(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118754967 A
(43)申请公布日 2024.10.11

(21)申请号 202411113581.X
(22)申请日 2020.12.29
(66)本国优先权数据
201911398378.0 2019.12.30 CN
202011057926.6 2020.09.29 CN
(62)分案原申请数据
202080091328.2 2020.12.29
(71)申请人 甘李药业股份有限公司
地址 101109 北京市通州区漷县镇南凤西一路8号
(72)发明人 甘忠如 陈伟 张一宁 薛方凯 蔡玲玉 牛江红 穆彬
(51)Int.Cl.
C07K 14/62(2006.01)
A61K 38/28(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)

权利要求书25页 说明书79页
序列表（电子公布） 附图26页

(54)发明名称

胰岛素衍生物

(57)摘要

本发明涉及新型胰岛素衍生物，其药物制剂、其与长效GLP-1化合物的药物组合物、及所述胰岛素衍生物、药物制剂和药物组合物的医药用途。所述新型酰化胰岛素相比于德谷胰岛素或其它胰岛素衍生物，具有预料不到的显著增加的药效、具有更长的持续作用时间、更长的体内半衰期、良好的生物利用率、及具有更令人满意的物理稳定性、化学稳定性。

CN 118754967 A

1.胰岛素衍生物,所述胰岛素衍生物包含胰岛素母体、白蛋白结合残基、和连接基团Lin,所述胰岛素母体为天然存在的胰岛素或胰岛素类似物,所述白蛋白结合残基经由连接基团Lin与所述胰岛素母体连接,其中,

所述连接基团Lin是具有至少10个、优选至少15个、优选至少20个、优选至少25个、优选至少30个、优选至少36个、优选至少40个、优选15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个碳原子的亲水性连接基团;或者所述连接基团Lin包含至少5个中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;优选所述连接基团Lin包含至少6个中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;优选所述连接基团Lin包含5-30个中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;优选所述连接基团Lin包含5-20个中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;或者,所述连接基团Lin包含具有至少15个、优选至少20个、优选至少24个、优选至少30个、优选至少42个、优选15-120个、优选20-120个、优选30-100个、优选39-100个、优选42-80个碳原子的亚烷基二醇;

所述白蛋白结合残基包含20-40个碳原子,优选所述白蛋白结合残基包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团,优选所述白蛋白结合残基是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;和

当所述连接基团Lin是具有60个碳原子的亲水性连接基团,且所述白蛋白结合残基是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素。

2.如权利要求1所述的胰岛素衍生物,其中,所述胰岛素母体包含至少一个赖氨酸残基,所述白蛋白结合残基经由连接基团Lin与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N末端氨基酸残基的氨基相连接;

优选地,所述胰岛素衍生物还包含一个或多个连接基团II,所述连接基团II是酸性的氨基酸残基,所述连接基团II连接在所述白蛋白结合残基与所述连接基团Lin之间、和/或连接在所述连接基团Lin和所述胰岛素母体之间;优选,所述连接基团II连接在所述白蛋白结合残基与所述连接基团Lin之间。

3.如权利要求1或2所述的胰岛素衍生物,其中,所述胰岛素衍生物是酰化胰岛素,所述酰化胰岛素的胰岛素母体为天然存在的胰岛素或胰岛素类似物,且包含至少一个赖氨酸残基,所述酰化胰岛素的酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N末端氨基酸残基的氨基相连接,所述酰基部分如式(A)所示:

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

其中,

所述连接基团Lin是$(I)_n$,所述白蛋白结合残基是III;

m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n为大于等于5的整数,优选n为5-30的整数,优选n为5-20的整数;优选n为6-20的整数;

I是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

II是酸性的氨基酸残基;

III是包含20-26个(优选20-24个)碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

III、II、和I之间以酰胺键连接;

II和I在式(A)中出现的顺序可以独立地互换;和

当m为1,n为10,且III是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素;

或者

所述酰基部分如式(A')所示:

$III-(II)_m-(I')_{n'}-$ (A'),

其中,

所述连接基团Lin是$(I')_{n'}$,所述白蛋白结合残基是III;

m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n'为整数;

I'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

II是酸性的氨基酸残基;

III是包含20-26个(优选20-24个)碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基或所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

III、II、和I'之间以酰胺键连接;

II和I'在式(A')中出现的顺序可以独立地互换;和

$(I')_{n'}$的总碳原子数为15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个;和

当m为1,$(I')_{n'}$的总碳原子数是60个,且III是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素。

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

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

其中,

m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n为大于等于5的整数,优选n为5-30的整数;

I是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

II是酸性的氨基酸残基;

III是包含20-26个(优选20-24个)碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

III、II、和I之间以酰胺键连接;

II和I在式(A)中出现的顺序可以独立地互换;和

当m为1,n为10,且III是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素;

或者

所述酰基部分如式(A')所示:

$III-(II)_m-(I')_{n'}-$ (A'),

其中,

m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n'为整数;

I'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

II是酸性的氨基酸残基;

III是包含20-26个(优选20-24个)碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

III、II、和I'之间以酰胺键连接;

II和I'在式(A')中出现的顺序可以独立地互换;

$(I')_{n'}$的总碳原子数为15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个;和

当m为1,$(I')_{n'}$的总碳原子数是60个,且III是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素。

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

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

其中,

m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9或10,n为5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19或20;

I是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

II是酸性的氨基酸残基;

III是包含20-26个(优选20-24个)碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

III、II、和I之间以酰胺键连接;

II和I在式(A)中出现的顺序可以独立地互换;和

当m为1,n为10,且III是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素;

或者

所述酰基部分如式(A')所示:

$III-(II)_m-(I')_{n'}-$ (A'),

其中,

m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n'为整数;

I'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

II是酸性的氨基酸残基;

III是包含20-26个(优选20-24个)碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

III、II、和I'之间以酰胺键连接;

II和I'在式(A')中出现的顺序可以独立地互换;

$(I')_{n'}$的总碳原子数为20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个;和

当m为1,$(I')_{n'}$的总碳原子数是60个,且III是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰

岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素。

6.如权利要求4或5所述的胰岛素衍生物,其中,

n为5-18的整数,优选n为5-15的整数,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11或12,优选地,n为5、6、7、8、9或10,优选地,n为5、6、7、8或9,优选地,n为5、6、7、或8;和/或

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

III是包含20-26个(优选20-23个)碳原子的脂肪族二酸,优选III是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;和/或

所述胰岛素母体包含一个赖氨酸残基。

7.如权利要求4-6任一项所述的胰岛素衍生物,其中,

I是:-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_3$-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选I是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-;或者,I'是HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{10}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{11}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{12}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-CH_2-O$)_8$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{20}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{22}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{24}$-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2$-CH_2-CH_2-O$)_{15}$-CH_2-CO-;和/或

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

III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-、或HOOC-$(CH_2)_{24}$-CO-,优选,III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-,优选地III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

8.如权利要求4-7任一项所述的胰岛素衍生物,其中,式(A)通过I的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接,或者式(A')通过I'的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接;

优选地,所述酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基的ε氨基相连接;

优选地,所述胰岛素母体的赖氨酸残基位于B29位处;

优选地,所述胰岛素母体选自下述胰岛素或胰岛素类似物:desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素;人胰岛素;A21G人胰岛素;A21G,desB30人胰岛素;或B28D人胰岛素;优选地,所述胰岛素母体为desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素;或A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素。

9.如权利要求4或5所述的胰岛素衍生物,其中,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:B29K

(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二

十二烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-13xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-13xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-14xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-14xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-15xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-15xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-16xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-16xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-17xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-17xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xPEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-18xPEG),desB30人胰岛素;

优选地,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛

素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;

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

10.胰岛素衍生物,其是酰化胰岛素,所述酰化胰岛素的胰岛素母体为A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素或A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素,所述酰化胰岛素的酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N末端氨基酸残基的氨基相连接,所述酰基部分如式(C)所示:

$Y1-(Y2)_{m1}-(Y3)_{n1}-$ (C),

其中,

m1为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9或10,n1为5、6、7、8、9或10的整数;

Y3是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

Y2是酸性的氨基酸残基;

Y1是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

Y1、Y2、和Y3之间以酰胺键连接;

Y2和Y3在式(C)中出现的顺序可以独立地互换;和

当Y1是包含20个碳原子的脂肪族二酸,且其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除时,且m1为1时,则n1不是10;

或者

所述酰基部分如式(C')所示:

$Y1-(Y2)_{m1}-(Y3')_{n1'}-$ (C'),

其中,

m1为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9或10,n1'为5、6、7、8、9或10的整数;

Y3'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

Y2是酸性的氨基酸残基;

Y1是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

Y1、Y2、和Y3'之间以酰胺键连接;

Y2和Y3'在式(C')中出现的顺序可以独立地互换;

$(Y3')_{n1'}$的总碳原子数为15-100个、优选20-100个、优选25-90个、优选30-80个、优选30-59个、优选30-54个;和

当Y1是包含20个碳原子的脂肪族二酸,且其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除时,且m1为1时,则$(Y3')_{n1'}$的总碳原子数不是60个。

11.如权利要求10所述的胰岛素衍生物,其中,

n1为5、6、7、8、9、,优选地,n1为5、6、7、或8;和/或

m1为1-6的整数,优选地,m1为1、2、3、或4,优选地,m1为1或2,优选地,m1为1;和/或

Y1是包含20-23个碳原子的脂肪族二酸,优选Y1是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除。

12.如权利要求10或11所述的胰岛素衍生物,其中,

Y3是:-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选Y3是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-;或者,Y3'是-HN-$(CH_2-CH_2-O)_{10}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2-CH_2-O)_{11}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2-CH_2-O)_{12}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2-CH_2-CH_2-O)_8$-CH_2-CO-;和/或

Y2是选自下述的氨基酸残基:γGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-Asp或α-D-Asp,优选地,Y2选自γGlu或βAsp;和/或

Y1是是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-、或HOOC-$(CH_2)_{24}$-CO-,优选,Y1是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-,优选地Y1是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

13.如权利要求10-12任一项所述的胰岛素衍生物,其中,式(C)通过Y3的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接,或者式(C')通过Y3'的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接;

优选地,所述酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基的ε氨基相连接。

14.如权利要求4-13任一项所述的胰岛素衍生物,其中,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-

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

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

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

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

Glu-6xOEG),desB30人胰岛素。

15.胰岛素衍生物,其是酰化胰岛素,所述酰化胰岛素的胰岛素母体为A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素或A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素,所述酰化胰岛素的酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N末端氨基酸残基的氨基相连接,所述酰基部分如式(D)所示:

$W1-(W2)_{m2}-(W3)_{n2}-(D)$,

其中,

m2为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9或10,n2为11,12,13,14,15,16,17,18,19或20;

W3是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

W2是酸性的氨基酸残基;

W1是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

W1、W2、和W3之间以酰胺键连接;和

W2和W3在式(D)中出现的顺序可以独立地互换;

或者

所述酰基部分如式(D')所示:

$W1-(W2)_{m2}-(W3')_{n2'}-(D')$,

其中,

m2为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9或10,n2'为11,12,13,14,15,16,17,18,19或20;

W3'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

W2是酸性的氨基酸残基;

W1是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

W1、W2、和W3'之间以酰胺键连接;

W2和W3'在式(D')中出现的顺序可以独立地互换;和

$(W3')_{n2'}$的总碳原子数为30-180个、42-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个。

16.如权利要求15所述的胰岛素衍生物,其中,

n2为11、12、13、14、15、16、17、18或19,优选地,n2为11、12、13、14、15、16、17、或18,优选地,n2为11、12、13、14、15、或16,优选地,n2为11、12、13、14、或15;和/或

m2为1-6的整数,优选地,m2为1、2、3、或4,优选地,m2为1或2,优选地,m2为1;和/或

W1是包含20-23个碳原子的脂肪族二酸,优选W1是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除。

17.如权利要求15或16所述的胰岛素衍生物,其中,

W3是:$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-CH_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_4-O-(CH_2)_3-NH-CO-$、$-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_4-O-(CH_2)_3-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_4-O-(CH_2)_3-NH-CO-(CH_2)_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-CH_2-$

CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_3$-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选W3是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-;或者,W3'是-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{20}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{22}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{24}$-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2$-CH_2-CH_2-O$)_{15}$-CH_2-CO-;和/或

W2是选自下述的氨基酸残基:γGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-Asp或α-D-Asp,优选地,W2选自γGlu或βAsp;和/或

W1是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-,优选地W1是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

18.如权利要求15-17任一项所述的胰岛素衍生物,其中,式(D)通过W3的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接或者式(D')通过W3'的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接;

优选地,所述酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基的ε氨基相连接。

19.如权利要求4、5或15述的胰岛素衍生物,其中,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-13xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-14xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-15xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-13xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-14xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-15xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-16xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-17xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-16xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-17xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-19xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-19xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-20xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-20xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-16xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-17xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-

γGlu-16xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-17xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-19xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-19xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-20xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-20xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-24xOEG),desB30人胰岛素;

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

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

20.如权利要求4、5、10或15所述的胰岛素衍生物,其中,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;

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

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

21.药物组合物,其包含权利要求1-20任一项所述的胰岛素衍生物或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素、和一种或多种药学上可接受的赋形剂;

优选地:

所述药物组合物包含至少1.5摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;优选包含至少2.2摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;优选包含至少3.5摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;优选包含至少4.5摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;优选包含2.2-12摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;更优选包含4.5-10摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;更优选包含4.5-8摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;更优选包含4.5-7.5摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;更优选包含4.5-7.0摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;更优选包含4.5-6.5摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;和/或

所述药物组合物具有的pH为6.5-8.5;优选pH为6.8-8.2;优选pH为7.0-8.2;优选pH为7.2-7.6;更优选pH为7.4或7.6;

优选地:

所述药物组合物进一步包含甘油、苯酚、间甲酚、NaCl、和/或Na_2HPO_4;优选,所述药物组合物进一步包含甘油、苯酚、和NaCl;优选,所述药物组合物进一步包含甘油、苯酚、间甲酚、和NaCl;优选,所述药物组合物进一步包含甘油、苯酚、NaCl和Na_2HPO_4;更优选,所述药物组合物进一步包含甘油、苯酚、间甲酚、NaCl和Na_2HPO_4;

优选地:

所述甘油的含量不超过约2.5%(重量/重量),优选不超过约2%(重量/重量),优选为约0.3%至约2%(重量/重量),优选为约0.5%至约1.8%(重量/重量),优选为约0.7%至约1.8%(重量/重量),更优选为约1%至约1.8%(重量/重量);和/或

所述苯酚的含量为约16至80mM,优选为约25-75mM,优选为约30-70mM,45-70mM,优选为约45-65mM;优选为约45mM、约46mM、约47mM、约48mM、约49mM、50mM、约51mM、约52mM、约53mM、约54mM、约55mM、约56mM、约57mM、约58mM、约59mM、约60mM、约61mM、约62mM、约63mM、约64mM、或约65mM;和/或

所述间甲酚的含量为约0-35mM,优选为约0-19mM,优选为约0-15mM,优选为约0mM、约1mM、约2mM、约3mM、约4mM、约5mM、约6mM、约7mM、约8mM、约9mM、约10mM、约11mM、约12mM、约13mM、约14mM、或约15mM;和/或

所述NaCl的含量为约0-150mM,优选为约5-120mM,优选为约10-120mM,优选为约10-100mM,更优选为约10-75mM,更优选为约10-50mM,更优选为约10-30mM;和/或

所述Na_2HPO_4的含量为约0-75mM,优选为约5-60mM,优选为低于约50mM,更优选为低于约25mM,更优选为低于约15mM;和/或

所述胰岛素衍生物的含量高于约0.3mM、优选高于约0.6mM、优选为约0.3-12mM、优选为约0.6-9.0mM、优选为约0.6-8.4mM、优选为约0.6-7.2mM、优选为约0.6-6.0mM、优选为约0.6-4.2mM、优选为约0.6-3.6mM、优选为约0.6-3.0mM、优选为约0.6-2.4mM、优选为约0.6-2.1mM、优选为约0.6-1.2mM;

优选地:

所述药物组合物中的胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

22.药物组合物,其包含约0.6-4.2mM的权利要求1-25任一项所述的胰岛素衍生物、约1%至约1.8%(重量/重量)的甘油、约45-65mM的苯酚、约4.5-6.5摩尔锌离子/6摩尔的胰岛素衍生物、约10-120mM的氯化钠、约0-15mM间甲酚、和具有约7.0-8.2的pH值,优选,所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,

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

优选地:

所述药物组合物包含约0.6mM或1.2mM的权利要求1-25任一项所述的胰岛素衍生物、1.7%(重量/重量)的甘油、约45mM的苯酚、约10mM的间甲酚、约6.5摩尔锌离子/6摩尔的胰岛素衍生物、约20mM的氯化钠、和具有约7.0-8.0的pH值,优选,所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;

优选地:

所述药物组合物包含约0.6-4.2mM的权利要求1-25任一项所述的胰岛素衍生物、约1%至约2%(优选约1.5%-1.7%)(重量/重量)的甘油、约15mM-60mM(优选约30mM-60mM、更优选约45mM-60mM)的苯酚、约1.5-7.0(优选约2.2-4.5)摩尔锌离子/6摩尔的胰岛素衍生物、约10-120mM(优选约20-50mM)的氯化钠、约0-25mM(优选约0-15mM、0-10mM)间甲酚、和具有约7.0-8.2的pH值,优选,所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;

优选地:

所述药物组合物包含约1.2-1.5mM的权利要求1-25任一项所述的胰岛素衍生物、约1.5%-1.7%(重量/重量)的甘油、约45mM-60mM的苯酚、约0-10mM的间甲酚、约2.2-2.5摩尔

锌离子/6摩尔的胰岛素衍生物、约20mM的氯化钠、和具有约7.0-8.0的pH值,其中所述胰岛素衍生物为A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

23.如权利要求21-22任一项所述的药物组合物,其还包含促胰岛素GLP-1化合物;优选地,所述药物组合物还包含选自下述的促胰岛素GLP-1化合物:N-ε^{26}-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、N-ε^{26}-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-羧基十七烷酰氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-羧基十七烷酰氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽;

优选地:

所述药物组合物还包含式(B)所示的促胰岛素GLP-1化合物、或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

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

其中G1为在对应于GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:15)的位置34处具有Arg、及位置8处具有Ala或Gly的GLP-1类似物,$[Acy-(L1)_r-(L2)_q]$是连接至所述GLP-1类似物的位置26的Lys残基的ε氨基上的取代基,其中

r为1-10的整数,q为0或1-10的整数;

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

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

L2是中性的、含亚烷基二醇的氨基酸残基;

Acy、L1、和L2之间以酰胺键连接;和

L1和L2在式(B)中出现的顺序可以独立地互换。

24.如权利要求23所述的药物组合物,其中,

G1为[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(SEQ ID NO:16)或[Arg34]GLP-1-(7-37)肽(SEQ ID NO:17),优选为[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽;和/或

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

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

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

25.如权利要求23或24所述的药物组合物,其中,

L2是:$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-CH_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-$

$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、

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

L1选自γGlu或βAsp,优选L1为γGlu;和/或

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

26.如权利要求23-25任一项所述的药物组合物,其中,式(B)中Acy、L1、和L2之间依次以酰胺键连接,L2的C末端连接至所述GLP-1类似物的位置26的Lys残基的ε氨基上;

优选地,所述促胰岛素GLP-1化合物选自下述化合物:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

优选地,所述促胰岛素GLP-1化合物选自下述化合物：

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

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

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

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

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

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

优选地,所述促胰岛素GLP-1化合物为:

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

27.如权利要求21-22任一项所述的药物组合物,其还包含快速起效的胰岛素;

优选地,所述快速起效的胰岛素选自Asp^{B28}人胰岛素、Lys^{B28}Pro^{B29}人胰岛素、Lys^{B3}Glu^{B29}人胰岛素、人胰岛素和desB30人胰岛素中的一种或多种;优选,所述快速起效的胰岛素为Asp^{B28}人胰岛素、Lys^{B28}Pro^{B29}人胰岛素、Lys^{B3}Glu^{B29}人胰岛素、人胰岛素或desB30人胰岛素。

28.如权利要求27所述的药物组合物,其中所述胰岛素衍生物与所述快速起效的胰岛素的摩尔比为约60:3至约0.5:3、优选为约57:3至约1:3、优选为约55:3至约1.2:3、优选为约50:3至约1.5:3、优选为约40:3至约1.5:3、优选为约30:3至约1.5:3、优选为约27:3至约1.5:3、优选为约25:3至约1.5:3、优选为约22:3至约1.5:3、优选为约20:3至约1.5:3、优选为约17:3至约1.5:3、优选为约15:3至约1.5:3、优选为约12:3至约1.5:3、优选为约10:3至约1.5:3、优选为约9:3至约1.5:3、优选为约8:3至约1.5:3、优选为约7:3至约1.5:3、优选为约6.9:3至约1.5:3、优选为约6.8:3至约1.5:3、优选为约6.5:3至约1.5:3、优选为约6.3:3至约1.5:3、优选为约6:3至约1.5:3、优选为约5.8:3至约1.5:3、优选为约5.5:3至约1.5:3、优选为约5.3:3至约1.5:3、优选为约5:3至约1.5:3、优选为约4.8:3至约1.5:3、优选为约4.5:3至约1.5:3、优选为约4.2:3至约1.5:3、优选为约4:3至约1.5:3、优选为约3.9:3至约1.5:3、优选为约3.8:3至约1.5:3、优选为约3.5:3至约1.5:3、优选为约3.2:3至约1.5:3、优选为约3:3至约1.5:3、优选为约2.8:3至约1.5:3、优选为约2.5:3至约1.5:3、优选为约15:3至约2:3、优选为约12:3至约2:3、优选为约10:3至约2:3、优选为约9:3至约2:3、优选为约8:3至约2:3、优选为约7:3至约2:3、优选为约6.9:3至约2:3、优选为约6.8:3至约2:3、优选为约6.5:3至约2:3、优选为约6.3:3至约2:3、优选为约6:3至约2:3、优选为约5.8:3至约2:3、优选为约5.5:3至约2:3、优选为约5.3:3至约2:3、优选为约5:3至约2:3、优选为约4.8:3至约2:3、优选为约4.5:3至约2:3、优选为约4.2:3至约2:3、优选为约4:3至约2:3、优选为约3.9:3至约2:3、优选为约3.8:3至约2:3、优选为约3.5:3至约2:3、优选为约3.2:3至约2:3、优选为约3:3至约2:3、优选为约15:3至约2.4:3、优选为约12:3至约2.4:3、优选为约10:3至约2.4:3、优选为约9:3至约2.4:3、优选为约8:3至约2.4:3、优选为约7:3至约2.4:3、优选为约6.9:3至约2.4:3、优选为约6.8:3至约2.4:3、优选为约6.5:3至约2.4:3、优选为约6.3:3至约2.4:3、优选为约6:3至约2.4:3、优选为约5.8:3至约2.4:3、优选为约5.5:3至约2.4:3、优选为约5.3:3至约2.4:3、优选为约5:3至约2.4:3、优选为约4.8:3至约2.4:3、优选为约4.5:3至约2.4:3、优选为约4.2:3至约2.4:3、优选为约4:3至约2.4:3、优选为约3.9:3至约2.4:3、优选为约3.8:3至约2.4:3、优选为约3.5:3至约2.4:3、优选为约3.2:3至约2.4:3、优选为约3:3至约2.4:3、更优选为约1.5:3、更优选为约2:3、更优选为约2.5:3、更优选为约2.75:3、更优选为约3:3。

29.如权利要求27-28任一项所述的药物组合物,其中所述胰岛素衍生物为权利要求9、

14、19或20所述的胰岛素衍生物;优选,所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

30.如权利要求27-29任一项所述的药物组合物,其包含约0.09-0.36mM的胰岛素衍生物、约0.18mM的Asp^{B28}人胰岛素、约0.85%至约2.0%(重量/重量)的甘油、约15-70mM的苯酚、约8-14摩尔锌离子/6摩尔的胰岛素衍生物、约10-120mM的氯化钠、约0-15mM间甲酚、和具有约7.0-8.2的pH值,其中所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;

优选地:

所述的药物组合物包含约0.165-0.18mM的胰岛素衍生物、约0.18mM的Asp^{B28}人胰岛素、约1.5%-1.7%(重量/重量)的甘油、约20mM-30mM的苯酚、约9-12摩尔锌离子/6摩尔的胰岛素衍生物、约20mM-75mM的氯化钠、约10mM-15mM间甲酚、和具有约7.0-8.2的pH值,其中所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素。

31.权利要求1-25任一项所述的胰岛素衍生物或权利要求26-47任一项所述的药物组合物在制备药物中的用途;优选地,所述药物用于治疗或预防糖尿病、高血糖症、和/或葡萄糖耐量削弱;优选地,所述糖尿病为I型糖尿病或II型糖尿病;优选地,所述药物用于治疗糖尿病,所述胰岛素衍生物以每隔一天或更低频率给予同一患者,并且平均起来,在至少1个月、6个月或1年的时间期间,所述胰岛素衍生物不以更高频率给予同一患者。

32.一种使胰岛素衍生物在白蛋白存在时,对胰岛素受体结合能力提高的方法,所述方法包括:

经由连接基团Lin将白蛋白结合残基与天然存在的胰岛素或胰岛素类似物连接而得到所述胰岛素衍生物,其中所述连接基团Lin是具有至少10个、优选至少15个、优选至少20个、优选至少25个、优选至少30个、优选至少36个、优选至少40个、优选15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个碳原子的亲水性连接基团;所述白蛋白结合残基包含20-40个碳原子,优选所述白蛋白结合残基包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团,优选所述白蛋白结合残基是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基或所述脂肪族二酸的羧基之一中去除,

或者

用式(A)或式(A')修饰天然存在的胰岛素或胰岛素类似物而得到所述衍生物,III-$(II)_m$-$(I)_n$-(A),其中,

m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n为大于等于5的整数,优选n为5-30的整数;

I是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

II是酸性的氨基酸残基;

III是包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团的白蛋白结合残基,优选III是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

III、II、和I之间以酰胺键连接;和

II和I在式(A)中出现的顺序可以独立地互换;

(A')为III-$(II)_m$-$(I')_{n'}$-(A'),

其中,

m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n'为整数;

I'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

II是酸性的氨基酸残基;

III是包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团的白蛋白结合残基,优选III是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

III、II、和I'之间以酰胺键连接;

II和I'在式(A')中出现的顺序可以独立地互换;和

$(I')_{n'}$的总碳原子数为15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个。

33.一种使胰岛素衍生物效力提高的方法,包括:

经由连接基团Lin将白蛋白结合残基与天然存在的胰岛素或胰岛素类似物连接而得到所述胰岛素衍生物,其中所述连接基团Lin是具有至少10个、优选至少15个、优选至少20个、优选至少25个、优选至少30个、优选至少36个、优选至少40个、优选15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个碳原子的亲水性连接基团;所述白蛋白结合残基包含20-40个碳原子,优选所述白蛋白结合残基包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性

基团,优选所述白蛋白结合残基是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基或所述脂肪族二酸的羧基之一中去除,

或者

用式(A)或式(A')修饰天然存在的胰岛素或胰岛素类似物而得到所述衍生物,III-$(II)_m$-$(I)_n$-(A),其中,

m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n为大于等于5的整数,优选n为5-30的整数;

I是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

II是酸性的氨基酸残基;

III是包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团的白蛋白结合残基,优选III是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

III、II、和I之间以酰胺键连接;和

II和I在式(A)中出现的顺序可以独立地互换;

(A')为III-$(II)_m$-$(I')_{n'}$- (A'),

其中,

m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n'为整数;

I'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

II是酸性的氨基酸残基;

III是包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团的白蛋白结合残基,优选III是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

III、II、和I'之间以酰胺键连接;

II和I'在式(A')中出现的顺序可以独立地互换;和

$(I')_{n'}$的总碳原子数为15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个。

34.如权利要求32或33所述的方法,所述天然存在的胰岛素或胰岛素类似物包含至少一个赖氨酸残基,连接基团Lin、式(A)或式(A')与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N末端氨基酸残基的氨基相连接。

35.如权利要求32或33所述的方法,其中,

n为5-18的整数,优选n为5-15的整数,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11或12,优选地,n为5、6、7、8、9、或10,优选地,n为5、6、7、8或9,优选地,n为5、6、7、或8;和/或

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

III是包含20-26个(优选20-23个)碳原子的脂肪族二酸,优选III是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;和/或

所述胰岛素母体包含一个赖氨酸残基。

36.如权利要求32或33所述的方法,其中,

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

$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_3$-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选I是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-;或者,I'是-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{10}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{11}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{12}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-CH_2-O$)_8$-CH_2-CO-、--HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{20}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{22}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{24}$-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2$-CH_2-CH_2-O$)_{15}$-CH_2-CO-;和/或

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

III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{24}$-CO-,优选地III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

37.如权利要求32或33所述的方法,其中,将式(A)通过I的C末端与所述天然胰岛素或胰岛素类似物的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接或将式(A')通过I'的C末端与所述天然胰岛素或胰岛素类似物的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接;

优选地,式(A)或式(A')与所述胰岛素母体的赖氨酸残基的ε氨基相连接;

优选地,所述天然胰岛素或胰岛素类似物的赖氨酸残基位于B29位处;

优选地,所述天然存在的胰岛素或胰岛素类似物选自下述胰岛素或胰岛素类似物:desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素;人胰岛素;A21G人胰岛素;A21G,desB30人胰岛素;或B28D人胰岛素;优选地,所述胰岛素母体为desB30人胰岛素或A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素。

胰岛素衍生物

[0001] 本申请是发明名称为“胰岛素衍生物”、申请日为2020年12月29日的中国发明专利申请202080091328.2的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2019年12月30日提交的第CN201911398378.0号、2020年9月29日提交的第CN202011057926.6号中国发明专利申请的优先权,所述申请以引用的方式并入本文。

技术领域

[0004] 本发明涉及治疗性肽领域,具体涉及新型胰岛素衍生物,其药物制剂、其与长效GLP-1化合物的药物组合物、其与快速起效的胰岛素的药物组合物、及所述胰岛素衍生物、药物制剂和药物组合物的医药用途。

背景技术

[0005] 胰岛素是由胰的β细胞分泌的多肽激素。胰岛素由命名为A链和B链的2条多肽链组成,所述A链和B链通过2个链间二硫键连接在一起。在人、猪和牛胰岛素中,A链和B链分别包含21和30个氨基酸残基。然而,不同物种之间,在2条链的不同位置中存在的氨基酸残基存在差异。基因工程改造的广泛使用已使得可以通过替换、缺失和添加一个或多个氨基酸残基来制备天然存在的胰岛素的类似物。

[0006] 胰岛素能够用于治疗糖尿病和与之关联或起因于其的疾病,在维持正常代谢调节中是必需的。但是人胰岛素等天然胰岛素作用时间较短,使得病人必须频繁注射,使患者产生许多注射相关的不适。因此,人们一直致力于获得药效好、作用时间更长、注射频率更低的胰岛素衍生物或类似物来改善因较高频率的胰岛素注射所带来的不便和不适。

[0007] WO1995007931A1公开了已上市的长效胰岛素地特胰岛素,其分子结构特点是去掉人胰岛素B链30位的苏氨酸,并在B链的第29位赖氨酸残基上连接有14碳脂肪单酸。WO2005012347A2公开了已上市的另一种长效胰岛素德谷胰岛素,德谷胰岛素是一种比地特胰岛素作用时间更长的新型超长效胰岛素,其分子结构特点是去掉人胰岛素B链30位苏氨酸,通过1个谷氨酸分子将16碳脂肪二酸侧链连接在B29位赖氨酸残基。CN101573133B和WO2009/010428公开了PEG(PEGylated)化延长的胰岛素,与常规的未修饰的胰岛素相比,PEG化延长的胰岛素具有更长的作用时间。WO2013086927A1和WO2018/024186公开一种长效的人胰岛素类似物的酰化衍生物。

[0008] 然而,迄今为止,尚未有比每日皮下注射一次的频率更低的基础胰岛素产品获批上市。

[0009] 因此,目前仍然需要相比于已上市的胰岛素(例如德谷胰岛素)或已知的胰岛素衍生物,具有更好的药效或功效、更长的作用时间、更低的施用频率、更优异的理化性质的胰岛素衍生物或类似物。

发明内容

[0010] 本发明提供了新型胰岛素衍生物(例如酰化胰岛素)。发明人通过大量试验,出乎意料地发现所述新型胰岛素衍生物(例如酰化胰岛素)相比于已上市的德谷胰岛素(商品名“诺和达”)或其它某些胰岛素衍生物,具有预料不到的显著增加的效力、功效或药效、更长的持续作用时间、更长的体内半衰期、良好的生物利用率、更好的安全性、及具有更令人满意的物理稳定性、化学稳定性、和溶解度。

[0011] 在一个方面,本发明提供了胰岛素衍生物,所述胰岛素衍生物包含胰岛素母体、白蛋白结合残基、和连接基团Lin,所述胰岛素母体为天然存在的胰岛素或胰岛素类似物,所述白蛋白结合残基经由连接基团Lin与所述胰岛素母体连接,其中,

[0012] 所述连接基团Lin是具有至少10个、优选至少15个、优选至少20个、优选至少25个、优选至少30个、优选至少36个、优选至少40个、优选15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个碳原子的亲水性连接基团;或者所述连接基团Lin包含至少5个中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;优选所述连接基团Lin包含至少6个中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;优选所述连接基团Lin包含5-20个中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;或者,所述连接基团Lin包含具有至少15个、优选至少20个、优选至少24个、优选至少30个、优选至少42个、优选15-120个、优选20-120个、优选30-100个、优选39-100个、优选42-80个碳原子的亚烷基二醇;和

[0013] 所述白蛋白结合残基包含20-40个碳原子,优选所述白蛋白结合残基包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团,优选所述白蛋白结合残基是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;和

[0014] 当所述连接基团Lin是具有60个碳原子的亲水性连接基团,且所述白蛋白结合残基是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素。

[0015] 发明人通过大量实验,意外发现,本发明的胰岛素衍生物中的一定长度的白蛋白结合残基和一定长度的亲水性连接基团的组合,使得本发明的胰岛素衍生物相对于已有的胰岛素衍生物,在具有相当或更长的作用时间的同时,还具有预料不到的显著增加的药效、并且在白蛋白存在时,对胰岛素受体的结合能力受白蛋白的影响显著降低,对胰岛素受体具有显著提高的结合能力。

[0016] 在一些实施方案中,所述胰岛素母体包含至少一个赖氨酸残基,所述白蛋白结合残基经由连接基团Lin与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N末端氨基酸残基的氨基相连接。

[0017] 在一些实施方案中,所述胰岛素衍生物还包含一个或多个连接基团II,所述连接基团II是酸性的氨基酸残基,所述连接基团II连接在所述白蛋白结合残基与所述连接基团Lin之间、和/或连接在所述连接基团Lin和所述胰岛素母体之间;优选,所述连接基团II连接在所述白蛋白结合残基与所述连接基团Lin之间。

[0018] 本发明的另一个方面,提供了胰岛素衍生物,其是酰化胰岛素,所述酰化胰岛素的胰岛素母体为天然存在的胰岛素或胰岛素类似物,且包含至少一个赖氨酸残基,所述酰化胰岛素的酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N末端氨基酸残基的氨基相连接,所

述酰基部分如式(A)所示:

[0019] $III-(II)_m-(I)_n-$ (A),

[0020] 其中,

[0021] m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n为大于等于5的整数,优选n为5-30的整数;

[0022] I是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0023] II是酸性的氨基酸残基;

[0024] III是包含20-26个(优选20-24个)碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0025] III、II、和I之间以酰胺键连接;

[0026] II和I在式(A)中出现的顺序可以独立地互换;

[0027] 和

[0028] 当m为1,n为10,且III是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素;

[0029] 或者

[0030] 所述酰基部分如式(A')所示:

[0031] $III-(II)_m-(I')_{n'}-$ (A'),

[0032] 其中,

[0033] m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n'为整数;

[0034] I'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0035] II是酸性的氨基酸残基;

[0036] III是包含20-26个(优选20-24个)碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0037] III、II、和I'之间以酰胺键连接;

[0038] II和I'在式(A')中出现的顺序可以独立地互换;和

[0039] $(I')_{n'}$的总碳原子数为15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个;和

[0040] 当m为1,$(I')_{n'}$的总碳原子数是60个,且III是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素。

[0041] 本发明的另一个方面,提供了胰岛素衍生物,其是酰化胰岛素,所述酰化胰岛素的胰岛素母体为天然存在的胰岛素或胰岛素类似物,且包含至少一个赖氨酸残基,所述酰化胰岛素的酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N末端氨基酸残基的氨基相连接,所述酰基部分如式(A)所示:

[0042] $III-(II)_m-(I)_n-$ (A),

[0043] 其中,

[0044] m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9或10,n为5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19或20;

[0045] I是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0046] II是酸性的氨基酸残基;

[0047] III是包含20-26个(优选20-24个)碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0048] III、II、和I之间以酰胺键连接;

[0049] II和I在式(A)中出现的顺序可以独立地互换;和

[0050] 当m为1,n为10,且III是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素;

[0051] 或者

[0052] 所述酰基部分如式(A')所示:

[0053] $III-(II)_m-(I')_{n'}-$ (A'),

[0054] 其中,

[0055] m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n'为整数;

[0056] I'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0057] II是酸性的氨基酸残基;

[0058] III是包含20-26个(优选20-24个)碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0059] III、II、和I'之间以酰胺键连接;

[0060] II和I'在式(A')中出现的顺序可以独立地互换;和

[0061] $(I')_{n'}$的总碳原子数为20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个;和

[0062] 当m为1,$(I')_{n'}$的总碳原子数是60个,且III是包含20个碳原子的脂肪族二酸时,所述胰岛素母体不是A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素。

[0063] 在一些实施方案中,n为5-15的整数,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11或12,优选地,n为5、6、7、8、9、或10,优选地,n为5、6、7、8或9,优选地,n为5、6、7、或8;和/或

[0064] m为1-6的整数,优选地,m为1、2、3、或4,优选地,m为1或2,优选地,m为1;和/或

[0065] III是包含20-26个(优选20-23个)碳原子的脂肪族二酸,优选III是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;和/或

[0066] 所述胰岛素母体包含一个赖氨酸残基。

[0067] 在一些实施方案中,I是:$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-CH_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_4-O-(CH_2)_3-NH-CO-$、$-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_4-O-(CH_2)_3-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_4-O-(CH_2)_3-NH-CO-(CH_2)_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_3-NH-CO-(CH_2)_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_3-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-CO-(CH_2)_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-(CH_2)_3-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-$、$-HN-(CH_2)_3-O-(CH_2)_3-O-CH_2-CO-$、或$-HN-(CH_2)_4-O-(CH_2)_4-O-CH_2-CO-$;优选I是$-HN-(CH_2)_2-O-$

$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-;或者,I'是HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{10}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{11}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{12}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-CH_2-O$)_8$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{20}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{22}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{24}$-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2$-CH_2-CH_2-O$)_{15}$-CH_2-CO-;和/或

[0068] II是选自下述的氨基酸残基:γGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-Asp或α-D-Asp,优选地,II选自γGlu或βAsp;和/或

[0069] III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-、或HOOC-$(CH_2)_{24}$-CO-,优选,III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-,优选地III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

[0070] 在一些实施方案中,式(A)通过I的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接,或者式(A')通过I'的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接。

[0071] 在一些实施方案中,所述酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基的ε氨基相连接。

[0072] 在一些实施方案中,所述胰岛素母体的赖氨酸残基位于B29位处。

[0073] 在一些实施方案中,所述胰岛素母体选自下述胰岛素或胰岛素类似物:desB30人胰岛素(SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2,分别表示A链和B链);A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素(SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4,分别表示A链和B链);A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素(SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6,分别表示A链和B链);人胰岛素(SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8,分别表示A链和B链);A21G人胰岛素(SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10,分别表示A链和B链);A21G,desB30人胰岛素(SEQ ID NO:11和SEQ ID NO:12,分别表示A链和B链);或B28D人胰岛素(SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14,分别表示A链和B链);优选地,所述胰岛素母体为desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素;或A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素。

[0074] 在一些实施方案中,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γ

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

酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-13xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-13xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-14xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-14xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-15xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-15xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-16xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-16xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-17xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-17xPEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xPEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-18xPEG),desB30人胰岛素;

[0075] 优选地,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;

[0076] 更优选地,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素。

[0077] 在本发明的另一个方面,提供了胰岛素衍生物,其是酰化胰岛素,所述酰化胰岛素的胰岛素母体为A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素或A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素,所述酰化胰岛素的酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N末端氨基酸残基的氨基相连接,所述酰基部分如式(C)所示:

[0078] Y1-(Y2)$_{m1}$-(Y3)$_{n1}$-(C),

[0079] 其中,

[0080] m1为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9或10,n1为5、6、7、8、9或10的整数;

[0081] Y3是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0082] Y2是酸性的氨基酸残基;

[0083] Y1是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0084] Y1、Y2、和Y3之间以酰胺键连接;

[0085] Y2和Y3在式(C)中出现的顺序可以独立地互换;和

[0086] 当Y1是包含20个碳原子的脂肪族二酸,且其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除时,且m1为1时,则n1不是10;

[0087] 或者

[0088] 所述酰基部分如式(C')所示:

[0089] Y1-(Y2)$_{m1}$-(Y3')$_{n1'}$-(C'),

[0090] 其中,

[0091] m1为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9或10,n1'为5、6、7、8、9或10的整数;

[0092] Y3'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0093] Y2是酸性的氨基酸残基;

[0094] Y1是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0095] Y1、Y2、和Y3'之间以酰胺键连接;

[0096] Y2和Y3'在式(C')中出现的顺序可以独立地互换;

[0097] (Y3')$_{n1'}$的总碳原子数为15-100个、优选20-100个、优选25-90个、优选30-80个、优选30-59个、优选30-54个;和

[0098] 当Y1是包含20个碳原子的脂肪族二酸,且其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除时,且m1为1时,则(Y3')$_{n1'}$的总碳原子数不是60个。

[0099] 在一些实施方案中,n1为5、6、7、8或9,优选地,n1为5、6、7、或8;和/或m1为1-6的整数,优选地,m1为1、2、3、或4,优选地,m1为1或2,优选地,m1为1;和/或

[0100] Y1是包含20-23个碳原子的脂肪族二酸,优选Y1是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除。

[0101] 在一些实施方案中,Y3是:-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-

$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_3$-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选Y3是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-;或者,Y3'是-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{10}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{11}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{12}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-CH_2-O$)_8$-CH_2-CO-;和/或

[0102] Y2是选自下述的氨基酸残基:γGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-Asp或α-D-Asp,优选地,Y2选自γGlu或βAsp;和/或

[0103] Y1是是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-、或HOOC-$(CH_2)_{24}$-CO-,优选,Y1是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-,优选地Y1是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

[0104] 在一些实施方案中,式(C)通过Y3的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接,或者式(C')通过Y3'的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接。

[0105] 在一些实施方案中,所述酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基的ε氨基相连接。

[0106] 在一些实施方案中,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛

素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二

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

[0107] 优选地,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;

[0108] 优选地,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素。

[0109] 在本发明的另一个方面,提供了胰岛素衍生物,其是酰化胰岛素,所述酰化胰岛素的胰岛素母体为A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素或A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素,所述酰化胰岛素的酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N末端氨基酸残基的氨基相连接,所述酰基部分如式(D)所示:

[0110] $W1-(W2)_{m2}-(W3)_{n2}-(D)$,

[0111] 其中,

[0112] m2为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9或10,n2为11,12,13,14,15,16,17,18,19或20;

[0113] W3是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0114] W2是酸性的氨基酸残基;

[0115] W1是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0116] W1、W2、和W3之间以酰胺键连接;和

[0117] W2和W3在式(D)中出现的顺序可以独立地互换;

[0118] 或者

[0119] 所述酰基部分如式(D')所示:

[0120] $W1-(W2)_{m2}-(W3')_{n2'}-(D')$,

[0121] 其中,

[0122] m2为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9或10,n2'为11,12,13,14,15,16,17,18,19或20;

[0123] W3'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0124] W2是酸性的氨基酸残基;

[0125] W1是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0126] W1、W2、和W3'之间以酰胺键连接;和

[0127] W2和W3'在式(D')中出现的顺序可以独立地互换;和

[0128] $(W3')_{n2'}$的总碳原子数为30-180个、42-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个。

[0129] 在一些实施方案中,n2为11、12、13、14、15、16、17、18或19,优选地,n2为11、12、13、14、15、16、17、或18,优选地,n2为11、12、13、14、15、或16,优选地,n2为11、12、13、14、或15;和/或

[0130] m2为1-6的整数,优选地,m2为1、2、3、或4,优选地,m2为1或2,优选地,m2为1;和/或

[0131] W1是包含20-23个碳原子的脂肪族二酸,优选W1是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除。

[0132] 在一些实施方案中,W3是:-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_3$-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选W3是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-;或者,W3'是-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{20}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{22}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{24}$-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2$-CH_2-CH_2-O$)_{15}$-CH_2-CO-;和/或

[0133] W2是选自下述的氨基酸残基:γGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-Asp或α-D-Asp,优选地,W2选自γGlu或βAsp;和/或

[0134] W1是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-,优选地W1是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

[0135] 在一些实施方案中,式(D)通过W3的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接或者式(D')通过W3'的C末端与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接。

[0136] 在一些实施方案中,所述酰基部分与所述胰岛素母体的赖氨酸残基的ε氨基相连接。

[0137] 在一些实施方案中,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二

烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十一烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-13xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-14xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-15xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-13xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-14xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-15xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-16xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-17xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-16xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-17xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-19xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-19xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-20xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-20xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-16xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-17xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-16xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-17xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-19xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-19xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-20xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-20xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-24xOEG),desB30人胰岛素;

[0138] 优选地,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素;

[0139] 优选地,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

[0140] 在一些实施方案中,所述酰化胰岛素选自下述胰岛素:A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-8xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-7xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-βAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αGlu-αGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-7xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-αAsp-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-6xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-5xOEG-γGlu-γGlu),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-5xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-βAsp-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,

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

胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十三烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,B29K(N(ε)-二十四烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

[0141] 在本发明的另一个方面,提供了药物组合物,其包含前面所述的胰岛素衍生物或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素、和一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0142] 在一些实施方案中,所述药物组合物包含至少1.5摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;优选包含至少2.2摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;优选包含至少3.5摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;优选包含至少4.5摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;优选包含2.2-12摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;更优选包含4.5-10摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;更优选包含4.5-8摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;更优选包含4.5-7.5摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;更优选包含4.5-7.0摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;更优选包含4.5-6.5摩尔锌离子/6摩尔的酰化的胰岛素;和/或

[0143] 所述药物组合物具有的pH为6.5-8.5;优选pH为6.8-8.2;优选pH为7.0-8.2;优选pH为7.2-7.6;更优选pH为7.4或7.6。

[0144] 在一些实施方案中,所述药物组合物进一步包含甘油、苯酚、间甲酚、NaCl、和/或Na_2HPO_4;优选,所述药物组合物进一步包含甘油、苯酚、和NaCl;优选,所述药物组合物进一步包含甘油、苯酚、间甲酚、和NaCl;优选,所述药物组合物进一步包含甘油、苯酚、NaCl和Na_2HPO_4;更优选,所述药物组合物进一步包含甘油、苯酚、间甲酚、NaCl和Na_2HPO_4。

[0145] 在一些实施方案中,所述甘油的含量不超过约2.5%(重量/重量),优选不超过约2%(重量/重量),优选为约0.3%至约2%(重量/重量),优选为约0.5%至约1.8%(重量/重量),优选为约0.7%至约1.8%(重量/重量),更优选为约1%至约1.8%(重量/重量);和/或

[0146] 所述苯酚的含量为约16至80mM,优选为约25-75mM,优选为约30-70mM,45-70mM,优选为约45-65mM;优选为约45mM、约46mM、约47mM、约48mM、约49mM、50mM、约51mM、约52mM、约53mM、约54mM、约55mM、约56mM、约57mM、约58mM、约59mM、约60mM、约61mM、约62mM、约63mM、约64mM、或约65mM;和/或

[0147] 所述间甲酚的含量为约0-35mM,优选为约0-19mM,优选为约0-15mM,优选为约0mM、约1mM、约2mM、约3mM、约4mM、约5mM、约6mM、约7mM、约8mM、约9mM、约10mM、约11mM、约12mM、约13mM、约14mM、或约15mM;和/或

[0148] 所述NaCl的含量为约0-150mM,优选为约5-120mM,优选为约10-120mM,优选为约10-100mM,更优选为约10-75mM,更优选为约10-50mM,更优选为约10-30mM;和/或

[0149] 所述Na_2HPO_4的含量为约0-75mM,优选为约5-60mM,优选为低于约50mM,更优选为低于约25mM,更优选为低于约15mM;和/或

[0150] 所述胰岛素衍生物的含量高于约0.3mM、优选高于约0.6mM、优选为约0.3-12mM、优选为约0.6-9.0mM、优选为约0.6-8.4mM、优选为约0.6-7.2mM、优选为约0.6-6.0mM、优选为约0.6-4.2mM、优选为约0.6-3.6mM、优选为约0.6-3.0mM、优选为约0.6-2.4mM、优选为约0.6-2.1mM、优选为约0.6-1.2mM。

[0151] 在一些实施方案中,所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γ

Glu-6xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

[0152] 在本发明的另一个方面,提供了药物组合物,其包含约0.6-4.2mM的本发明上文所述的胰岛素衍生物、约1%至约1.8%(重量/重量)的甘油、约45-65mM的苯酚、约4.5-6.5摩尔锌离子/6摩尔的胰岛素衍生物、约10-120mM的氯化钠、约0-15mM间甲酚、和具有约7.0-8.2的pH值,优选,所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

[0153] 在本发明的另一个方面,提供了药物组合物,其包含约0.6mM或1.2mM的本发明上文所述的胰岛素衍生物、1.7%(重量/重量)的甘油、约45mM的苯酚、约10mM的间甲酚、约6.5摩尔锌离子/6摩尔的胰岛素衍生物、约20mM的氯化钠、和具有约7.0-8.0的pH值,优选,所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

[0154] 在本发明的另一个方面,提供了药物组合物,其包含约0.6-4.2mM的本发明上文所述的胰岛素衍生物、约1%至约2%(优选约1.5%-1.7%)(重量/重量)的甘油、约15mM-60mM(优选约30mM-60mM、更优选约45mM-60mM)的苯酚、约1.5-7.0(优选约2.2-4.5)摩尔锌离子/

6摩尔的胰岛素衍生物、约10-120mM(优选约20-50mM)的氯化钠、约0-25mM(优选约0-15mM、0-10mM)间甲酚、和具有约7.0-8.2的pH值,优选,所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

[0155] 在本发明的另一个方面,提供了药物组合物,其包含约0.6mM-4.2mM的本发明上文所述的胰岛素衍生物、约1.5%-1.7%(重量/重量)的甘油、约45mM-60mM的苯酚、约0-10mM的间甲酚、约2.2-2.5摩尔锌离子/6摩尔的胰岛素衍生物、约20mM的氯化钠、和具有约7.0-8.0的pH值,其中所述胰岛素衍生物为A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

[0156] 在一些实施方案中,所述药物组合物还包含促胰岛素GLP-1化合物;优选地,所述药物组合物还包含选自下述的促胰岛素GLP-1化合物:N-ε^{26}-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、N-ε^{26}-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-羧基十七烷酰氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-羧基十七烷酰氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽。

[0157] 在一些实施方案中,所述药物组合物还包含式(B)所示的促胰岛素GLP-1化合物、或其药学上可接受的盐、酰胺或酯:

[0158] $[Acy-(L1)_r-(L2)_q]-G1(B)$,

[0159] 其中G1为在对应于GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:15)的位置34处具有Arg、及位置8处具有Ala或Gly的GLP-1类似物,$[Acy-(L1)_r-(L2)_q]$是连接至所述GLP-1类似物的位置26的Lys残基的ε氨基上的取代基,其中

[0160] r为1-10的整数,q为0或1-10的整数;

[0161] Acy是包含20-24个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0162] L1是选自下述的氨基酸残基:γGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-

Asp或α-D-Asp;

[0163] L2是中性的、含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0164] Acy、L1、和L2之间以酰胺键连接;和

[0165] L1和L2在式(B)中出现的顺序可以独立地互换。

[0166] 在一些实施方案中,G1为[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(SEQ ID NO:16)或[Arg34]GLP-1-(7-37)肽(SEQ ID NO:17),优选为[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽;和/或

[0167] r为1、2、3、4、5或6,优选地,r为1、2、3或4,优选地,r为1或2,优选地,r为1;和/或

[0168] q为0、1、2、3、4、5、6、7或8,优选地,q为0、1、2、3或4,更优选,q为0、1、或2;和/或

[0169] Acy是包含20-23个碳原子的脂肪族二酸,优选Acy是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除。

[0170] 在一些实施方案中,L2是:-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_3$-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选L2是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-;和/或

[0171] L1选自γGlu或βAsp,优选L1为γGlu;和/或

[0172] Acy是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-,优选地,Acy是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

[0173] 在一些实施方案中,式(B)中Acy、L1、和L2之间依次以酰胺键连接,L2的C末端连接至所述GLP-1类似物的位置26的Lys残基的ε氨基上。

[0174] 在一些实施方案中,所述促胰岛素GLP-1化合物选自下述化合物:

[0175] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0176] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0177] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0178] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[21-羧基二十一烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0179] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0180] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[23-羧基二十三烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧

基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0181] N-ε^{26}-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0182] N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0183] N-ε^{26}-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0184] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0185] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0186] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0187] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[21-羧基二十一烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0188] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0189] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[23-羧基二十三烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0190] N-ε^{26}-(23-羧基二十三烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0191] N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0192] N-ε^{26}-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0193] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0194] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[20-羧基二十烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0195] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0196] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[22-羧基二十二烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0197] N-ε^{26}-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0198] N-ε^{26}-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0199] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0200] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[20-羧基二十烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0201] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨

基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0202] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[22-羧基二十二烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0203] N-ε^{26}-(20-羧基二十烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、或

[0204] N-ε^{26}-(22-羧基二十二烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽。

[0205] 在一些实施方案中,所述促胰岛素GLP-1化合物选自下述化合物:

[0206] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0207] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0208] N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0209] N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽、

[0210] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、或

[0211] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[21-羧基二十一烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽;

[0212] 优选地,所述促胰岛素GLP-1化合物为:

[0213] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽、或N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽。

[0214] 发明人出乎意料地发现,本发明所述的胰岛素衍生物(例如酰化胰岛素)和促胰岛素GLP-1化合物的药物组合物或组合制剂不仅不会削弱所述胰岛素衍生物(例如酰化胰岛素)的物理稳定性,而且,组合制剂具有比单药制剂更好的物理稳定性。与其他长效胰岛素衍生物(例如德谷胰岛素和利拉鲁肽)的组合制剂相比,本发明的组合制剂的物理稳定性是出乎意料的。此外,组合制剂相比于单药制剂,还使得所述胰岛素衍生物(例如酰化胰岛素)的化学稳定性增加。

[0215] 在一些实施方案中,所述药物组合物还包含快速起效的胰岛素。

[0216] 在一些实施方案中,所述快速起效的胰岛素选自Asp^{B28}人胰岛素、Lys^{B28}Pro^{B29}人胰岛素、Lys^{B3}Glu^{B29}人胰岛素、人胰岛素和desB30人胰岛素中的一种或多种;优选,所述快速起效的胰岛素为Asp^{B28}人胰岛素、Lys^{B28}Pro^{B29}人胰岛素、Lys^{B3}Glu^{B29}人胰岛素、人胰岛素或desB30人胰岛素。

[0217] 发明人出乎意料地发现,包含本发明的胰岛素衍生物(例如酰化胰岛素)和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物给药后,相比于包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的双胰岛素组分的药物组合物,具有预料不到的增加的降糖药效,在本发明的胰岛素衍生物(例如酰化胰岛素)与门冬胰岛素的用量比远小于德谷胰岛素与门冬胰岛素的用量比时,仍能达到更好或相当的降糖效果。

[0218] 在一些实施方案中,所述胰岛素衍生物与所述快速起效的胰岛素的摩尔比为约60:3至约0.5:3、优选为约57:3至约1:3、优选为约55:3至约1.2:3、优选为约50:3至约1.5:3、优选为约40:3至约1.5:3、优选为约30:3至约1.5:3、优选为约27:3至约1.5:3、优选为约25:3至约1.5:3、优选为约22:3至约1.5:3、优选为约20:3至约1.5:3、优选为约17:3至约1.5:3、优选为约15:3至约1.5:3、优选为约12:3至约1.5:3、优选为约10:3至约1.5:3、优选为约9:3至约1.5:3、优选为约8:3至约1.5:3、优选为约7:3至约1.5:3、优选为约6.9:3至约1.5:3、优选为约6.8:3至约1.5:3、优选为约6.5:3至约1.5:3、优选为约6.3:3至约1.5:3、优选为约6:3至约1.5:3、优选为约5.8:3至约1.5:3、优选为约5.5:3至约1.5:3、优选为约5.3:3至约1.5:3、优选为约5:3至约1.5:3、优选为约4.8:3至约1.5:3、优选为约4.5:3至约1.5:3、优选为约4.2:3至约1.5:3、优选为约4:3至约1.5:3、优选为约3.9:3至约1.5:3、优选为约3.8:3至约1.5:3、优选为约3.5:3至约1.5:3、优选为约3.2:3至约1.5:3、优选为约3:3至约1.5:3、优选为约2.8:3至约1.5:3、优选为约2.5:3至约1.5:3、优选为约15:3至约2:3、优选为约12:3至约2:3、优选为约10:3至约2:3、优选为约9:3至约2:3、优选为约8:3至约2:3、优选为约7:3至约2:3、优选为约6.9:3至约2:3、优选为约6.8:3至约2:3、优选为约6.5:3至约2:3、优选为约6.3:3至约2:3、优选为约6:3至约2:3、优选为约5.8:3至约2:3、优选为约5.5:3至约2:3、优选为约5.3:3至约2:3、优选为约5:3至约2:3、优选为约4.8:3至约2:3、优选为约4.5:3至约2:3、优选为约4.2:3至约2:3、优选为约4:3至约2:3、优选为约3.9:3至约2:3、优选为约3.8:3至约2:3、优选为约3.5:3至约2:3、优选为约3.2:3至约2:3、优选为约3:3至约2:3、优选为约15:3至约2.4:3、优选为约12:3至约2.4:3、优选为约10:3至约2.4:3、优选为约9:3至约2.4:3、优选为约8:3至约2.4:3、优选为约7:3至约2.4:3、优选为约6.9:3至约2.4:3、优选为约6.8:3至约2.4:3、优选为约6.5:3至约2.4:3、优选为约6.3:3至约2.4:3、优选为约6:3至约2.4:3、优选为约5.8:3至约2.4:3、优选为约5.5:3至约2.4:3、优选为约5.3:3至约2.4:3、优选为约5:3至约2.4:3、优选为约4.8:3至约2.4:3、优选为约4.5:3至约2.4:3、优选为约4.2:3至约2.4:3、优选为约4:3至约2.4:3、优选为约3.9:3至约2.4:3、优选为约3.8:3至约2.4:3、优选为约3.5:3至约2.4:3、优选为约3.2:3至约2.4:3、优选为约3:3至约2.4:3、更优选为约1.5:3、更优选为约2:3、更优选为约2.5:3、更优选为约2.75:3、更优选为约3:3。

[0219] 在一些实施方案中,所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-7xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-9xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-10xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-11xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

[0220] 在一些实施方案中,所述药物组合物包含约0.09-0.36mM的胰岛素衍生物、约

0.18mM的Asp^{B28}人胰岛素、约0.85％至约2.0％(重量/重量)的甘油、约15-70mM的苯酚、约8-14摩尔锌离子/6摩尔的胰岛素衍生物、约10-120mM的氯化钠、约0-15mM间甲酚、和具有约7.0-8.2的pH值,其中所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

[0221] 在一些实施方案中,所述药物组合物包含约0.165-0.18mM的胰岛素衍生物、约0.18mM的Asp^{B28}人胰岛素、约1.5％-1.7％(重量/重量)的甘油、约20mM-30mM的苯酚、约9-12摩尔锌离子/6摩尔的胰岛素衍生物、约20mM-75mM的氯化钠、约10mM-15mM间甲酚、和具有约7.0-8.2的pH值,其中所述胰岛素衍生物为B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素;B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素;或B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素。

[0222] 在本发明的另一个方面,提供了本发明所述的胰岛素衍生物或所述的药物组合物,其用作药物。

[0223] 在本发明的另一个方面,提供了本发明所述的胰岛素衍生物或所述的药物组合物,其用作用于治疗或预防糖尿病、高血糖症、和/或葡萄糖耐量削弱的药物。

[0224] 在本发明的另一个方面,提供了本发明所述的胰岛素衍生物或所述的药物组合物,其用于治疗或预防糖尿病、高血糖症、和/或葡萄糖耐量削弱。

[0225] 在本发明的另一个方面,提供了本发明所述的胰岛素衍生物或所述的药物组合物在制备药物中的用途;优选地,所述药物用于治疗或预防糖尿病、高血糖症、和/或葡萄糖耐量削弱。

[0226] 在一些实施方案中,所述药物用于治疗糖尿病,所述胰岛素衍生物以每隔一天或更低频率给予同一患者,并且平均起来,在至少1个月、6个月或1年的时间期间,所述胰岛素衍生物不以更高频率给予同一患者。

[0227] 在一些实施方案中,所述药物用于治疗糖尿病,所述胰岛素衍生物以一周两次或更低频率给予,并且平均起来,在至少1个月、6个月或1年的时间期间,所述酰化胰岛素不以更高频率给予同一患者。

[0228] 本发明的另一个方面,提供了治疗或预防糖尿病、高血糖症、和/或葡萄糖耐量削弱的方法,包括施用治疗有效量的本发明如上所述的胰岛素衍生物或所述的药物组合物。

[0229] 发明人意外发现,本发明的胰岛素衍生物(例如酰化胰岛素)具有长的药代动力学(下文也称PK)特征,使得对糖尿病患者一周两次、一周一次或更低频率的皮下治疗成为可能。

[0230] 本发明的另一个方面,提供了使胰岛素衍生物在白蛋白存在时,对胰岛素受体结

合能力提高的方法,所述方法包括:

[0231] 经由连接基团Lin将白蛋白结合残基与天然存在的胰岛素或胰岛素类似物连接而得到所述胰岛素衍生物,其中所述连接基团Lin是具有至少10个、优选至少15个、优选至少20个、优选至少25个、优选至少30个、优选至少36个、优选至少40个、优选15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个碳原子的亲水性连接基团;所述白蛋白结合残基包含20-40个碳原子,优选所述白蛋白结合残基包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团,优选所述白蛋白结合残基是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基或所述脂肪族二酸的羧基之一中去除,

[0232] 或者

[0233] 用式(A)或式(A')修饰天然存在的胰岛素或胰岛素类似物而得到所述衍生物,III-$(II)_m$-$(I)_n$- (A),其中,

[0234] m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n为大于等于5的整数,优选n为5-30的整数;

[0235] I是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0236] II是酸性的氨基酸残基;

[0237] III是包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团的白蛋白结合残基,优选III是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0238] III、II、和I之间以酰胺键连接;和

[0239] II和I在式(A)中出现的顺序可以独立地互换;

[0240] (A')为III-$(II)_m$-$(I')_{n'}$- (A'),

[0241] 其中,

[0242] m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n'为整数;

[0243] I'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0244] II是酸性的氨基酸残基;

[0245] III是包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团的白蛋白结合残基,优选III是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0246] III、II、和I'之间以酰胺键连接;

[0247] II和I'在式(A')中出现的顺序可以独立地互换;和

[0248] $(I')_{n'}$的总碳原子数为15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个。

[0249] 本发明的另一个方面,本发明提供了一种使胰岛素衍生物效力提高的方法,,所述方法包括:

[0250] 经由连接基团Lin将白蛋白结合残基与天然存在的胰岛素或胰岛素类似物连接而得到所述胰岛素衍生物,其中所述连接基团Lin是具有至少10个、优选至少15个、优选至少

20个、优选至少25个、优选至少30个、优选至少36个、优选至少40个、优选15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个碳原子的亲水性连接基团;所述白蛋白结合残基包含20-40个碳原子,优选所述白蛋白结合残基包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团,优选所述白蛋白结合残基是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基或所述脂肪族二酸的羧基之一中去除,

[0251] 或者

[0252] 用式(A)或式(A')修饰天然存在的胰岛素或胰岛素类似物而得到所述衍生物,III-$(II)_m$-$(I)_n$- (A),其中,

[0253] m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n为大于等于5的整数,优选n为5-30的整数;

[0254] I是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0255] II是酸性的氨基酸残基;

[0256] III是包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团的白蛋白结合残基,优选III是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0257] III、II、和I之间以酰胺键连接;和

[0258] II和I在式(A)中出现的顺序可以独立地互换;

[0259] 或者

[0260] III-$(II)_m$-$(I')_{n'}$- (A'),其中,

[0261] m为0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,或10,n'为大于等于5的整数;

[0262] I'是中性的、包含亚烷基二醇的氨基酸残基;

[0263] II是酸性的氨基酸残基;

[0264] III是包含具有20-40个碳原子的线性或分支的亲脂性基团的白蛋白结合残基,优选III是包含20-26个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸(更优选20-24个碳原子的脂肪酸或脂肪族二酸),其中在形式上羟基已从所述脂肪酸的羧基和所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;

[0265] III、II、和I'之间以酰胺键连接;和

[0266] II和I'在式(A')中出现的顺序可以独立地互换;和

[0267] $(I')_{n'}$的总碳原子数为15-200个、优选20-200个、优选25-180个、优选30-180个、优选42-180个、优选54-180个、优选59-180个、优选61-180个、优选66-180个、优选72-120个。

[0268] 在一些实施方案中,所述天然存在的胰岛素或胰岛素类似物包含至少一个赖氨酸残基,连接基团Lin、式(A)或式(A')与所述胰岛素母体的赖氨酸残基或N末端氨基酸残基的氨基相连接。

[0269] 在一些实施方案中,n为5-18的整数,优选n为5-15的整数,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11、12、13或14,优选地,n为5、6、7、8、9、10、11或12,优选地,n为5、6、7、8、9、或10,优选地,n为5、6、7、8或9,优选地,n为5、6、7、或8;和/或

[0270] m为1-6的整数,优选地,m为1、2、3、或4,优选地,m为1或2,优选地,m为1;和/或

[0271] III是包含20-26个(优选20-23个)碳原子的脂肪族二酸,优选III是包含20、21、或22个碳原子的脂肪族二酸,其中在形式上羟基已从所述脂肪族二酸的羧基之一中去除;和/或

[0272] 所述胰岛素母体包含一个赖氨酸残基。

[0273] 在一些实施方案中,I是:-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-$(CH_2)_2$-CO-、-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_3$-NH-CO-CH_2-O-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2)_3$-O-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2)_4$-O-$(CH_2)_4$-O-CH_2-CO-;优选I是-HN-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$-O-CH_2-CO-;或者,I'是-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{10}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{11}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{12}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-CH_2-O$)_8$-CH_2-CO-、--HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{20}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{22}$-CH_2-CO-、-HN-$(CH_2$-CH_2-O$)_{24}$-CH_2-CO-、或-HN-$(CH_2$-CH_2-CH_2-O$)_{15}$-CH_2-CO-;和/或

[0274] II是选自下述的氨基酸残基:γGlu、αGlu、βAsp、αAsp、γ-D-Glu、α-D-Glu、β-D-Asp或α-D-Asp,优选地,II选自γGlu或βAsp;和/或

[0275] III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{19}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{21}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{24}$-CO-,优选地III是HOOC-$(CH_2)_{18}$-CO-、HOOC-$(CH_2)_{20}$-CO-或HOOC-$(CH_2)_{22}$-CO-。

[0276] 在一些实施方案中,将式(A)通过I的C末端与所述天然胰岛素或胰岛素类似物的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接或将式(A')通过I'的C末端与所述天然胰岛素或胰岛素类似物的赖氨酸残基或N-末端氨基酸残基的氨基连接。

[0277] 在一些实施方案中,式(A)或式(A')与所述胰岛素母体的赖氨酸残基的ε氨基相连接。

[0278] 在一些实施方案中,所述天然胰岛素或胰岛素类似物的赖氨酸残基位于B29位处。

[0279] 所述天然存在的胰岛素或胰岛素类似物选自下述胰岛素或胰岛素类似物:desB30人胰岛素;A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素;A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素;人胰岛素;A21G人胰岛素;A21G,desB30人胰岛素;或B28D人胰岛素;优选地,所述胰岛素母体为desB30人胰岛素或A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素。

附图说明

[0280] 图1a示出了本发明实施例1和2的化合物、德谷胰岛素、和溶媒(vehicle)对db/db小鼠的降糖效果。

[0281] 图1b与图1a相对应地示出了本发明实施例1和2的化合物、德谷胰岛素和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0282] 图2a示出了本发明实施例1和2的化合物、对照例2的化合物和溶媒对db/db小鼠的降糖效果。

[0283] 图2b与图2a相对应地示出了本发明实施例1和2的化合物、对照例2的化合物和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0284] 图3a示出了本发明实施例1-3的化合物、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果和作用时间。

[0285] 图3b与图3a相对应地示出了本发明实施例1-3的化合物、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0286] 图4a示出了本发明实施例2的化合物、对照例3的化合物和溶媒对db/db小鼠的降糖效果和作用时间。

[0287] 图4b与图4a相对应地示出了本发明实施例2的化合物、对照例3的化合物和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0288] 图5a示出了本发明对照例3-4的化合物、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果和作用时间。

[0289] 图5b与图5a相对应地示出了本发明对照例3-4的化合物、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0290] 图6a示出了本发明实施例2、实施例4-5的化合物和溶媒对db/db小鼠的降糖效果和作用时间。

[0291] 图6b与图6a相对应地示出了本发明实施例2、实施例4-5的化合物和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0292] 图7a示出了本发明实施例1的化合物、和溶媒对链脲佐菌素(STZ)诱导的I型糖尿病(T1DM)大鼠的降糖效果。

[0293] 图7b与图7a相对应地示出了本发明实施例1的化合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)大鼠的降糖效果的AUC。

[0294] 图8a示出了本发明对照例5、实施例15和16的标题化合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)大鼠的降糖效果。

[0295] 图8b与图8a相对应地示出了本发明对照例5、实施例15和16的标题化合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)大鼠的降糖效果的AUC。

[0296] 图9a示出了本发明实施例2和4的化合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)雌性大鼠的降糖效果。

[0297] 图9b与图9a相对应地示出了本发明实施例2和4的化合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)雌性大鼠的降糖效果的AUC。

[0298] 图10a示出了本发明对照例5、实施例15和16的标题化合物、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果。

[0299] 图10b与图10a相应地示出了本发明对照例5、实施例15和16的标题化合物、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0300] 图11a示出了本发明对照例5、实施例17和18的标题化合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)大鼠的降糖效果。

[0301] 图11b与图11a相应地示出了本发明对照例5、实施例17和18的标题化合物、和溶媒

对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)大鼠的降糖效果的AUC。

[0302] 图12a示出了本发明对照例5和实施例16的标题化合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)大鼠的降糖效果。

[0303] 图12b与图12a相应地示出了本发明对照例5和实施例16的标题化合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)大鼠的降糖效果的AUC。

[0304] 图13a示出了门冬胰岛素、包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠的降糖效果。

[0305] 图13b与图13a相应地示出了门冬胰岛素、包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠的降糖效果的AUC。

[0306] 图14a示出了门冬胰岛素、包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠的降糖效果。

[0307] 图14b与图14a相应地示出了门冬胰岛素、包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠的降糖效果的AUC。

[0308] 图15a示出了门冬胰岛素、包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠第四次给药前小鼠血糖。

[0309] 图15b示出了门冬胰岛素、包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠第八次给药前小鼠血糖。

[0310] 图15c示出了门冬胰岛素、包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠第十次给药前小鼠血糖。

[0311] 图16a示出了门冬胰岛素、包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠第四次给药后1小时小鼠血糖。

[0312] 图16b示出了门冬胰岛素、包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠第八次给药后1小时小鼠血糖。

[0313] 图16c示出了门冬胰岛素、包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠第十次给药后1小时小鼠血糖。

[0314] 图17示出了门冬胰岛素、包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠的降HbA1c效果。

[0315] 图18a示出了本发明实施例4的化合物、德谷胰岛素和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病

(T1DM)大鼠的降糖效果。

[0316] 图18b与图18a相对应地示出了本发明实施例4的化合物、德谷胰岛素和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)大鼠的降糖效果的AUC。

[0317] 图19a示出了包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠的降糖效果。

[0318] 图19b与图19a相应地示出了包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠的降糖效果的AUC。

[0319] 图20示出了包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对STZ诱导的I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠的降HbA1c效果。

[0320] 图21a示出了包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果。

[0321] 图21b与图21a相应地示出了包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒对db/db小鼠的降糖效果的AUC。

[0322] 图22a示出了注射包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒后db/db小鼠的随机血糖。

[0323] 图22b与22a相应地示出了注射包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒后db/db小鼠的随机血糖的AUC。

[0324] 图22c示出了注射包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒后db/db小鼠的禁食血糖。

[0325] 图22d与22c相应地示出了注射包含德谷胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素双胰岛素组分的药物组合物、和溶媒后db/db小鼠的禁食血糖的AUC。

[0326] 图23示出了本发明实施例2的化合物和对照化合物2,分别在2%HSA和0%HSA存在时,受体结合能力的情况。

[0327] 图24a示出了本发明实施例17的化合物和对照化合物5在进样浓度为12800nM,分别在2%HSA和0%HSA存在时,受体结合能力的情况。

[0328] 图24b示出了本发明实施例17的化合物和对照化合物5在进样浓度为25600nM,分别在2%HSA和0%HSA存在时,受体结合能力的情况。

[0329] 图25示出了本发明实施例41的化合物和对照化合物2分别在2%HSA和0%HSA存在时,受体结合能力的情况。

[0330] 图26a示出了本发明实施例18的化合物、实施例42的化合物和对照化合物5在进样

浓度为12800nM,分别在2％HSA和0％HSA存在时,受体结合能力的情况。

[0331] 图26b示出了本发明实施例18的化合物、实施例42的化合物和对照化合物5在进样浓度为25600nM,分别在2％HSA和0％HSA存在时,受体结合能力的情况。

具体实施方式

[0332] 定义

[0333] 此处,术语胰岛素包括天然存在的胰岛素,例如人胰岛素,以及其胰岛素类似物、胰岛素衍生物。

[0334] 术语胰岛素类似物包含这样的多肽,其具有在形式上可以通过缺失和/或置换(替换)在天然胰岛素中存在的一个或多个氨基酸残基和/或添加一个或多个氨基酸残基,而衍生自天然存在的胰岛素(例如人胰岛素)的结构的分子结构。添加和/或置换的氨基酸残基可以是可编码的氨基酸残基、或其它天然存在的氨基酸残基、或纯粹合成的氨基酸残基。优选地,添加和/或置换的氨基酸残基是可编码氨基酸残基。

[0335] 此处,术语“胰岛素衍生物”指的是已被化学方式修饰过的天然存在的胰岛素或胰岛素类似物,该修饰可以是例如在胰岛素骨架的一个或多个位置上引入侧链或者氧化或还原胰岛素上氨基酸残基的基团或者将游离羧基转化成酯基或酰化游离氨基或羟基。本发明的酰化胰岛素即属于胰岛素衍生物。

[0336] 术语“胰岛素母体”是指胰岛素衍生物或酰化胰岛素的胰岛素部分(在本文中也称作母体胰岛素),例如在本发明中是指胰岛素衍生物或酰化胰岛素的没有连接侧链或没有附加酰基的部分。胰岛素母体可以为天然存在的胰岛素,诸如人胰岛素或猪胰岛素。另一方面,母体胰岛素可以是胰岛素类似物。

[0337] 此处,术语“氨基酸残基”包含从其中氢原子已从氨基中去除和/或羟基已从羧基中去除和/或氢原子已从巯基中去除的氨基酸。不精确地,氨基酸残基可以叫做氨基酸。

[0338] 除非另有说明,本文提及的氨基酸都是L-氨基酸。

[0339] 术语“白蛋白结合残基”是指能与人血清白蛋白非共价结合的残基。与胰岛素连接的白蛋白结合残基通常对人血清白蛋白具有低于例如约10μM或甚至低于约1μM的结合亲和力。可通过以下文献所述的表面等离振子共振测量白蛋白结合性质:J.Biol.Chem.277(38),35035-35042,(2002)。

[0340] 本文中,“亲水性连接基团”是指包含至少6个非氢原子的化学部分(moiety)将胰岛素母体与白蛋白结合残基分开的连接基团,这些非氢原子中的30-50％是N或O。

[0341] “亲脂性”是指基团溶解于脂肪、油、脂质、以及亲脂性非极性溶剂(如己烷或甲苯)中的能力。亲脂性基团,包括但不限于例如脂肪、脂肪酸、脂肪二酸等,通常具有″脂质尾部″,存在于这些亲脂性基团中的脂质尾部可以为饱和的和不饱和的,取决于脂质尾部是否包含双键。脂质尾部也可包含不同长度,例如具有7-12个碳之间的尾部(例如,C_{7-12}烷基或C_{7-12}烯基)、具有13-22个碳的尾部(例如,C_{13-12}烷基或C_{13-22}烯基)、或具有23-30个碳的尾部(例如,C_{23-30}烷基或C_{23-30}烯基)。

[0342] 此处,术语亚烷基二醇包含寡和聚亚烷基二醇部分以及单亚烷基二醇部分。单亚烷基二醇和聚亚烷基二醇包括例如基于单和聚乙二醇、基于单和聚丙二醇和基于单和聚丁二醇的链,即基于重复单位-CH_2CH_2O-、-$CH_2CH_2CH_2O$-或-$CH_2CH_2CH_2CH_2O$-的链。亚烷基二醇部

分可以是单分散(具有定义明确的长度/分子量)以及多分散(具有定义较不明确的长度/平均分子量)。单亚烷基二醇部分包括在每个末端处包含不同基团的-OCH_2CH_2O-、-$OCH_2CH_2CH_2O$-或-$OCH_2CH_2CH_2CH_2O$-。

[0343] 术语“脂肪酸”包括直链或支链脂族羧酸,其具有至少两个碳原子并为饱和或不饱和的。脂肪酸的非限定实例为例如肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸和二十烷酸。

[0344] 此处,术语“脂肪族二酸”包括直链或支链脂族二羧酸,其具有至少两个碳原子并为饱和或不饱和的。脂肪族二酸的非限定实例为己二酸、辛二酸、癸二酸、十二烷二酸、十四烷二酸、十六烷二酸、十七烷二酸、十八烷二酸、二十烷二酸、二十二烷二酸、和二十四烷二酸。

[0345] 本文中,快速起效的胰岛素包括快速起效的天然存在的胰岛素、胰岛素类似物和胰岛素衍生物。快速起效胰岛素通常在例如1至20分钟内开始发挥作用,在约一个小时后达到峰值,并且持续作用三至五小时。

[0346] 术语“基础胰岛素”意指具有比常态或正常人胰岛素更长的作用持续时间的胰岛素。

[0347] 本文中,术语“化学稳定性”是指,从化学上,本发明的胰岛素衍生物在所需制剂中足够稳定。也就是,仅形成不损害最终药物产物的保质期的量的化学降解产物。化学降解产物包括脱酰胺产物、异天冬氨酸酯形成、二聚体形成、外消旋化产物、从脱水过程等产生的产物。化学稳定性可通过老化样品或制剂的HPLC分析测定。

[0348] 本文中,“对胰岛素受体的结合能力”是指,胰岛素与胰岛素受体之间的相互作用,这种相互作用的大小或强度可以用例如表面等离子共振(SPR)进行测定。例如,在用SPR测定时,当含有胰岛素的溶液流过包被有胰岛素受体的芯片时,胰岛素与胰岛素受体所产生的相互作用会导致SPR偏转角度发生变化,这种变化通常用相对响应值来体现,通常相对响应值越大,表明对胰岛素受体的结合能力越高。

[0349] 高物理稳定性意指原纤维化倾向小于人胰岛素原纤维化倾向的50%。原纤维化可以通过在给定条件下原纤维开始形成之前的滞后时间来描述。

[0350] 具有胰岛素受体和IGF-1受体亲和力的多肽是在合适的结合测定中能够与胰岛素受体和人IGF-1受体相互作用的多肽。此种受体测定是本领域众所周知的。

[0351] 本文中,“药效”或“效力”是指药物或活性化合物产生某种作用或效果(例如降低血糖)的能力。例如,施用同剂量的本发明的胰岛素衍生物,相对于德谷胰岛素或其它已有的胰岛素衍生物,会产生更高的降低血糖的效果或作用。

[0352] 术语“糖尿病”包括1型糖尿病、2型糖尿病、妊娠糖尿病(在妊娠期间)和引起高血糖症的其它状态。该术语用于代谢紊乱,其中胰腺产生不足量的胰岛素,或其中身体的细胞不能适当地响应胰岛素,从而阻止细胞吸收葡萄糖。结果,葡萄糖在血液中聚集。

[0353] 1型糖尿病,亦称为胰岛素依赖性糖尿病(IDDM)和青少年型糖尿病,由β-细胞破坏引起,通常导致绝对胰岛素缺乏。2型糖尿病,亦称为非胰岛素依赖性糖尿病(NIDDM)和成年型糖尿病,与主要的胰岛素抵抗和由此相对胰岛素缺乏和/或具有胰岛素抵抗的主要胰岛素分泌缺陷有关。

[0354] 本文所用的术语“GLP-1类似物”或“GLP-1的类似物”是指作为人胰高血糖素样肽-1(GLP-1(7-37))变体的肽或化合物,其中GLP-1(7-37)的一个或多个氨基酸残基被替换、

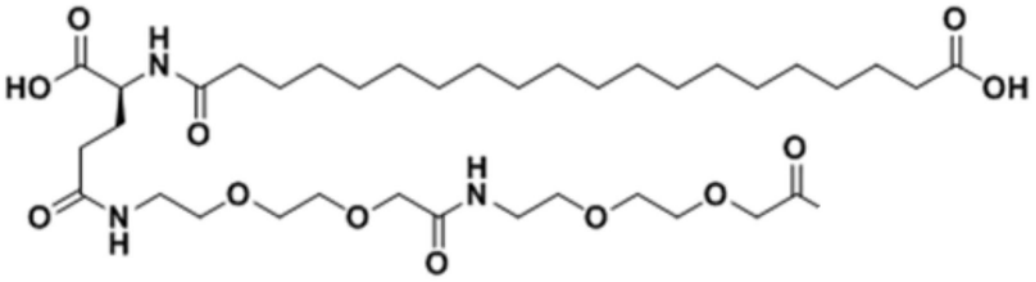
和/或其中一个或多个氨基酸残基被缺失、和/或其中增加了一个或多个氨基酸残基。具体地,GLP-1(7-37)的序列如序列表中的SEQ ID NO:15所示。具有SEQ ID NO:15所示序列的肽也可称为“天然”GLP-1或“天然”GLP-1(7-37)。

[0355] 在序列表中,SEQ ID NO:15的第一个氨基酸残基(组氨酸)编号为1。然而,在下文中,依据本领域已建立的习惯,该组氨酸残基编号定为7,并且其后的氨基酸残基也随之编号,结尾是37号甘氨酸。因此,通常,本文所涉及到的GLP-1(7-37)序列的氨基酸残基编号或位置编号是开始于位置7的His和结束于位置37的Gly的序列。

[0356] [Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽,是在对应于GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:15)位置8和位置34的位置处分别具有Gly和Arg的GLP-1类似物。[Arg34]GLP-1-(7-37)肽,是在对应于GLP-1(7-37)(SEQ ID NO:15)位置34的位置处具有Arg的GLP-1类似物。具体地,[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽和[Arg34]GLP-1-(7-37)肽的氨基酸序列分别如序列表中的SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:17所示。

[0357] 在GLP-1肽或其类似物的情况下,本文所用的术语“衍生物”是指经化学修饰的GLP-1肽或类似物,其中一个或多个取代基已与所述肽共价连接。取代基也可称为侧链。

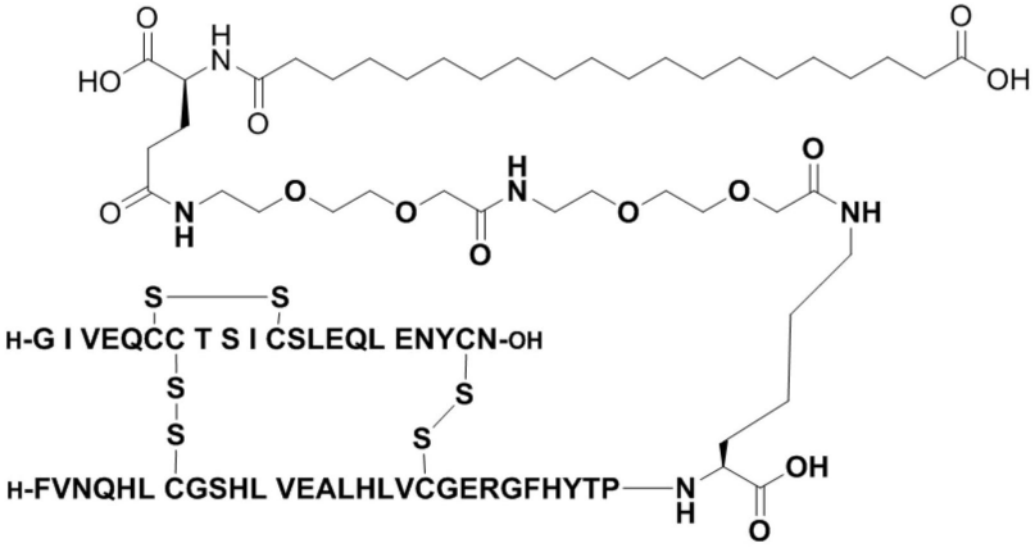
[0358] 在本文中,胰岛素或GLP-1化合物的命名按照以下原则进行:按相对于人胰岛素的突变和修饰(例如酰化)、或天然GLP-1(7-37)的突变和修饰(例如酰化)给予名称。对于酰基部分的命名,按照IUPAC命名法和在其它情况下按肽命名法进行命名。例如,命名下述酰基部分:

[0359] 

[0360] 可例如命名为“二十烷二酰基-γGlu-OEG-OEG”、“二十烷二酰基-γGlu-2xOEG”或“二十烷二酰基-gGlu-2xOEG”或“19-羧基十九烷酰基-γGlu-OEG-OEG”,其中OEG表示基团-NH(CH$_2$)$_2$O(CH$_2$)$_2$OCH$_2$CO-(即,2-[2-(2-氨基乙氧基)乙氧基]乙酰基)的简写,γGlu(以及gGlu)是呈L构型的氨基酸γ谷氨酸的简写表示。或者,酰基部分可按照IUPAC命名法(OpenEye,IUPAC格式)命名。根据该命名法,本发明的上述酰基部分被称为以下名称:[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基]、或[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-羧基-4-(19-羧基十九烷酰基氨基)丁酰基]-氨基]-乙氧基]-乙氧基]乙酰基]氨基]乙氧基]乙氧基]乙酰基]。

[0361] 例如,本发明对照例2的胰岛素(具有下文给出的序列/结构)被称为“B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素”、“B29K(N$^{\varepsilon}$-二十烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素”、或“B29K(N$^{\varepsilon}$-二十烷二酰基-gGlu-2xOEG),desB30人胰岛素”以表示人胰岛素中位置B29的氨基酸K已通过在B29的赖氨酸残基的ε氮(称为N$^{\varepsilon}$或(N(ε))上被残基二十烷二酰基-gGlu-2xOEG酰化而修饰,且人胰岛素中位置B30的氨基酸T已被缺失。又例如,对照例5的胰岛素(具有下文给出的序列/结构)被称为“A14E,B16H,B25H,B29K(N$^{\varepsilon}$二十烷二酰

基-gGlu-2xOEG),desB30人胰岛素”或“A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素”,表示人胰岛素中位置A14的氨基酸Y已被突变为E,人胰岛素中位置B16的氨基酸Y已被突变为H,人胰岛素中位置B25的氨基酸F已被突变为H,人胰岛素中位置B29的氨基酸K已通过在B29的赖氨酸残基的ε氮(称为N^{ε})上被残基二十烷二酰基-gGlu-2xOEG酰化而修饰,和人胰岛素中位置B30的氨基酸T已被缺失。

[0362] 

[0363] 本中,“nxPEG”表示基团-NH(CH_2CH_2O)$_n$$CH_2CO$-,其中,n为整数。例如,“12xPEG”表示基团-NH(CH_2CH_2O)$_{12}$$CH_2CO$-。

[0364] 胰岛素是由胰脏中β-细胞分泌的多肽激素,由A和B两条多肽链构成,所述A链和B链由两个链间二硫键连接。此外,所述A链特征为有一个链内二硫键。

[0365] 主要有三种方法用于在微生物中制备人胰岛素。两种涉及大肠杆菌,一种通过在细胞质中表达融合蛋白(Frank et al.(1981)in Peptides:Proceedings of the 7th American Peptide Chemistry Symposiμm(Rich&Gross,eds.),Pierce Chemical Co.,Rockford,III.第729-739页),另一种是使用信号肽以使之能够分泌至周质空间(Chan et al.(1981)PNAS 78:5401-5404)。第三种方法是利用酿酒酵母使胰岛素前体分泌到培养基中(Thim et al.(1986)PNAS 83:6766-6770)。现有技术公开了许多在大肠杆菌或酿酒酵母中表达的胰岛素前体的方法,参照例如美国专利第5,962,267号、WO95/16708、EP0055945、EP0163529、EP0347845和EP0741188。

[0366] 胰岛素类似物的载体的构建、表达、处理和纯化可使用本领域技术人员公知的技术进行。例如可以通过美国专利第6500645号中所公开的众所周知的技术,通过在合适的宿主细胞中表达编码目标胰岛素类似物的DNA序列来制备所述胰岛素类似物。例如也可以通过下述文献中报道的方法来制备胰岛素类似物:Glendorf T,Sørensen AR,Nishimura E,Pettersson I,&Kjeldsen T:Importance of the Solvent-Exposed Residues of the Insulin B Chainα-Helix for Receptor Binding;Biochemistry 2008 47 4743-4751。该文献中使用重叠延伸PCR将突变引入胰岛素编码载体。胰岛素类似物作为具有Ala-Ala-Lys小C-肽的前胰岛素样融合蛋白在酿酒酵母菌株MT663中表达。使用水解无色杆菌(A.lyticus)内切蛋白酶,单链前体经酶促转化为双链desB30类似物。

[0367] 经过分离的胰岛素类似物可通过本领域公知的酰化方法在所需位置酰化,这样的

胰岛素类似物的实例在例如公布号为CN1029977C、CN1043719A和CN1148984A的中国专利申请中已有描述。

[0368] 编码的各胰岛素类似物多肽的核酸序列可由已建立的标准方法通过合成来制备，例如由Beaucage等(1981)Tetrahedron Letters 22:1859-1869中所描述的方法、或Matthes等(1984)EMBO Journal 3:801-805中描述的方法。

[0369] 术语"赋形剂"在广义上是指除了活性治疗成分之外的任何组分。赋形剂可以是惰性物质、无活性物质和/或无药用活性物质。

[0370] 赋形剂可用于各种目的，这取决于药物组合物，例如作为载体、溶媒、稀释剂、片剂助剂，和/或用于改善活性物质的给予和/或吸收。赋形剂的实例包括但不限于稀释剂、缓冲剂、防腐剂、张力调节剂(亦称为张度剂或等渗剂)、螯合剂、表面活性剂、蛋白酶抑制剂、湿润剂、乳化剂、抗氧化剂、填充剂、金属离子、油性溶媒、蛋白质和/或两性离子和稳定剂。

[0371] 药学活性成分与各种赋形剂的药物组合物是本领域已知的，参见例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy(例如第19版(1995)和任何后来的版本)。

[0372] 为患者的便利，假定患者偏好从给予本发明的酰化胰岛素至下一次给予本发明的酰化胰岛素的时间间隔(时间延迟)具有相同的长度或近似相同的长度，以天数计。甚至可预期，患者将偏好给予酰化胰岛素每周发生一次，即在一周的同一天，例如每个星期天。在1个月、6个月或1年的时间内按平均计算，这将是每隔6天和不以更高频率给予酰化胰岛素。对于一些患者，在1个月、6个月或1年的时间内按平均计算，可能需要每隔5天或近似每隔5天和不以更高频率给予酰化胰岛素。对于其它患者，在1个月、6个月或1年的时间内按平均计算，可能需要每隔4天或近似每隔4天和不以更高频率给予酰化胰岛素。对于其它患者，在1个月、6个月或1年的时间内按平均计算，可能需要每隔3天或近似每隔3天和不以更高频率给予酰化胰岛素。甚至其它患者可发现有利的是，在1个月、6个月或1年的时间内按平均计算，按每周两次，例如在各次给予之间以大约3-4天的间隔给予酰化胰岛素。对于一些患者，在1个月、6个月或1年的时间内按平均计算，可能需要每隔2天或近似每隔2天和不以更高频率给予酰化胰岛素。对于其它患者，在1个月、6个月或1年的时间内按平均计算，可能需要每隔1天或近似每隔1天和不以更高频率给予酰化胰岛素。对于一些患者，在1个月、6个月或1年的时间内按平均计算，可能需要每隔7天或近似每隔7天和不以更高频率给予酰化胰岛素。甚至其它患者可能在每周、每月或每年，不以准确相同长度的时间间隔(以天计)给予酰化胰岛素。在1个月、6个月或1年的时间内按平均计算，一些患者有时可以每隔5天至每隔7天的时间间隔和不以更高频率给予酰化胰岛素。在1个月、6个月或1年的时间内按平均计算，其它患者有时可以每隔4天至每隔6天的时间间隔和不以更高频率给予酰化胰岛素。在1个月、6个月或1年的时间内按平均计算，甚至其它患者有时可以每隔3天至每隔7天的时间间隔和不以更高频率给予酰化胰岛素。

[0373] 作为本发明的主要靶标的疾病和病况是糖尿病(1型或2型)或特征为高血糖症的其它病况，但还是大体上其中胰岛素的代谢作用具有临床相关性或具有益处的代谢疾病和病况，例如前糖尿病、葡萄糖耐量受损、代谢综合征、肥胖、恶病质、体内β-细胞受损/死亡、食欲过盛和炎症。已知或认为所有这些类型的病况获益于患有所述疾病或病况的受试者的稳定代谢状态。无论如何，其中包括给予胰岛素的任何治疗方案可通过实施本发明的教导而改变，意思是这样的疗法将包括给予根据本文提供的延长作用的胰岛素。

[0374] 实施例

[0375] 以示例而非限制地提供下列实施例。

[0376] 本文中所用的缩写如下：

[0377] OEG是氨基酸残基-NH(CH$_2$)$_2$O(CH$_2$)$_2$OCH$_2$CO-

[0378] OSu是琥珀酰亚胺基-1-基氧基-2,5-二氧代-吡咯烷-1-基氧基；

[0379] OtBu是氧叔丁基

[0380] HCl是氯化氢；

[0381] γGlu或gGlu是γL-谷氨酰基；

[0382] NHS是N-羟基琥珀酰亚胺；

[0383] DCC是二环已基碳二亚胺；

[0384] AEEA是2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙酸；

[0385] OH是氢氧根；

[0386] CH_3CN是乙腈；

[0387] Gly是甘氨酸；

[0388] Arg是精氨酸；

[0389] TFA是三氟乙酸；

[0390] HbA1c是糖化血红蛋白；

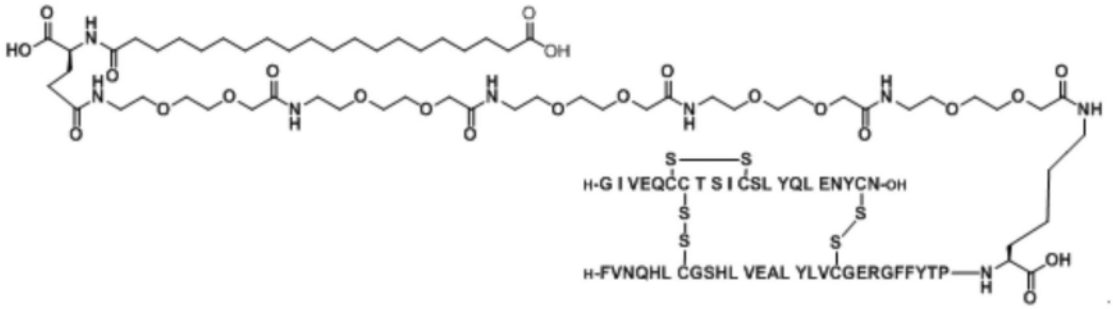
[0391] AUC是时间-血糖曲线的曲线下面积；

[0392] RU:响应单位(Response Unit)。

[0393] 以下实施例和通用方法针对说明书和合成方案中确定的中间化合物和最终产物。采用以下实施例对本发明化合物的制备进行详细描述,但描述的化学反应根据它们对本发明化合物制备的一般适用性来公开。有时,所述反应可能不能适用于如所述的本发明范围内的每种化合物。本领域技术人员容易识别会发生这种情况的化合物。在这些情况下,所述反应可成功地通过本领域技术人员已知的常规改进进行,也就是说,通过合适保护干扰基团,通过改变为其它常规试剂,或通过反应条件的常规改进。在所有制备方法中,所有原料都是已知的或能容易地采用已知原料制备。所有温度都以摄氏度给出,除非另外明确指出,当提到产率时,所有份和百分比都以重量计,当提到溶剂和洗脱液时,所有份都以体积计。

[0394] 实施例1

[0395] B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-5xOEG),desB30人胰岛素(化合物1)

[0396] 

[0397] 1、des(B30)人胰岛素的合成

[0398] des(B30)人胰岛素根据中国专利CN1056618C实施例11中所述方法制备。

[0399] 2、目标胰岛素的制备

[0400] 将desB30人胰岛素(5g,0.876mmol)溶解于100mM Na_2HPO_4水溶液(150mL)中,并且加入乙腈(100mL),并用1N NaOH将pH调整至pH10-12.5。使叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OSu)-OtBu(1.36g,0.964mmol)溶解于乙腈(50mL)中,并且缓慢加入胰岛素溶液中。使pH维持在10-12.5。在120分钟后,将反应混合物加入水(150mL)中,并且用1N HCl水溶液将pH调整至5.0。通过离心分离沉淀,并冻干。将粗产物加入三氟乙酸(60mL)与二氯甲烷(60ml)混合溶液中,并且在室温下搅拌30分钟。将混合物浓缩至约30ml,倾注到冰冷的正庚烷(300mL)中,并且通过过滤分离沉淀的产物,并且用正庚烷洗涤2次。真空干燥后,通过离子交换层析((Resource Q,在42.5%乙醇中的0.25%-1.25%乙酸铵梯度,pH7.5)、反相层析(乙腈,水,TFA)纯化,将纯化的级分合并,用1N HCl将pH调整至5.2,并分离沉淀物,冻干、得到标题化合物1。

[0401] LC-MS(电喷雾):m/z=1377.53$[M+5H]^{5+}$

[0402] 3、中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OSu)-OtBu的制备

[0403] 3.1叔丁基二十烷二酰-OSu

[0404] 氮气保护条件下,将二十烷二酸单叔丁酯(20g,50.17mmol)和NHS(5.77g,50.17mmol)在二氯甲烷中混合,加入三乙胺(13.95mL),使得到的浑浊混合物在室温下搅拌,然后加入DCC(11.39g,55.19mmol),并进一步搅拌过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水洗涤,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到24.12g(收率97%)的叔丁基二十烷二酰-OSu。

[0405] LC-MS(Scie×100API):m/z=496.36$(M+1)^+$

[0406] 3.2叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu

[0407] 将叔丁基二十烷二酰-OSu(24.12g,48.66mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次加入H-Glu-OtBu(10.88g,53.53mmol),三乙胺(12.49mL),水,将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10%柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水洗,分液后下层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到27.27g(收率96%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu。

[0408] LC-MS(Scie×100API):m/z=584.44$(M+1)^+$

[0409] 3.3叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu。

[0410] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu(27.27g,46.71mmol)溶于二氯甲烷(300mL),依次加入三乙胺(11.99mL)搅拌10min,NHS(5.38g,50.17mmol),和DCC(10.60g,51.38mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,加入甲基叔丁基醚,搅拌30min,抽滤,滤饼真空干燥过夜,得到25.76g(收率81%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu。

[0411] LC-MS(Scie×100API):m/z=681.46$(M+1)^+$

[0412] 3.4叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu

[0413] 将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu(25.76g,37.83mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次加入2xAEEA(11.66g,37.83mmol),三乙胺(9.71mL),水(25mL),将其加热

得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10％柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水洗,分液后下层层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到30.75g(收率93％)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu。

[0414] LC-MS(Scie×100API):m/z＝874.59(M+1)$^+$

[0415] 3.5叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0416] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu(30.75g,35.18mmol)溶于二氯甲烷(300mL),加入三乙胺(9.03mL)搅拌10分钟,再加入NHS(4.05g,35.18mmol),接着加入DCC(7.98g,38.70mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到31.09g(收率91％)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0417] LC-MS(Scie×100API):m/z＝971.61(M+1)$^+$

[0418] 3.6叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OH)-OtBu

[0419] 将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu(31.09g,32.01mmol)溶于二氯甲烷(350mL)搅拌,依次加入3xAEEA(14.52g,32.01mmol),三乙胺(8.90mL),水(25mL),将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10％柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水洗涤,分液后下层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到38.99g(收率93％)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OH)-OtBu。

[0420] LC-MS(Scie×100API):m/z＝1309.81(M+1)$^+$

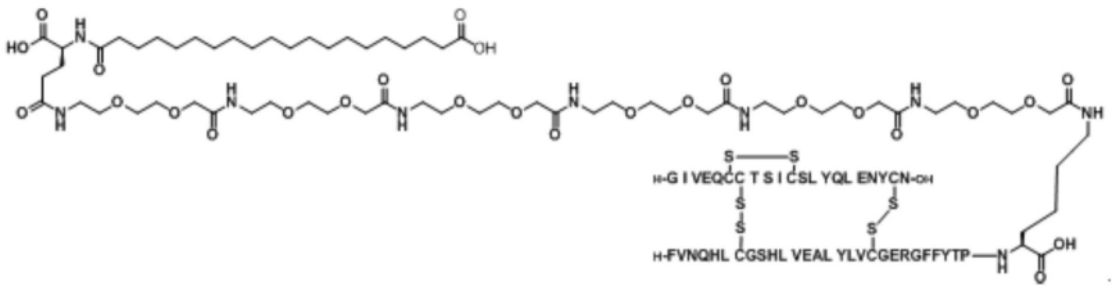
[0421] 3.7叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OSu)-OtBu。

[0422] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OH)-OtBu(38.99g,29.77mmol)溶于二氯甲烷(400mL),加入三乙胺(8.28mL)搅拌10分钟,再加入NHS(3.43g,29.77mmol),接着加入DCC(6.76g,32.75mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水洗涤,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到38.11g(收率91％)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(5xOEG-OSu)-OtBu。

[0423] LC-MS(Scie×100API):m/z＝1406.83(M+1)$^+$

[0424] 实施例2:

[0425] B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素(化合物2)

[0426] 

[0427] 以与实施例1第2部分类似的步骤制备化合物2。

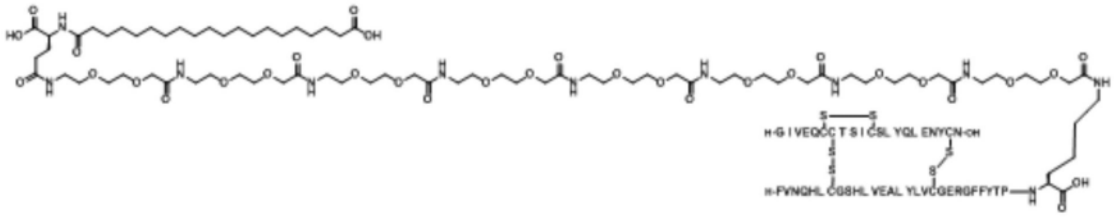
[0428] LC-MS(电喷雾):m/z＝1406.28[M+5H]$^{5+}$

[0429] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(6xOEG-OSu)-OtBu以与实施例1第3部分类似的步骤进行。

[0430] LC-MS(Scie×100API):m/z＝1551.90(M+1)$^{+}$

[0431] 实施例3:

[0432] B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素(化合物3)

[0433] 

[0434] 以与实施例1第2部分类似的步骤制备化合物3。

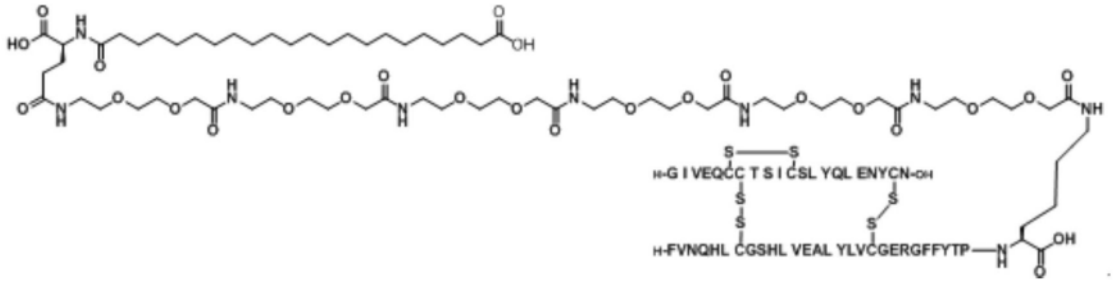
[0435] LC-MS(电喷雾):m/z＝1464.30[M+5H]$^{5+}$

[0436] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(8xOEG-OSu)-OtBu以与实施例1第3部分类似的步骤进行。

[0437] LC-MS(Scie×100API):m/z＝1814.02(M+1)$^{+}$

[0438] 实施例4:

[0439] B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素(化合物4)

[0440] 

[0441] 以与实施例1第2部分类似的步骤制备化合物4。

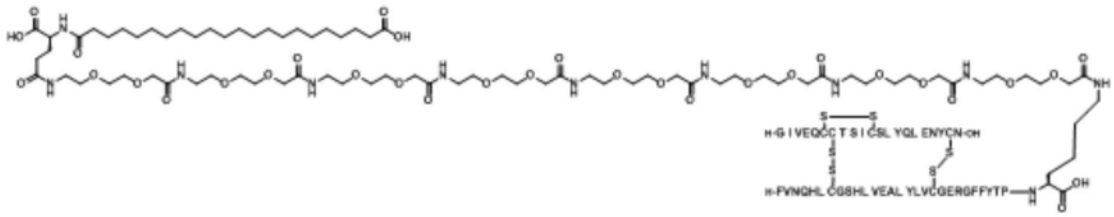
[0442] LC-MS(电喷雾):m/z＝1411.88[M+5H]$^{5+}$

[0443] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(6xOEG-OSu)-OtBu的制备以与实施例1第3部分类似的步骤进行。

[0444] LC-MS(Scie×100API):m/z＝1579.94(M+1)$^{+}$

[0445] 实施例5:

[0446] B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-8xOEG),desB30人胰岛素(化合物5)

[0447] 

[0448] 以与实施例1第2部分类似的步骤制备化合物5。

[0449] LC-MS(电喷雾):m/z＝1469.91[M+5H]$^{5+}$

[0450] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(8xOEG-OSu)-OtBu的制备以与实施例1第3部分类似的步骤进行。

[0451] LC-MS(Scie×100API):m/z=1870.08(M+1)$^{+}$

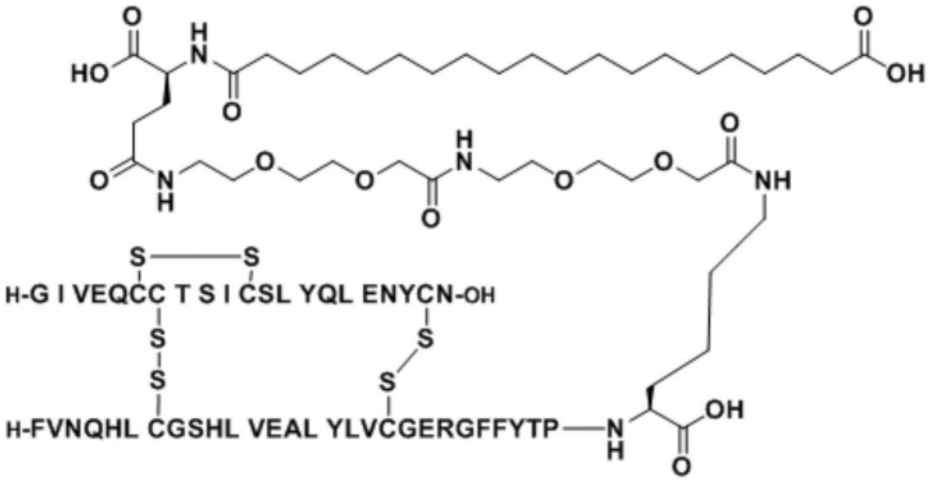
[0452] 对照例1

[0453] B29K(N(ε)-十六烷二酰基-γGlu),desB30人胰岛素(德谷胰岛素,对照化合物1)

[0454] 对照化合物德谷胰岛素,按照专利CN105820233A的实施例4进行制备。

[0455] 对照例2

[0456] B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素(对照化合物2)

[0457] 

[0458] 以与实施例1第2部分类似的步骤制备对照化合物2。

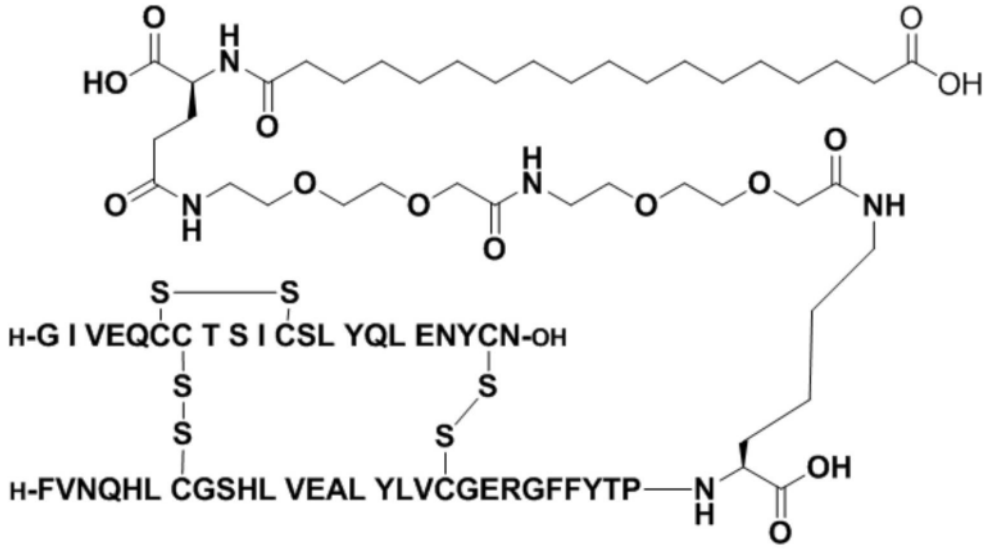
[0459] LC-MS(电喷雾):m/z=1290.22[M+5H]$^{5+}$

[0460] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu的制备以与实施例1第3部分类似的步骤进行。

[0461] LC-MS(Scie×100API):m/z=971.61(M+1)$^{+}$

[0462] 对照例3

[0463] B29K(N(ε)-十八烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素(对照化合物3)

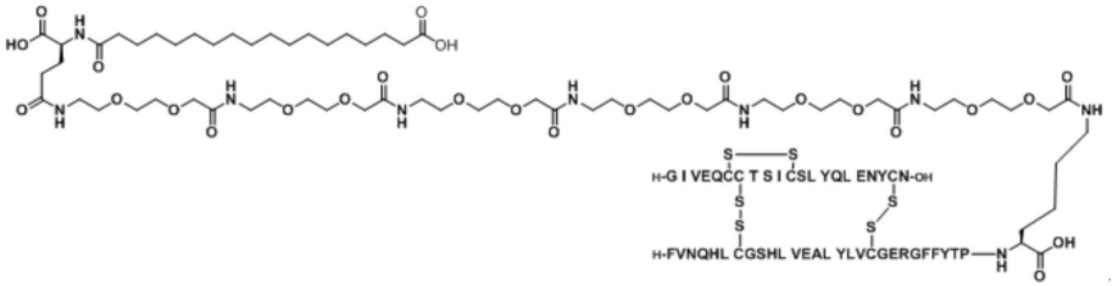
[0464] 

[0465] 以与实施例1第2部分类似的步骤制备对照化合物3。

[0466] LC-MS(电喷雾):m/z=1284.61[M+5H]$^{5+}$

[0467] 对照例4

[0468] B29K(N(ε)-十八烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素(对照化合物4)

[0469] 

[0470] 以与实施例1第2部分类似的步骤制备对照化合物4。

[0471] LC-MS(电喷雾):m/z=1400.68$[M+5H]^{5+}$

[0472] 实施例6

[0473] 在db/db小鼠中的药效学研究

[0474] 本研究的目的在于在糖尿病情况下证实本发明酰化胰岛素对血糖(BG)的调节效应。

[0475] 在肥胖的糖尿病小鼠模型(db/db小鼠)上,在单剂量研究中测试实施例1-5的酰化胰岛素和对照例1-4的对照化合物。以9U/kg或10U/kg的不同剂量测试所述酰化胰岛素的降低血糖效果。

[0476] 将8-9周龄雄性db/db(BKS/Lepr)小鼠于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中,自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在相对湿度40%-60%,温度为22℃-24℃。1-2周的适应期后,开始用于实验。

[0477] 于当日实验开始前,在时间-1/1h(上午9:30)评估基础血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将小鼠匹配分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射酰化胰岛素9U/kg或10U/kg,其中溶媒包含:甘油19.6mg/ml、苯酚1.5mg/ml,间甲酚1.72mg/ml,锌离子浓度55μg/ml,pH值为7.6。

[0478] 将所述酰化胰岛素溶解在溶媒中至1.8或2U/ml的给药浓度,给药体积为5ml/kg(即50μl/10g体重)。采用皮下给药(S.C.)方式,颈背部皮下注射给药一次。在大约上午10:30(时间0)给予酰化胰岛素,给药期间动物禁食不禁水,评估给药后3、6、9、12、15小时小鼠血糖。为模拟进餐,试验中在检测完15小时点血糖后,开始口服糖耐量实验(OGTT),于灌胃给予葡萄糖溶液(100mg/mL,10mL/kg)后30min、60min、120min和180min测定血糖,连续开展OGTT实验三次.根据预实验结果,末次OGTT实验时,受试化合物药效接近消失,评估30小时血糖后终止。

[0479] 用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪及配套试纸(罗氏)进行测定。对于每个单剂量的酰化胰岛素绘制血糖对时间的剂量响应曲线。

[0480] 为了说明本发明的酰化胰岛素对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。其中,AUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0481] 试验结果:

[0482] 本发明的酰化胰岛素及对照化合物在db/db小鼠中的降糖效果如图1a至图6b、及表1所示,具体地:

[0483] 图1a和图1b显示了本发明的酰化胰岛素例如化合物1、和化合物2对db/db小鼠的降糖效果明显优于德谷胰岛素,且有效作用时间相比于德谷胰岛素有延长。

[0484] 图2a和图2b显示了本发明的酰化胰岛素例如化合物1和化合物2对db/db小鼠的降糖效果也明显优于对照化合物2,本发明的化合物1和化合物2相对于对照化合物2药效在给药的0～16.5小时区间内分别增加了39.5%和45.1%,如表1所示:

[0485] 表1本发明的酰化胰岛素相对于对照化合物2增加的药效

[0486]

化合物/对照化合物	实施例	相对于对照化合物2的药效增加的百分比
化合物1	实施例1	39.5%
化合物2	实施例2	45.1%
对照化合物2	对照例2	0%

[0487] 相对于对照化合物2的药效增加的百分比＝[(AUC(测试化合物)-AUC(溶媒))/((AUC(对照化合物2)-AUC(溶媒))-1]*100%,其中,测试化合物是指本发明的酰化胰岛素

[0488] 图3a-3b显示了本发明的化合物1、化合物2和化合物3均具有非常好的药效,且在db/db小鼠中,监测至30小时时仍然有效,具有明显延长的降糖作用时间。

[0489] 图4a-5b显示了本发明的酰化胰岛素例如化合物2对db/db小鼠的降糖效果明显优于对照化合物3和对照化合物4。

[0490] 图6a-6b显示了本发明的化合物4、化合物5和化合物2均具有非常好的药效,且在db/db小鼠中,监测至41小时时仍然有效,具有明显延长的降糖作用时间。

[0491] 实施例7

[0492] 在链脲佐菌霉素(STZ)诱导I型糖尿病(T1DM)大鼠中的药效学研究

[0493] 8w周龄雄性wistar大鼠,体重180-220g。于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中(5只/盒),自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在相对湿度40%～60%,温度为22℃～24℃。4天适应期后,禁食12h,大鼠按照60mg/kg腹腔注射链脲佐菌霉素(sigma)溶液(10mg/mL,于0.1M柠檬酸缓冲液)。给药后防止大鼠突发血糖过低,饮水中适当补充葡萄糖(20%),12h后撤去补糖。给予链脲佐菌霉素4d后,进行随机血糖检测,血糖值在20mmol/L以上的选为T1DM模型大鼠用于后续试验。

[0494] 于当日实验开始前,在时间-1/1h(上午9:30)评估基础血糖,并对大鼠称重。根据随机血糖和体重将大鼠匹配分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射酰化胰岛素,3U/kg,其中溶媒包含:甘油19.6mg/ml,苯酚1.5mg/ml,间甲酚1.72mg/ml,锌离子浓度55μg/ml,所述溶媒的pH值为7.6。

[0495] 将所述酰化胰岛素溶解在溶媒中至1.5U/ml的给药浓度,给药体积为2ml/kg(即0.2ml/100g体重)。采用皮下给药方式,颈背部皮下给药一次。在大约上午9:30(时间0)给予酰化胰岛素,在给药后2、4小时评估大鼠血糖。4小时和7小时分别进行一次口服糖耐量实验(OGTT)实验(具体见下文)。

[0496] 口服糖耐量实验(OGTT)

[0497] 检测时间:于指定时间点尾尖采血测定空腹血糖(0min),之后灌胃给予葡萄糖溶液(100mg/mL或200mg/mL,10mL/kg),然后于糖负荷后30min、60min、120min和180min测定血糖。

[0498] 用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪(罗氏)及

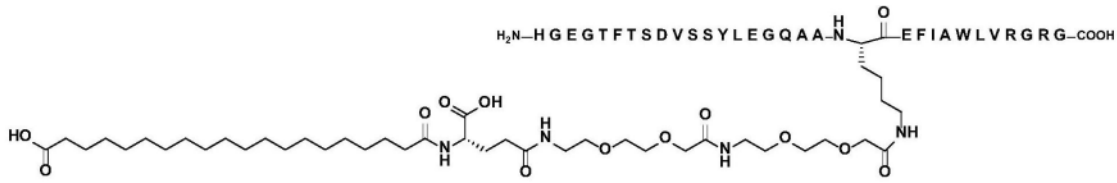
配套试纸进行测定。

[0499] 对于每个单剂量的酰化胰岛素绘制血糖对时间的剂量响应曲线。为了说明酰化胰岛素对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。

[0500] 图7a-7b显示了本发明的酰化胰岛素在I型糖尿病(T1DM)大鼠中也具有非常好的降糖效果,即具有非常好的药效。

[0501] 实施例8

[0502] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物6)

[0503] 

[0504] 1、N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽的制备

[0505] 通过一般的蛋白质重组表达方法制备[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(具体方法参见Molecular Cloning:A Laboratory Manual(Fourth Edition),Michael R.Green,Cold Spring Harbor Press,2012)。使[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(5g,1.48mmol)溶解于100mM Na_2HPO_4水溶液(150mL)中,并且加入乙腈(100mL),并用1N NaOH将pH调整至pH10-12.5。使叔丁基二十烷二酰-γGlu(2xOEG-OSu)-OtBu(1.59g,1.63mmol)溶解于乙腈(50mL)中,并且缓慢加入[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽溶液中。使pH维持在10-12.5。在120分钟后,将反应混合物加入水(150mL)中,并且用1N HCl水溶液将pH调整至5.0。通过离心分离沉淀,并且冻干。将粗产物加入三氟乙酸(60mL)与二氯甲烷(60ml)混合溶液中,并且在室温下搅拌30分钟。将混合物浓缩至约30ml,倾注到冰冷的正庚烷(300mL)中,通过过滤分离沉淀的产物,并用正庚烷洗涤2次。真空干燥后,真空干燥后,产物通过离子交换层析(Resource Q,在42.5%乙醇中的0.25%-1.25%乙酸铵梯度,pH7.5)、反相层析(乙腈,水,TFA)纯化,将纯化的级分合并,用1N HCl将pH调整至5.2,分离沉淀物,并冻干得到标题化合物。

[0506] LC-MS(电喷雾):m/z=1028.79$[M+4H]^{4+}$

[0507] 2、中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu的制备

[0508] 2.1叔丁基二十烷二酰-OSu

[0509] 氮气保护条件下,将二十烷二酸单叔丁酯(20g,50.17mmol)和NHS(5.77g,50.17mmol)在二氯甲烷(400mL)中混合,加入三乙胺(13.95mL),将得到的浑浊混合物在室温下搅拌,然后加入DCC(11.39g,55.19mmol),将其进一步搅拌过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水进行水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到24.12g(收率97%)的叔丁基二十烷二酰-OSu。

[0510] LC-MS(Scie×100API):m/z=496.36$(M+1)^+$

[0511] 2.2叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu

[0512] 将叔丁基二十烷二酰-OSu(24.12g,48.66mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次加入H-Glu-OtBu(10.88g,53.53mmol),三乙胺(12.49mL),水(25mL),将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10%柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水进行水洗,分液后下层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到27.27g(收率96%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu。

[0513] LC-MS(Scie×100API):m/z=584.44$(M+1)^+$

[0514] 2.3叔丁基二十烷二酰-γGlu(OSu)-OtBu。

[0515] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu(27.27g,46.71mmol)溶于二氯甲烷(300mL),加入三乙胺(11.99mL)搅拌10分钟,再加入NHS(5.38g,50.17mmol),接着加入DCC(10.60g,51.38mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水进行水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,加入甲基叔丁基醚,搅拌30分钟,抽滤,滤饼真空干燥过夜,得到25.76g(收率81%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu。

[0516] LC-MS(Scie×100API):m/z=681.46$(M+1)^+$

[0517] 2.4叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu

[0518] 将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu(25.76g,37.83mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次加入2xAEEA(11.66g,37.83mmol),三乙胺(9.71mL),水(25mL),将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10%柠檬酸水溶液(200mL)分液,下层有机相加入饱和盐水进行水洗,分液后下层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到30.75g(收率93%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu。

[0519] LC-MS(Scie×100API):m/z=874.59$(M+1)^+$

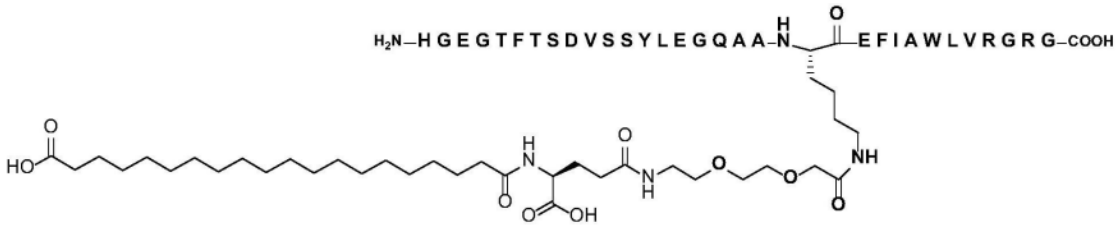
[0520] 2.5叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0521] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu(30.75g,35.18mmol)溶于二氯甲烷(300mL),加入三乙胺(9.03mL)搅拌10分钟,再加入NHS(4.05g,35.18mmol),接着加入DCC(7.98g,38.70mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水进行水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥、过滤,将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到31.09g(收率91%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0522] LC-MS(Scie×100API):m/z=971.61$(M+1)^+$

[0523] 实施例9

[0524] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物7)

[0525] 

[0526] 以与实施例8第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-[2-(2-[2-(4-[19-羧基十九烷酰基氨基]-4(S)-羧基丁酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

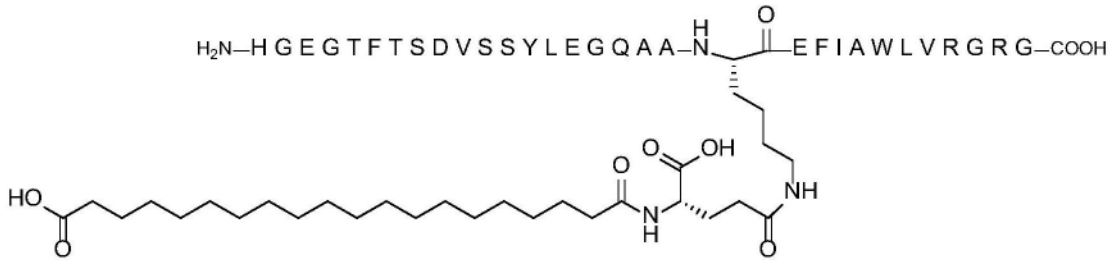
[0527] LC-MS(电喷雾):m/z=992.52[M+4H]$^{4+}$

[0528] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OEG-OSu)-OtBu以与实施例8第2部分类似的步骤进行制备。

[0529] LC-MS(Scie×100API):m/z=826.54(M+1)$^{+}$

[0530] 实施例10

[0531] N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物8)

[0532] 

[0533] 以与实施例8第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

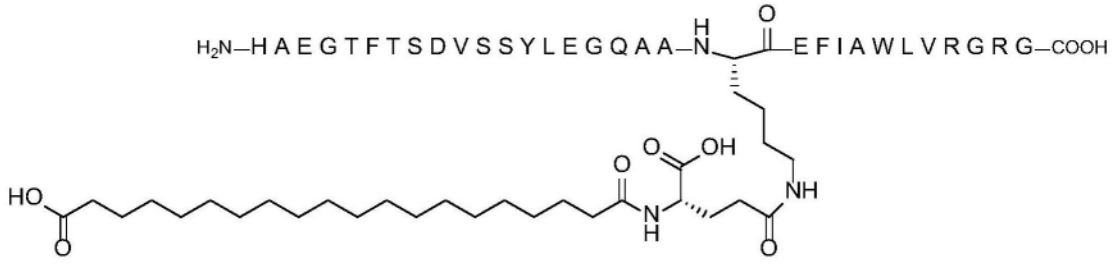
[0534] LC-MS(电喷雾):m/z=956.25[M+4H]$^{4+}$

[0535] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu以与实施例8第2部分类似的步骤进行制备。

[0536] LC-MS(Scie×100API):m/z=681.46(M+1)$^{+}$

[0537] 实施例11

[0538] N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物9)

[0539] 

[0540] 以与实施例8第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-(19-羧基十九烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Arg34]GLP-1-(7-37)肽

[0541] LC-MS(电喷雾):m/z=959.75[M+4H]$^{4+}$

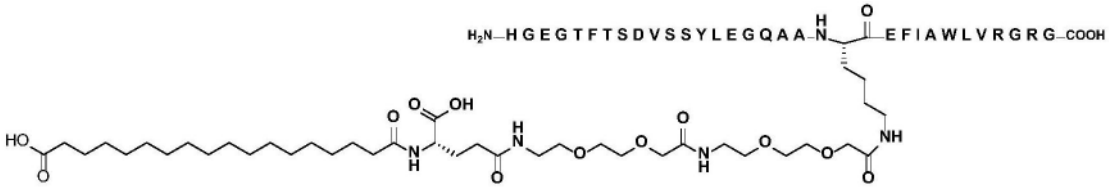
[0542] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu以与实施例8第2部分类似的步骤进

行制备。

[0543] LC-MS(Scie×100API):m/z=681.46(M+1)$^{+}$

[0544] 实施例12

[0545] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物10)

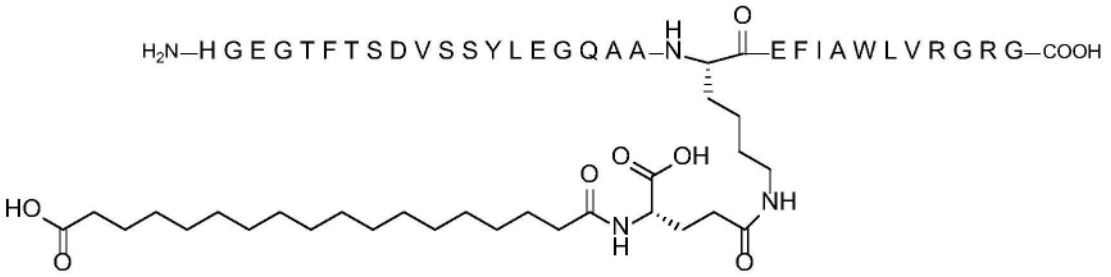
[0546] 

[0547] 以与实施例8第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

[0548] LC-MS(电喷雾):m/z=1021.78[M+4H]$^{4+}$

[0549] 实施例13

[0550] N-ε^{26}-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物11)

[0551] 

[0552] 以与实施例8第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-(17-羧基十七烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基-[Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

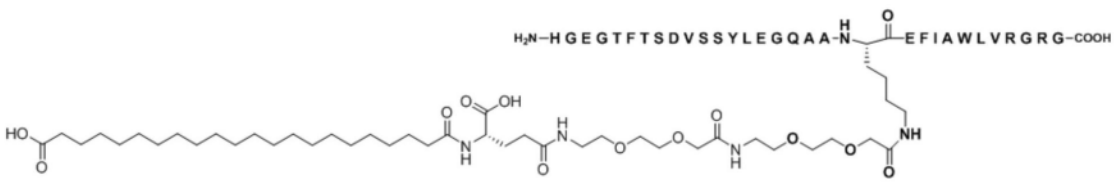
[0553] LC-MS(电喷雾):m/z=949.24[M+4H]$^{4+}$

[0554] 中间体叔丁基十八烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu以与实施例8第2部分类似的步骤进行制备。

[0555] LC-MS(Scie×100API):m/z=653.43(M+1)$^{+}$

[0556] 实施例14:

[0557] N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽(化合物12)

[0558] 

[0559] 以与实施例8第1部分类似的步骤制备N-ε^{26}-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(21-羧基二十一烷酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰基氨基]乙氧基)乙氧基]乙酰基氨基)乙氧基]乙氧基)乙

酰基][Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

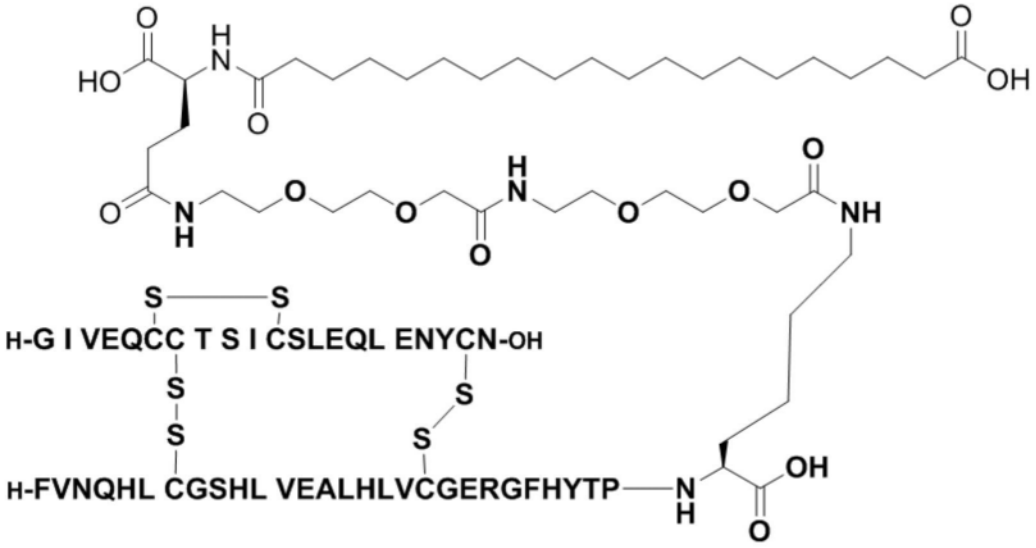
[0560] LC-MS(电喷雾):m/z＝1035.80[M+4H]$^{4+}$

[0561] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu以与实施例8第2部分类似的步骤进行制备。

[0562] LC-MS(Scie×100API):m/z＝999.64(M+1)$^{+}$

[0563] 对照例5

[0564] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素(对照化合物5)

[0565] 

[0566] 1、A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-2xOEG),desB30人胰岛素的制备

[0567] 通过常规的制备胰岛素类似物的方法制备A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素(具体方法参见Glendorf T,Sørensen AR,Nishimura E,Pettersson I,&Kjeldsen T:Importance of the Solvent-Exposed Residues of the Insulin B Chainα-Helix for Receptor Binding;Biochemistry 2008 47 4743-4751)。将A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素(5g,0.888mmol)溶解于100mM Na_2HPO_4水溶液(150mL)中,并且加入乙腈(100mL),并用1N NaOH将pH调整至pH10-12.5。使叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu(0.948g,0.976mmol)溶解于乙腈(50mL)中,并且缓慢加入胰岛素溶液中。使pH维持在10-12.5。在120分钟后,将反应混合物加入水(150mL)中,并且用1N HCl水溶液将pH调整至5.0。通过离心分离沉淀,并冻干。将冻干的粗产物加入三氟乙酸(60mL)与二氯甲烷(60ml)混合溶液中,并在室温下搅拌30分钟。将混合物浓缩至约30ml,倾注到冰冷的正庚烷(300mL)中,并且通过过滤分离沉淀的产物,并且用正庚烷洗涤2次。真空干燥后,通过离子交换层析((Resource Q,在42.5%乙醇中的0.25%-1.25%乙酸铵梯度,pH7.5)、反相层析(乙腈,水,TFA)纯化,将纯化的级分合并,用1N HCl将pH调整至5.2,并分离沉淀物,冻干、得到对照化合物5。

[0568] LC-MS(电喷雾):m/z＝1063.6852[M+6H]$^{6+}$

[0569] 2、中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu的制备:以与实施例1第3部分类似的步骤进行。

[0570] 2.1叔丁基二十烷二酰-OSu

[0571] 氮气保护条件下,将二十烷二酸单叔丁酯(20g,50.17mmol)和NHS(5.77g,50.17mmol)在二氯甲烷中混合,加入三乙胺(13.95mL),使得到的浑浊混合物在室温下搅拌,然后加入DCC(11.39g,55.19mmol),并进一步搅拌过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水洗涤,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到24.12g(收率97%)的叔丁基二十烷二酰-OSu。

[0572] LC-MS(Scie×100API):m/z=496.36$(M+1)^+$

[0573] 2.2叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu

[0574] 将叔丁基二十烷二酰-OSu(24.12g,48.66mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次加入H-Glu-OtBu(10.88g,53.53mmol),三乙胺(12.49mL),水,将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10%柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水洗,分液后下层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到27.27g(收率96%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu。

[0575] LC-MS(Scie×100API):m/z=584.44$(M+1)^+$

[0576] 2.3叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu。

[0577] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-OtBu(27.27g,46.71mmol)溶于二氯甲烷(300mL),加入三乙胺(11.99mL)搅拌10min,再加入NHS(5.38g,50.17mmol),接着加入DCC(10.60g,51.38mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,加入甲基叔丁基醚,搅拌30min,抽滤,滤饼真空干燥过夜,得到25.76g(收率81%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu。

[0578] LC-MS(Scie×100API):m/z=681.46$(M+1)^+$

[0579] 2.4叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu

[0580] 将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(OSu)-OtBu(25.76g,37.83mmol)溶于二氯甲烷(250mL)搅拌,依次加入2xAEEA(11.66g,37.83mmol),三乙胺(9.71mL),水(25mL),将其加热得到澄清溶液,将该溶液在室温下搅拌4小时。然后加入10%柠檬酸水溶液(200mL),分液,下层有机相加入饱和盐水洗,分液后下层层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜。得到30.75g(收率93%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu。

[0581] LC-MS(Scie×100API):m/z=874.59$(M+1)^+$

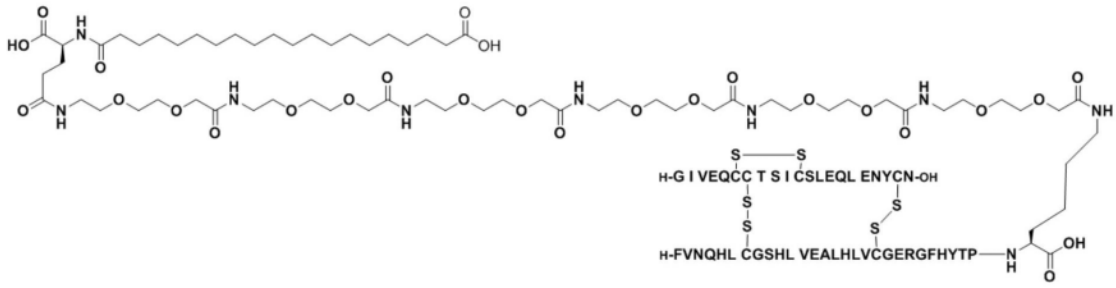
[0582] 2.5叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0583] 氮气保护条件下,将叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OH)-OtBu(30.75g,35.18mmol)溶于二氯甲烷(300mL),加入三乙胺(9.03mL)搅拌10分钟,再加入NHS(4.05g,35.18mmol),接着加入DCC(7.98g,38.70mmol)。在室温下搅拌混合物过夜。过滤,将得到的滤液浓缩至几乎干燥,将残余物与冷的水和乙酸乙酯混合,搅拌20分钟,分液,上层有机相加入饱和食盐水洗,分液后上层有机相用无水硫酸钠干燥,过滤后将滤液减压浓缩至几乎干燥,真空干燥过夜,得到31.09g(收率91%)的叔丁基二十烷二酰-γGlu-(2xOEG-OSu)-OtBu。

[0584] LC-MS(Scie×100API):m/z=971.61(M+1)$^{+}$

[0585] 实施例15

[0586] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素(化合物13)

[0587] 

[0588] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素

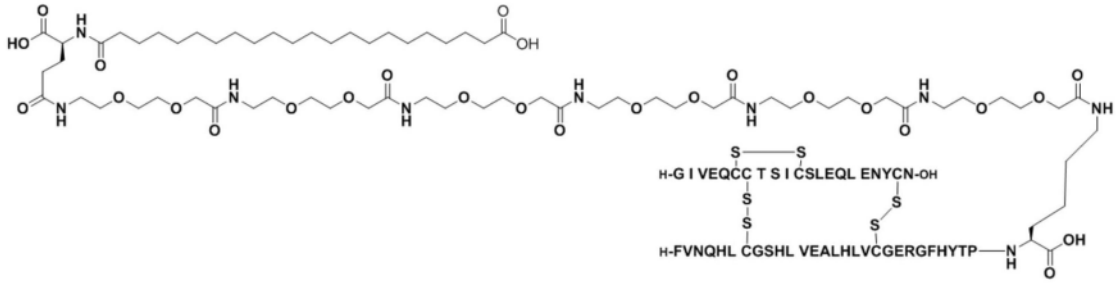
[0589] LC-MS(电喷雾):m/z=1160.3997[M+6H]$^{6+}$

[0590] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(6xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0591] LC-MS(Scie×100API):m/z=1551.90(M+1)$^{+}$

[0592] 实施例16

[0593] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素(化合物14)

[0594] 

[0595] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-6xOEG),desB30人胰岛素

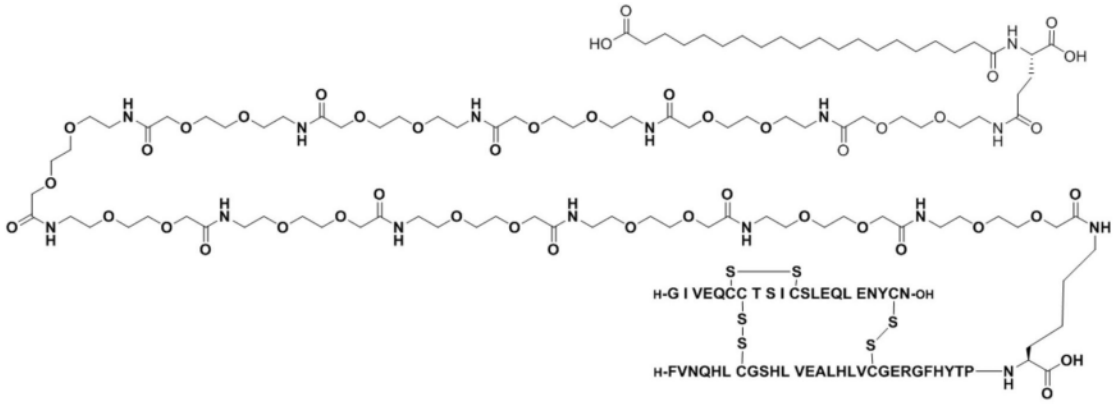
[0596] LC-MS(电喷雾):m/z=1165.0674[M+6H]$^{6+}$

[0597] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(6xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0598] LC-MS(Scie×100API):m/z=1579.94(M+1)$^{+}$

[0599] 实施例17

[0600] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素(化合物15)

[0601] 

[0602] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素

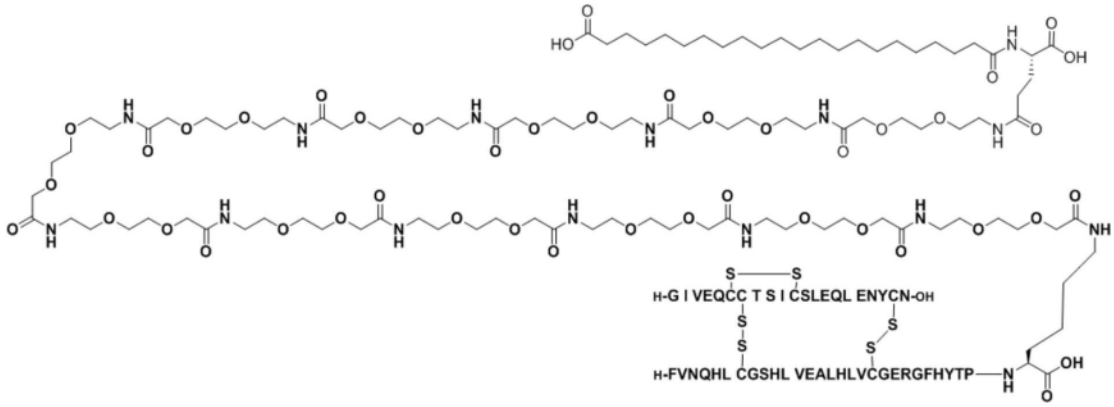
[0603] LC-MS(电喷雾):m/z=1305.4716[M+6H]$^{6+}$

[0604] 中间体叔丁基二十烷二酰-γGlu-(12xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0605] LC-MS(Scie×100API):m/z=2423.35(M+1)$^{+}$

[0606] 实施例18

[0607] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素(化合物16)

[0608] 

[0609] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素

[0610] LC-MS(电喷雾):m/z=1310.1425[M+6H]$^{6+}$

[0611] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(12xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0612] LC-MS(Scie×100API):m/z=2451.38(M+1)$^{+}$

[0613] 实施例19

[0614] 参照实施例7类似的实验步骤,在链脲佐菌霉素(STZ)诱导I型糖尿病(T1DM)大鼠中进行药效学研究。

[0615] 于当日实验开始前,在时间-1h(上午9:30)评估基础血糖,并对大鼠称重。根据随机血糖和体重将大鼠分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下分别注射对照例5、实施例15和16的标题化合物(对照化合物5、化合物13和化合物14),剂量:

33.5U/kg,其中溶媒包含:苯酚5.65mg/ml,甘油15mg/ml,磷酸氢二钠0.708mg/ml,氯化钠0.585mg/ml,所述溶媒的pH值为7.6。

[0616] 将所述酰化胰岛素溶解在溶媒中至33.5U/ml给药浓度,给药体积为1ml/kg(即0.1ml/100g体重)。采用皮下给药方式(s.c.),颈背部皮下给药一次。在大约上午9:30-10:00(时间0)给予酰化胰岛素,在给药后3h、6h、9h、24h、48h、72h、96h、120h监测大鼠血糖。

[0617] 对于每个单剂量的酰化胰岛素(对照化合物5、化合物14、化合物13)绘制血糖对时间的剂量响应曲线。为了说明酰化胰岛素对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。其中,AUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0618] 图8a-图8b显示了本发明的酰化胰岛素具有预料不到的增加的药效,例如,相对于对照例5的化合物,实施例15和16的标题化合物化合物13和化合物14对STZ诱导I型糖尿病(T1DM)大鼠均具有更好的降糖效果,即具有更好的药效。

[0619] 实施例20

[0620] 参照实施例19的类似的实验步骤,在链脲佐菌霉素(STZ)诱导的I型糖尿病(T1DM)雌性大鼠中进行药效学研究,不同之处在于,所用的酰化胰岛素是实施例2和4的标题化合物(化合物2和化合物4),给药剂量为67U/kg。

[0621] 实验结果如图9a-图9b所示,显示了本发明的酰化胰岛素化合物2和化合物4在I型糖尿病(T1DM)雌性大鼠中也均具有非常好的降糖效果,即具有非常好的药效。

[0622] 实施例21

[0623] 在db/db小鼠中的药效学研究

[0624] 参照实施例6的类似的实验步骤,在肥胖的糖尿病小鼠模型(db/db小鼠)上,在单剂量研究中测试对照例5、及实施例15和16的标题化合物(即,对照化合物5、化合物13和化合物14)。以9U/kg的剂量测试所述酰化胰岛素的降低血糖效果。

[0625] 将8-9周龄雄性db/db(BKS/Lepr)小鼠于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中,自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在相对湿度40%-60%,温度为22℃-24℃。1-2周的适应期后,开始用于实验。

[0626] 于当日实验开始前,在时间-1/1h(上午9:30)评估基础血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将小鼠匹配分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射酰化胰岛素9U/kg,其中所用溶媒包含:苯酚5.65mg/ml,甘油15mg/ml,磷酸氢二钠0.708mg/ml,氯化钠0.585mg/ml,所述溶媒的pH值为7.6。

[0627] 将所述酰化胰岛素溶解在溶媒中至1.8U/ml的给药浓度,给药体积为5ml/kg(即50μl/10g体重)。采用皮下给药(S.C.)方式,颈背部皮下注射给药一次。在大约上午10:30(时间0)给予酰化胰岛素,给药期间动物禁食不禁水,评估给药后3h、6h、9h、21.5h小鼠血糖。为模拟进餐,试验中在检测完21.5h点血糖后,开始口服糖耐量实验(OGTT),于灌胃给予葡萄糖溶液(100mg/mL,7.5mL/kg)后30min、60min、120min和360min测定血糖;首次OGTT测完330min血糖后开始第二次OGTT实验,于灌胃给予葡萄糖溶液(50mg/mL,10mL/kg)后30min、90min、210min和360min测定血糖。第二次OGTT测完330min血糖后开始第三次OGTT实验,于灌胃给予葡萄糖溶液(50mg/mL,10mL/kg)后30min、60min、120min测定血糖,末次OGTT实验时,受试化合物药效尚未消失,评估36小时血糖后终止实验。

[0628] 用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪及配套试纸(罗氏)进行测定。对于每个单剂量的酰化胰岛素绘制血糖对时间的剂量响应曲线。为了说明酰化胰岛素对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。其中,AUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0629] 图10a-图10b显示,相对于对照化合物5,本发明的酰化胰岛素化合物14、化合物13在Ⅱ型糖尿病db/db小鼠中具有明显提高的降糖效果。

[0630] 实施例22

[0631] 在链脲佐菌霉素(STZ)诱导I型糖尿病(T1DM)大鼠中的药效学研究

[0632] 8周龄SD大鼠(雌雄各半),体重180-220g。于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中(5只/盒),自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在相对湿度40%～60%,温度为22℃～24℃。4天适应期后,禁食12h,大鼠按照60mg/kg腹腔注射链脲佐菌霉素(sigma)溶液(10mg/mL,于0.1M柠檬酸缓冲液)。给予链脲佐菌霉素3天后,进行随机血糖检测,血糖值在20mmol/L以上的选为T1DM模型大鼠用于后续试验。

[0633] 造模14天后开始试验,于当日实验开始前,在时间-1/1h(上午9:30)评估基础血糖,并对大鼠称重。根据随机血糖和体重将大鼠匹配分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下分别注射对照例5、实施例17和18的标题化合物(即对照化合物5、化合物15、化合物16),剂量为25U/kg,其中溶媒包含:苯酚5.65mg/ml,甘油15mg/ml,磷酸氢二钠0.708mg/ml,氯化钠0.585mg/ml,所述溶媒的pH值为7.6。

[0634] 将所述酰化胰岛素溶解在溶媒中至25U/ml的给药浓度,给药体积为1ml/kg(即0.1ml/100g体重)。采用皮下给药方式,颈背部皮下给药,重复给药4次,每次间隔4天,试验期间SD大鼠自由饮食。在大约上午9:30-10:00(时间0)给予酰化胰岛素,在首次给药3h、6h、9h、24h、48h、72h、96h后监测大鼠血糖,之后每次给药后6h以及每24h监测一次大鼠血糖。

[0635] 对于每个单剂量的酰化胰岛素绘制血糖对时间的剂量响应曲线。为了说明酰化胰岛素对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。

[0636] 表2本发明的酰化胰岛素相对于对照化合物5增加的药效

[0637]

化合物/对照化合物	实施例	相对于对照化合物5的药效增加的百分比
化合物15	实施例17	125%
化合物16	实施例18	142%
对照化合物5	对照例5	0%

[0638] 相对于对照化合物5的药效增加的百分比＝[(AUC(测试化合物)-AUC(溶媒))/((AUC(对照化合物5)-AUC(溶媒))-1]*100%,其中,测试化合物是指本发明的酰化胰岛素

[0639] 如图11a-11b、表2所显示,相对于对照化合物5,本发明的酰化胰岛素给药后在I型糖尿病(T1DM)大鼠中有预料不到的增加的降糖药效,化合物15和化合物16的降糖效果均明显优于对照化合物5。

[0640] 实施例23

[0641] 在链脲佐菌霉素(STZ)诱导I型糖尿病(T1DM)大鼠中的药效学研究

[0642] 8周龄SD大鼠(雌雄各半),体重180-220g。于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中(5只/盒),自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在相对湿度40%～60%,温度为22

℃～24℃。4天适应期后,禁食12h,大鼠按照60mg/kg腹腔注射链脲佐菌霉素(sigma)溶液(10mg/mL,于0.1M柠檬酸缓冲液)。给予链脲佐菌霉素3天后,进行随机血糖检测,血糖值在20mmol/L以上的选为T1DM模型大鼠用于后续试验。

[0643] 造模14天后开始试验,于当日实验开始前,在时间-1/1h(上午9:30)评估基础血糖,并对大鼠称重。根据随机血糖和体重将大鼠匹配分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下分别注射对照例5、实施例16的标题化合物(即对照化合物5、化合物14),剂量为25U/kg,其中溶媒包含:苯酚5.65mg/ml,甘油15mg/ml,磷酸氢二钠0.708mg/ml,氯化钠0.585mg/ml,所述溶媒的pH值为7.6。

[0644] 将所述酰化胰岛素溶解在溶媒中至25U/ml的给药浓度,给药体积为1ml/kg(即0.1ml/100g体重)。采用皮下给药方式,颈背部皮下给药,重复给药4次,每次间隔4天,试验期间SD大鼠自由饮食。在大约上午9:30-10:00(时间0)给予酰化胰岛素,在首次给药3h、6h、9h、24h、48h、72h、96h后监测大鼠血糖,之后每次给药后6h以及每24h监测一次大鼠血糖。

[0645] 对于每个单剂量的酰化胰岛素绘制血糖对时间的剂量响应曲线。为了说明酰化胰岛素对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。

[0646] 如图12a-12b、表2所显示,相对于对照化合物5,本发明的酰化胰岛素给药后在I型糖尿病(T1DM)大鼠中有预料不到的增加的降糖药效,化合物14的降糖效果明显优于对照化合物5。

[0647] 实施例24

[0648] 在链脲佐菌霉素(STZ)诱导I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠中的药效学研究

[0649] 本研究的目的在于证实包含本发明的酰化胰岛素与门冬胰岛素的组合物在链脲佐菌霉素(STZ)诱导I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠中对血糖(BG)的调节效应。

[0650] 将4-6周龄雄性C57/6J小鼠(购自维通利华)于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中,自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在相对湿度40%-60%,温度为22℃-24℃。1-2周的适应期后,开始用于实验。

[0651] 适应期过后,动物禁食12小时,小鼠按照150mg/kg腹腔注射链脲佐菌霉素(sigma)溶液(10mg/mL,于0.1M柠檬酸缓冲液)。给予链脲佐菌霉素3天后,进行随机血糖检测,血糖值在20mmol/L以上的选为T1DM模型小鼠用于后续试验。

[0652] 当日实验开始前,检测小鼠随机血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将小鼠分配到溶媒组或治疗组,共5组,每组8只,各组分别接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射门冬胰岛素(0.36U/kg)、或皮下注射包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,其中德谷胰岛素和门冬胰岛素的注射剂量分别为0.84U/kg和0.36U/kg,或皮下注射包含本发明实施例4的标题化合物化合物4和门冬胰岛素的两种药物组合物,其中在注射所述两种药物组合物时,化合物4的注射剂量分别为0.82U/kg和0.64U/kg,门冬胰岛素的注射剂量均为0.36U/kg,其中所述溶媒包含:甘油19.6mg/ml、苯酚1.5mg/ml,间甲酚1.72mg/ml,锌离子浓度55μg/ml,上述溶媒的pH值为7.6。

[0653] 将化合物4与门冬胰岛素的预混液溶解在溶媒中至0.072U/mL给药浓度(以预混液中门冬胰岛素浓度计),给药体积为5ml/kg(即50μl/10g体重)。采用皮下给药(S.C.)方式,颈背部皮下注射给药一次。在大约下午16:00(时间0)给予药物,给药期间动物禁食不禁水,

评估给药后0.5、1、2、3、6和15时小鼠血糖。

[0654] 用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪及配套试纸(罗氏)进行测定。并绘制血糖对时间的剂量响应曲线。为了说明本发明的预混胰岛素对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。其中,AUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0655] 图13a-13b显示,包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物给药后,相对于包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,在I型糖尿病(T1DM)小鼠中有预料不到的增加的降糖药效,在化合物4与门冬胰岛素的用量比小于德谷胰岛素与门冬胰岛素的用量比时,仍能达到更好或相当的降糖效果。

[0656] 实施例25

[0657] 以与实施例24相似的步骤,测试包含本发明的酰化胰岛素与门冬胰岛素的组合物在链脲佐菌霉素(STZ)诱导I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠中对血糖(BG)的调节效应。

[0658] 当日实验开始前,检测小鼠随机血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将小鼠分配到溶媒组或治疗组,共7组,每组8只,各组分别接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射门冬胰岛素(3U/kg)、或皮下注射包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,其中德谷胰岛素和门冬胰岛素的注射剂量分别为7U/kg和3U/kg,或皮下注射包含化合物4和门冬胰岛素的四种药物组合物,其中在注射所述四种药物组合物时,化合物4的注射剂量分别为6.79U/kg、5.34U/kg、3.84U/kg和2.39U/kg,门冬胰岛素的注射剂量均为3U/kg,其中所述溶媒包含:甘油19.6mg/ml、苯酚1.5mg/ml,间甲酚1.72mg/ml,锌离子浓度55μg/ml,上述溶媒的pH值为7.6。

[0659] 将化合物4与门冬胰岛素预混液溶解在溶媒中至0.6U/mL给药浓度(以预混液中门冬胰岛素浓度计),给药体积为5ml/kg(即50μl/10g体重)。采用皮下给药(S.C.)方式,颈背部皮下注射给药。在每天下午大约17:00(时间0)给予药物,连续给药10天,给药期间小鼠自由饮食,评估第四、八、十次给药前(0h)小鼠血糖,以及第四、八、十次给药后1小时小鼠随机血糖,对第八次给药前(0h)血糖及给药后0.5、1、1.5、2、3、4、5、6、16、24小时随机血糖进行检测。最后一次给药后小鼠禁食1h,眼眶取血,检测全血中糖化血红蛋白(Hb1Ac)百分比。

[0660] 用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪及配套试纸(罗氏)进行测定。并绘制第八次给药后血糖对时间的剂量响应曲线。为了说明本发明的预混胰岛素对血糖的影响,对第八次给药后每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。其中,AUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0661] 图14a-图17显示了包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素的组合物给药后,相对于包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,在I型糖尿病(T1DM)小鼠中有预料不到的增加的降糖药效,具有更优异的降糖累计效果。

[0662] 具体地,图14a和图14b显示,包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素的组合物,在给药后,相对于包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,在I型糖尿病(T1DM)小鼠中有预料不到的增加的降糖药效,在化合物4与门冬胰岛素的用量比远小于德谷胰岛素与门冬胰岛素的用量比时,仍能达到更好的降糖效果。

[0663] 图15a-图15c分别显示了在第四、八、十次给药前(0h)各个给药组小鼠血糖情况,表明相对于包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,包含本发明的酰化胰岛素和门冬

胰岛素的药物组合物具有更好的药效,和更优异的降血糖的累积效果。

[0664] 图16a-图16c分别显示了在第四、八、十次给药后1小时小鼠的血糖情况,表明相对于包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物具有更好的药效,和更优异的降血糖的累积效果。

[0665] 图17显示包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素的组合物,在给药后,相对于包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,具有更好地降低Hb1Ac的效果,在化合物4与门冬胰岛素的用量比远小于德谷胰岛素与门冬胰岛素的用量比时,仍能达到更好地降低Hb1Ac的效果。

[0666] 实施例26

[0667] 本实验的目的在于测量本发明的酰化胰岛素制剂的化学稳定性。

[0668] 酰化胰岛素制剂

[0669] 将化合物4溶解于0.1%NaOH溶液中,至4.8mM的终浓度(pH值约为10-11),根据下表中各个组分的量,依次加入苯酚、间甲酚、醋酸锌、甘油和氯化钠,产生最终胰岛素浓度为1.2mM(200U/ml或8.46mg/ml)的酰化胰岛素制剂,其中Zn的含量以Zn/6摩尔的酰化的胰岛素(简写为“Zn/6ins”)来表示。

[0670] 本实施例中制剂的化学稳定性能够用在25℃和37℃存储14天和20天后,高分子量蛋白(HMWP)相对于第0天时的变化来显示,同时也能够用在25℃和37℃存储14天和20天后有关物质的量的变化来表示。

[0671] 高分子量蛋白(HMWP)的测定

[0672] 通过高效液相色谱法(HPLC)测定高分子量蛋白(HMWP)的含量,在型号和规格为:Waters Xbride BEH 200A(7.8*300mm),5μm柱上,在柱温为30℃、样品池温度为5℃时,用流动相以0.5ml/min的流速进行测试,其中,所述流动相包含600ml的0.1%精氨酸溶液、150ml冰醋酸和250ml乙腈。检测波长为276nm,进样量为10ul。表3示出了,在25℃和37℃时,第14天和第20天相对于第0天时HMWP的增加量。

[0673] 表3

[0674]

1.2mM 化合物 4 10mM 间甲酚 17mg/ml 甘油 pH7.4	25℃ 第 14 天时 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	25℃ 第 20 天时 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 14 天时 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 20 天时 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)
30mM 苯酚+5.5 Zn/6ins+10mMNaCl	0.06	0.13	0.37	0.57
30mM 苯酚+6.5 Zn/6ins+10mMNaCl	0.03	0.07	0.2	0.35
30mM 苯酚+5.5 Zn/6ins+30mMNaCl	0.05	0.07	0.34	0.56
30mM 苯酚+6.5 Zn/6ins+30mMNaCl	0.03	0.04	0.16	0.28
60mM 苯酚+5.5 Zn/6ins+10mMNaCl	0.05	0.09	0.41	0.66
60mM 苯酚+6.5 Zn/6ins+10mMNaCl	0.06	0.06	0.30	0.49
60mM 苯酚+5.5 Zn/6ins+30mMNaCl	0.08	0.08	0.36	0.56
60mM 苯酚+6.5 Zn/6ins+30mMNaCl	0.04	0.08	0.24	0.43
45mM 苯酚 +6.0Zn/6ins+20mMNaCl	0.04	0.06	0.28	0.42

[0675] 由上表可知,本发明的上述酰化胰岛素制剂中HMWP的量随着时间的变化增加非常缓慢,表明上述酰化胰岛素制剂均具有优异的化学稳定性。特别是,当Zn含量为6.5Zn/6ins时,相对于5.5Zn/6ins时,HMWP的量增加更为缓慢。

[0676] 有关物质的量的测定

[0677] 通过高效液相色谱法(HPLC)测定胰岛素有关物质的含量,在WatersKromasil 300A-5μm-C8(4.6*250mm)柱上,在柱温为40℃、样品池温度为室温时,用洗脱相以1.0ml/min的流速进行测试。洗脱由以下组成的流动相进行:

[0678] A相包含0.1M无水硫酸钠、0.1M二水合磷酸二氢钠、10%乙腈(v/v),用NaOH调节pH值至为5.0;

[0679] B相为50%乙腈(v/v)。

[0680] 梯度:0-45min的45%/55%A/B至35%/65%A/B的线性变化,45-50min至20%/80%A/B的线性变化,50-60min至20%/80%A/B的等度梯度,60-60.1min的45%/55%A/B的线性变化,60.1-70min至45%/55%A/B的等度梯度。

[0681] 表4示出了,在37℃时,第14天和第20天相对于第0天时有关物质的增加量。

[0682] 表4

[0683]

1.2mM 化合物 4 10mM 间甲酚 17mg/ml 甘油 pH7.4	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时有关物质的增加 (%)	37℃ 第 20 天 相对于第 0 天时有关物质的增加 (%)
30mM 苯酚+5.5 Zn/6ins+10mMNaCl	1.49	2.46
30mM 苯酚+6.5 Zn/6ins+10mMNaCl	1.61	2.79
30mM 苯酚+5.5 Zn/6ins+30mMNaCl	1.55	2.4
30mM 苯酚+6.5 Zn/6ins+30mMNaCl	1.58	2.63
60mM 苯酚+5.5 Zn/6ins+10mMNaCl	1.74	2.71
60mM 苯酚+6.5 Zn/6ins+10mMNaCl	1.69	2.94
60mM 苯酚+5.5 Zn/6ins+30mMNaCl	1.52	2.58
60mM 苯酚+6.5 Zn/6ins+30mMNaCl	1.56	2.8
45mM 苯酚+6.0Zn/6ins+20mMNaCl	1.46	2.58

[0684] 由上表可知,本发明的上述酰化胰岛素制剂中有关物质的量随着时间的变化增加也非常缓慢,表明上述酰化胰岛素制剂非常稳定。

[0685] 实施例27

[0686] 本实验的目的是测量本发明的酰化胰岛素制剂的化学稳定性。根据下述表5-7中各组分的量,按照与实施例26类似地步骤,配制表5-7中的酰化胰岛素制剂。并按照与实施例26类似的步骤测定HMWP和有关物质的变化。下表5-7示出了不同配方的酰化胰岛素制剂的HMWP和有关物质的变化。

[0687] 表5

[0688]

2.1mM 化合物4 60mM 苯酚 10mM 间甲酚 20mMNaCl 15mg/ml 甘油 pH7.4	37℃ 第 26 天时 相对于第 0 天 时 HMWP 的 增加量 (%)	37℃ 第 65 天时 相对于第 0 天 时 HMWP 的 增加量 (%)	37℃ 储存 65 天 HMWP 每 天的增长率 (%)
2.2 Zn/6ins	0.98	2.18	0.032
2.5 Zn/6ins	0.99	2.42	0.037
3 Zn/6ins	0.79	1.68	0.026
4.5 Zn/6ins	0.43	1.2	0.018

[0689] 表6

[0690]

2.1 mM 化合物 4 60mM 苯酚 10mM 间甲酚 15mg/ml 甘油 pH7.4	37℃ 第 26 天时 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 65 天时 相对于第 0 天时 HMWP 的 增加量 (%)	37℃ 储存 65 天 HMWP 每 天的增长 率 (%)
10mM Na_2HPO_4+2.2 Zn/6ins	0.88	1.84	0.028
10mM Na_2HPO_4+4.5Zn/6ins	0.20	0.55	0.008
30mM Na_2HPO_4+2.2 Zn/6ins	0.67	1.47	0.023
30mM Na_2HPO_4+4.5Zn/6ins	0.27	0.61	0.009
2.2 Zn/6ins	0.96	2.16	0.033
4.5 Zn/6ins	0.46	1.33	0.020

[0691] 表7

[0692]

0.6mM 化合物 2 60mM 苯酚 15mg/ml 甘油 5mM 磷酸二氢钠 10mM NaCl pH7.6	37℃ 第 30 天时 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 储存 30 天 HMWP 每天的增长率 (%)	37℃ 第 30 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量 (%)	37℃ 储存 30 天有关物质每天的增长率 (%)
5.5 Zn/6ins	0.45	0.0153	1.91	0.0637
6.5 Zn/6ins	0.42	0.0140	1.50	0.0500
7 Zn/6ins	0.44	0.0147	1.58	0.0527
7.5 Zn/6ins	0.51	0.0170	1.75	0.0583

[0693] 由上表可知,本发明的上述酰化胰岛素制剂中HMWP的量、及有关物质的量随着时间的变化均增加较缓慢,特别是在Zn离子含量增加或添加Na_2HPO_4时,HMWP的量、及有关物质的量增加更为缓慢,表明本发明所获得的酰化胰岛素制剂均具有良好的化学稳定性。

[0694] 实施例28

[0695] 本实验的目的是测量本发明的酰化胰岛素制剂的化学稳定性。根据下述表8中各组分的量,按照与实施例26类似地步骤,配制表8中的酰化胰岛素制剂。并按照与实施例26类似的步骤测定HMWP和有关物质的变化。下表示出了不同配方的酰化胰岛素制剂的HMWP和有关物质的变化。

[0696] 表8

[0697]

60mM 苯酚 4.5Zn/6ins 15mg/ml 甘油 5mM 磷酸二氢钠 10mM 间甲酚	37℃ 第 14 天时 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量	37℃ 储存 14 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量

[0698]

10mM NaCl	(%)	(%)
0.6mM (100U) 化合物 4	0.77	1.62
2.1mM (350U) 化合物 4	0.57	1.08
3.0mM (500U) 化合物 4	0.53	1.03
4.2mM (700U) 化合物 4	0.45	1.29

[0699] 由上表可知,本发明的上述酰化胰岛素制剂中HMWP的量、及有关物质的量随着时

间的变化均增加较缓慢,表明本发明所获得的酰化胰岛素制剂均具有良好的化学稳定性。

[0700] 实施例29

[0701] 在链脲佐菌霉素(STZ)诱导I型糖尿病(T1DM)大鼠中的药效学研究

[0702] 8周龄SD大鼠(雌雄各半),体重170-250g。于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中(4只/盒),自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在相对湿度40%～70%,温度为22℃～26℃。4天适应期后,禁食12h,大鼠按照60mg/kg腹腔注射链脲佐菌霉素(sigma)溶液(10mg/mL,于0.1M柠檬酸缓冲液)。给予链脲佐菌霉素4天和8天后,进行随机血糖检测,血糖值在20mmol/L以上的选为T1DM模型大鼠用于后续试验。

[0703] 造模8天后开始试验,于给药前一天,监测基础血糖并对大鼠称重。根据随机血糖和体重将大鼠匹配分配到溶媒组或治疗组,接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下分别注射德谷胰岛素(50U/kg)、化合物4(25U/kg或40U/kg),其中溶媒包含:苯酚60mM,甘油15mg/ml,间甲酚10mM,氯化钠0.585mg/ml,所述溶媒的pH值为7.4。

[0704] 将所述酰化胰岛素溶解在溶媒中至25U/ml或40U/ml的给药浓度,给药体积为1ml/kg(即0.1ml/100g体重)。采用皮下给药方式,颈背部皮下给药,隔天给药一次,重复给药11次,试验期间SD大鼠自由饮食。在大约上午9:30-10:30给予酰化胰岛素,在首次给药3h、4h、5h、6h、24h、48h后监测大鼠血糖,之后每次给药后4h、24h、48h监测一次大鼠血糖。

[0705] 对于每个单剂量的酰化胰岛素绘制血糖对时间的剂量响应曲线。为了说明酰化胰岛素对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。

[0706] 如图18a-18b显示,相对于德谷胰岛素,本发明的酰化胰岛素给药后在I型糖尿病(T1DM)大鼠中有预料不到的增加的降糖药效,化合物4的降糖效果明显优于德谷胰岛素。

[0707] 实施例30

[0708] 以与实施例24相似的步骤,测试包含本发明的酰化胰岛素与门冬胰岛素的组合物在链脲佐菌霉素(STZ)诱导I型糖尿病(T1DM)C57/6J小鼠中对血糖(BG)的调节效应。

[0709] 当日实验开始前,检测小鼠随机血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将小鼠分配到溶媒组或治疗组,共8组,每组9只(雄性5只,雌性4只),各组分别接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,其中德谷胰岛素和门冬胰岛素的注射剂量分别为7U/kg和3U/kg,或皮下注射包含本发明实施例4的标题化合物化合物4和门冬胰岛素的六种药物组合物,其中在注射所述六种药物组合物时,化合物4的注射剂量分别为1.49U/kg、1.99U/kg、2.45U/kg、2.85U/kg、3.43U/kg、和3.92U/kg,门冬胰岛素的注射剂量均为3U/kg,其中所述溶媒包含:60mM苯酚,10mM间甲酚,15mg/ml甘油,15mM Na_2HPO_4,上述溶媒的pH值为7.6。

[0710] 将化合物4与门冬胰岛素预混液溶解在溶媒中至0.6U/mL给药浓度(以预混液中门冬胰岛素浓度计),给药体积为5ml/kg(即50μl/10g体重)。采用皮下给药(S.C.)方式,颈背部皮下注射给药。在每天下午大约16:00(时间0)给予药物,连续给药15天,给药期间小鼠自由饮食,评估第一、二、五、八、十五次给药前(0h)和给药后1小时小鼠随机血糖,以及对第二、五、八、十五次给药前(0h)血糖及给药后0.5、1、2、4、6、16、20、24小时随机血糖进行检测。最后一次给药后小鼠禁食2h,眼眶取血,检测全血中糖化血红蛋白(Hb1Ac)百分比。

[0711] 用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪及配套试

纸(罗氏)进行测定。并绘制第十五次给药后血糖对时间的剂量响应曲线。为了说明本发明的预混胰岛素对血糖的影响,对第十五次给药后每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。其中,AUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0712] 图19a和图19b显示了包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素的组合物在给药后,相对于包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,在I型糖尿病(T1DM)小鼠中有预料不到的增加的降糖药效,在化合物4与门冬胰岛素的用量比远小于德谷胰岛素与门冬胰岛素的用量比时,仍能达到更好的降糖效果。

[0713] 图20显示包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素的组合物,在给药后,相对于包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,具有更好地降低Hb1Ac的效果,在化合物4与门冬胰岛素的用量比远小于德谷胰岛素与门冬胰岛素的用量比时,仍能达到更好地降低Hb1Ac的效果。

[0714] 实施例31

[0715] 在db/db小鼠中的药效学研究

[0716] 本研究的目的在于在糖尿病情况下证实包含本发明的酰化胰岛素与门冬胰岛素的组合在肥胖的糖尿病小鼠模型(db/db小鼠)中对血糖(BG)的调节效应。

[0717] 将8-9周龄雄性db/db(BKS/Lepr)小鼠于屏障环境内饲养于合适规格的饲养盒中,自由获取标准食物和纯化水,环境条件控制在相对湿度40%-60%,温度为22℃-24℃。1-2周的适应期后,开始用于实验。

[0718] 于当日实验开始前,检测小鼠随机血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将小鼠分配到溶媒组或治疗组,共5组,每组8只,各组分别接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,其中德谷胰岛素和门冬胰岛素的注射剂量分别为7U/kg和3U/kg,或皮下注射包含本发明实施例4的标题化合物化合物4和门冬胰岛素的三种药物组合物,其中在注射所述三种药物组合物时,化合物4的注射剂量分别为2.0U/kg、2.4U/kg、3.84U/kg,门冬胰岛素的注射剂量均为3U/kg,其中溶媒包含:60mM苯酚,10mM间甲酚,15mg/ml甘油,15mM Na_2HPO_4,pH值为7.6。

[0719] 将所述酰化胰岛素溶解在溶媒中至0.6U/ml的给药浓度,给药体积为5ml/kg(即50μl/10g体重)。采用皮下给药(S.C.)方式,颈背部皮下注射给药四次。在大约上午09:30(时间0)给予酰化胰岛素,给药期间动物禁食不禁水,评估给药后0.5、1、2、3、4、6、8、10、12小时小鼠血糖。

[0720] 用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪及配套试纸(罗氏)进行测定。对于每个单剂量的酰化胰岛素绘制血糖对时间的剂量响应曲线。

[0721] 为了说明本发明的包含酰化胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。其中,AUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0722] 图21a和图21b显示,包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素的组合物,在给药后,相对于包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,在肥胖的糖尿病小鼠模型(db/db小鼠)中有预料不到的增加的降糖药效,在化合物4与门冬胰岛素的用量比远小于德谷胰岛素与门冬胰岛素的用量比时,仍能达到更好的降糖效果。

[0723] 实施例32

[0724] 本实验的目的在于测量本发明的酰化胰岛素制剂的化学稳定性。

[0725] 酰化胰岛素制剂

[0726] 将实施例4的标题化合物化合物4溶解于0.03％NaOH溶液中,至2.4mM的浓度,然后用4％NaOH溶液调节pH值至7.4,根据下表中各个组分的量,将苯酚、间甲酚、甘油和氯化钠混合好后加入化合物4溶液中,调节pH值至7.4,然后根据下表中醋酸锌的量平均分三次加入到化合物4溶液中,调节pH值至最终值。产生最终胰岛素浓度为1.2mM(200U/ml或8.46mg/ml)的酰化胰岛素制剂,其中Zn的含量以Zn/6摩尔的酰化的胰岛素(简写为“Zn/6ins”)来表示。

[0727] 本实施例中制剂的化学稳定性能够用在25℃和37℃存储14天和21天后,高分子量蛋白(HMWP)相对于第0天时的变化来显示,同时也能够用在37℃存储21天后有关物质的量的变化来表示。

[0728] 高分子量蛋白(HMWP)的测定

[0729] 通过高效液相色谱法(HPLC)测定高分子量蛋白(HMWP)的含量,在型号和规格为:ShodexTM PROTEIN KW-802.5(8.0mm×300mm)柱上,在柱温为30℃、样品池温度为5℃时,用流动相以0.5ml/min的流速进行测试,其中,所述流动相包含3L的0.1％精氨酸溶液、750ml冰醋酸和1250ml乙腈。检测波长为276nm,进样量为10μl。表9示出了,在25℃和37℃时,第14天和第21天相对于第0天时HMWP的增加量。

[0730] 表9

[0731]

1.2mM 化合物 4 10mM 间甲酚 17mg/ml 甘油 45mM 苯酚 6.5 Zn/6ins 20mMNaCl	25℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量（%）	25℃ 第 21 天 相对于第 0 天 HMWP 的增加量（%）	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量（%）	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量（%）
pH 7.0	0.03	0.07	0.27	0.45
pH 7.2	0.02	0.06	0.25	0.34
pH 7.4	0.03	0.06	0.26	0.34
pH 7.6	0.01	0.06	0.25	0.35
pH 8.0	0.06	0.12	0.44	0.79

[0732] 由上表可知,本发明的酰化胰岛素制剂在上述pH值范围内HMWP的量随着时间的变化增加非常缓慢,表明本发明的酰化胰岛素制剂在上述pH值范围内均具有优异的化学稳定性。

[0733] 有关物质的量的测定

[0734] 通过高效液相色谱法(HPLC)测定胰岛素有关物质的含量,在Waters Kromasil 100A-3.5μm-C8(4.6*250mm)柱上,在柱温为40℃、样品池温度为10℃时,用洗脱相以1.0ml/min的流速进行测试。洗脱相由以下组成的流动相进行:

[0735] A相包含0.1M无水硫酸钠、0.1M二水合磷酸二氢钠、10％乙腈(v/v)，用浓磷酸调节pH值至为3.0；

[0736] B相为60％乙腈(v/v)。

[0737] 梯度：0-40min为41.3％/58.7％A/B的等度梯度，40-50min至0％/100％A/B的线性变化，50-51min至41.3％/58.7％A/B的线性变化，51-65min的41.3％/58.7％A/B的等度梯度。表10示出了，在37℃时，第21天相对于第0天时有关物质的增加量。

[0738] 表10

[0739]

1.2mM 化合物 4 10mM 间甲酚 17mg/ml 甘油 45mM 苯酚 6.5 Zn/6ins 20mMNaCl	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量 (%)
pH 7.0	2.43
pH 7.2	2.44
pH 7.4	2.22
pH 7.6	2.29
pH 8.0	3.34

[0740] 由上表可知，本发明的酰化胰岛素制剂在上述pH值范围内有关物质的量随着时间的变化也非常缓慢，本发明的上述酰化胰岛素制剂均具有优异的化学稳定性。

[0741] 实施例33

[0742] 本实验的目的是测量本发明的酰化胰岛素制剂的化学稳定性。根据下述表11和12中各组分的量，按照与实施例32类似地步骤，配制表11和12中的酰化胰岛素制剂。并按照与实施例32类似的步骤测定HMWP和有关物质的变化。下表11和12示出了不同配方的酰化胰岛素制剂的HMWP和有关物质的变化。

[0743] 表11

[0744]

10mM 间甲酚 17mg/ml 甘油 45mM 苯酚 6.5 Zn/6ins 20mMNaCl pH 7.4	25℃ 第 22 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	25℃ 第 42 天 相对于第 0 天 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 22 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 42 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)

[0745]

100U 化合物 4	0.06	0.13	0.25	0.75
200U 化合物 4	0.03	0.07	0.18	0.55

[0746] 表12

[0747]

10mM 间甲酚 17mg/ml 甘油 45mM 苯酚 6.5 Zn/6ins 20mMNaCl pH 7.4	25℃ 第 42 天 相对于第 0 天有关物质的增加量 (%)	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量 (%)	37℃ 第 42 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量 (%)
100U 化合物 4	0.48	3.23	5.69
200U 化合物 4	0.71	3.06	5.03

[0748] 由上表可知,本发明的上述酰化胰岛素制剂中HMWP的量、及有关物质的量随着时间的变化均增加较缓慢,表明本发明所获得的酰化胰岛素制剂均具有良好的化学稳定性。

[0749] 实施例34

[0750] 本实验的目的在于测量本发明的酰化胰岛素制剂的化学稳定性。

[0751] 酰化胰岛素制剂

[0752] 将实施例18的标题化合物化合物16溶解于0.08%NaOH溶液中,至最终胰岛素浓度的两倍,然后用4%NaOH溶液调节pH值至7.45,根据下表中各个组分的量,将苯酚、间甲酚、甘油和氯化钠混合好后加入化合物16溶液中,调节pH值至7.4,然后根据下表中醋酸锌的量平均分三次加入到化合物16溶液中,调节pH值至7.4。产生最终胰岛素浓度为1.2mM(9.43mg/ml)或1.5mM(11.74mg/ml)的酰化胰岛素制剂。

[0753] 本实施例中制剂的化学稳定性能够用在25℃和37℃存储14天和21天后,高分子量蛋白(HMWP)相对于第0天时的变化来显示,同时也能够用在25℃和37℃存储14天和21天后有关物质的量的变化来表示。

[0754] 高分子量蛋白(HMWP)的测定

[0755] 按照实施例32类似的步骤测定HMWP的量。表13-15示出了,在25℃和37℃时,第14天和第21天相对于第0天时HMWP的增加量。

[0756] 表13

[0757]

1.2mM 化合物 16 10mM 间甲酚 15mg/ml 甘油 30mM 苯酚 pH 7.4	25℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	25℃ 第 21 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)
2.5 Zn/6ins+10mM NaCl	0.20	0.32	0.64	0.83
4.0 Zn/6ins+10mM NaCl	0.23	0.31	0.62	1.05
7.0 Zn/6ins+10mM NaCl	0.08	0.11	0.38	0.89
2.5 Zn/6ins+50mM NaCl	0.24	0.33	0.83	1.39

[0758] 表14

[0759]

1.5mM 化合物 16 10mM 间甲酚 15mg/ml 甘油 pH 7.4	25℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	25℃ 第 21 天 相对于第 0 天 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)
30mM 苯酚+2.5 Zn/6ins+10mM NaCl	0.12	0.16	0.46	0.69
30mM 苯酚+7.0 Zn/6ins+10mM NaCl	0.05	0.08	0.27	0.43
30mM 苯酚+2.5 Zn/6ins +50mM NaCl	0.15	0.22	0.46	0.70
60mM 苯酚+7.0 Zn/6ins+10mM NaCl	0.03	0.06	0.22	0.39
45mM 苯酚+4.0 Zn/6ins+30mM	0.13	0.18	0.47	0.72

[0760]

NaCl				
45mM 苯酚+5.5 Zn/6ins+30mM NaCl	0.09	0.12	0.33	0.54

[0761] 表15

[0762]

1.5mM 化合物 16 20 mM NaCl 15mg/ml 甘油 pH 7.4 4.5 Zn/6ins	25℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量（%）	25℃ 第 21 天 相对于第 0 天 HMWP 的增加量（%）	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量（%）	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量（%）
15mM 苯酚+10mM 间甲酚	0.07	0.15	0.42	0.63
35mM 苯酚+10mM 间甲酚	0.02	0.07	0.31	0.63
25mM 苯酚+25mM 间甲酚	0.10	0.13	0.44	0.75

[0763] 由上表可知,本发明的上述酰化胰岛素制剂中HMWP的量随着时间的变化增加非常缓慢,表明上述酰化胰岛素制剂均具有优异的化学稳定性。

[0764] 有关物质的量的测定

[0765] 通过高效液相色谱法(HPLC)测定胰岛素有关物质的含量,在Waters Kromasil 300A-5μm-C4(4.6*150mm)柱上,在柱温为40℃、样品池温度为10℃时,用洗脱相以1.0ml/min的流速进行测试。洗脱相由以下组成的流动相进行:

[0766] A相包含0.18M无水硫酸钠、10%乙腈(v/v),用85%磷酸调节pH值至为2.3;

[0767] B相为75%乙腈(v/v)。

[0768] 梯度:0-40min的48%/52%A/B的等度梯度,40-51min至0%/100%A/B的线性变化,51-65min至48%/52%A/B的线性变化。

[0769] 表16-17示出了,在25℃和37℃时,第14天和/或第21天相对于第0天时有关物质的增加量。

[0770] 表16

[0771]

1.2mM 化合物 16 10mM 间甲酚 15mg/ml 甘油 30mM 苯酚 pH 7.4	25℃ 第 14 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量（%）	25℃ 第 21 天 相对于第 0 天有关物质的增加量（%）	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量（%）	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量（%）
2.5 Zn/6ins+10mM NaCl	0.65	0.68	1.67	2.37
4.0 Zn/6ins+10mM NaCl	0.63	0.67	2.26	2.42
7.0 Zn/6ins+10mM NaCl	0.40	0.47	1.13	2.12
2.5 Zn/6ins+50mM NaCl	0.67	0.83	1.67	2.43

[0772] 表17

[0773]

1.5mM 化合物 16 10mM 间甲酚 15mg/ml 甘油 pH 7.4	25℃ 第 21 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量（%）	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量（%）	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量(%)
30mM 苯酚+2.5 Zn/6ins+10mM NaCl	0.76	1.08	1.66
30mM 苯酚+7.0 Zn/6ins+10mM NaCl	0.60	1.10	1.58
30mM 苯酚+2.5 Zn/6ins +50mM NaCl	0.97	1.28	1.72
60mM 苯酚+7.0 Zn/6ins+10mM NaCl	0.51	1.04	1.50
45mM 苯酚+4.0 Zn/6ins+30mM NaCl	0.77	1.14	1.53
45mM 苯酚+5.5 Zn/6ins+30mM NaCl	0.59	1.11	1.25

[0774] 表18

[0775]

1.5mM 化合物 16 20 mM NaCl 15mg/ml 甘油 pH 7.4	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量（%）	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时相有关物质的增加量

[0776]

4.5 Zn/6ins		(%)
15mM 苯酚+10mM 间甲酚	0.60	0.60
35mM 苯酚+10mM 间甲酚	0.37	0.52
25mM 苯酚+25mM 间甲酚	0.55	0.95

[0777] 由上表可知,本发明的上述酰化胰岛素制剂中胰岛素有关物质的量随着时间的变化增加也非常缓慢,表明上述酰化胰岛素制剂非常稳定。

[0778] 实施例35

[0779] 本实验的目的在于测量本发明的酰化胰岛素制剂的化学稳定性。

[0780] 酰化胰岛素制剂

[0781] 将实施例18的标题化合物化合物16溶解于10mM的50%终体积磷酸氢二钠溶液中,至最终胰岛素浓度的两倍,然后用4%NaOH调节pH值至终值,根据下表中各个组分的量,将苯酚、间甲酚、甘油和氯化钠混合好后加入化合物16溶液中,调节pH值至终值,然后根据下表中醋酸锌的量平均分三次加入到化合物16溶液中,调节pH值至终值。产生最终胰岛素浓度为1.5mM(11.74mg/ml)的酰化胰岛素制剂。

[0782] 并按照与实施例32类似的步骤测定HMWP,按照与实施例34类似的步骤测定有关物质的变化。下表19和20示出了不同配方的酰化胰岛素制剂的HMWP和有关物质的变化。

[0783] 表19

[0784]

1.5mM 化合物 16 10mM 间甲酚 17mg/ml 甘油 45mM 苯酚 2.2 Zn/6ins 20mMNaCl 5mM 磷酸氢二钠	25℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	25℃ 第 28 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 28 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)
pH 6.5	0.10	0.19	0.53	1.11
pH 7.0	0.14	0.24	0.47	0.89

[0785]

pH 7.5	0.14	0.27	0.44	0.96
pH 8.0	0.14	0.34	0.61	1.62

[0786] 表20

[0787]

1.5mM 化合物 16 10mM 间甲酚 17mg/ml 甘油 45mM 苯酚 2.2 Zn/6ins 20mMNaCl 5mM 磷酸氢二钠	25℃ 第 14 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量（%）	25℃ 第 21 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量（%）	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量（%）	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时有关物质的增加量（%）
pH 6.5	0.71	0.76	1.45	1.81
pH 7.0	0.55	0.71	1.09	1.36
pH 7.5	0.63	0.69	1.11	1.46
pH 8.0	0.63	0.58	1.33	2.14

[0788] 由上表可知,本发明的上述酰化胰岛素制剂中HMWP的量、及有关物质的量随着时间的变化均增加较缓慢,表明本发明所获得的酰化胰岛素制剂均具有良好的化学稳定性。

[0789] 实施例36

[0790] 本实验的目的是测量本发明的酰化胰岛素与门冬胰岛素的组合制剂的化学稳定性。

[0791] 对于该酰化胰岛素与门冬胰岛素的组合制剂,按表21中所列个组分的量制备组合1-5。其中Zn的含量以Zn/6摩尔的酰化的胰岛素(简写为“Zn/6ins”)来表示。

[0792] 表21

[0793]

	组合 1	组合 2	组合 3	组合 4	组合 5
化合物 4	0.18mM （或 30U/ml）				
门冬胰岛素	0.18mM（或 30U/ml）				
醋酸锌（μg/ml）	22.46	22.46	26.38	22.46	24.42
Zn/6ins	11.5	11.5	13.51	11.5	12.51
苯酚（mM）	40	40	40	70	55
NaCl（mM）	45	75	45	45	60
其他辅料	10mM 间甲酚 8.5mg/ml 甘油 pH 7.4				

[0794]

[0795] 本实施例中制剂的化学稳定性能够用在37℃存储14天和28天后,高分子量蛋白(HMWP)相对于第0天时的变化来显示。

[0796] 高分子量蛋白(HMWP)的测定

[0797] 通过高效液相色谱法(HPLC)测定高分子量蛋白(HMWP)的含量,在型号和规格为:

Tskgel,G2000 SWXL,5μm(7.8×300mm)柱上,在柱温为30℃、样品池温度为10℃时,用流动相以0.5ml/min的流速进行测试,其中,所述流动相包含400ml异丙醇、300ml冰醋酸和300ml水。检测波长为276nm,进样量为10μl。表22示出了,在37℃时,第14天和第28天相对于第0天时HMWP的增加量。

[0798] 表22

[0799]

组合制剂	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)	37℃ 第 28 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 (%)
组合 1	0.34	1.03
组合 2	0.32	0.73
组合 3	0.35	0.76
组合 4	0.47	1.32
组合 5	0.37	1.02

[0800] 由上表可知,本发明的上述酰化胰岛素和门冬胰岛素组合制剂中HMWP的量随着时间的变化增加非常缓慢,表明上述组合物制剂均具有优异的化学稳定性。

[0801] 实施例37

[0802] 本实验的目的是测量本发明的酰化胰岛素与门冬胰岛素的组合制剂的化学稳定性。

[0803] 根据下述表23各组分的量配制组合6-10。并按照与实施例36类似的步骤测定HMWP的变化。下表24示出了不同配方的酰化胰岛素制剂的HMWP的变化。

[0804] 表23

[0805]

	组合 6	组合 7	组合 8	组合 9	组合 10
化合物 4	0.165mM(或 27.5U/ml)				
门冬胰岛素	0.18mM(或 30U/ml)				
醋酸锌（μg/ml）	16.78	16.78	20.54	16.78	18.75
Zn/6ins	9.38	9.38	11.49	9.38	10.48
苯酚（mM）	20	20	20	35	27.5
间甲酚（mM）	16	10	10	10	16
其他辅料	20mM NaCl 17mg/ml 甘油 pH 7.4				

[0806] 表24

[0807]

组合制剂	37℃ 第 14 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 （%）	37℃ 第 28 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 （%）
组合 6	0.33	1.03
组合 7	0.28	0.79
组合 8	0.35	1.64
组合 9	0.40	1.50
组合 10	0.34	1.17

[0808] 由上表可知,本发明的上述酰化胰岛素和门冬胰岛素组合制剂中HMWP的量随着时间的变化增加非常缓慢,表明上述组合物制剂均具有优异的化学稳定性。

[0809] 实施例38

[0810] 本实验的目的是测量本发明的酰化胰岛素与门冬胰岛素的组合制剂的化学稳定性。

[0811] 根据下述表25中各组分的量配制组合11和12。并按照与实施例36类似的步骤测定HMWP的变化。下表26示出了不同配方的酰化胰岛素制剂的HMWP的变化。

[0812] 表25

[0813]

	组合 11	组合 12
化合物 4	0.18mM(或 30U/ml)	0.165mM(或 27.5U/ml)
门冬胰岛素	0.18mM （或 30U/ml）	0.18mM （或 30U/ml）
醋酸锌 （μg/ml）	18.75	18.75
Zn/6ins	9.61	10.48
其他辅料	28mM 苯酚 10mM 间甲酚 17mg/ml 甘油 20mM NaCl pH 7.4	

[0814] 表26

[0815]

组合制剂	37℃ 第 21 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 （%）	37℃ 第 28 天 相对于第 0 天时 HMWP 的增加量 （%）
组合 11	0.63	0.87
组合 12	0.77	1.18

[0816] 由上表可知,本发明的上述酰化胰岛素和门冬胰岛素组合制剂中HMWP的量随着时间的变化增加非常缓慢,表明上述组合物制剂均具有优异的化学稳定性。

[0817] 实施例39

[0818] 在db/db小鼠中的药效学研究

[0819] 本研究的目的在于在糖尿病情况下证实包含本发明的酰化胰岛素与门冬胰岛素的组合物在肥胖的糖尿病小鼠模型(db/db小鼠)中对血糖(BG)的调节效应。

[0820] 参照实施例31类似的实验步骤获得实验用db/db小鼠。于当日实验开始前,检测小鼠随机血糖,并对小鼠称重。根据随机血糖和体重将小鼠分配到溶媒组或治疗组,共3组,每组5只,各组分别接受如下处理:皮下注射溶媒,或皮下注射包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,其中德谷胰岛素和门冬胰岛素的注射剂量分别为9.3U/kg和4U/kg,或皮下注射包含本发明实施例4的标题化合物化合物4和门冬胰岛素的药物组合物,其中在注射所述药物组合物时,化合物4的注射剂量为3.7U/kg,门冬胰岛素的注射剂量为4U/kg;其中溶媒包含:55mM苯酚,10mM间甲酚,8.5mg/ml甘油,60mM NaCl,pH值为7.6。

[0821] 将所述酰化胰岛素和门冬胰岛素的注射液溶解在溶媒中至相应的的给药浓度,给药体积为5ml/kg(即50μl/10g体重)。采用皮下给药(S.C.)方式,每天给药1次。给药期间动物自由饮食饮水,评估连续给药第21天药后0.5、1、2、3、4、6、8小时小鼠随机血糖和连续给

药第18天药后0.5、1、2、3、4、6、8、10小时小鼠药后禁食血糖。

[0822] 用酒精棉球清洁鼠尾部,使用一次性采血针从尾巴采集血滴,用血糖仪及配套试纸(罗氏)进行测定。对于每个单剂量的酰化胰岛素和门冬胰岛素注射液绘制血糖对时间的剂量响应曲线。

[0823] 为了说明本发明的包含酰化胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物对血糖的影响,对于每个单独的剂量响应曲线,计算从0至监测终点的血糖-时间的曲线下面积(AUC)。其中,AUC值越小,表明降糖效果越好,药效越好。

[0824] 图22a至图22d显示,包含本发明的酰化胰岛素和门冬胰岛素的组合物,在给药后,相对于包含德谷胰岛素和门冬胰岛素的药物组合物,在肥胖的糖尿病小鼠模型(db/db小鼠)中有预料不到的增加的降糖药效,在化合物4与门冬胰岛素的用量比远小于德谷胰岛素与门冬胰岛素的用量比时,仍能达到更好的降糖效果,且降糖持续时间更长。

[0825] 实施例40药代动力学

[0826] 本实施例的目的在于说明本发明化合物的体内药代动力学性质。

[0827] SD大鼠的药代动力学

[0828] SD大鼠24只,每组6只(雌雄各半),分为实施例4标题化合物化合物4低剂量组、化合物4中剂量组、和化合物4高剂量组,分别皮下注射给药2、6、18U/kg,以及德谷胰岛素组,德谷给药14U/kg。化合物4低中高剂量组、德谷胰岛素组分别于给药前(0min)、给药后0.5、1.5、4、6、8、24、48、72h采血测定血药浓度。使用WinNonLin v8.0软件的非房室模型计算药代参数C_{max}、T_{max}、$T_{1/2}$、AUC_{0-t}、Vd、Cl、MRT,试验结果总结在表27中。

[0829] 表27:向SD大鼠皮下注射化合物4和德谷后药代动力学参数

[0830]

剂量 (U/kg)	$T_{1/2}$ (hr)	T_{max} (hr)	C_{max} (ng/ml)	AUC_{0-t} (hr*ng/ml)	AUC_{INF} (hr*ng/ml)	Vd IU/(ng/mL)/kg	Cl IU/(h*ng/mL)/kg	MRT (hr)
化合物4 2U/kg	6.09	2.75	52.75	507.94	563.67	1336.24	152.02	6.36
化合物4 6U/kg	9.37	4.25	121.65	1879.09	2275.89	1589.15	115.39	8.54
化合物4 18U/kg	8.49	5.67	346.07	6054.42	6770.48	1375.99	113.09	10.88
德谷 14U/kg	2.76	2	1443.24	8896.67	8920.49	0.0063	0.0016	4.65

[0831] C_{max}=峰浓度,T_{max}=达峰时间,$T_{1/2}$=末端消除半衰期,AUC_{0-t}=0-t时间-血糖浓度时间曲线下面积,AUC_{INF}=血浆浓度时间曲线下从施用时间至无穷大的面积,Vd=表观分布容积,Cl=清除率,MRT=平均驻留时间

[0832] 比格犬的药代动力学

[0833] 犬36只,每组6只,雌雄各半,分为化合物4低、中、高剂量组,分别皮下注射给药

0.3、0.6、1.2U/kg,化合物4静脉组,静脉注射给药0.6U/kg,德谷胰岛素组,皮下注射给药0.6U/kg,静脉注射给药0.6U/kg。化合物4静脉组和德谷胰岛素静脉组于给药前、给药后2min、10min、30min、1h、2h、4h、6h、8h、12h、24h、30h、36h、48h采血测定血药浓度,化合物4低剂量、高剂量和德谷胰岛素皮下注射组于给药前、药后0.5h、1h、2h、4h、6h、8h、12h、24h、30h、36h、48h采血测定血药浓度,化合物4中剂量组连续给药7天,于首次给药和末次给药采集给药前、药后0.5h、1h、2h、4h、6h、8h、12h、24h、30h、36h、48h、72h(末次)采血测定血药浓度。使用WinNonLin v8.0软件的非房室模型计算药代参数Cmax、Tmax、T1/2、AUC0-t、MRT,试验结果总结在表28中。

[0834] 表28:向比格犬皮下注射化合物4和德谷后药代动力学参数

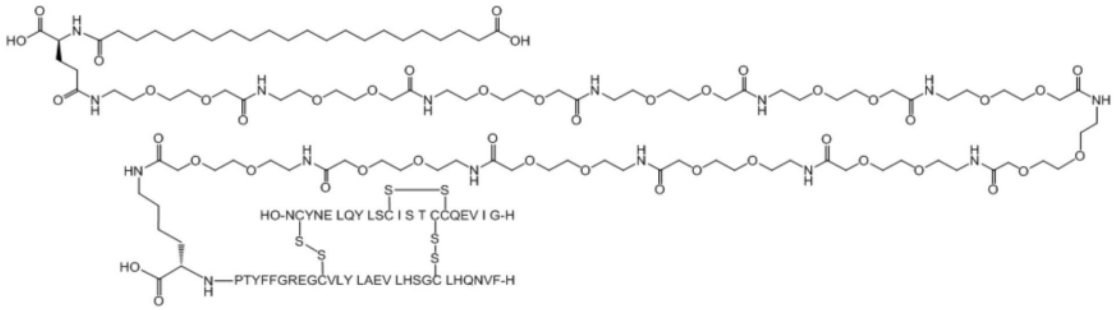
[0835]

剂量 (U/kg)	$T_{1/2}$(hr)	T_{max}(hr)	C_{max} (ng/ml)	AUC_{0-t} (hr*ng/ml)	AUC_{INF} (hr*ng/ml)
化合物 4 0.3U/kg	6.79	5.34	11.5	170	182
化合物 4 0.6U/kg	6.2	5.33	35.9	598	617
化合物 4 1.2U/kg	6	3.67	82.7	1117	1139
化合物 4 静脉 0.6U/kg	2.46	-	482	852	860
德谷 0.6U/kg	3.205	3.665	84.145	645.07	649.575
德谷静脉 0.6U/kg	3.02	-	357.99	779.17	801.92

[0836] 由上述实验结果可知,本发明的酰化胰岛素衍生物化合物4在大鼠和比格犬体内均表现出较长的半衰期、更平稳的降糖效果。

[0837] 实施例41

[0838] B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素(化合物17)

[0839] 

[0840] 以与实施例1第2部分类似的步骤制备化合物B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xOEG),desB30人胰岛素。

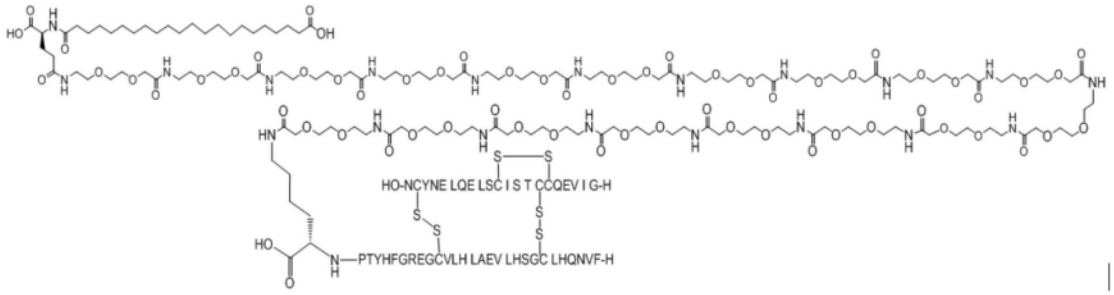
[0841] LC-MS(电喷雾):m/z=1585.98$[M+5H]^{5+}$

[0842] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(12xOEG-OSu)-OtBu以与实施例1第3部分类似的步骤进行。

[0843] LC-MS(Scie×100API):m/z=2451.38(M+1)$^{+}$

[0844] 实施例42

[0845] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素(化合物18)

[0846] 

[0847] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-18xOEG),desB30人胰岛素

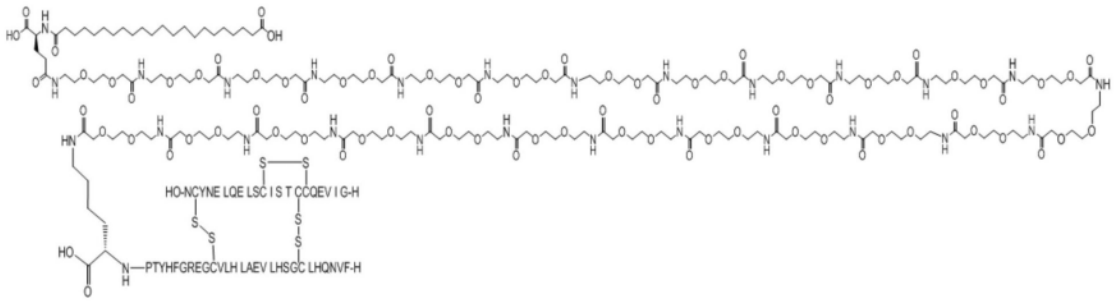
[0848] LC-MS(电喷雾):m/z=1247.47[M+7H]$^{7+}$

[0849] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(18xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0850] LC-MS(Scie×100API):m/z=3320.83(M+1)$^{+}$

[0851] 实施例43

[0852] A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-24xOEG),desB30人胰岛素(化合物19)

[0853] 

[0854] 与对照例5第1部分类似的步骤制备化合物A14E,B16H,B25H,B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-24xOEG),desB30人胰岛素

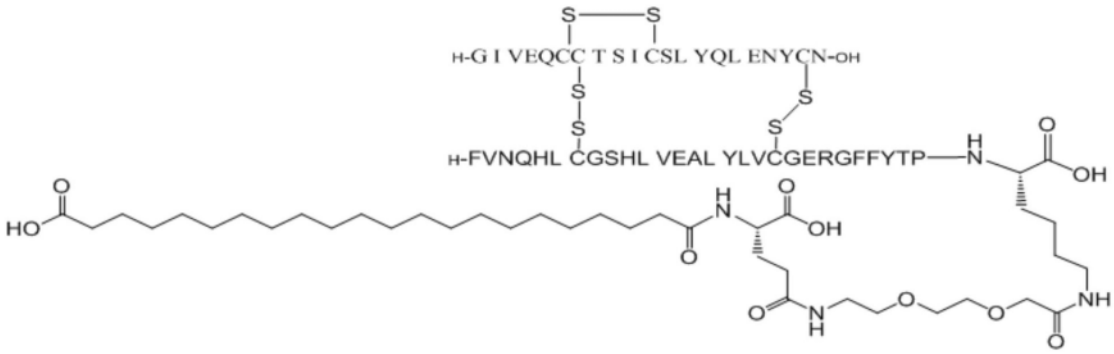
[0855] LC-MS(电喷雾):m/z=873.35[M+11H]$^{11+}$

[0856] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(24xOEG-OSu)-OtBu的制备以与对照例5第2部分类似的步骤进行。

[0857] LC-MS(Scie×100API):m/z=4192.27(M+1)$^{+}$

[0858] 实施例44

[0859] B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-OEG),desB30人胰岛素(化合物20)

[0860] 

[0861] 以与实施例1第2部分类似的步骤制备化合物B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-OEG),desB30人胰岛素。

[0862] LC-MS(电喷雾):m/z＝1266.8122[M+5H]$^{5+}$

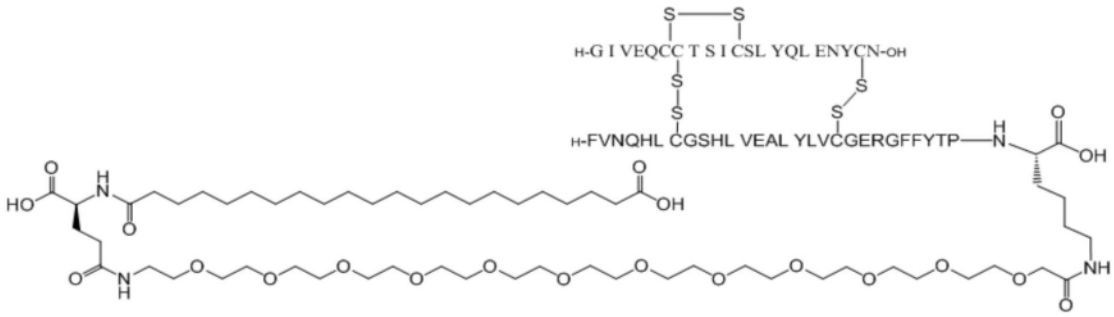
[0863] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(OEG-OSu)-OtBu以与实施例1第3部分类似的步骤进行。

[0864] LC-MS(Scie×100API):m/z＝854.57(M+1)$^{+}$

[0865] 实施例45

[0866] B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xPEG),desB30人胰岛素

[0867] (化合物21)

[0868] 

[0869] 以与实施例1第2部分类似的步骤制备化合物B29K(N(ε)-二十二烷二酰基-γGlu-12xPEG),desB30人胰岛素。

[0870] LC-MS(电喷雾):m/z＝1354.8667[M+5H]$^{5+}$

[0871] 中间体叔丁基二十二烷二酰-γGlu-(12xPEG-OSu)-OtBu以与实施例1第3部分类似的步骤进行。

[0872] LC-MS(Scie×100API):m/z＝1294.83(M+1)$^{+}$

[0873] 实施例46

[0874] 本发明的胰岛素衍生物的受体结合能力

[0875] 本试验目的在于证明本发明的胰岛素衍生物对胰岛素受体的结合能力。

[0876] 采用表面等离子共振(SPR)方法对本发明的化合物2和对照化合物2,分别在没有人血清白蛋白(HSA)存在下和2%HSA存在下,进行与带his标签的胰岛素受体A胞外域(IRA,Sino Biological)之间的结合能力试验。

[0877] 用操作缓冲液(Running buffer)(Cytiva)或含2.0%HSA的操作缓冲液分别稀释样品,使得和对照化合物2样品的进样浓度均为400nM。选用NTA传感芯片(Cytiva),25℃条件下在Biacore T200(Cytiva)上进行SPR分析。以10μL/min的流速注入0.5M $NiCl_2$

(Cytiva)60s,随后用HBS-EP buffer(Cytiva)清洗。以5μL/min的流速注入3μg/mL IRA受体180s,使IRA受体结合在芯片表面。之后以30μL/min流速注入测试的胰岛素衍生物样品60s,并进行60s解离。每次进样后以10μL/min的流速注入350mM EDTA(Cytiva)60s进行芯片再生,最后HBS-P buffer(Cytiva)清洗之后则可进行下一个样品的检测。选用样品开始解离之前第4s的响应(Response)值作为对受体的结合能力测试结果,针对每个样品重复3次试验。

[0878] 图23示出了化合物2和对照化合物2在2%HSA存在下(模拟生理条件),相对于0%HSA时,受体结合能力的情况。由图23可以看出,在2%HSA存在下,化合物2相对于对照化合物2,具有明显提高的受体结合能力,白蛋白对本发明的化合物2的受体结合能力的影响,显著低于对照化合物2。

[0879] 这表明,在白蛋白的存在下,本发明的胰岛素衍生物例如化合物2相对于对照化合物2,具有预料不到的显著提高的受体结合能力,即,白蛋白对本发明的胰岛素衍生物的受体结合能力的影响,显著低于对照化合物2。

[0880] 实施例47

[0881] 本发明的胰岛素衍生物的受体结合能力

[0882] 本试验目的在于证明本发明的胰岛素衍生物对胰岛素受体的结合能力。

[0883] 采用与实施例46类似的方法对本发明的胰岛素衍生物化合物15和对照化合物5,分别在没有人血清白蛋白(HSA)存在下和2%HSA存在下,进行与IRA之间的结合能力试验,不同的是化合物15、和对照化合物5样品的进样浓度均为12800nM和25600nM,测定结果如图24a和24b所示。

[0884] 图24a和24b示出了化合物15和对照化合物5在2%HSA存在下(模拟生理条件),相对于0%HSA时,受体结合能力的情况。由图24a和24b可以看出,在2%HSA存在下,化合物15相对于对照化合物5,具有预料不到的明显提高的受体结合能力,白蛋白对本发明的胰岛素衍生物化合物15的受体结合能力的影响,显著低于对照化合物5。

[0885] 实施例48

[0886] 本发明的胰岛素衍生物的受体结合能力

[0887] 本试验目的在于证明本发明的胰岛素衍生物对胰岛素受体的结合能力。

[0888] 采用与实施例46类似的方法对本发明的胰岛素衍生物化合物17和对照化合物2,分别在没有人血清白蛋白(HSA)存在下和2%HSA存在下,进行与IRA之间的结合能力试验,测定结果如图25所示。

[0889] 图25示出了化合物17和对照化合物2在2%HSA存在下(模拟生理条件),相对于0%HSA时,受体结合能力的情况。由图25可以看出,在2%HSA存在下,化合物17相对于对照化合物2,具有明显提高的受体结合能力,白蛋白对本发明的胰岛素衍生物化合物17的受体结合能力的影响,显著低于对照化合物2。

[0890] 这表明,在白蛋白的存在下,对本发明的胰岛素衍生物例如化合物17相对于对照化合物2,具有预料不到的显著提高的受体结合能力,即,白蛋白对本发明的胰岛素衍生物的受体结合能力的影响,显著低于对照化合物2。

[0891] 实施例49

[0892] 本发明的胰岛素衍生物的受体结合能力

[0893] 本试验目的在于证明本发明的胰岛素衍生物对胰岛素受体的结合能力。

[0894] 采用与实施例46类似的方法对本发明的胰岛素衍生物化合物16、化合物18和对照化合物5,分别在没有人血清白蛋白(HSA)存在下和2%HSA存在下,进行与IRA之间的结合能力试验,不同的是化合物16、化合物18和对照化合物5样品的进样浓度均为12800nM和25600nM,测定结果如图26a和26b所示。

[0895] 图26a和26b示出了化合物16、化合物18和对照化合物5在2%HSA存在下(模拟生理条件),相对于0%HSA时,受体结合能力的情况。由图26a和26b可以看出,在2%HSA存在下,化合物16、化合物18相对于对照化合物5,具有预料不到的明显提高的受体结合能力,白蛋白对本发明的胰岛素衍生物的受体结合能力的影响,显著低于对照化合物5。

[0896] 本发明已经通过上述实施例进行了说明,但应当理解的是,上述实施例只是用于举例和说明的目的,而非意在将本发明限制于所描述的实施例范围内。此外本领域技术人员可以理解的是,本发明并不局限于上述实施例,根据本发明的教导还可以做出更多种的变型和修改,这些变型和修改均落在本发明所要求保护的范围以内。本发明的保护范围由附属的权利要求书及其等效范围所界定。

[0897] 序列表

[0898] SEQ ID NO.1:

[0899] DesB30人胰岛素A链:

[0900] Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Asn

[0901] SEQ ID NO.2:

[0902] DesB30人胰岛素B链:

[0903] Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys

[0904] SEQ ID NO.3:

[0905] A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素A链:

[0906] Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Glu Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Asn

[0907] SEQ ID NO.4:

[0908] A14E,B16H,B25H,desB30人胰岛素B链:

[0909] Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu His Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe His Tyr Thr Pro Lys

[0910] SEQ ID NO.5:

[0911] A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素A链:

[0912] Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Glu Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Asn

[0913] SEQ ID NO.6:

[0914] A14E,B16E,B25H,desB30人胰岛素B链:

[0915] Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Glu Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe His Tyr Thr Pro Lys

[0916] SEQ ID NO.7:

[0917] 人胰岛素A链:

[0918] Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Asn

[0919] SEQ ID NO.8:

[0920] 人胰岛素B链:

[0921] Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr

[0922] SEQ ID NO.9:

[0923] A21G人胰岛素A链:

[0924] Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Gly

[0925] SEQ ID NO.10:

[0926] A21G人胰岛素B链:

[0927] Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr

[0928] SEQ ID NO.11:

[0929] A21G,desB30人胰岛素A链:

[0930] Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Gly

[0931] SEQ ID NO.12:

[0932] A21G,desB30人胰岛素B链:

[0933] Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys

[0934] SEQ ID NO.13:

[0935] B28D人胰岛素A链:

[0936] Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Asn

[0937] SEQ ID NO.14:

[0938] B28D人胰岛素B链:

[0939] Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Asp Lys Thr

[0940] SEQ ID NO.15:

[0941] GLP-1-(7-37)肽

[0942] His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly

[0943] SEQ ID NO.16:

[0944] [Gly8,Arg34]GLP-1-(7-37)肽

[0945] His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln

Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly

[0946] SEQ ID NO.17:

[0947] [Arg34]GLP-1-(7-37)肽

[0948] His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Arg Gly Arg Gly

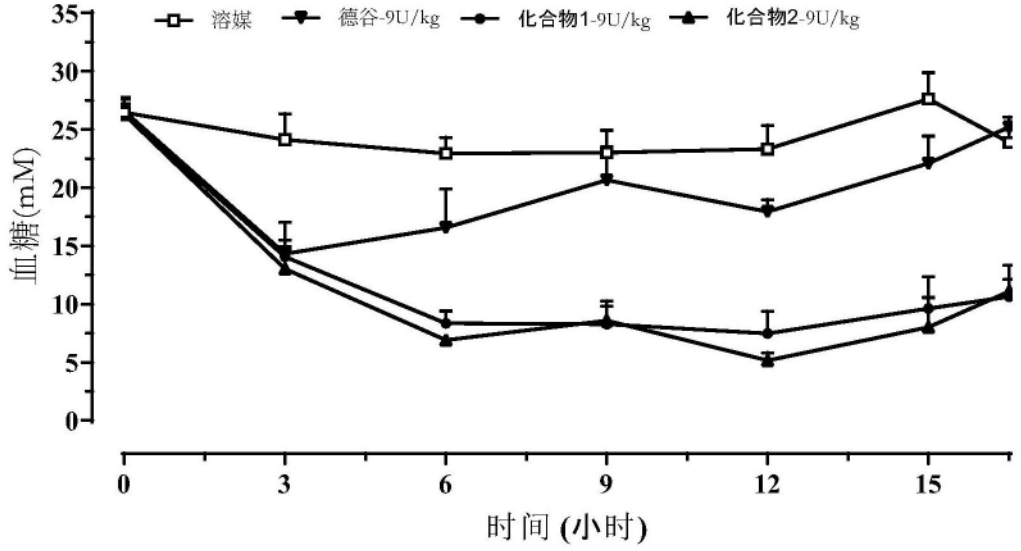

溶媒
德谷-9U/kg
化合物1-9U/kg
化合物2-9U/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
5
0
0
3
6
9
12
15
时间 (小时)

图1a

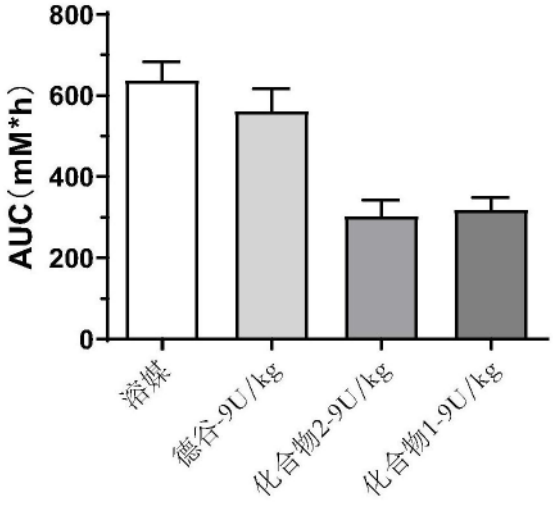

AUC(mM*h)
800
600
400
200
0
溶媒
德谷-9U/kg
化合物2-9U/kg
化合物1-9U/kg

图1b

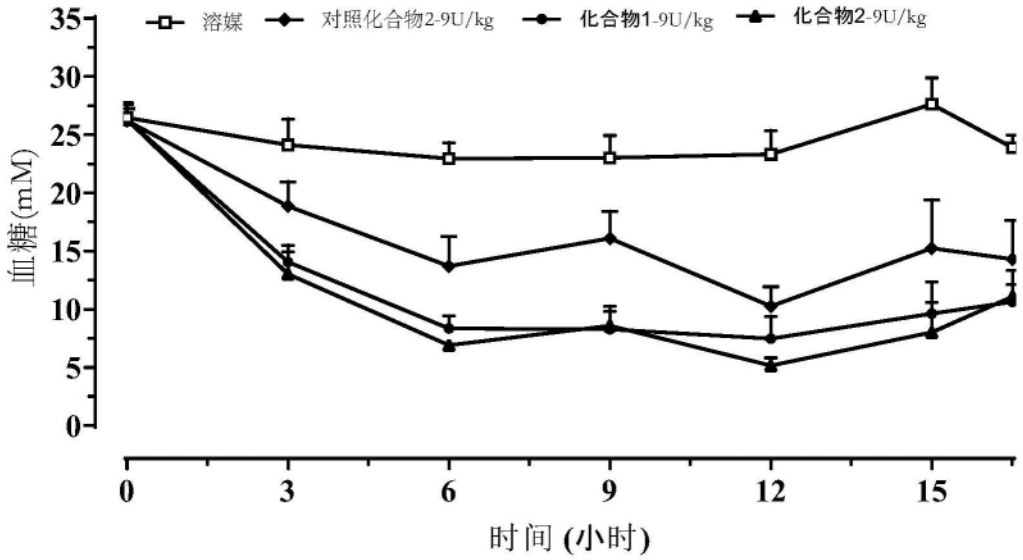

溶媒
对照化合物2-9U/kg
化合物1-9U/kg
化合物2-9U/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
5
0
0
3
6
9
12
15
时间 (小时)

图2a

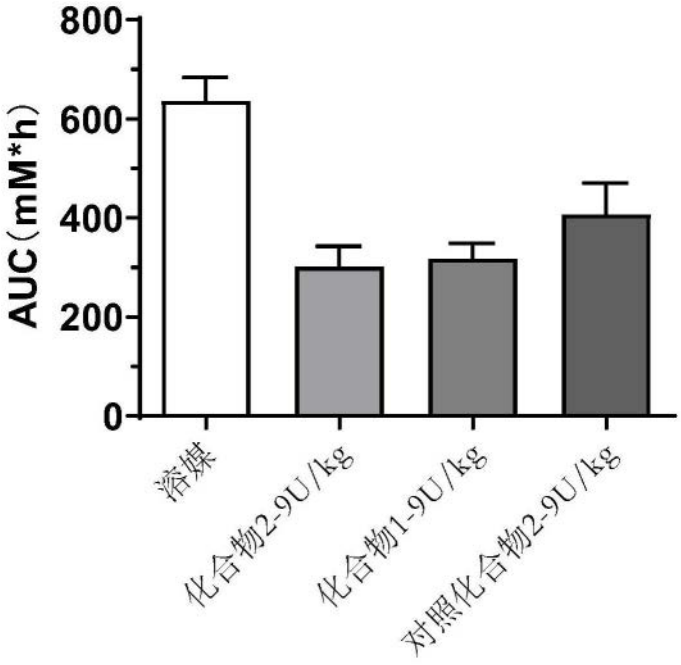

AUC(mM*h)
800
600
400
200
0
溶媒
化合物2-9U/kg
化合物1-9U/kg
对照化合物2-9U/kg

图2b

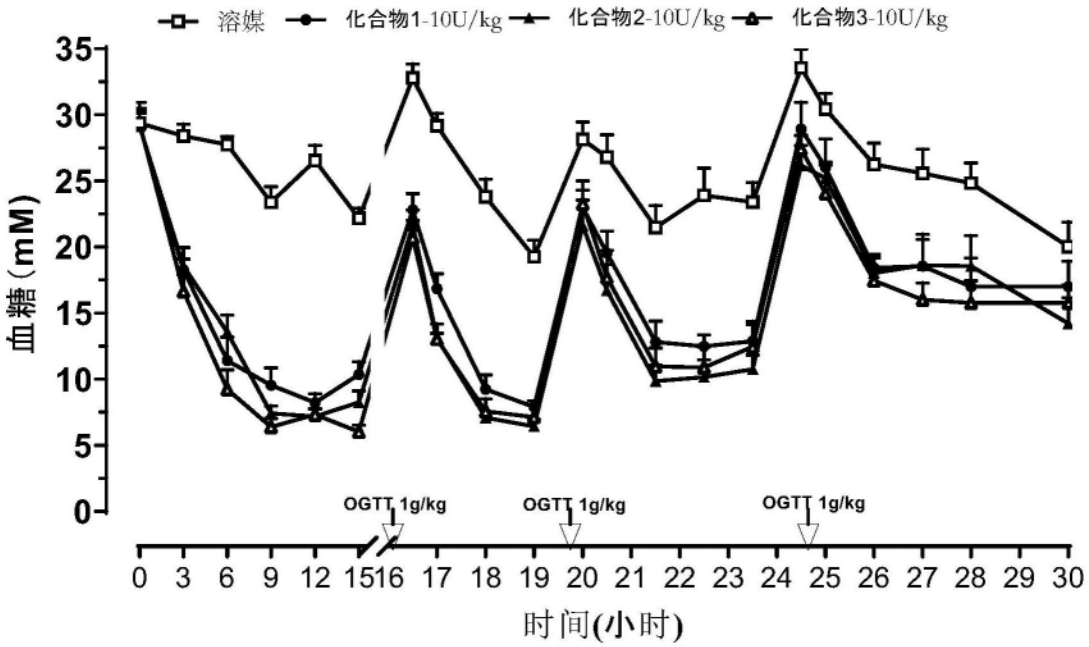

溶媒
化合物1-10U/kg
化合物2-10U/kg
化合物3-10U/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
5
0
OGTT 1g/kg
OGTT 1g/kg
OGTT 1g/kg
0 3 6 9 12 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
时间(小时)

图3a

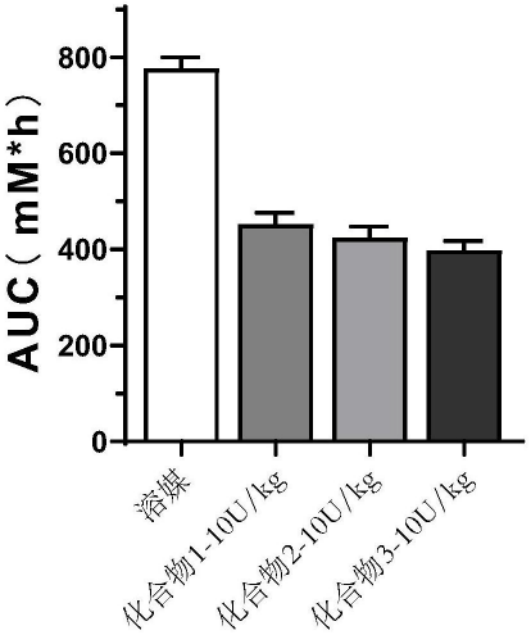

AUC(mM*h)
800
600
400
200
0
溶媒
化合物1-10U/kg
化合物2-10U/kg
化合物3-10U/kg

图3b

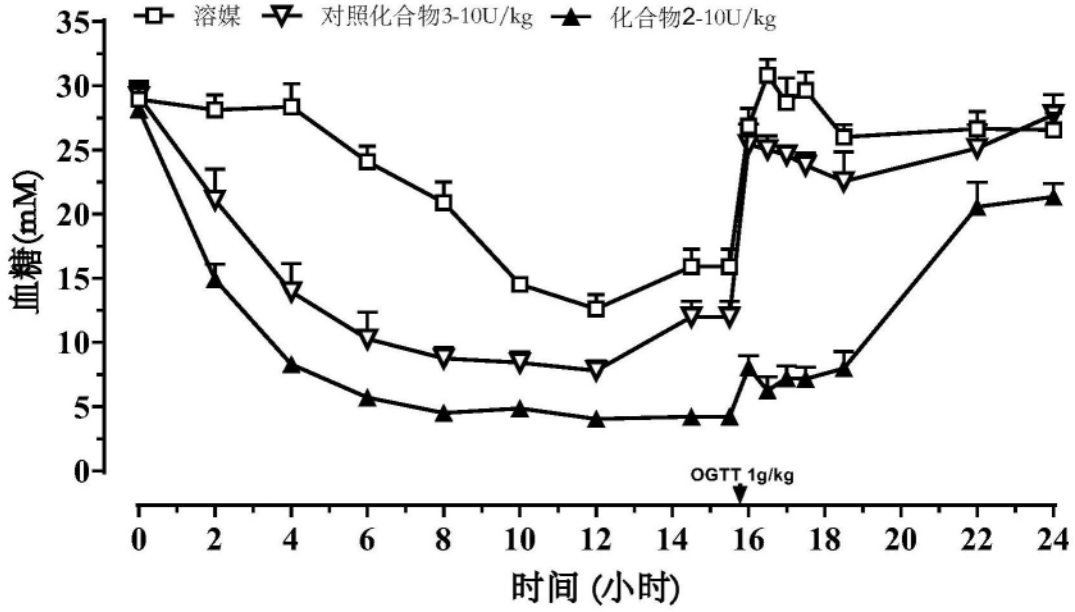

溶媒
对照化合物3-10U/kg
化合物2-10U/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
5
0
OGTT 1g/kg
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
时间 (小时)

图4a

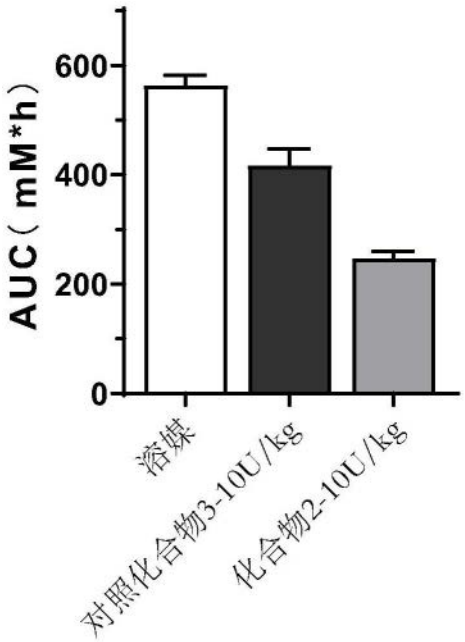

AUC（mM*h）
600
400
200
0
溶媒
对照化合物3-10U/kg
化合物2-10U/kg

图4b

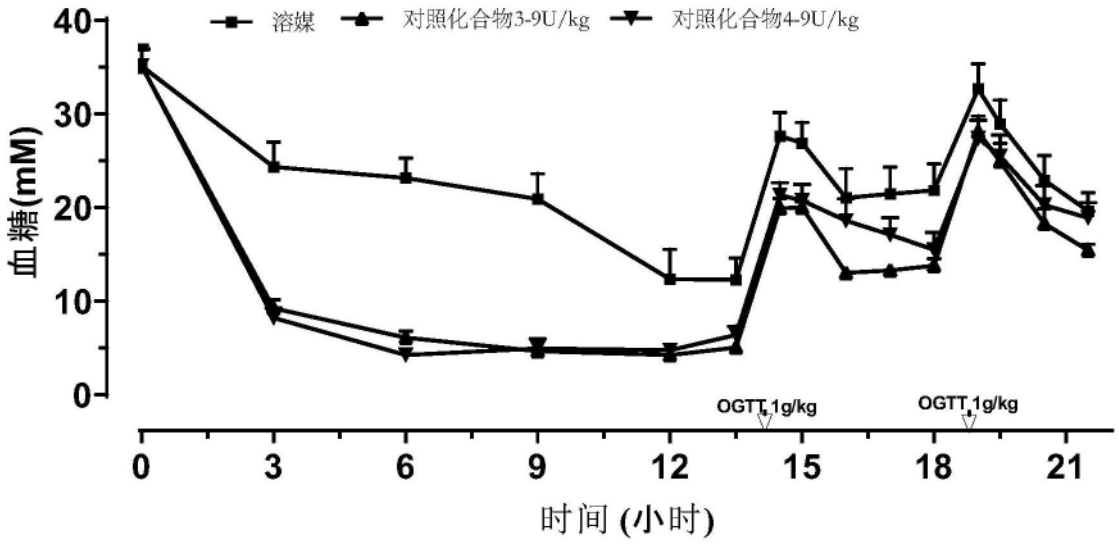

溶媒
对照化合物3-9U/kg
对照化合物4-9U/kg
血糖(mM)
40
30
20
10
0
OGTT 1g/kg
OGTT 1g/kg
0
3
6
9
12
15
18
21
时间 (小时)

图5a

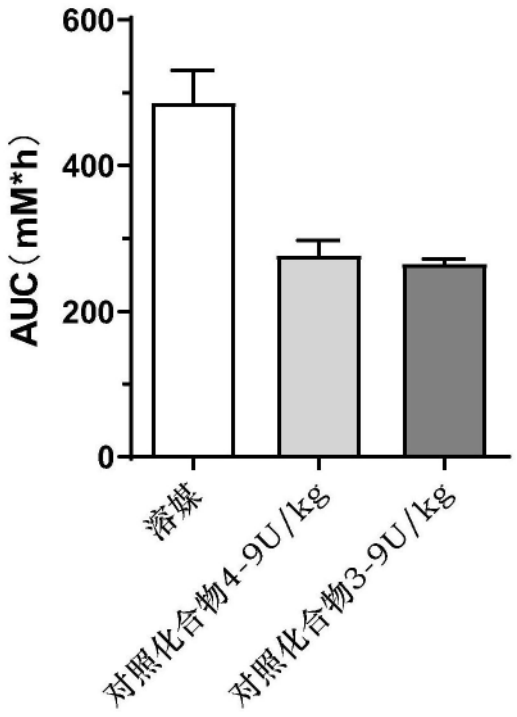

AUC（mM*h）
600
400
200
0
溶媒
对照化合物4-9U/kg
对照化合物3-9U/kg

图5b

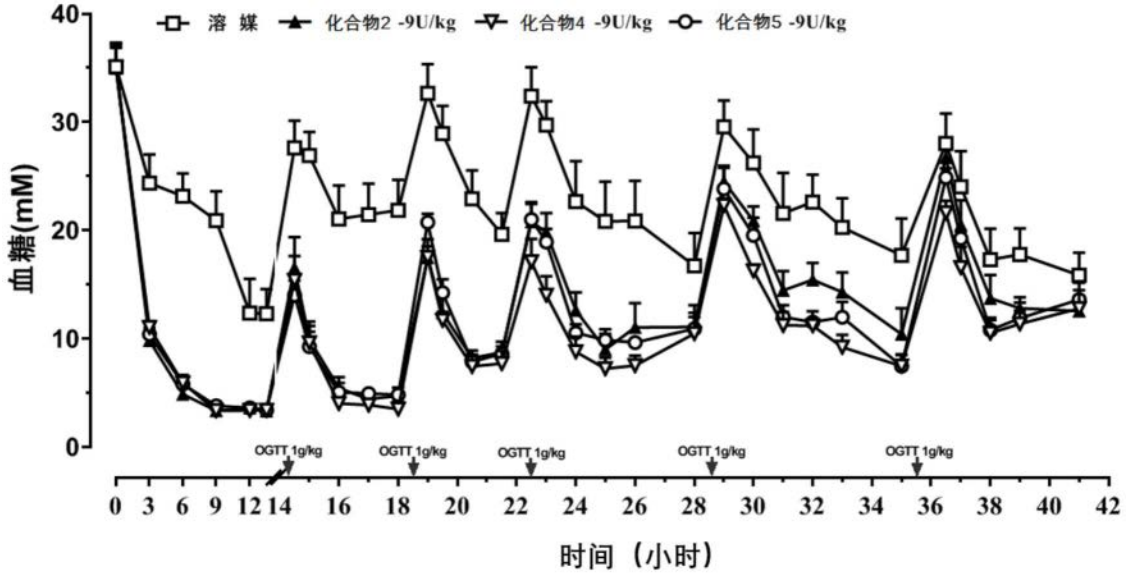

溶 媒
化合物2 -9U/kg
化合物4 -9U/kg
化合物5 -9U/kg
血糖(mM)
40
30
20
10
0
OGTT 1g/kg
OGTT 1g/kg
OGTT 1g/kg
OGTT 1g/kg
OGTT 1g/kg
0 3 6 9 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42
时间（小时）

图6a

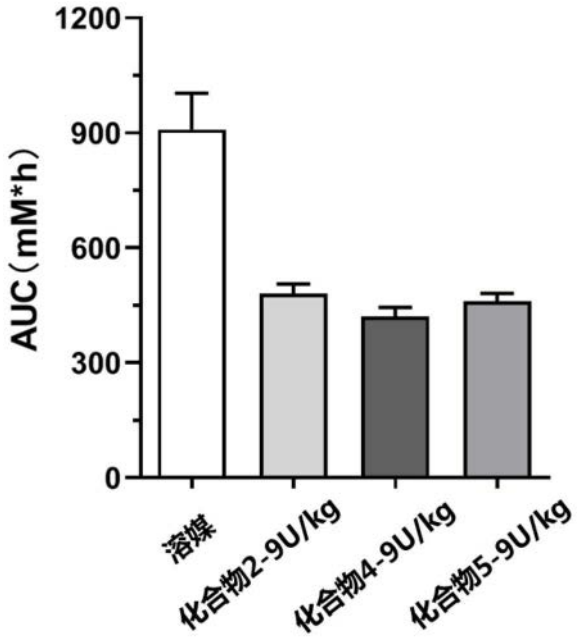

AUC（mM*h）
1200
900
600
300
0
溶媒
化合物2-9U/kg
化合物4-9U/kg
化合物5-9U/kg

图6b

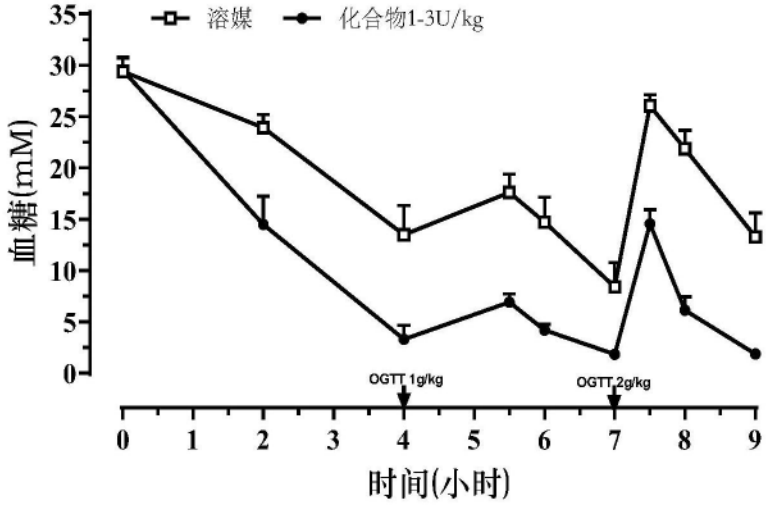

溶媒
化合物1-3U/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
5
0
OGTT 1g/kg
OGTT 2g/kg
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
时间(小时)

图7a

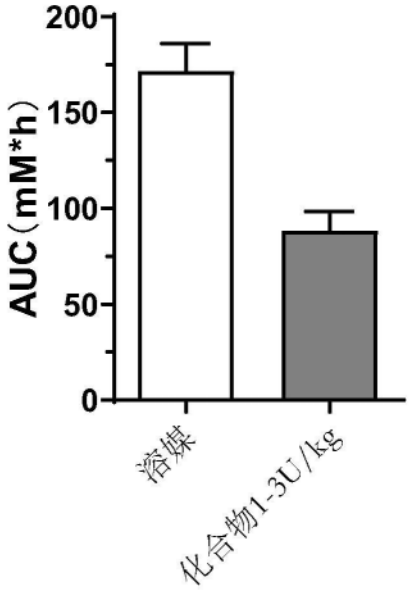

AUC（mM*h）
200
150
100
50
0
溶媒
化合物1-3U/kg

图7b

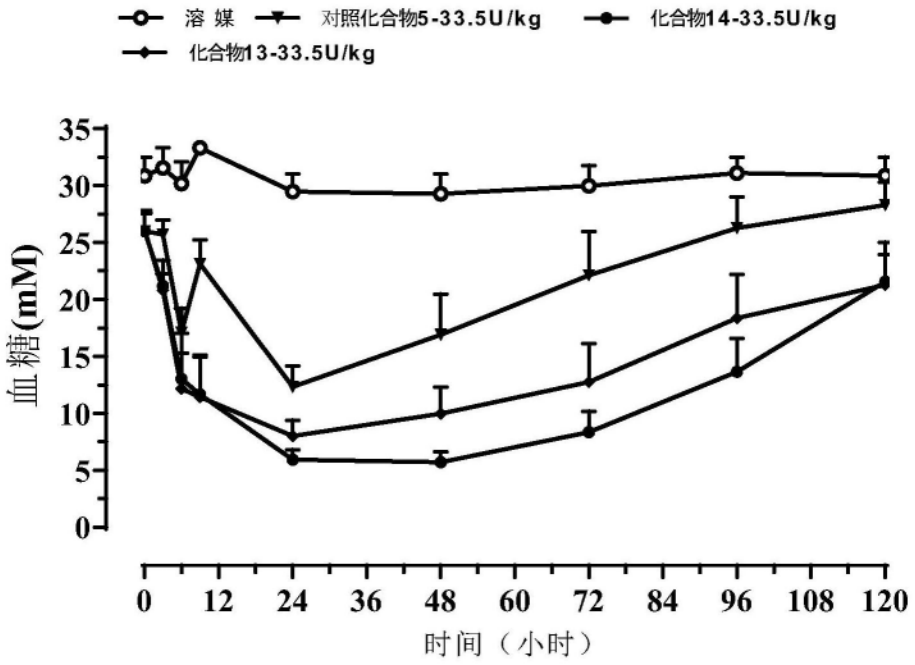

溶 媒
对照化合物5-33.5U/kg
化合物14-33.5U/kg
化合物13-33.5U/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
5
0
0
12
24
36
48
60
72
84
96
108
120
时间（小时）

图8a

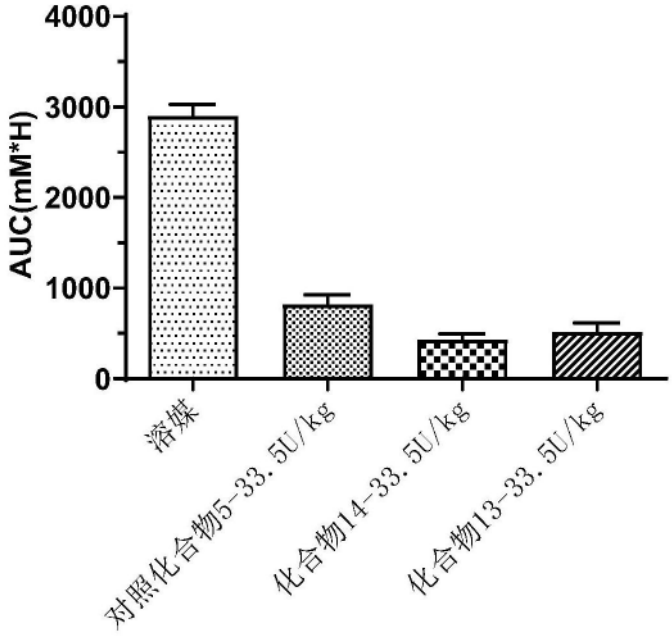

AUC(mM*H)
4000
3000
2000
1000
0
溶媒
对照化合物5-33.5U/kg
化合物14-33.5U/kg
化合物13-33.5U/kg

图8b

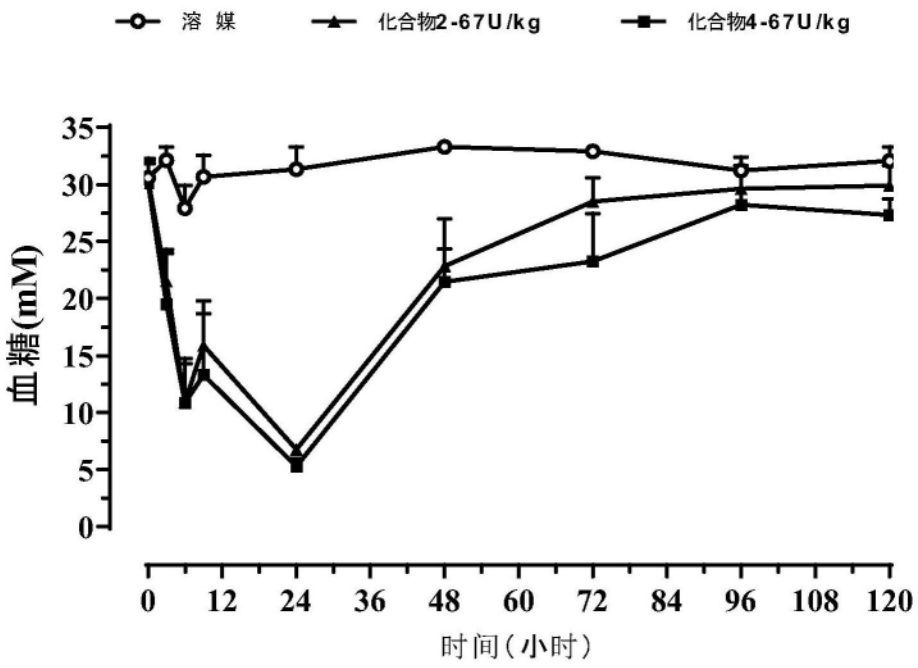

溶 媒
化合物2-67U/kg
化合物4-67U/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
5
0
0 12 24 36 48 60 72 84 96 108 120
时间(小时)

图9a

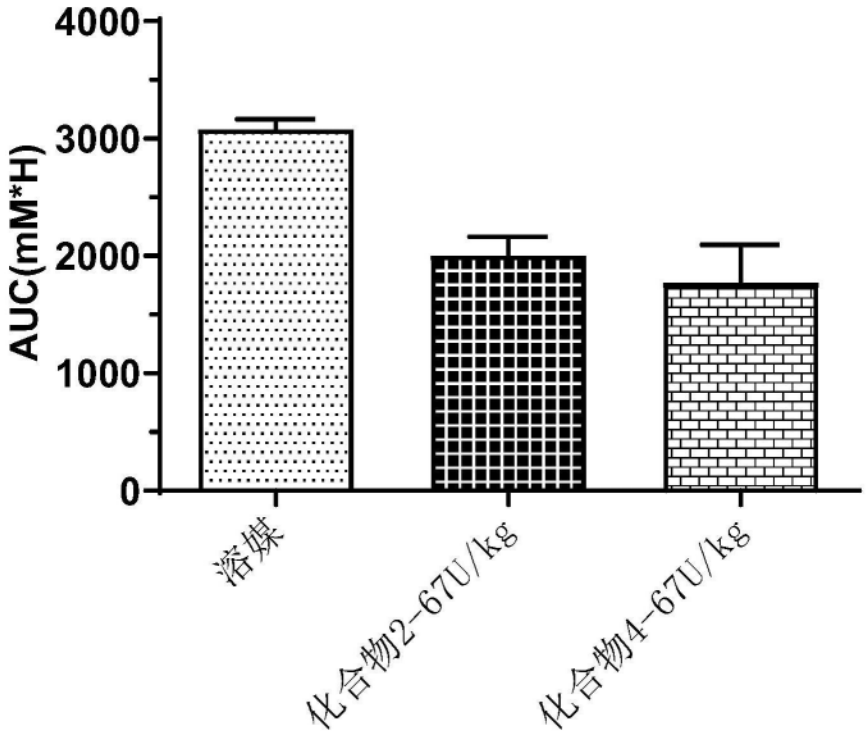

AUC(mM*H)
4000
3000
2000
1000
0
溶媒
化合物2-67U/kg
化合物4-67U/kg

图9b

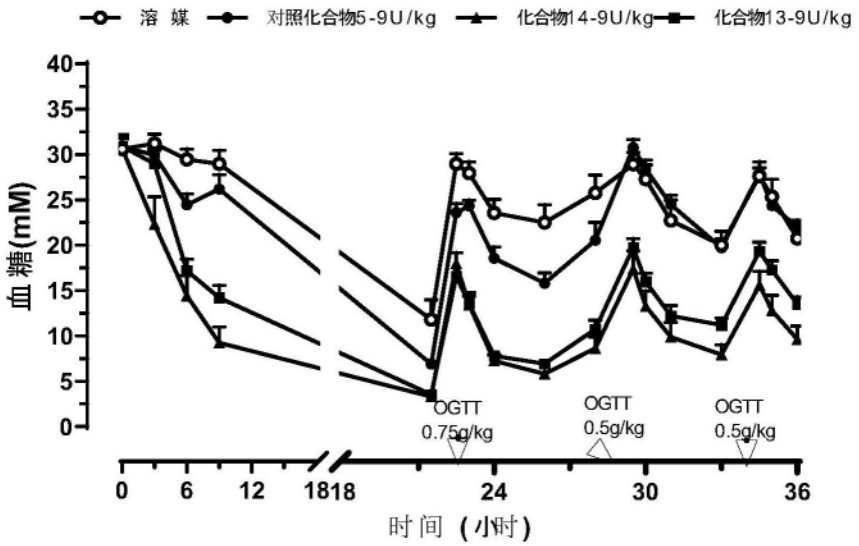

溶 媒
对照化合物5-9U/kg
化合物14-9U/kg
化合物13-9U/kg
血糖(mM)
40
35
30
25
20
15
10
5
0
OGTT
0.75g/kg
OGTT
0.5g/kg
OGTT
0.5g/kg
0
6
12
18
18
24
30
36
时间（小时）

图10a

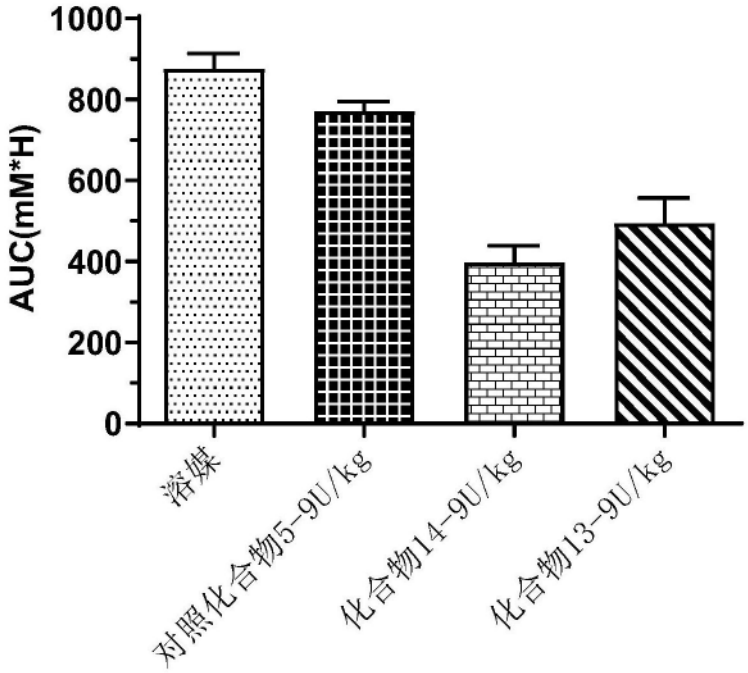

AUC(mM*H)
1000
800
600
400
200
0
溶媒
对照化合物5-9U/kg
化合物14-9U/kg
化合物13-9U/kg

图10b

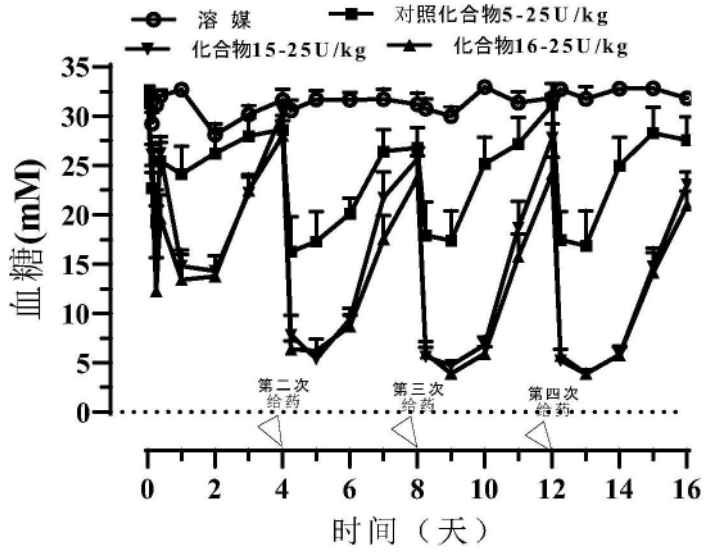

溶 媒
对照化合物5-25U/kg
化合物15-25U/kg
化合物16-25U/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
5
0
第二次给药
第三次给药
第四次给药
0
2
4
6
8
10
12
14
16
时间（天）

图11a

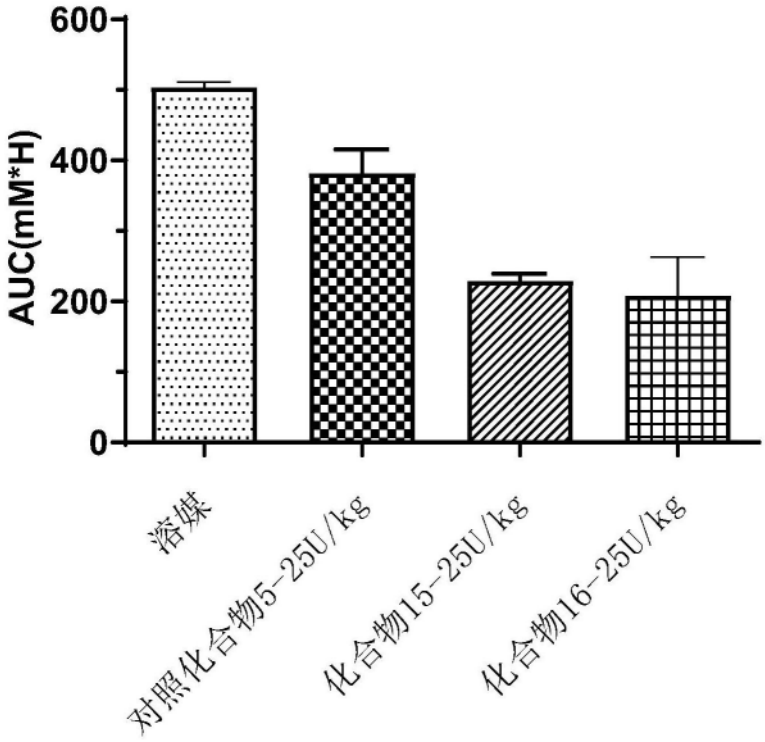

AUC(mM*H)
600
400
200
0
溶媒
对照化合物5-25U/kg
化合物15-25U/kg
化合物16-25U/kg

图11b

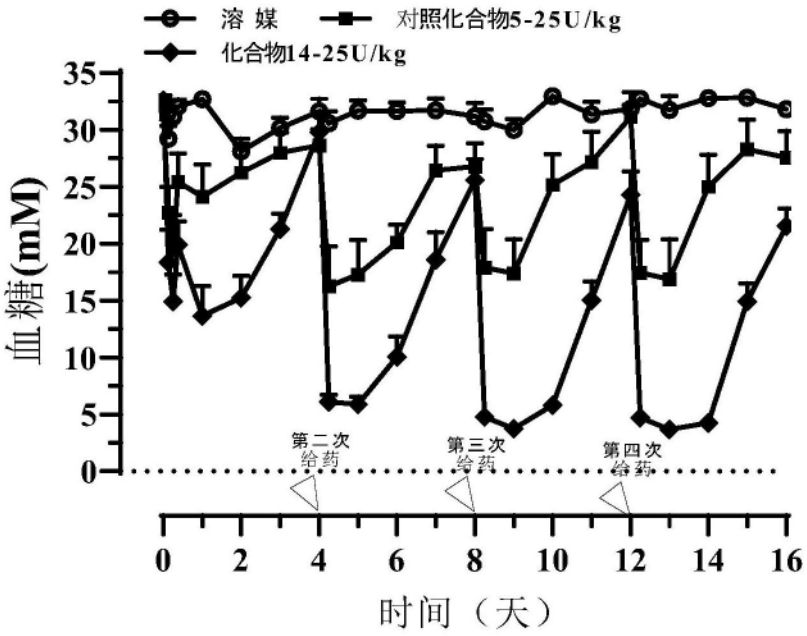

溶 媒
对照化合物5-25U/kg
化合物14-25U/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
5
0
第二次给药
第三次给药
第四次给药
0
2
4
6
8
10
12
14
16
时间（天）

图12a

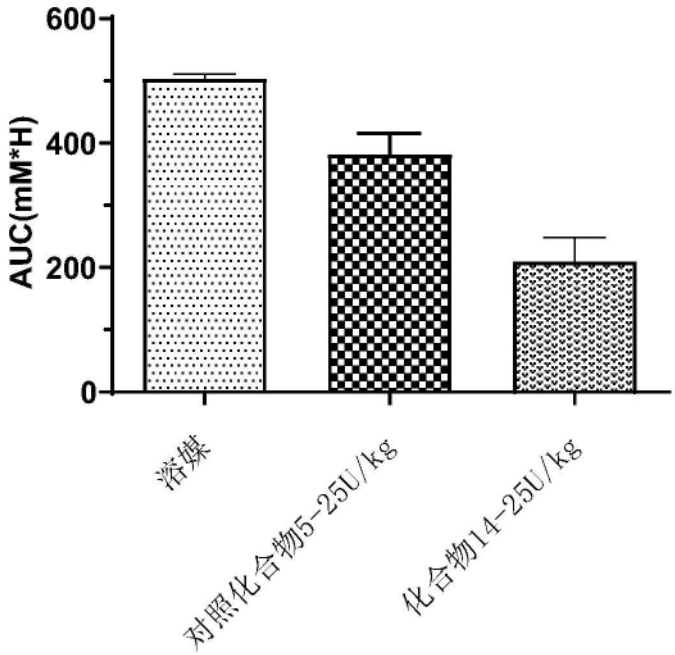

AUC(mM*H)
600
400
200
0
溶媒
对照化合物5-25U/kg
化合物14-25U/kg

图12b

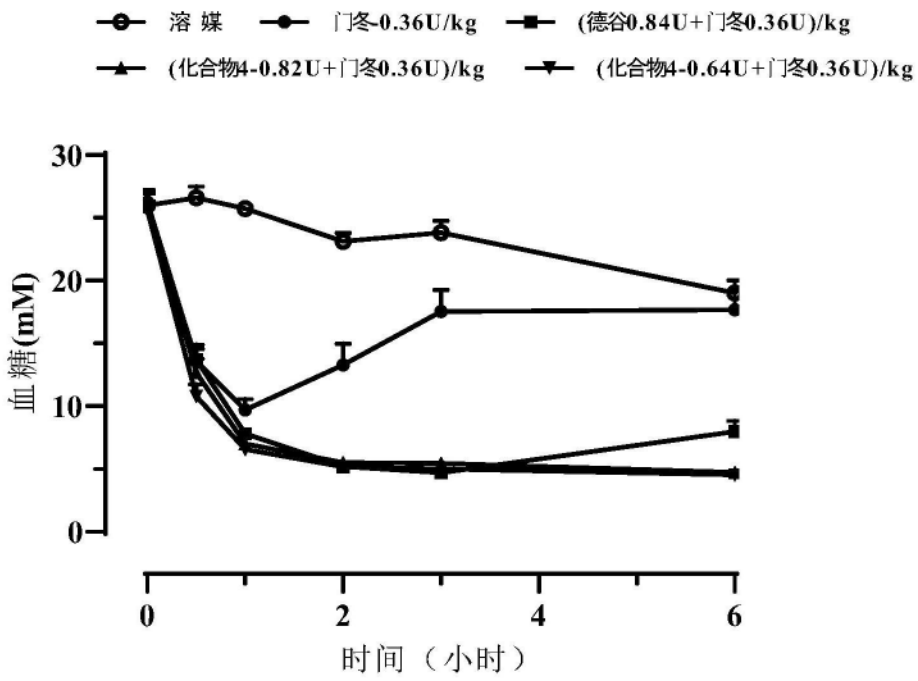

溶 媒
门冬-0.36U/kg
(德谷0.84U+门冬0.36U)/kg
(化合物4-0.82U+门冬0.36U)/kg
(化合物4-0.64U+门冬0.36U)/kg
血糖(mM)
30
20
10
0
0
2
4
6
时间（小时）

图13a

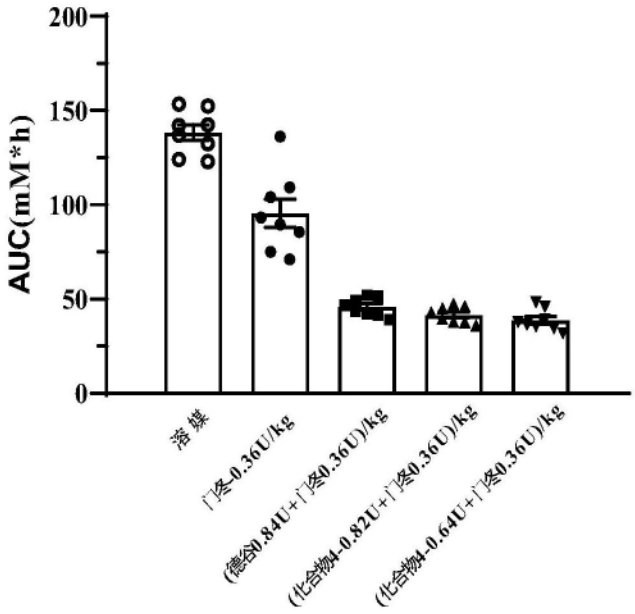

AUC(mM*h)
200
150
100
50
0
溶媒
门冬-0.36U/kg
(德谷0.84U+门冬0.36U)/kg
(化合物4-0.82U+门冬0.36U)/kg
(化合物4-0.64U+门冬0.36U)/kg

图13b

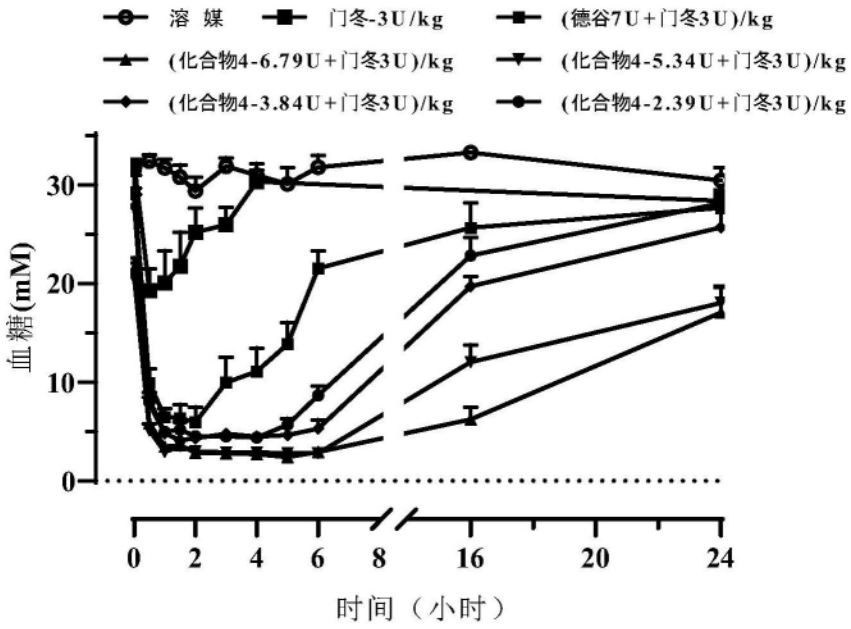

溶 媒
门冬-3U/kg
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-6.79U+门冬3U)/kg
(化合物4-5.34U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.84U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.39U+门冬3U)/kg
血糖(mM)
30
20
10
0
0
2
4
6
8
16
20
24
时间（小时）

图14a

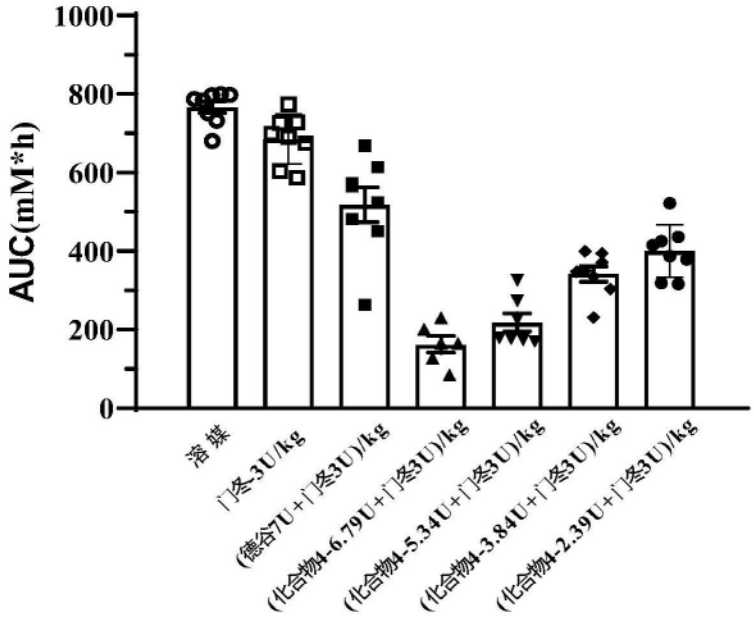

AUC(mM*h)
1000
800
600
400
200
0
溶媒
门冬-3U/kg
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-6.79U+门冬3U)/kg
(化合物4-5.34U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.84U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.39U+门冬3U)/kg

图14b

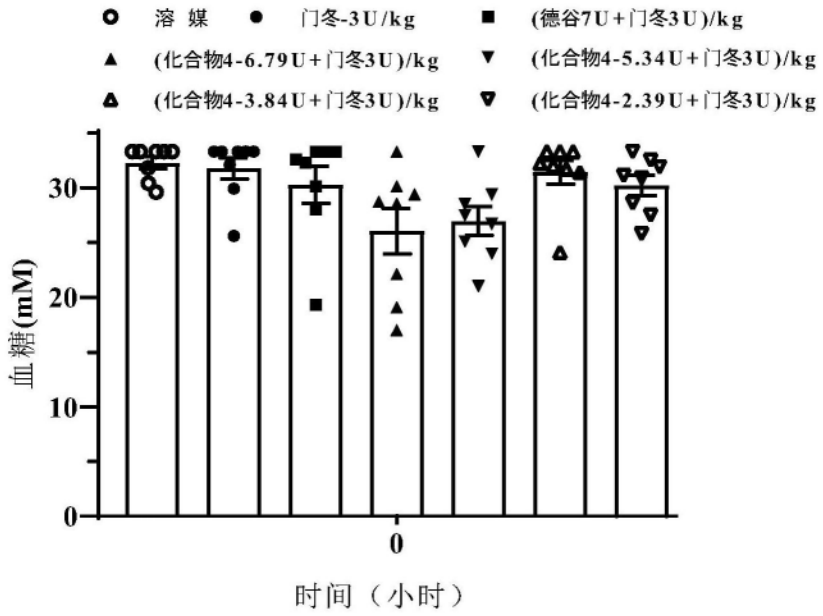

溶 媒
门冬-3U/kg
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-6.79U+门冬3U)/kg
(化合物4-5.34U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.84U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.39U+门冬3U)/kg
血糖(mM)
30
20
10
0
0
时间（小时）

图15a

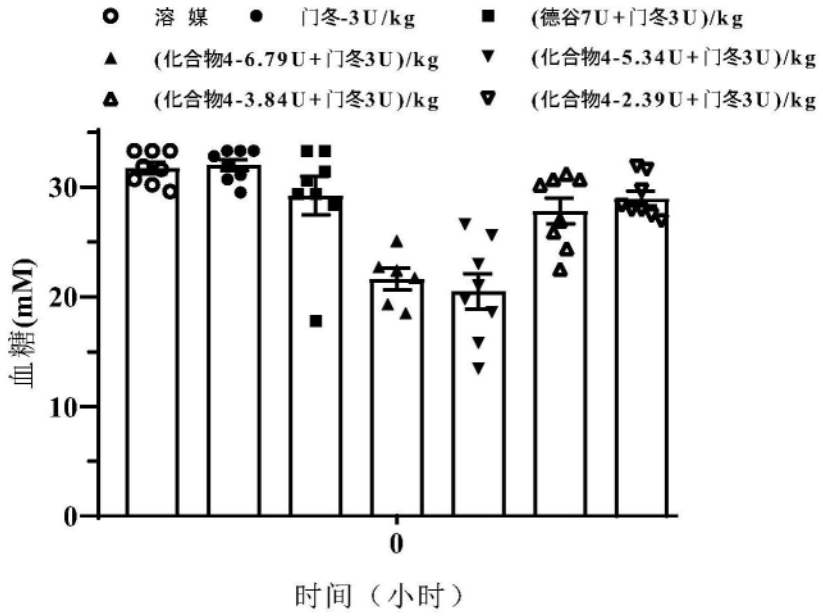

溶 媒
门冬-3U/kg
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-6.79U+门冬3U)/kg
(化合物4-5.34U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.84U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.39U+门冬3U)/kg
血糖(mM)
30
20
10
0
0
时间（小时）

图15b

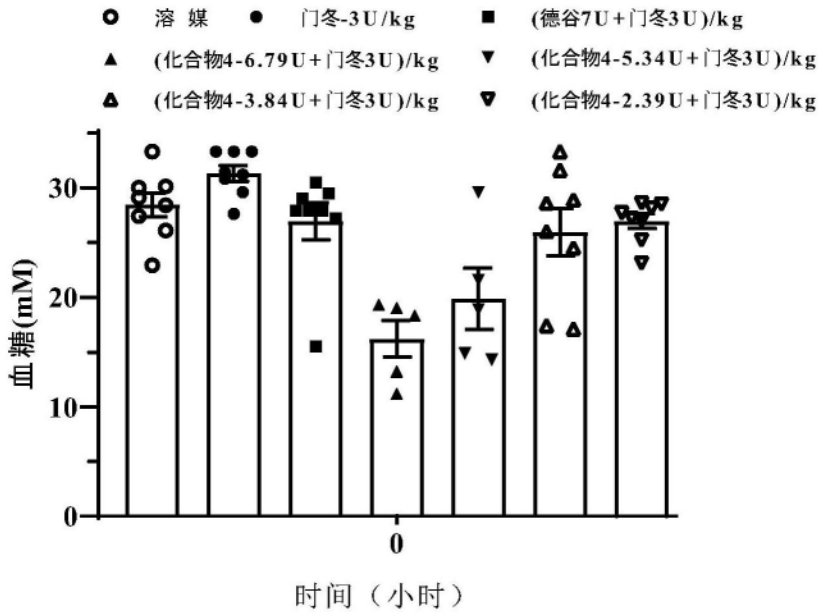

溶 媒
门冬-3U/kg
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-6.79U+门冬3U)/kg
(化合物4-5.34U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.84U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.39U+门冬3U)/kg
血糖(mM)
30
20
10
0
0
时间（小时）

图15c

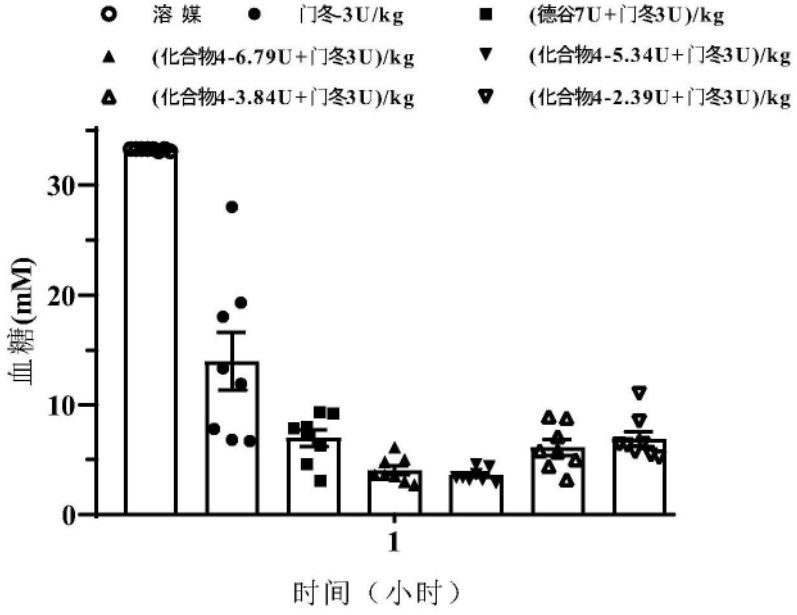

溶 媒
门冬-3U/kg
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-6.79U+门冬3U)/kg
(化合物4-5.34U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.84U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.39U+门冬3U)/kg
血糖(mM)
30
20
10
0
1
时间（小时）

图16a

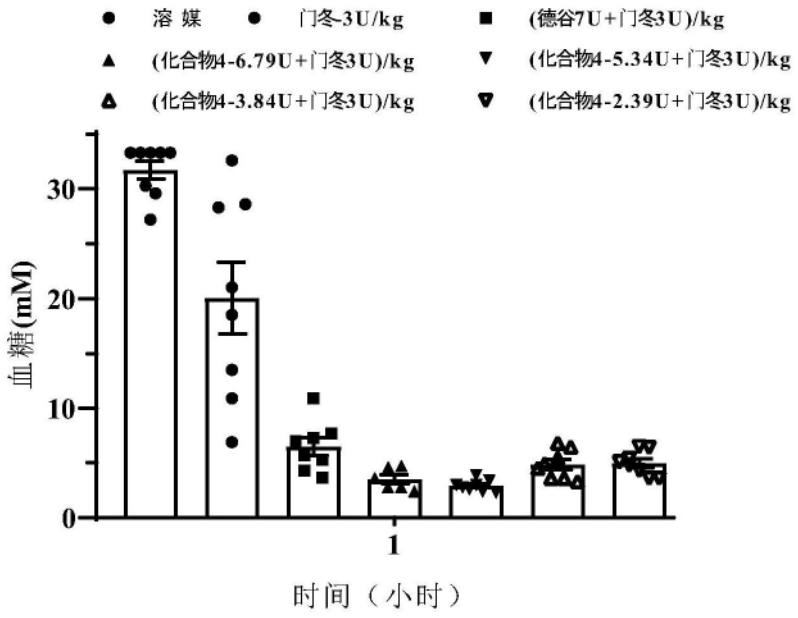

溶 媒
门冬-3U/kg
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-6.79U+门冬3U)/kg
(化合物4-5.34U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.84U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.39U+门冬3U)/kg
血糖(mM)
30
20
10
0
1
时间（小时）

图16b

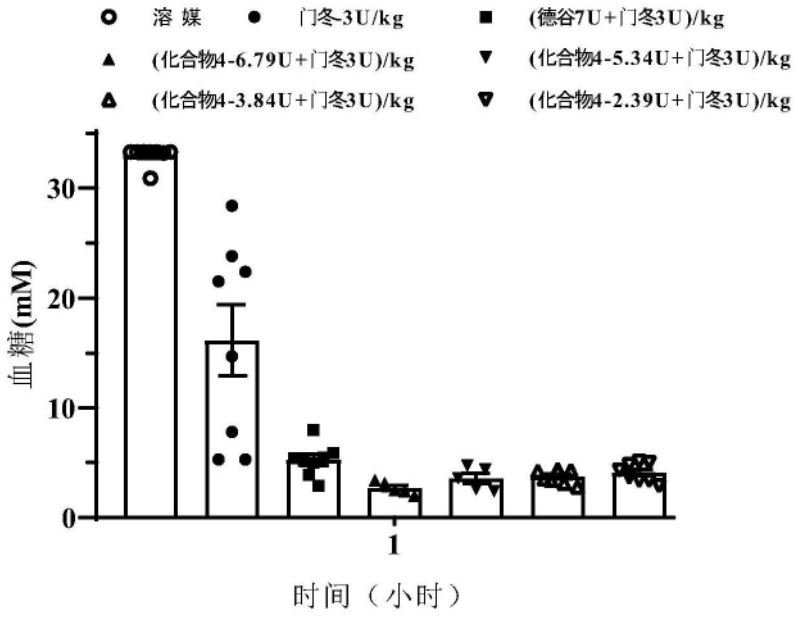

溶 媒
门冬-3U/kg
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-6.79U+门冬3U)/kg
(化合物4-5.34U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.84U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.39U+门冬3U)/kg
血糖(mM)
30
20
10
0
1
时间（小时）

图16c

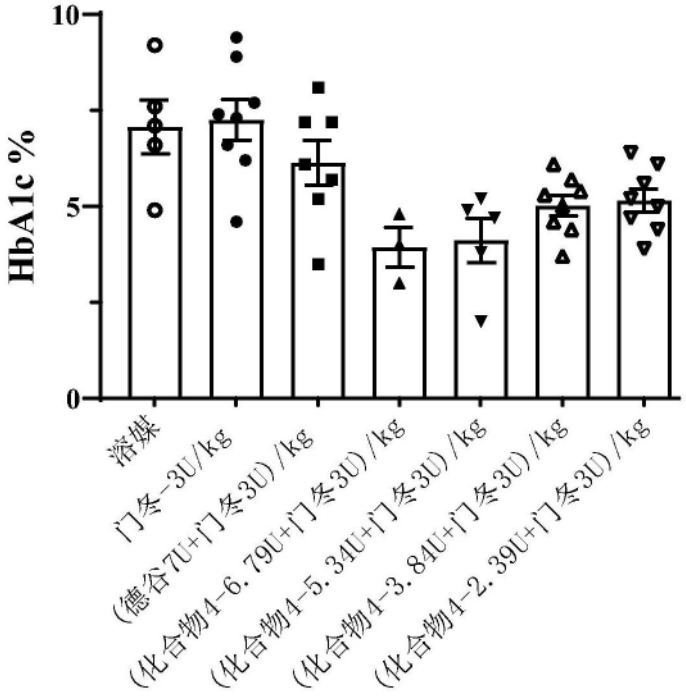

HbA1c %
10
5
0
溶媒
门冬-3U/kg
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-6.79U+门冬3U)/kg
(化合物4-5.34U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.84U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.39U+门冬3U)/kg

图17

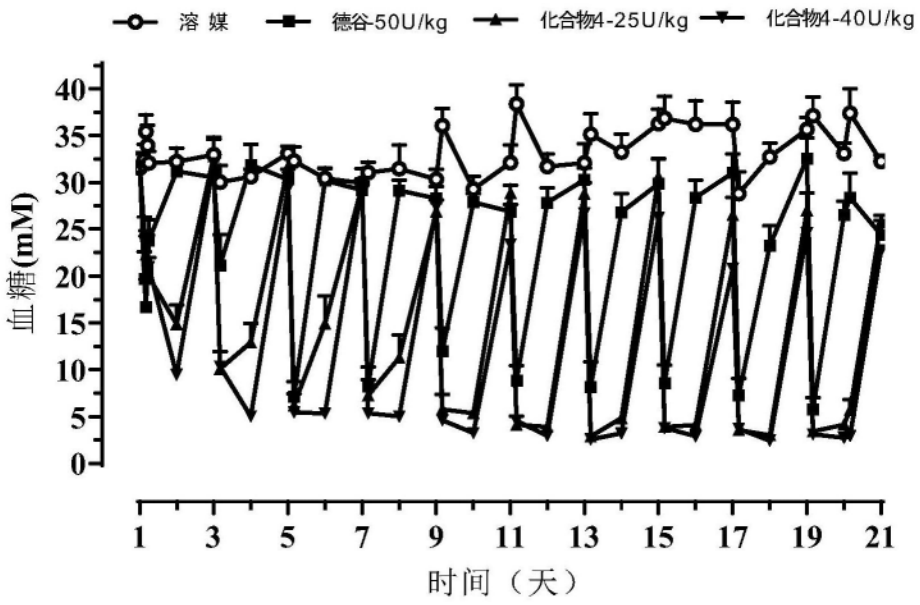

溶 媒
德谷-50U/kg
化合物4-25U/kg
化合物4-40U/kg
血糖(mM)
40
35
30
25
20
15
10
5
0
1
3
5
7
9
11
13
15
17
19
21
时间（天）

图18a

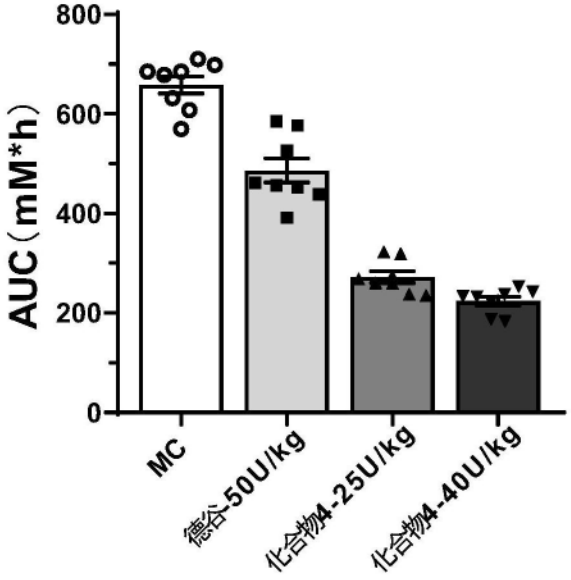

800
600
400
200
0
AUC（mM*h）
MC
德谷-50U/kg
化合物4-25U/kg
化合物4-40U/kg

图18b

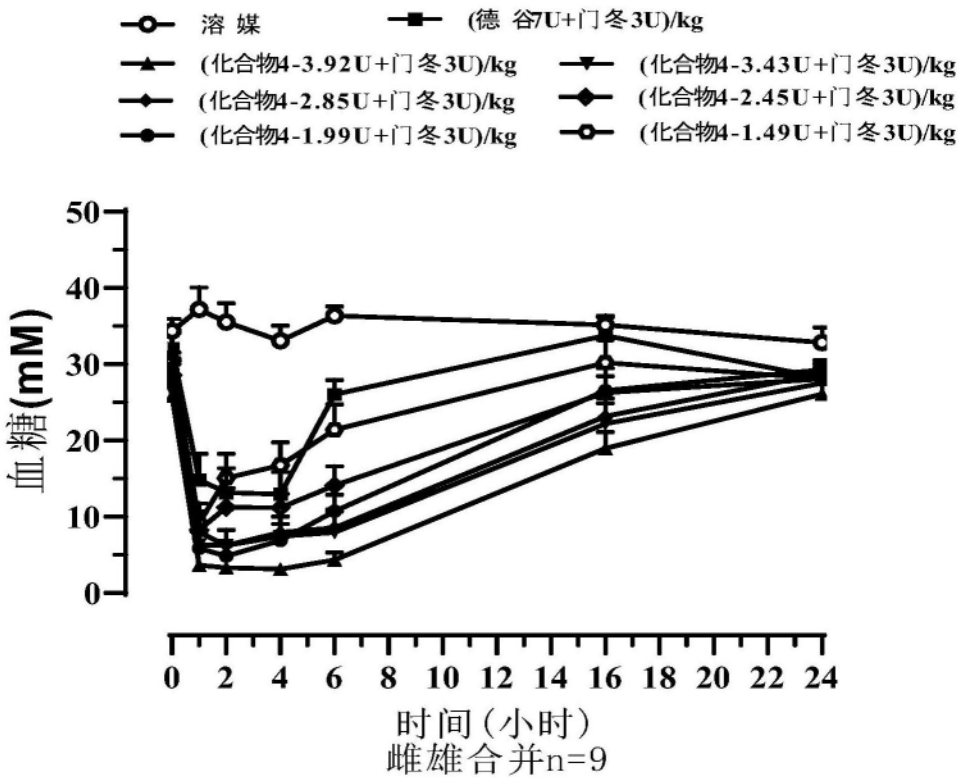

溶 媒
(德 谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.92U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.43U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.85U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.45U+门冬3U)/kg
(化合物4-1.99U+门冬3U)/kg
(化合物4-1.49U+门冬3U)/kg
血糖(mM)
50
40
30
20
10
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24
时间（小时）
雌雄合并n=9

图19a

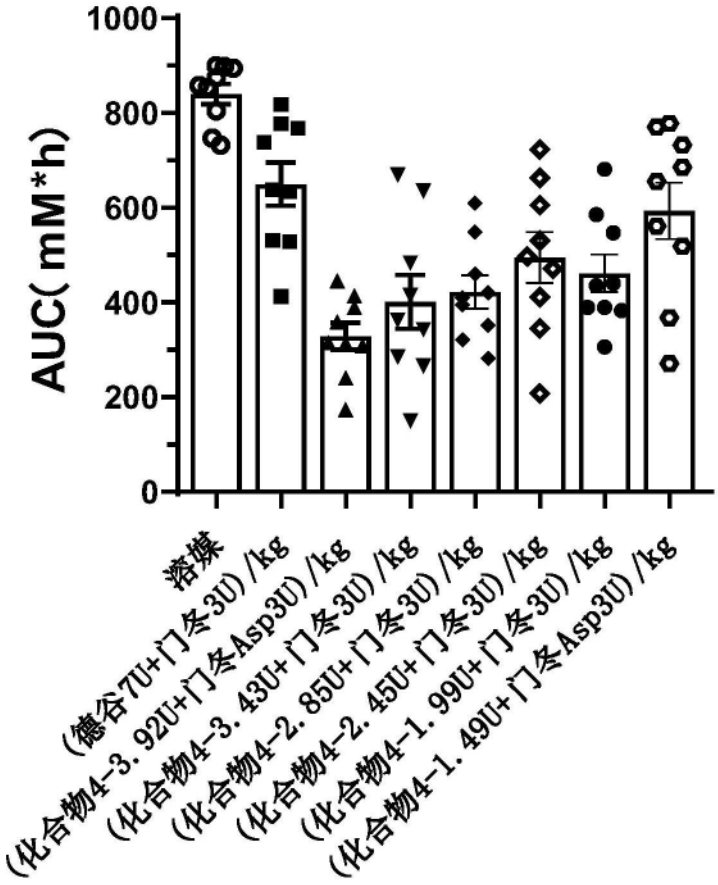

AUC(mM*h)
1000
800
600
400
200
0
溶媒
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.92U+门冬Asp3U)/kg
(化合物4-3.43U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.85U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.45U+门冬3U)/kg
(化合物4-1.99U+门冬3U)/kg
(化合物4-1.49U+门冬Asp3U)/kg

图19b

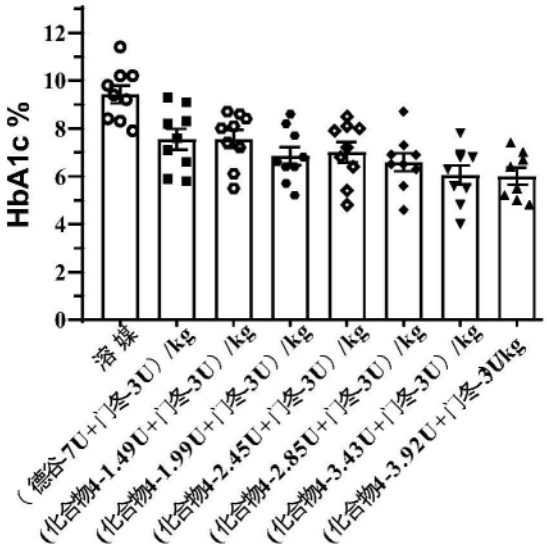

HbA1c %
12
10
8
6
4
2
0
溶媒
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-1.49U+门冬3U)/kg
(化合物4-1.99U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.45U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.85U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.43U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.92U+门冬3Ukg

图20

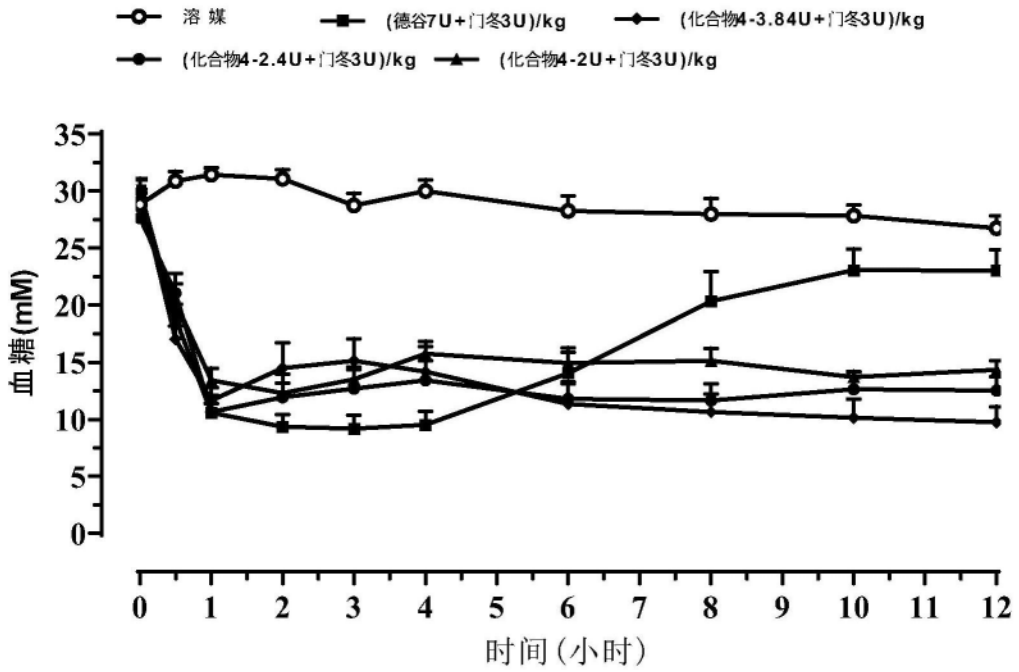

溶 媒
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.84U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.4U+门冬3U)/kg
(化合物4-2U+门冬3U)/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
5
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
时间(小时)

图21a

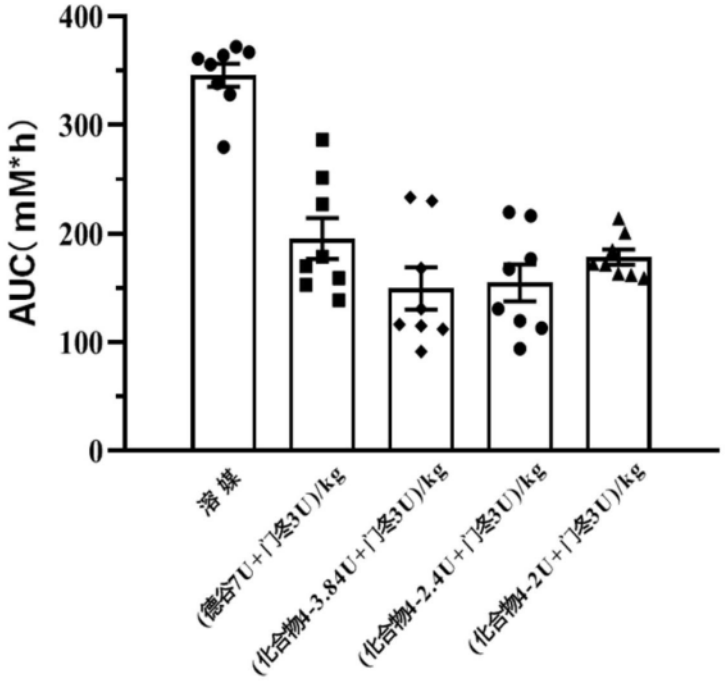

AUC(mM*h)
400
300
200
100
0
溶媒
(德谷7U+门冬3U)/kg
(化合物4-3.84U+门冬3U)/kg
(化合物4-2.4U+门冬3U)/kg
(化合物4-2U+门冬3U)/kg

图21b

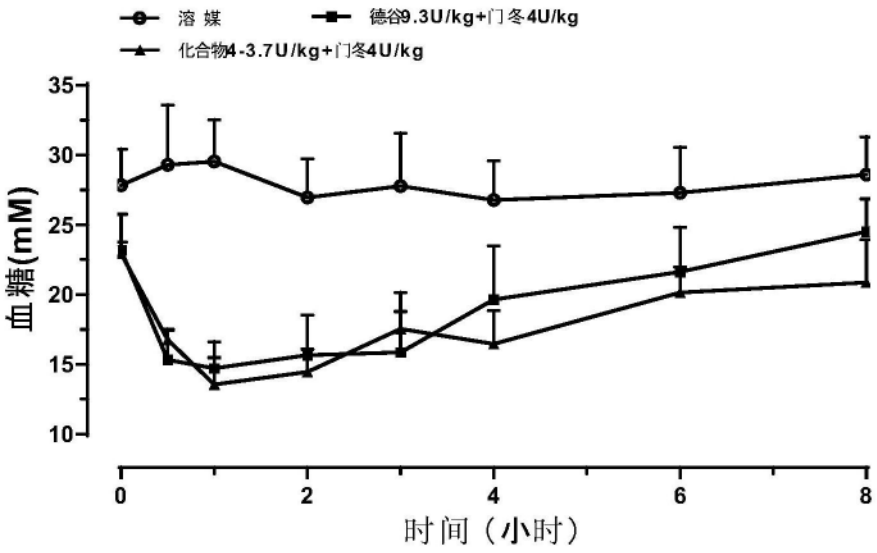

溶媒
德谷9.3U/kg+门冬4U/kg
化合物4-3.7U/kg+门冬4U/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
0
2
4
6
8
时间（小时）

图22(a)

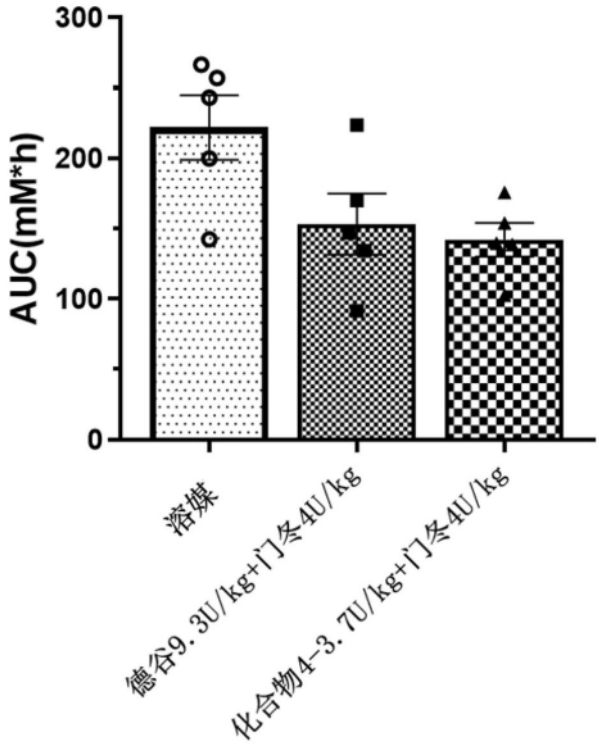

AUC(mM*h)
300
200
100
0
溶媒
德谷9.3U/kg+门冬4U/kg
化合物4-3.7U/kg+门冬4U/kg

图22(b)

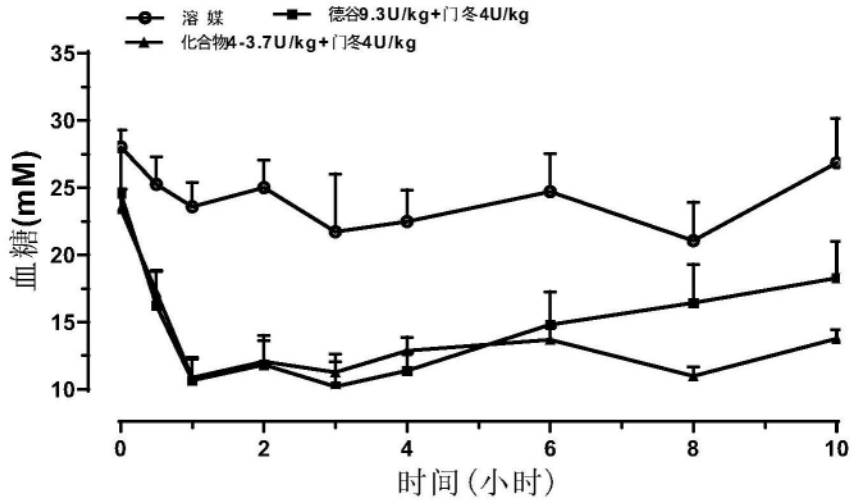

溶媒
德谷9.3U/kg+门冬4U/kg
化合物4-3.7U/kg+门冬4U/kg
血糖(mM)
35
30
25
20
15
10
0
2
4
6
8
10
时间(小时)

图22(c)

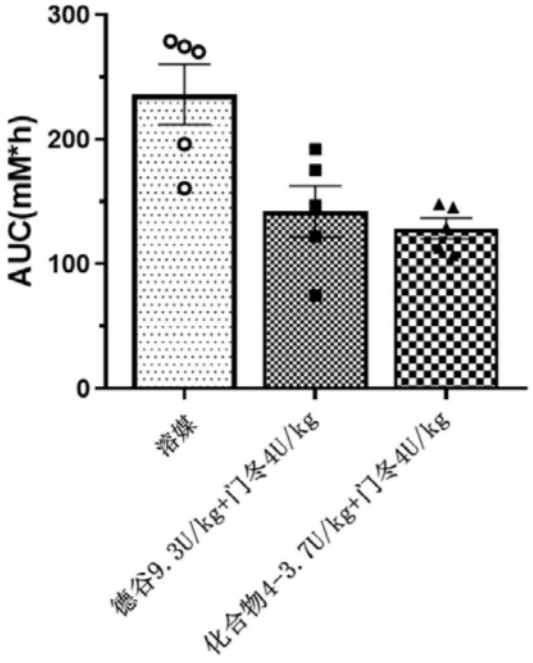

AUC(mM*h)
300
200
100
0
溶媒
德谷9.3U/kg+门冬4U/kg
化合物4-3.7U/kg+门冬4U/kg

图22(d)

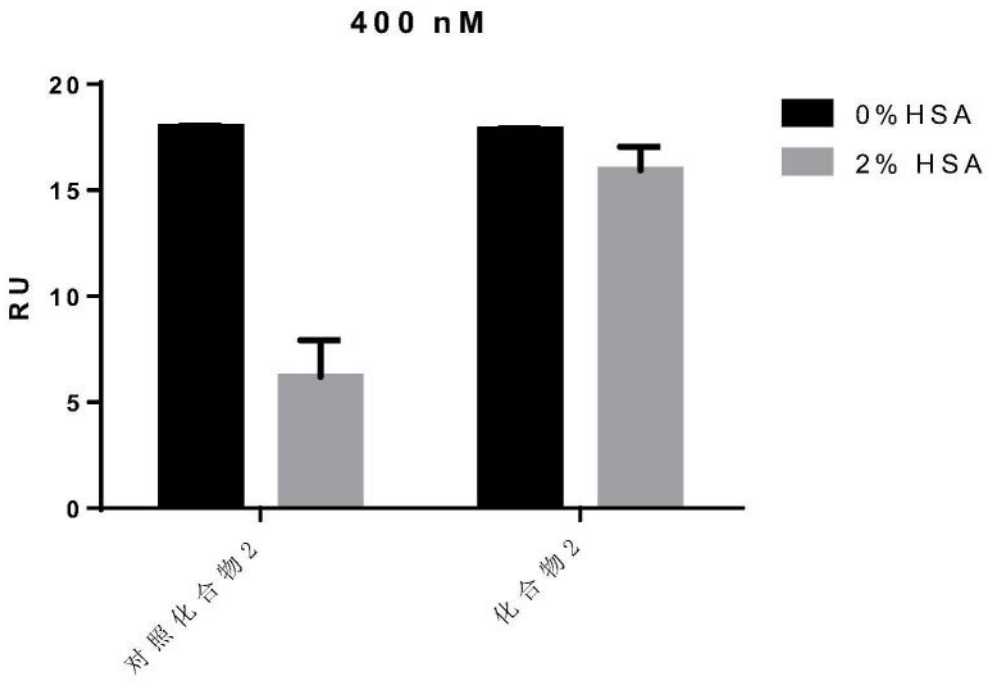

400 nM
RU
20
15
10
5
0
0%HSA
2% HSA
对照化合物2
化合物2

图23

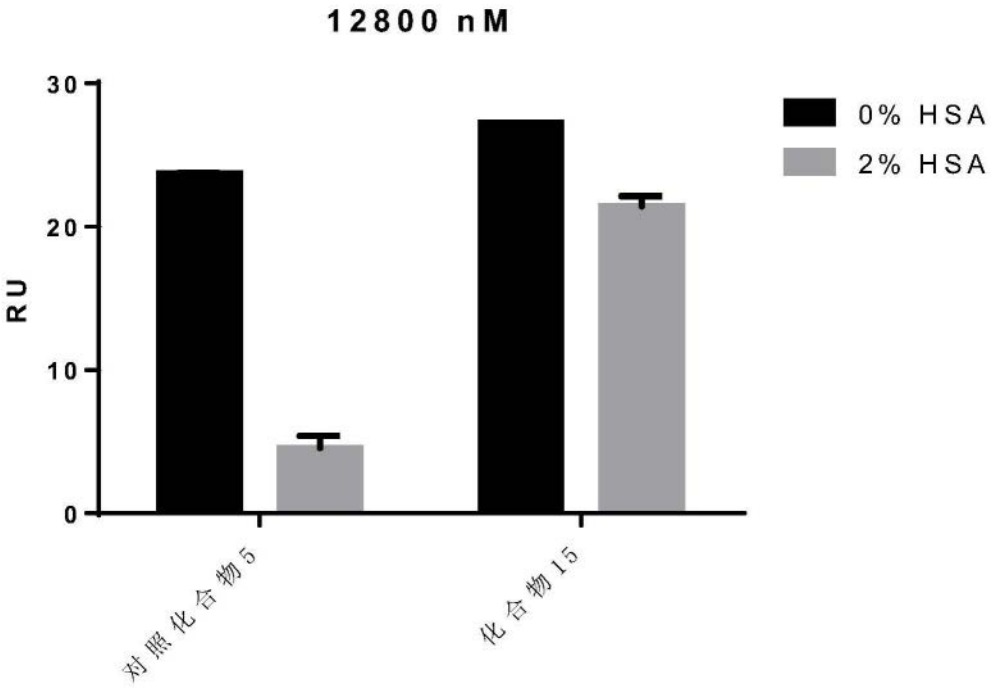

12800 nM
RU
30
20
10
0
0% HSA
2% HSA
对照化合物5
化合物15

图24a

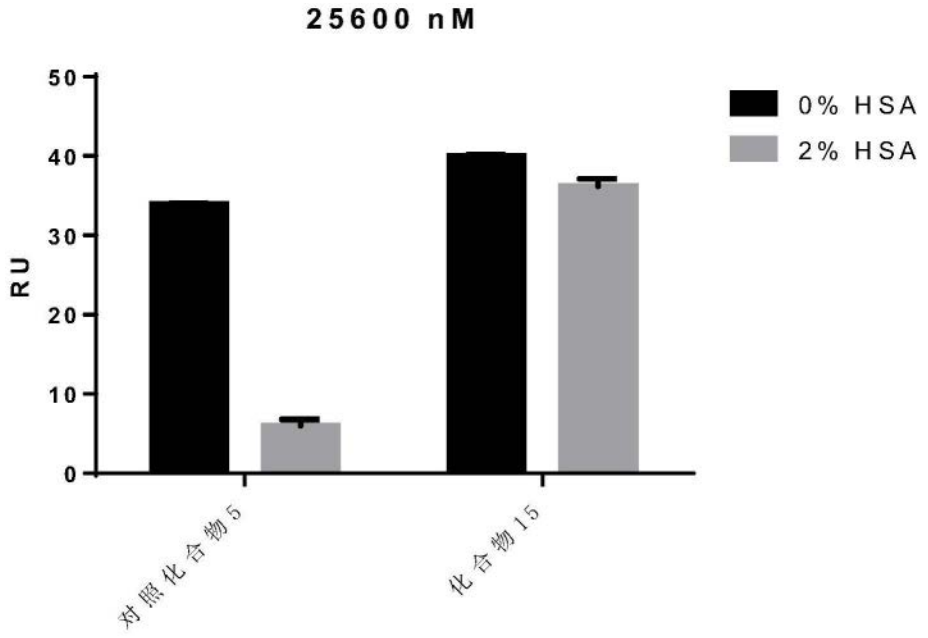

25600 nM
RU
50
40
30
20
10
0
0% HSA
2% HSA
对照化合物5
化合物15

图24b

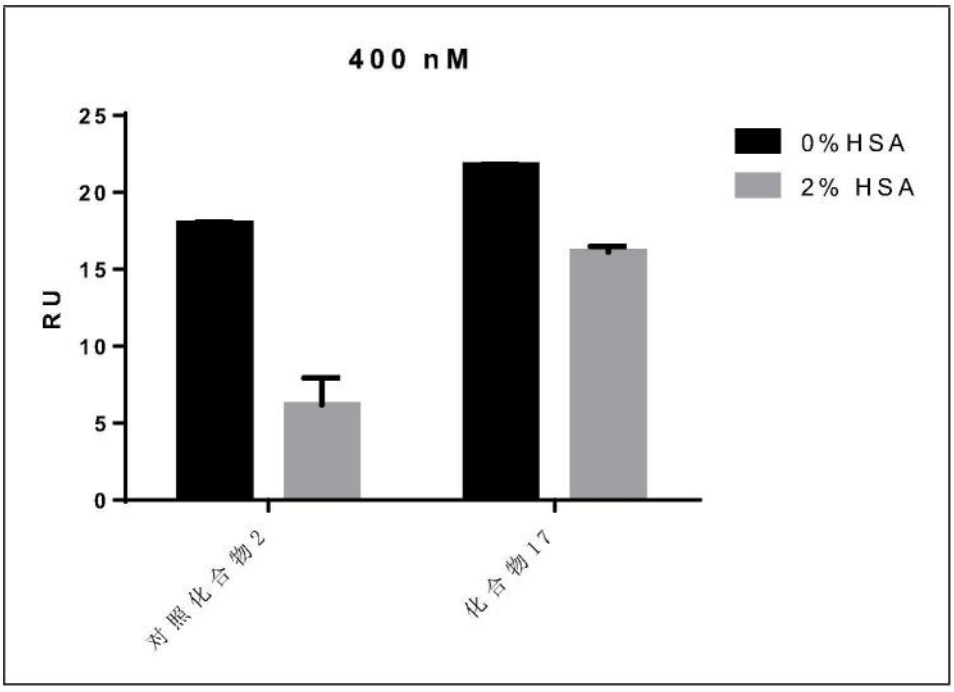

400 nM
RU
25
20
15
10
5
0
0%HSA
2% HSA
对照化合物2
化合物17

图25

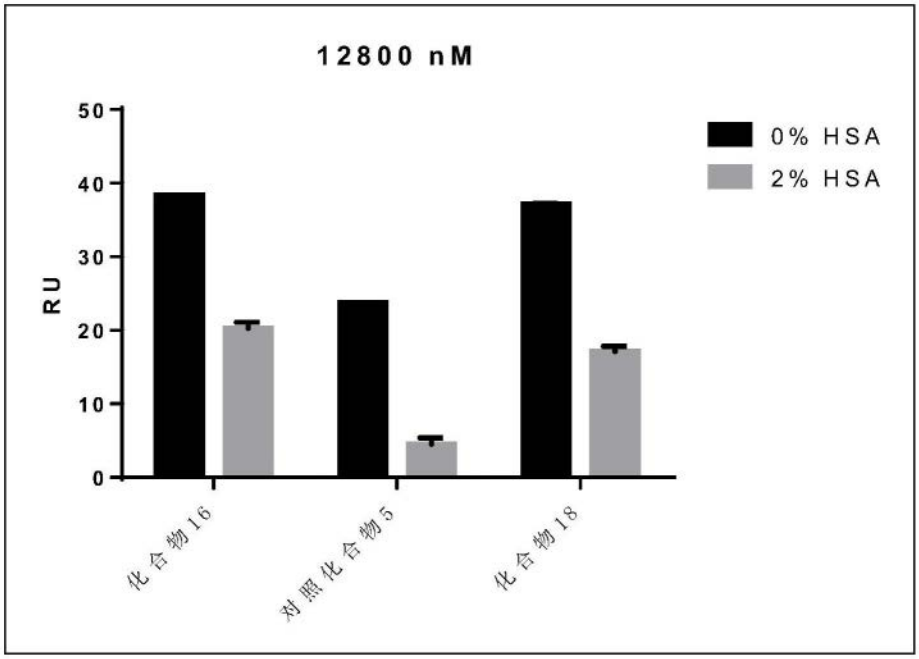

12800 nM
RU
50
40
30
20
10
0
0% HSA
2% HSA
化合物16
对照化合物5
化合物18

图26a

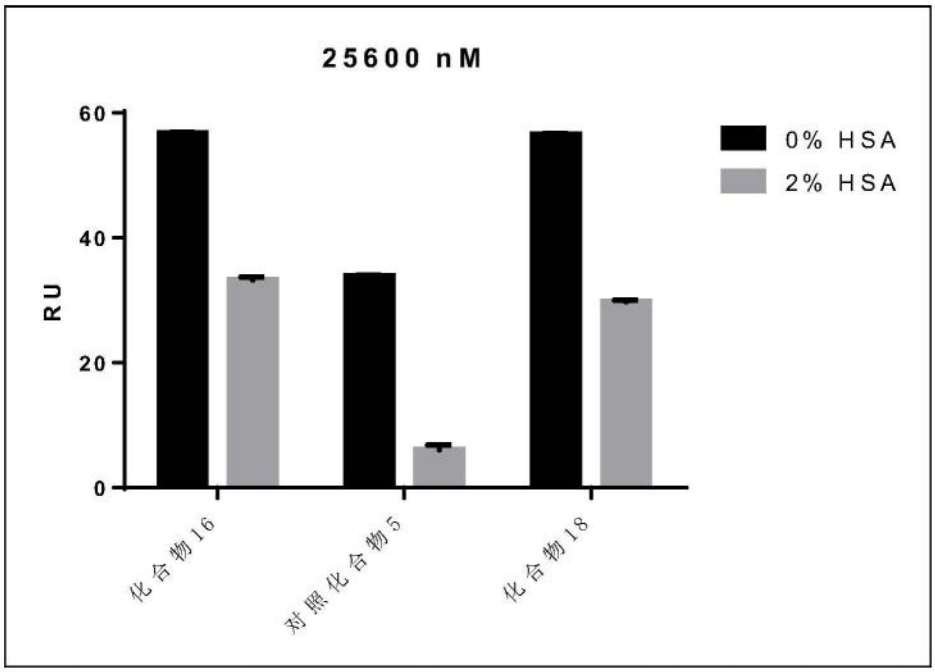

25600 nM
RU
60
40
20
0
0% HSA
2% HSA
化合物16
对照化合物5
化合物18

图26b