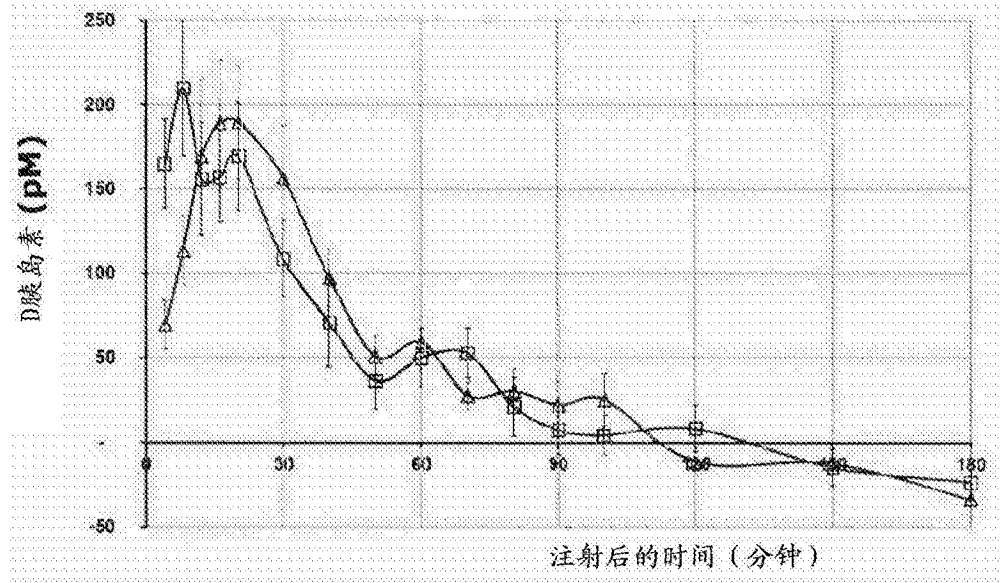


图2

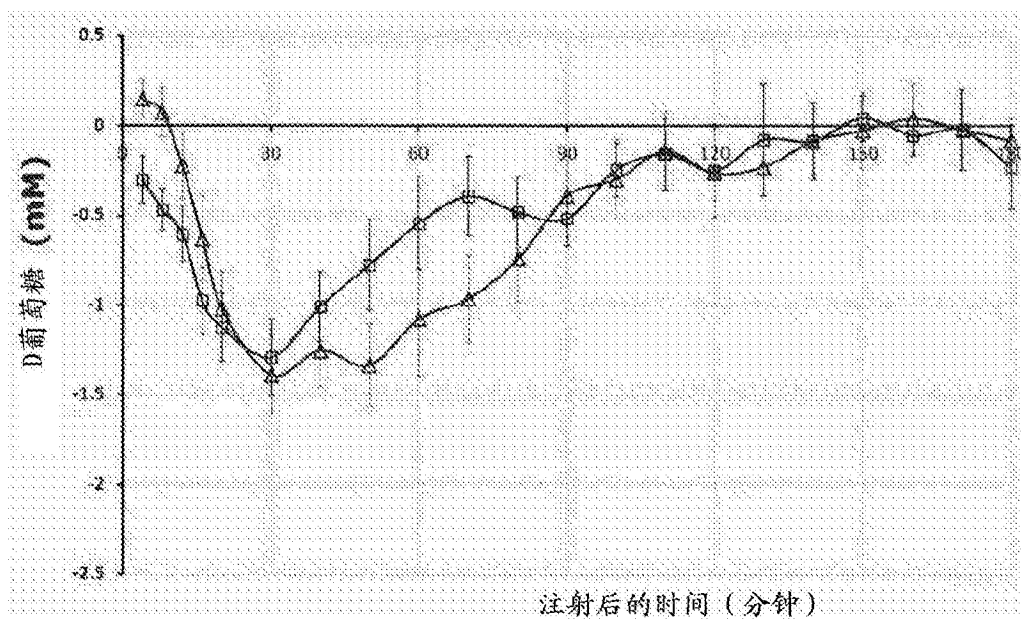


图3

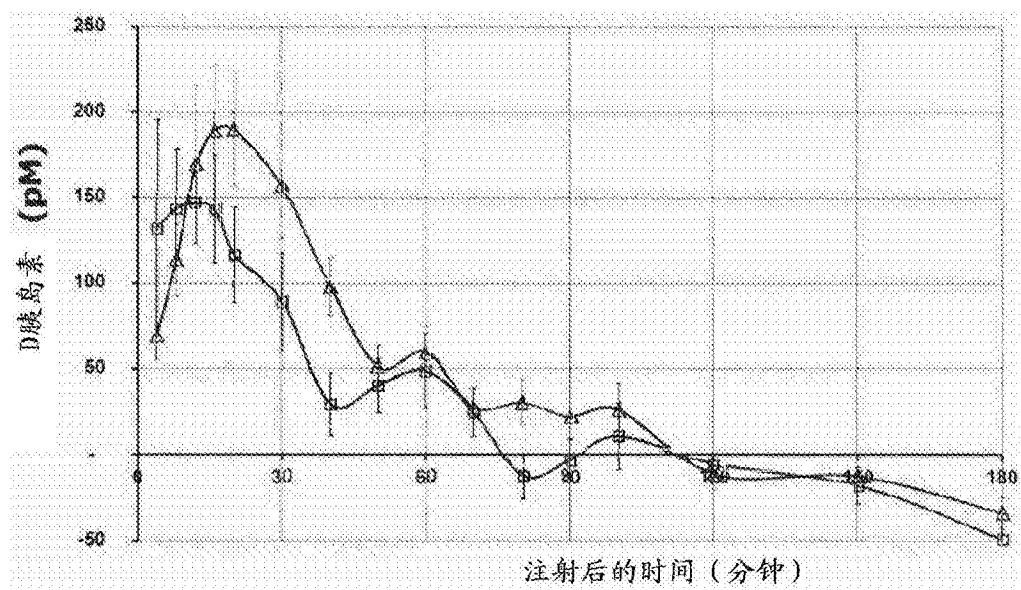


图4

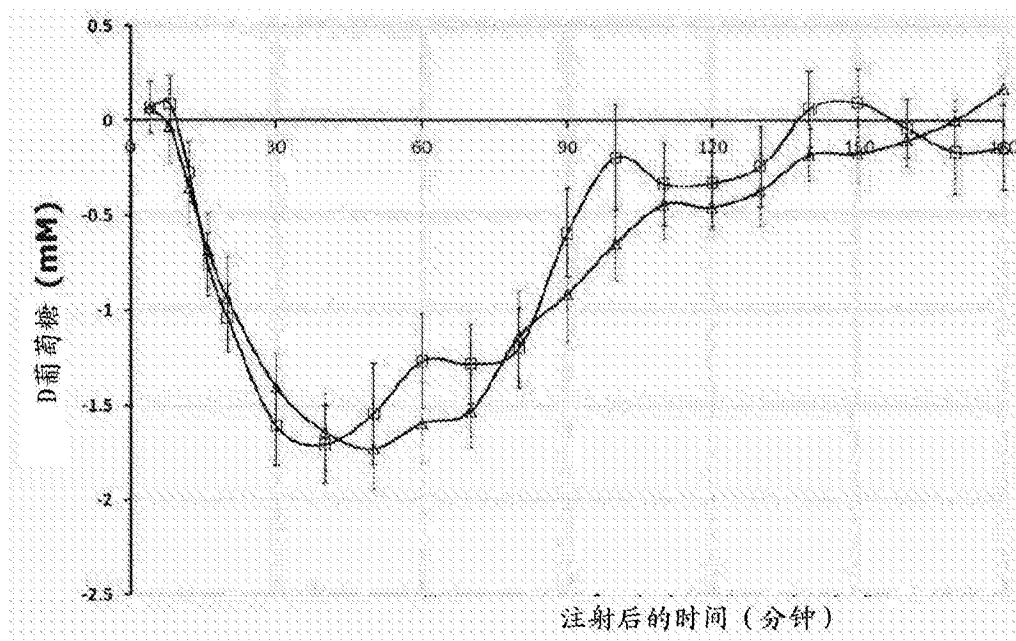


图5

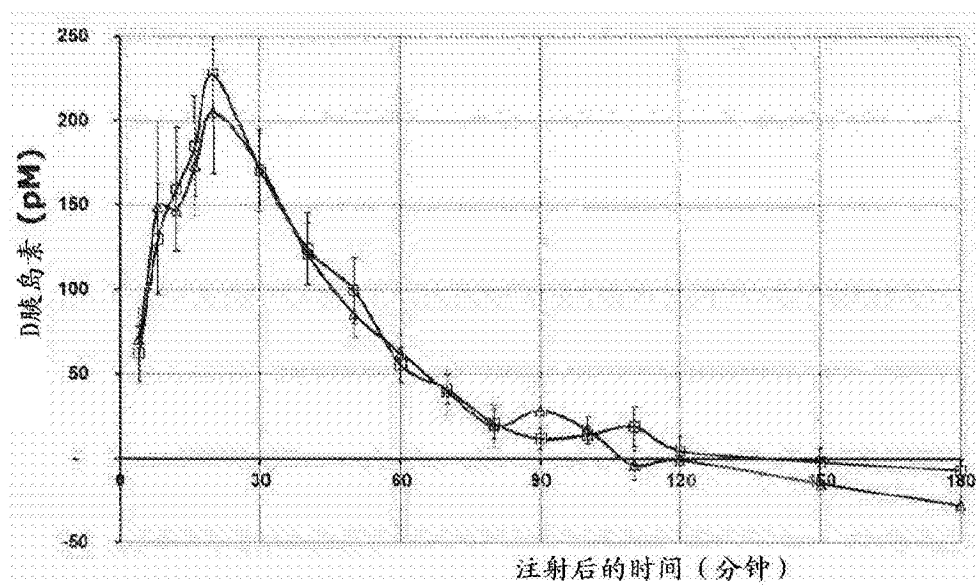


图6

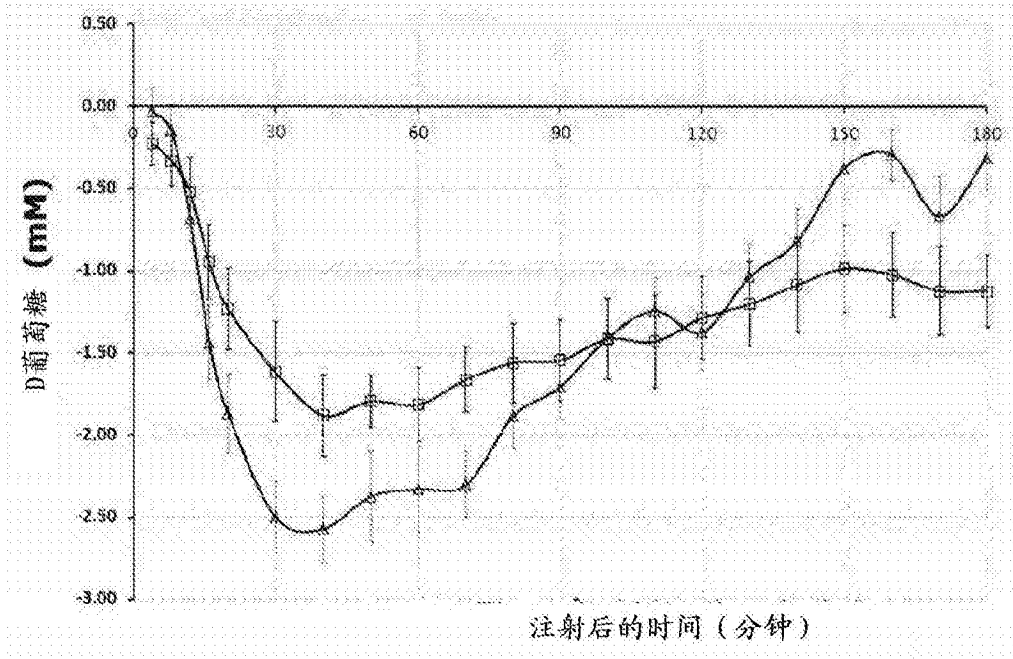


图7

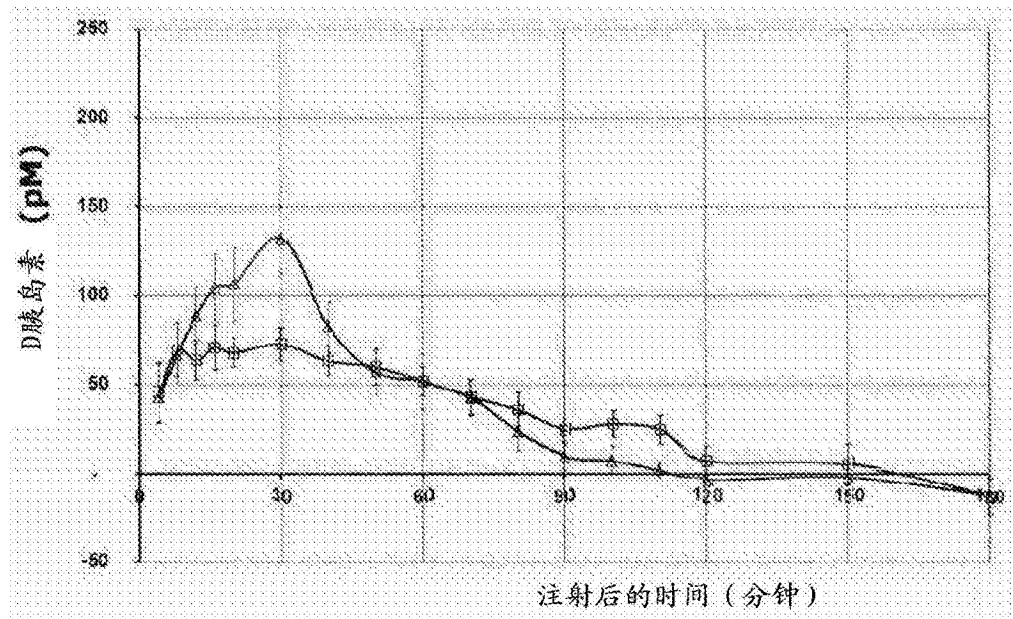


图8

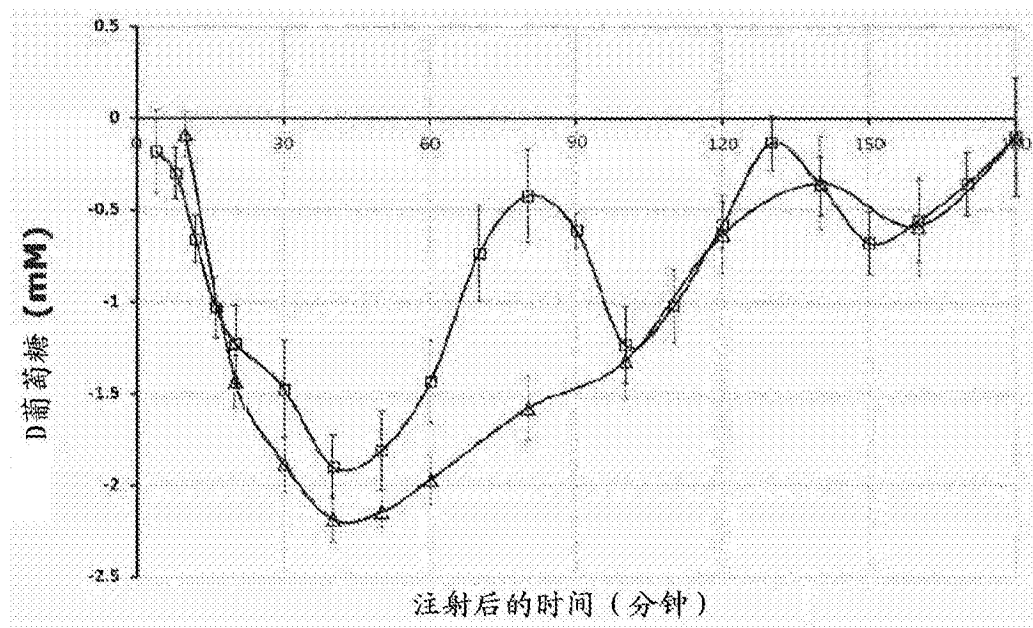


图9

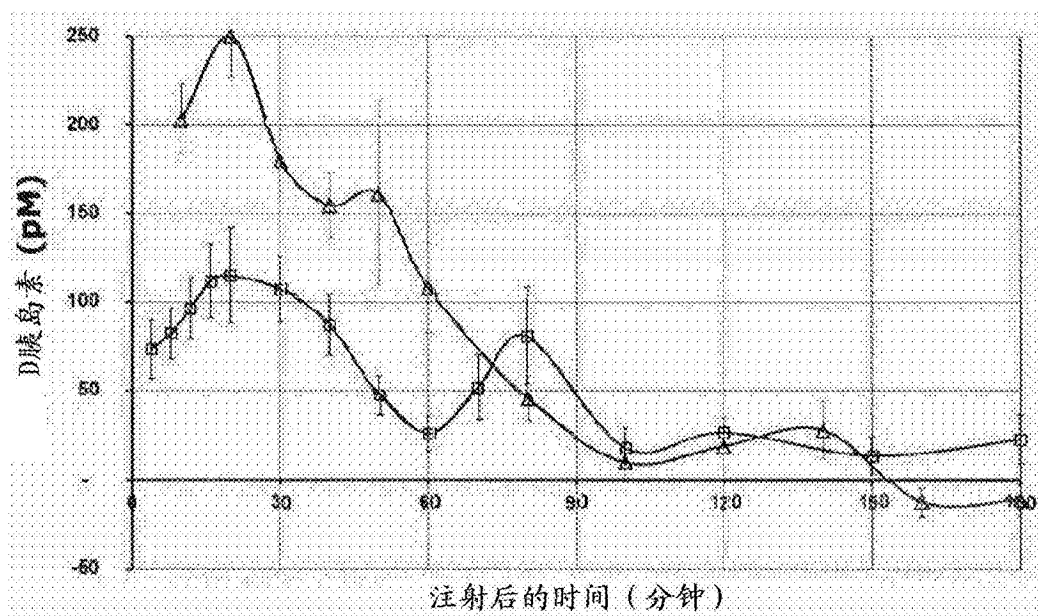


图10

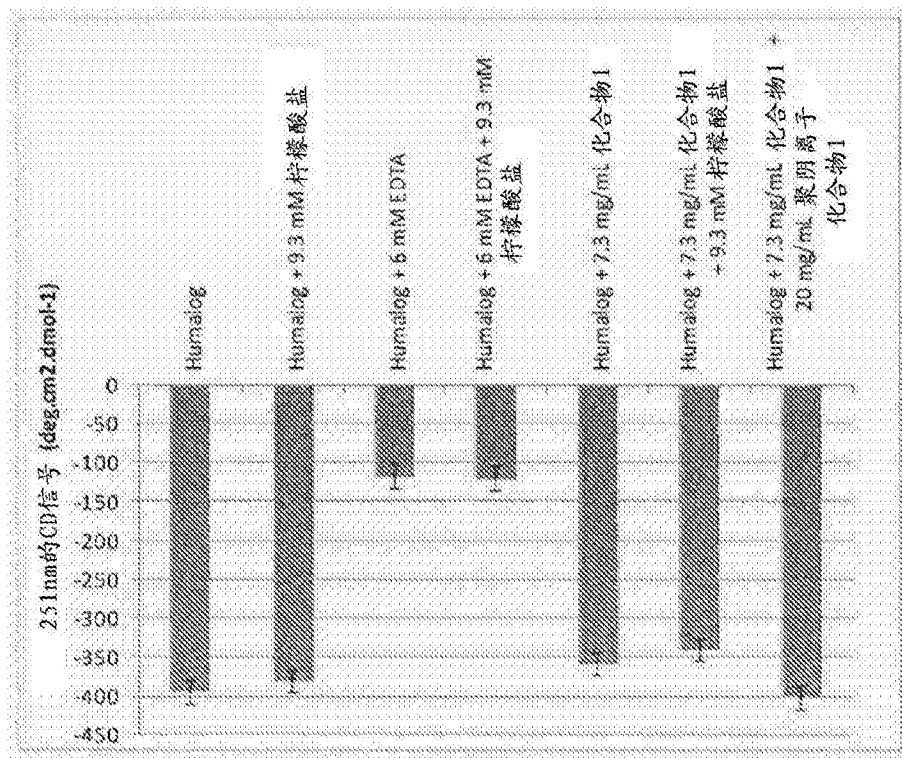


图11

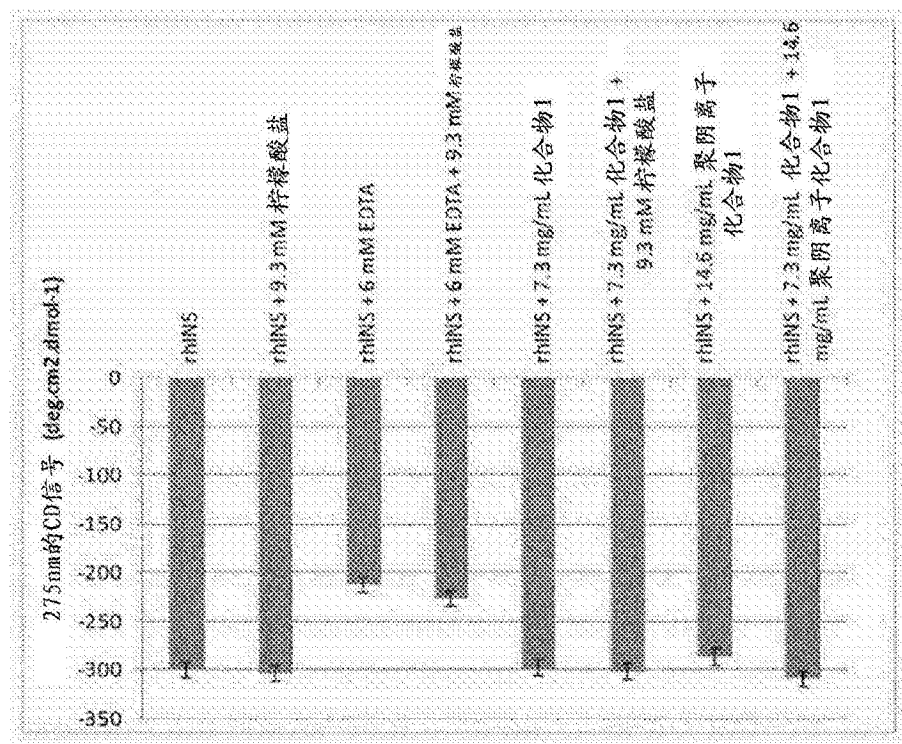


图12

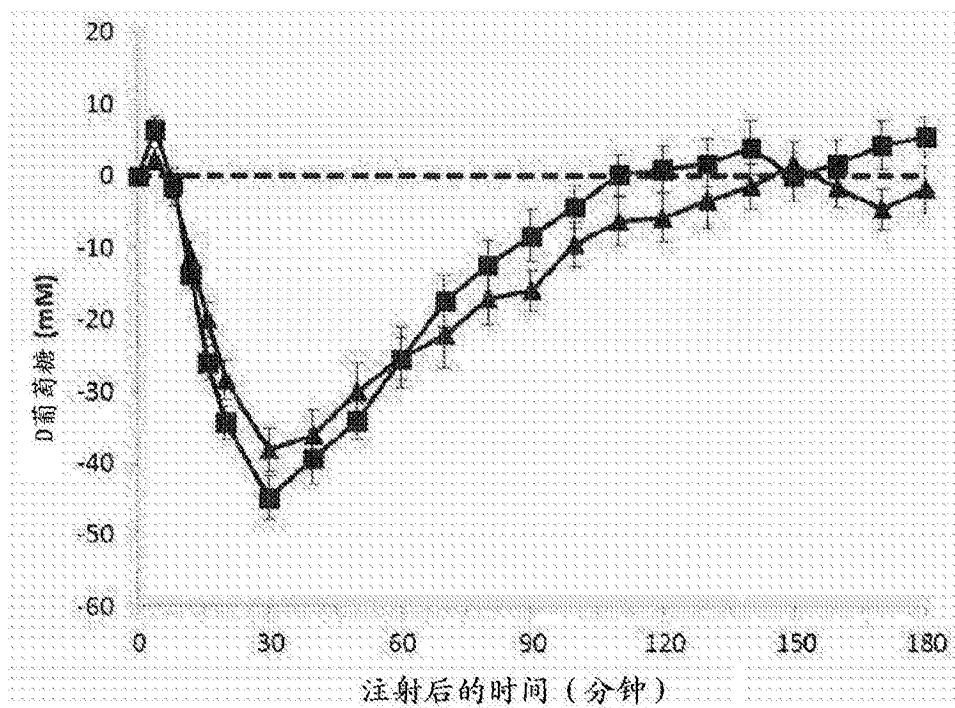


图13

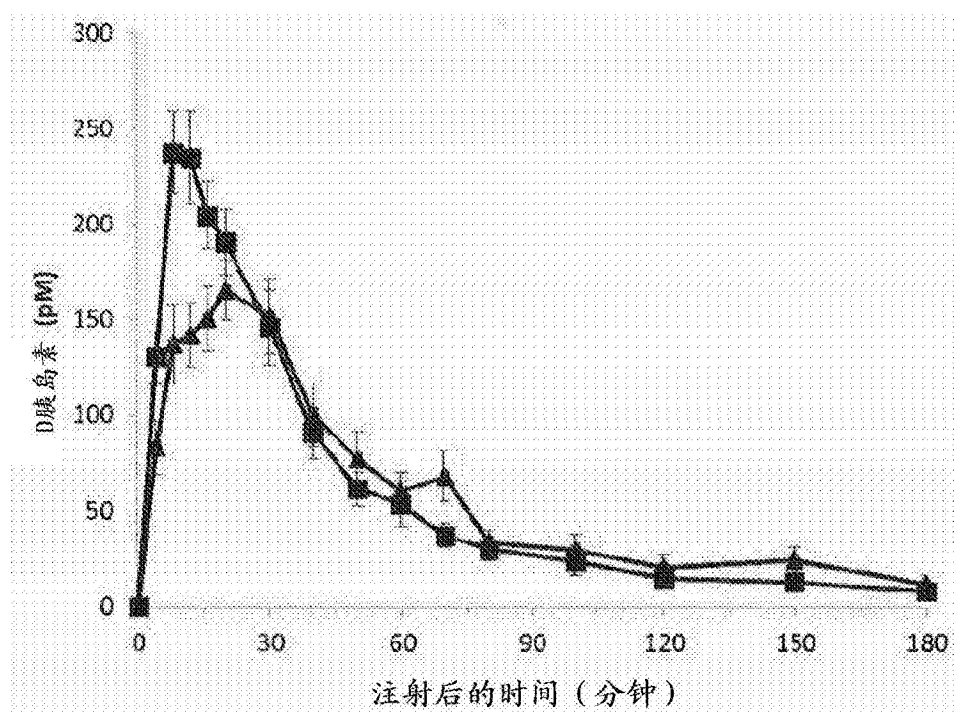


图14

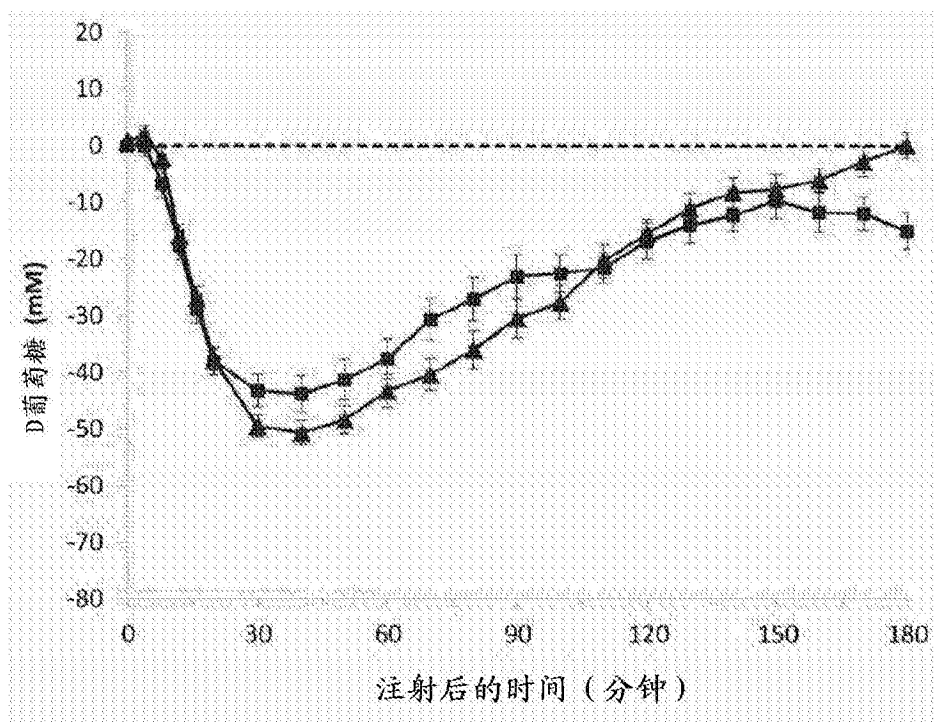


图15

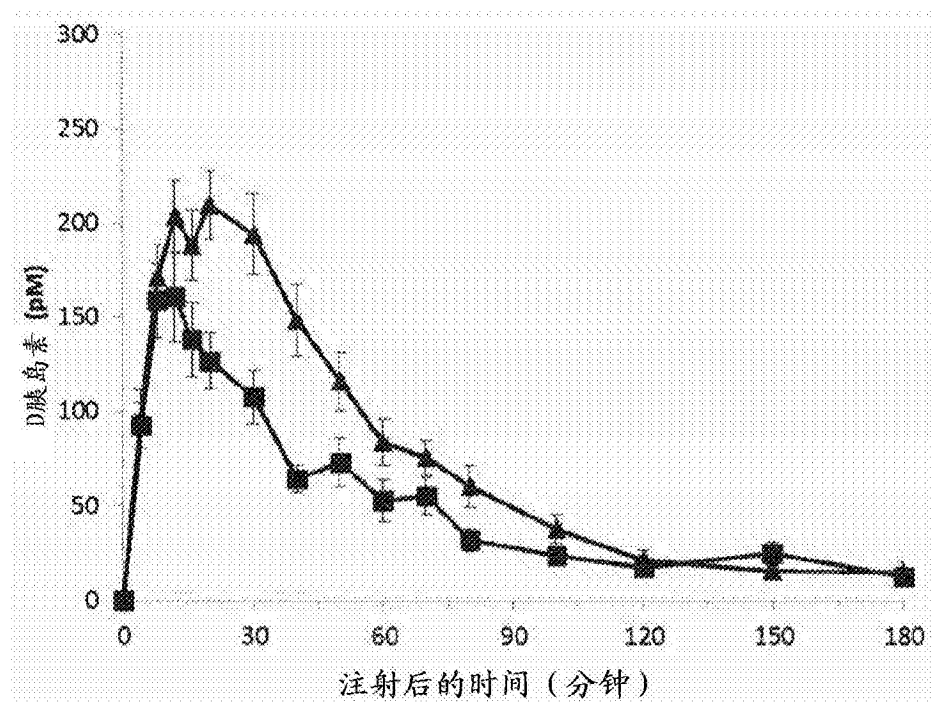


图16

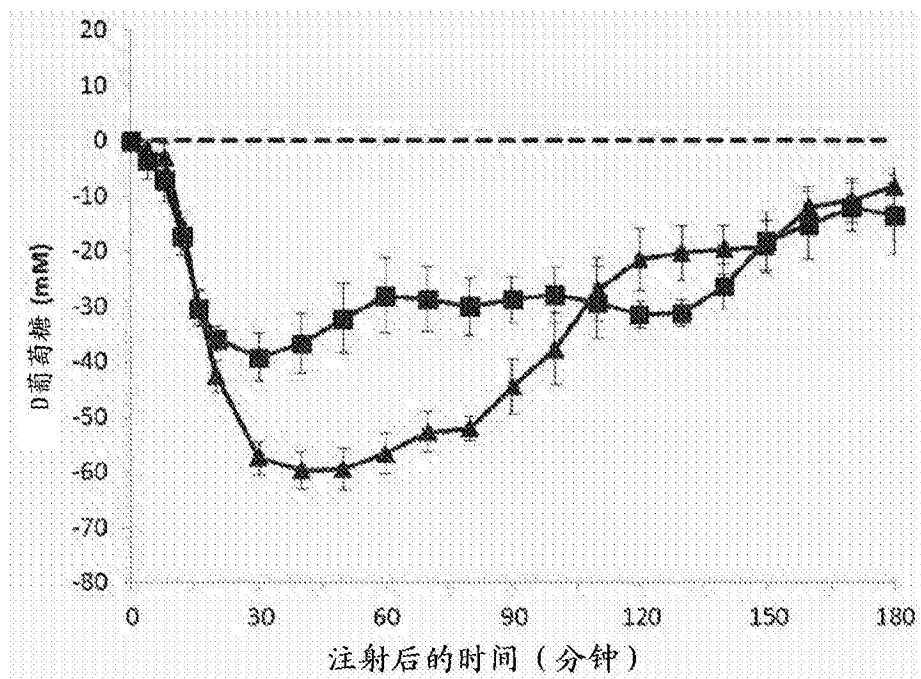


图17

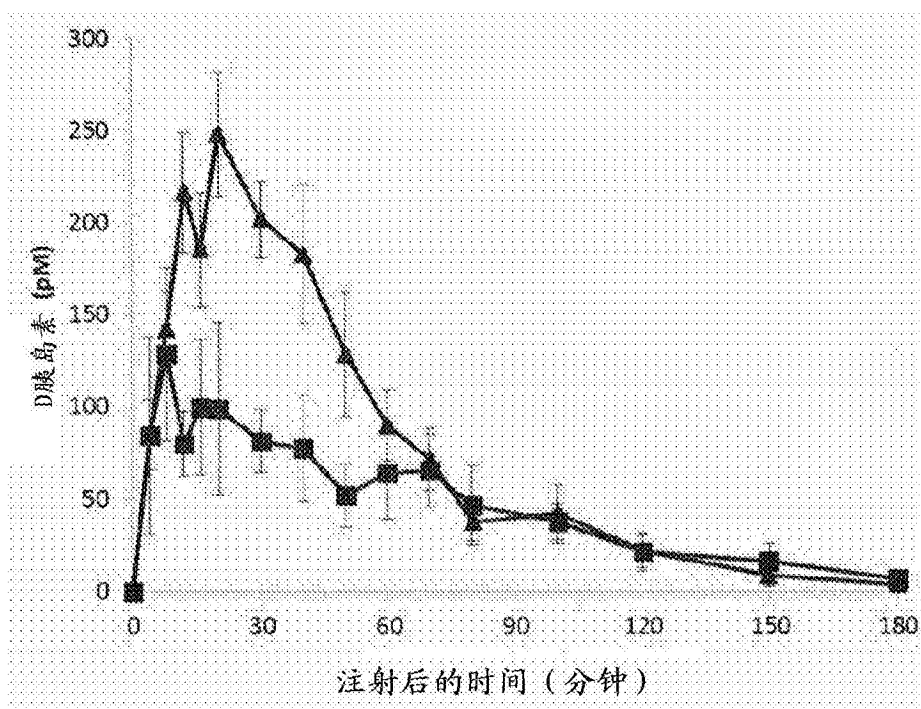


图18

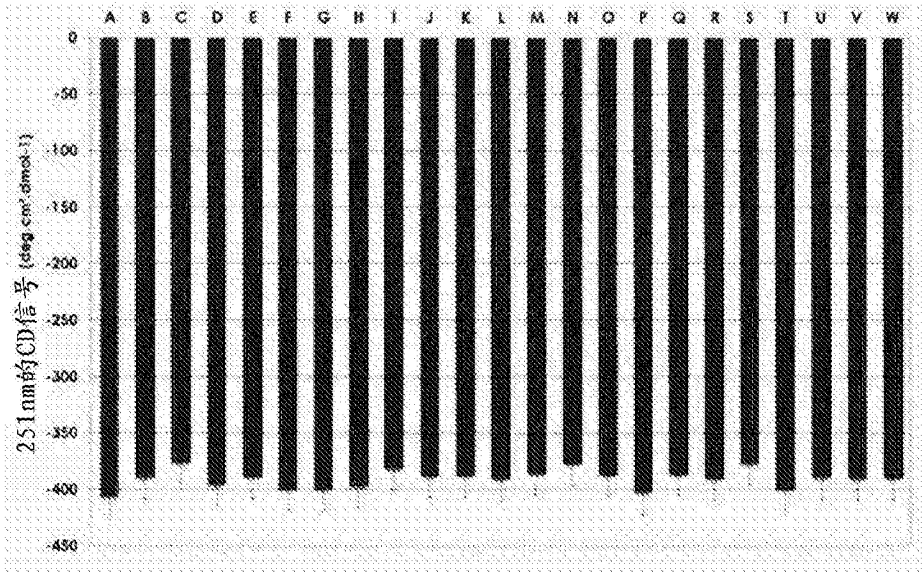


图19

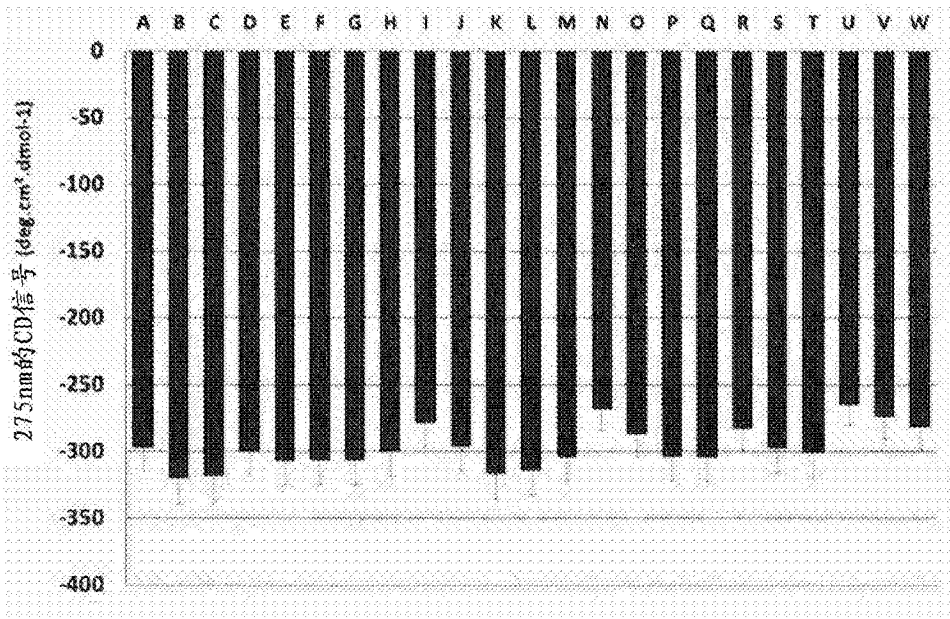


图20