

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5675799号
(P5675799)

(45) 発行日 平成27年2月25日(2015.2.25)

(24) 登録日 平成27年1月9日(2015.1.9)

(51) Int.Cl.

F 1

A 6 1 K	38/28	(2006.01)	A 6 1 K	37/26	Z N A
A 6 1 K	9/08	(2006.01)	A 6 1 K	9/08	
A 6 1 K	47/02	(2006.01)	A 6 1 K	47/02	
A 6 1 K	47/10	(2006.01)	A 6 1 K	47/10	
A 6 1 K	47/14	(2006.01)	A 6 1 K	47/14	

請求項の数 19 (全 21 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2012-518920 (P2012-518920)
(86) (22) 出願日	平成22年7月2日(2010.7.2)
(65) 公表番号	特表2012-532179 (P2012-532179A)
(43) 公表日	平成24年12月13日(2012.12.13)
(86) 國際出願番号	PCT/EP2010/059438
(87) 國際公開番号	W02011/003823
(87) 國際公開日	平成23年1月13日(2011.1.13)
審査請求日	平成25年6月24日(2013.6.24)
(31) 優先権主張番号	102009031750.3
(32) 優先日	平成21年7月6日(2009.7.6)
(33) 優先権主張國	ドイツ(DE)
(31) 優先権主張番号	61/264,353
(32) 優先日	平成21年11月25日(2009.11.25)
(33) 優先権主張國	米国(US)

(73) 特許権者	397056695 サノフィー・アベンティス・ドイチュラント ・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンク テル・ハフツング ドイツ連邦共和国デー-65929 フラン クフルト・アム・マイン、ブリュニングシ ユトラーゼ50
(74) 代理人	100127926 弁理士 結田 純次
(74) 代理人	100140132 弁理士 竹林 則幸

最終頁に続く

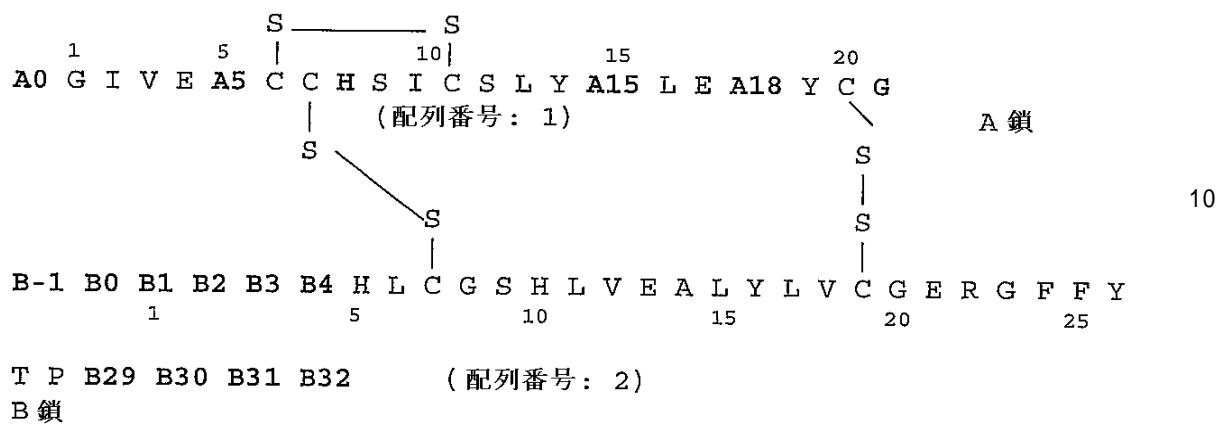
(54) 【発明の名称】 速効性インスリン製剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I

【化 1】



30

[式中、

A 0 は L y s 又は A r g であり；

A 5 は A s p 、 G l n 又は G l u であり；

20

A 15はA s p、G l u又はG l nであり；
 A 18はA s p、G l u又はA s nであり；
 B - 1はA s p、G l u又はアミノ基であり；
 B 0はA s p、G l u又は化学結合であり；
 B 1はA s p、G l u又はP h eであり；
 B 2はA s p、G l u又はV a lであり；
 B 3はA s p、G l u又はA s nであり；
 B 4はA s p、G l u又はG l nであり；
 B 29はL y s又は化学結合であり；
 B 30はT h r又は化学結合であり；
 B 31はA r g、L y s又は化学結合であり；

B 32はA r g - アミド、L y s - アミド又はアミノ基であり、

ここでA 5、A 15、A 18、B - 1、B 0、B 1、B 2、B 3、及びB 4を含む群のうち2つのアミノ酸残基は、同時に、互いに独立して、A s p若しくはG l u、又はその薬理学的に許容される塩である】

のインスリンアナログを含んでなり；そして

0.001～0.2 m g / m l の亜鉛、
 0.1～5.0 m g / m l の保存剤、及び
 5.0～10.0 m g / m l の等張化剤

を含んでなり、そして

そのp Hが5又はそれ以下である、水性医薬製剤。

【請求項2】

インスリンアナログが：

A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l u (A 5) , A s p (A 18) , G l y (A 21) , A r g (B 31) , A r g (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l u (A 5) , A s p (A 18) , G l y (A 21) , A r g (B 31) , L y s (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l u (A 15) , A s p (A 18) , G l y (A 21) , A r g (B 31) , A r g (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l u (A 15) , A s p (A 18) , G l y (A 21) , A r g (B 31) , L y s (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l u (A 5) , G l u (A 15) , G l y (A 21) , A r g (B 31) , L y s (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l u (A 5) , G l u (A 15) , G l y (A 21) , A r g (B 31) , A r g (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l u (A 5) , G l u (A 15) , G l y (A 21) , A r g (B 31) , L y s (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l u (A 5) , G l y (A 21) , A s p (B 3) , A r g (B 31) , A r g (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l u (A 5) , G l y (A 21) , A s p (B 3) , A r g (B 31) , L y s (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l u (A 15) , G l y (A 21) , A s p (B 3) , A r g (B 31) , A r g (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l u (A 15) , G l y (A 21) , A s p (B 3) , A r g (B 31) , L y s (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , A s p (A 18) , G l y (A 21) , A s p (B 3) , A r g (B 31) , A r g (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , A s p (A 18) , G l y (A 21) , A s p (B 3) , A r g (B 31) , L y s (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l y (A 21) , A s p (B 3) , A r g (B 31) , A r g (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l y (A 21) , A s p (B 3) , A r g (B 31) , L y s (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , G l y (A 21) , A s p (B 3) , A r g (B 31) , A r g (B 32) - N H₂ヒトインスリン、
 A r g (A 0) , H i s (A 8) , A s p (B 3) , G l u (B 4) , G l y (B 4) , G l u (B 4) , A s p (B 4) , G l u (B 4)

), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A5), Gly(A21), Glu(B4)
), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A5), Gly(A21), Glu(B4)
), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A15), Gly(A21), Glu(B4), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A15), Gly(A21), Glu(B4), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Asp(A18), Gly(A21), Glu(B4), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Asp(A18), Gly(A21), Glu(B4), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A5), Gly(A21), Glu(B0), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A5), Gly(A21), Glu(B0), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A15), Gly(A21), Glu(B0), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A15), Gly(A21), Glu(B0), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Asp(A18), Gly(A21), Glu(B0), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Asp(A18), Gly(A21), Glu(B0), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A5), Gly(A21), Asp(B1), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A5), Gly(A21), Asp(B1), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A15), Gly(A21), Asp(B1), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Glu(A15), Gly(A21), Asp(B1), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Asp(A18), Gly(A21), Asp(B1), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Asp(A18), Gly(A21), Asp(B1), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Gly(A21), Glu(B0), Asp(B1), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Gly(A21), Glu(B0), Asp(B1), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Gly(A21), Glu(B0), Asp(B1), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Asp(A18), Gly(A21), Asp(B1), Arg(B31), Arg(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Asp(A18), Gly(A21), Asp(B1), Arg(B31), Lys(B32)-NH₂ヒトインスリン、
 Arg(A0), His(A8), Lys(B31)-NH₂ヒトインスリン
 を含む群より選択される、請求項1に記載の医薬製剤。

【請求項3】

保存剤が、フェノール、m-クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、及びパラベンを含む群より選択される、請求項1又は2に記載の医薬製剤。

【請求項4】

保存剤が、m - クレゾールを1～3 mg / mlの濃度で含んでなる、請求項3に記載の医薬製剤。

【請求項5】

等張化剤が、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、デキストロース、トレハロース、塩化ナトリウム、及びグリセリンを含む群より選択される、請求項1～4のいずれか1項に記載の医薬製剤。

【請求項6】

等張化剤が、グリセリンを20～30 mg / mlの濃度で含んでなる、請求項5に記載の医薬製剤。

【請求項7】

pH 2.5～4.5の範囲のpHを有する、請求項1～6のいずれか1項に記載の医薬製剤。

10

【請求項8】

pH 3.0～4.0の範囲のpHを有する、請求項7に記載の医薬製剤。

【請求項9】

インスリン、インスリンアナログ及び／又はインスリン誘導体が240～3000 nmol / mlの濃度で存在する、請求項1～8のいずれか1項に記載の医薬製剤。

【請求項10】

亜鉛を0.01又は0.03又は0.08 mg / mlの濃度で含んでなる、請求項1～9のいずれか1項に記載の医薬製剤。

20

【請求項11】

グルカゴン様ペプチド-1 (GLP1) 若しくはそのアナログ若しくは誘導体、又はエキセンジン-3及び／若しくは-4若しくはそのアナログ若しくは誘導体をさらに含んでなる、請求項1～10のいずれか1項に記載の医薬製剤。

【請求項12】

エキセンジン-4のアナログが、

H - des Pro³⁶ - エキセンジン-4 - Lys₆ - NH₂、

H - des (Pro^{36,37}) - エキセンジン-4 - Lys₄ - NH₂、

H - des (Pro^{36,37}) - エキセンジン-4 - Lys₅ - NH₂、

des Pro³⁶[Asp²⁸] エキセンジン-4 (1-39)、

30

des Pro³⁶[IsoAsp²⁸] エキセンジン-4 (1-39)、

des Pro³⁶[Met(O)¹⁴, Asp²⁸] エキセンジン-4 (1-39)、

des Pro³⁶[Met(O)¹⁴, IsoAsp²⁸] エキセンジン-4 (1-39)、

des Pro³⁶[Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸] エキセンジン-2 (1-39)、

des Pro³⁶[Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸] エキセンジン-2 (1-39)

、

des Pro³⁶[Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸] エキセンジン-4 (1-39)及び

des Pro³⁶[Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸] エキセンジン-4 (1-39)、

40

又はその薬理学的に許容される塩

を含む群から選択される、請求項11に記載の医薬製剤。

【請求項13】

ペプチドLys₆-NH₂がエキセンジン-4のアナログのC末端に結合されている、請求項12に記載の医薬製剤。

【請求項14】

エキセンジン-4のアナログが、

H - (Lys)₆ - des Pro³⁶[Asp²⁸] エキセンジン-4 (1-39) - Lys₆ - NH₂、

des Asp²⁸Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ エキセンジン-4 (1-39) - N

50

H_2 ,

$H - (Lys)_6 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Asp^{28}]$ エキセンジン
 $- 4 (1 - 39) - NH_2$ 、
 $H - Asn - (Glu)_5 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Asp^{28}]$ エキセンジン
 $- 4 (1 - 39) - NH_2$ 、
 $des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 $(Lys)_6 - NH_2$ 、
 $H - (Lys)_6 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Asp^{28}]$ エキセンジン
 $- 4 (1 - 39) - (Lys)_6 - NH_2$ 、
 $H - Asn - (Glu)_5 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 $(Lys)_6 - NH_2$ 、
 $H - (Lys)_6 - des Pro^{36} [Trp(O_2)^{25}, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4
 $(1 - 39) - Lys_6 - NH_2$ 、
 $H - des Asp^{28} Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Trp(O_2)^{25}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 NH_2 、
 $H - (Lys)_6 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Trp(O_2)^{25}, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 NH_2 、
 $H - Asn - (Glu)_5 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Trp(O_2)^{25}$
 $, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 NH_2 、
 $des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Trp(O_2)^{25}, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 $(Lys)_6 - NH_2$ 、
 $H - (Lys)_6 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Trp(O_2)^{25}, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 $(Lys)_6 - NH_2$ 、
 $H - Asn - (Glu)_5 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Trp(O_2)^{25}$
 $, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 $(Lys)_6 - NH_2$ 、
 $H - (Lys)_6 - des Pro^{36} [Met(O)^{14}, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4
 $(1 - 39) - Lys_6 - NH_2$ 、
 $des Met(O)^{14} Asp^{28} Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38}$ エキセンジン -
 $4 (1 - 39) - NH_2$ 、
 $H - (Lys)_6 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Met(O)^{14}, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 NH_2 、
 $H - Asn - (Glu)_5 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Met(O)^{14}$
 $, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 NH_2 、
 $des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Met(O)^{14}, Asp^{28}]$ エキセンジン -
 $4 (1 - 39) - (Lys)_6 - NH_2$ 、
 $H - (Lys)_6 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Met(O)^{14}, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 $Lys_6 - NH_2$ 、
 $H - Asn - (Glu)_5 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Met(O)^{14}$
 $, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 $(Lys)_6 - NH_2$ 、
 $H - (Lys)_6 - des Pro^{36} [Met(O)^{14}, Trp(O_2)^{25}, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 $Lys_6 - NH_2$ 、
 $des Asp^{28} Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Met(O)^{14}, Trp(O_2)^{25}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 NH_2 、
 $H - (Lys)_6 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Met(O)^{14}, Trp(O_2)^{25}, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 NH_2 、
 $H - Asn - (Glu)_5 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Met(O)^{14}$
 $, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 NH_2 、
 $des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Met(O)^{14}, Trp(O_2)^{25}, Asp^{28}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 $(Lys)_6 - NH_2$ 、
 $H - (Lys)_6 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Met(O)^{14}, Trp(O_2)^{25}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 NH_2 、
 $H - (Lys)_6 - des Pro^{36}, Pro^{37}, Pro^{38} [Met(O)^{14}, Trp(O_2)^{25}]$ エキセンジン - 4 (1 - 39) -
 $Trp(O_2)^{25}$

(O₂)²⁵, Asp²⁸] エキセンジン - 4 (1 - 39) - (Lys)₆-NH₂,
 H - Asn - (Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴
 , Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸] エキセンジン - 4 (1 - 39) - (Lys)₆-NH₂,
 又はその薬理学的に許容される塩

を含む群より選択される、請求項1_1に記載の医薬製剤。

【請求項 15】

Arg³⁴, Lys²⁶ (N - グルタミル (N - ヘキサデカノイル))) GLP -
 1 (7 - 37) [リラグルチド] 又はその薬理学的に許容される塩をさらに含んでなる、
 請求項1_1に記載の医薬製剤。

【請求項 16】

アミノ酸メチオニンを含んでなる、請求項 1 ~ 1_5のいずれか 1 項に記載の医薬製剤。

【請求項 17】

最大で 10 mg / mlまでの濃度範囲でメチオニンを含んでなる、請求項 1_6に記載の
 医薬製剤。

【請求項 18】

(a) 構成成分を水溶液中に導入する工程、及び

(b) pH を調整する工程

を含んでなる、請求項 1 ~ 1_5のいずれか 1 項に記載の製剤を製造するための方法。

【請求項 19】

請求項 1 ~ 1_5のいずれか 1 項に記載の製剤から構成される、糖尿病を処置するための
 薬剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、

0.001 ~ 0.2 mg / ml の亜鉛、

0.1 ~ 5.0 mg / ml の保存剤、及び

5.0 ~ 100 mg / ml の等張化剤を含んでなり、そして

その pH が 5 又はそれ以下である、インスリンアナログを備えた水性医薬製剤、並びに
 その調製、糖尿病を処置するための使用、及び糖尿病を処置するための薬剤に関する。

【背景技術】

【0002】

世界中で糖尿病に苦しむ人々の数が増加している。彼らの多くはいわゆる I 型糖尿病であり、彼らにとって不十分な内分泌インスリン分泌の代替が唯一の現在可能な治療である。罹患した人々は、生涯、通常は一日に数回のインスリン注射に依存する。II 型糖尿病は、インスリンが常に欠乏しているわけではないという点で I 型糖尿病と対照的であるが、多数の場合に、特に進行した段階において、インスリンでの処置が、必要な場合は経口抗糖尿病薬と組み合わせて、治療の最も有利な形態であると考えられる。

【0003】

健常な個体において、膵臓によるインスリンの放出は血中グルコース濃度と厳密に結びついている。食後に起こるように、上昇した血中グルコースレベルは、インスリン分泌の対応した増加により迅速に釣り合いを取りられる。空腹状態において、血漿インスリンレベルはインスリン感受性器官及び組織へのグルコースの連続的供給に十分であるベースライン値まで低下し、肝臓グルコース産生を夜間は低く維持する。外因性の、通常はインスリンの皮下投与による内因性インスリン分泌の代替は、一般的に、上記の血中グルコースの生理的調節の質には到底及ばない。しばしば、血中グルコースレベルが上方又は下方のいずれかに外れてしまう場合があり、そしてそれらの最も重篤な形態では、これらの場合が生命を脅かすかもしれない。しかし、さらに、長年にわたって上昇した血中グルコースレベルは、初期症状もなく、重大な健康上の危険性を引き起す。米国における大規模な DCCT 研究（非特許文献 1）は、慢性的に上昇した血中グルコースレベルが後期糖尿病合

併症の発症の原因であるということを明確に示した。後期糖尿病合併症は、特定の状況で網膜症、腎症、又はニューロパシーとして顕在化する微小血管及び大血管の傷害であり、失明、腎不全、及び四肢の喪失に至り、そしてさらに、心血管障害の増加した危険性と関連がある。このことから、糖尿病の改善された治療は、血中グルコースを可能な限り生理学的範囲内に近く維持することを第一に目指さなければならないと推測され得る。強化されたインスリン治療という考え方に入ったがえば、これは、速効性及び遅効性のインスリン製剤の、一日に数回の注射を用いて達成されるだろう。速効性製剤は、血中グルコースの食後の上昇の釣り合いをとるために食事時に投与される。遅効性基礎インスリンは、特に夜間に、低血糖を引き起こすことなく、インスリンの基礎供給を確実にするよう意図される。

10

【0004】

インスリンは、51個のアミノ酸から構成されるポリペプチドであり、2つのアミノ酸鎖に分けられる：21個のアミノ酸を有するA鎖、及び30個のアミノ酸を有するB鎖。これらの鎖は2つのジスルフィド架橋で一緒に連結されている。インスリン製剤は、糖尿病治療において長年使用されてきた。このような製剤は天然に存在するインスリンだけでなく、より最近では、インスリン誘導体及びインスリンアナログも使用する。

【0005】

インスリンアナログは、天然に存在するインスリン（すなわち、ヒトインスリン又は動物インスリン）のアナログであり、これらは少なくとも1つの天然に存在するアミノ酸残基の他のアミノ酸での置換、及び／又は少なくとも1つのアミノ酸残基の付加／欠失により、対応する、他の点では同一の天然に存在するインスリンと異なる。問題のアミノ酸は、天然に存在しないアミノ酸であってもよい。

20

【0006】

インスリン誘導体は、天然に存在するインスリン又はインスリンアナログの誘導体であり、これらは化学修飾により得られる。化学修飾は、例えば1つ又はそれ以上の確定された化学基の1つ又はそれ以上のアミノ酸への付加であり得る。一般的に言えば、インスリン誘導体及びインスリンアナログの活性は、ヒトインスリンと比較するといくらか変更されている。

【0007】

作用の開始が加速されたインスリンアナログが特許文献1、特許文献2及び特許文献3に記載されている。特許文献4は、とりわけB27及びB28の置換に関する。特許文献3は、B29位で異なるアミノ酸（好ましくはプロリンであるが、グルタミン酸ではない）を有するインスリンアナログを記載する。

30

【0008】

特許文献2は、場合によりB3及び／又はA21において修飾されていてもよい、B28にリジン又はアルギニンを有するインスリンアナログを含む。

【0009】

特許文献5は、B3におけるアスパラギン及びA5、A15、A18又はA21の位置における少なくとも1つのさらなるアミノ酸の修飾により化学修飾から保護されたインスリンアナログを開示する。

40

【0010】

一般的に言えば、インスリン誘導体及びインスリンアナログは、ヒトインスリンと比較すると、いくらか変更された作用を有する。

【0011】

特許文献6は、B1～B6位における少なくとも1つのアミノ酸がリジン又はアルギニンで置き換えられているインスリンアナログを記載する。特許文献6によれば、このようなインスリンは延長された効果を有する。遅延効果は、特許文献7に記載されるインスリンアナログによっても示される。強化されたインスリン治療の考え方は、基礎インスリンの初期投与によって血糖レベルの安定制御を目指すことにより健康に対する危険性を減らそうと試みる。一般的な基礎インスリンの一例は、Lantus（登録商標）薬（活性成

50

分：インスリングラルギン＝Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32)ヒトインスリン）である。一般的に言えば、新規な改善された基礎インスリンの開発における目的は、低血糖事象の数を最少にすることである。理想的な基礎インスリンは、少なくとも24時間、各患者において安全に作用する。理想的には、インスリン効果の開始が遅延され、そしてかなり平坦な時間／活性プロフィールを有し、それにより、糖の短期供給不足の危険性を有意に最小化し、そしてあらかじめ食物を摂取しなくても投与を可能にする。基礎インスリンの供給は、インスリン活性が可能な限り長く一貫して続く場合に、すなわち一定した量のインスリンが身体に供給される場合に有効である。結果として、低血糖事象の危険性は低く、そして患者特異的で日特異的な変動性が最小化される。従って、理想的な基礎インスリンの薬物動態プロフィールは、作用の遅延された開始及び遅延された作用、すなわち長期持続し、一貫した作用により特徴づけられるべきである。10

【0012】

販売されている、インスリンの代用のための天然に存在するインスリンの製剤は、インスリンの起源（例えば、ウシ、ブタ、ヒトインスリン）及びそれらの組成も異なり、従って活性プロフィール（作用の開始及び持続期間）が影響され得る。異なるインスリン製品の組み合わせにより、非常に広範な種々の活性プロフィールのいずれかを得ること、そして大部分は生理的血糖値をもたらすことが可能である。最近では組み換えDNA技術によりこの種の修飾インスリンの製造が可能である。これらとしては、延長された作用持続期間を有するインスリングラルギン（Gly (A21)-Arg (B31)-Arg (B32)ヒトインスリン）が挙げられる。インスリングラルギンは、透明な酸性溶液の形態で注射され、そしてその溶解特性に基づいて、皮下組織の生理的pH範囲では安定なヘキサマー会合として沈殿する。インスリングラルギンは一日に一回注射され、そして他の長期活性インスリンと比較して、その平坦な血清プロフィール及び関連する夜間低血糖の危険性の減少に関して優れている（非特許文献2）。今までに記載された製剤と対照的に、作用の長期持続時間をもたらすインスリングラルギンの特定の製剤は、酸性pHを有する透明溶液を特徴とする。しかし、具体的に酸性pHにおいてインスリンは減少した安定性並びに熱的及び物理的機械的負荷下で凝集する増加した傾向を示し、これは濁り及び沈殿（粒子形成）の形態で現れ得る（非特許文献3）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0013】

【特許文献1】EP 0 214 826

【特許文献2】EP 0 375 437

【特許文献3】EP 0 678 522

【特許文献4】EP 0 124 826

【特許文献5】EP 0 419 504

【特許文献6】WO 92/00321

【特許文献7】EP-A 0 368 187

【非特許文献】

【0014】

【非特許文献1】The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (1993), N. Engl. J. Med. 329, 977-986

【非特許文献2】Schubert-Zsilavecz et al., 2:125-130 (2001)

【非特許文献3】Brange et al., J. Ph. Sci. 86:517-525 (1997)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0015】

10

20

30

40

50

従って、酸性範囲で可溶性であり、作用の遅延した開始及び作用の長期持続時間、すなわち非常に平坦で長期間持続し、かつ均一な活性プロフィールを有する、インスリンアナログのさらなる製剤を見出すことが本発明の目的であった。これは低血糖事象の危険性をさらに有意に最小化する。

【課題を解決するための手段】

【0016】

驚くべきことに、インスリンアナログが以下を特徴とする場合に、このような製剤が記載された望ましい基本時間／活性プロフィールをもたらすということが見出された

・B鎖末端がアミド化塩基性アミノ酸残基、例えばリジン又はアルギニンアミドで構成される、すなわち、B鎖末端におけるアミド化塩基性アミノ酸残基において、末端アミノ酸のカルボキシル基はそのアミド化形態であり、かつ

- ・インスリンA鎖のN末端アミノ酸残基がリジン又はアルギニン残基であり、かつ
- ・アミノ酸位置A8がヒスチジン残基で占められており、かつ
- ・アミノ酸位置A21がグリシン残基で占められており、かつ
- ・A5、A15、A18、B-1、B0、B1、B2、B3、及びB4の各位置において、酸性アミノ酸による中性アミノ酸の2つの置換、負に荷電したアミノ酸残基の2つの付加、又は1つのこのような置換及び1つのこののような付加が存在し；そして

0.001～0.2mg/mlの亜鉛、

0.1～5.0mg/mlの保存剤、及び

5.0～100mg/mlの等張化剤を含んでなり、そして

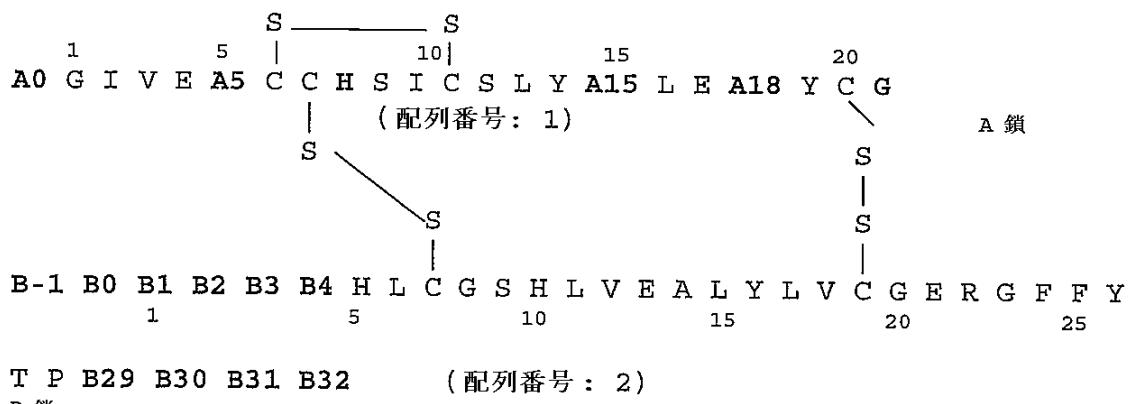
又はそれ以下のpHを有する。

【0017】

従って本発明は、

式I

【化1】



[式中、

A0はLys又はArgであり；

A5はAsp、Gln又はGluであり；

A15はAsp、Glu又はGlnであり；

A18はAsp、Glu又はAsnであり；

B-1はAsp、Glu又はアミノ基であり；

B0はAsp、Glu又は化学結合であり；

B1はAsp、Glu又はPheであり；

B2はAsp、Glu又はValであり；

B3はAsp、Glu又はAsnであり；

B4はAsp、Glu又はGlnであり；

B29はLys又は化学結合であり；

40

50

B 3 0 は T h r 又は化学結合であり；
B 3 1 は A r g 、 L y s 又は化学結合であり；
B 3 2 は A r g - アミド、 L y s - アミド又はアミノ基であり、
ここで A 5 、 A 1 5 、 A 1 8 、 B - 1 、 B 0 、 B 1 、 B 2 、 B 3 、及び B 4 を含む群の
うち 2 つのアミノ酸残基は、同時に、互いに独立して、 A s p 若しくは G l u 、又はその
薬理学的に許容される塩である] のインスリンアナログを有し；そして
0 . 0 0 1 ~ 0 . 2 m g / m l の亜鉛、
0 . 1 ~ 5 . 0 m g / m l の保存剤、及び
5 . 0 ~ 1 0 0 m g / m l の等張化剤を含んでなり、そして
その pH が 5 又はそれ以下である、

水性医薬製剤を提供する。

【 0 0 1 8 】

4) , Arg (B 3 1) , Arg (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Asp (A 1 8) , Gly (A 2 1) , Glu (B
 4) , Arg (B 3 1) , Lys (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Glu (A 5) , Gly (A 2 1) , Glu (B 0
) , Arg (B 3 1) , Arg (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Glu (A 5) , Gly (A 2 1) , Glu (B 0
) , Arg (B 3 1) , Lys (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Glu (A 1 5) , Gly (A 2 1) , Glu (B
 0) , Arg (B 3 1) , Arg (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Glu (A 1 5) , Gly (A 2 1) , Glu (B 10
 0) , Arg (B 3 1) , Lys (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Asp (A 1 8) , Gly (A 2 1) , Glu (B
 0) , Arg (B 3 1) , Arg (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Asp (A 1 8) , Gly (A 2 1) , Glu (B
 0) , Arg (B 3 1) , Lys (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Glu (A 5) , Gly (A 2 1) , Asp (B 1
) , Arg (B 3 1) , Arg (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Glu (A 5) , Gly (A 2 1) , Asp (B 1
) , Arg (B 3 1) , Lys (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Glu (A 1 5) , Gly (A 2 1) , Asp (B
 1) , Arg (B 3 1) , Arg (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Glu (A 1 5) , Gly (A 2 1) , Asp (B
 1) , Arg (B 3 1) , Lys (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Asp (A 1 8) , Gly (A 2 1) , Asp (B
 1) , Arg (B 3 1) , Lys (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Asp (A 1 8) , Gly (A 2 1) , Asp (B
 1) , Arg (B 3 1) , Arg (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Gly (A 2 1) , Glu (B 0) , Asp (B 1
) , Arg (B 3 1) , Lys (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Gly (A 2 1) , Glu (B 0) , Asp (B 1
) , Arg (B 3 1) , Lys (B 3 2) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Asp (A 1 8) , Gly (A 2 1) , Asp (B
 3) , Arg (B 3 0) , Arg (B 3 1) - NH₂ヒトインスリン、
 Arg (A 0) , His (A 8) , Asp (A 1 8) , Gly (A 2 1) , Asp (B
 3) , Arg (B 3 0) , Lys (B 3 1) - NH₂ヒトインスリン
 を含む群より選択される上記の医薬製剤を提供する。

【0019】

本発明はさらに、保存剤がフェノール、m-クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、及びパラベンを含む群より選択される、上記の医薬製剤を提供する。

【0020】

本発明はさらに、等張化剤がマンニトール、ソルビトール、ラクトース、デキストロース、トレハロース、塩化ナトリウム、及びグリセリンを含む群より選択される、上記の医薬製剤を提供する。

【0021】

本発明はさらに、pH 2.5 ~ 4.5 の範囲、好ましくは pH 3.0 ~ 4.0 の範囲、より好ましくは pH 3.75 付近の pH を有する、上記の医薬製剤を提供する。

【0022】

本発明はさらに、インスリン、インスリンアナログ及び / 又はインスリン誘導体が 60 ~ 6000 nmol / ml の濃度で存在する、上記の医薬組成物を提供する。

【0023】

10

20

30

40

50

本発明はさらに、グリセリンを20～30mg/mlの濃度で、好ましくは25mg/mlの濃度で含む、上記の医薬製剤を提供する。

【0024】

本発明はさらに、m-クレゾールを1～3mg/mlの濃度で、好ましくは2mg/mlの濃度で含む、上記の医薬製剤を提供する。

【0025】

本発明はさらに、亜鉛を0.01又は0.03又は0.08mg/mlの濃度で含む、上記の医薬製剤を提供する。

【0026】

本発明はさらに、グルカゴン様ペプチド-1(GLP1)若しくはそのアナログ若しくは誘導体、又はエキセンジン-3及び/若しくは-4若しくはそのアナログ若しくは誘導体をさらに含む、上記の医薬製剤を提供する。 10

【0027】

本発明はさらに、エキセンジン-4をさらに含む上記の医薬製剤を提供する。

【0028】

本発明はさらに、エキセンジン-4のアナログが

H-desPro³⁶-エキセンジン-4-Lys₆-NH₂、

H-des(Pro^{36,37})-エキセンジン-4-Lys₄-NH₂及び

H-des(Pro^{36,37})-エキセンジン-4-Lys₅-NH₂、

又はその薬理学的に許容される塩

20

を含む群より選択される、上記の医薬製剤を提供する。

【0029】

本発明はさらに、エキセンジン-4のアナログが

desPro³⁶[Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)、

desPro³⁶[IsoAsp²⁸]エキセンジン-4(1-39)、

desPro³⁶[Met(O)¹⁴, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)、

desPro³⁶[Met(O)¹⁴, IsoAsp²⁸]エキセンジン-4(1-39)、

desPro³⁶[Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-2(1-39)、

desPro³⁶[Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸]エキセンジン-2(1-39)

、

desPro³⁶[Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)及び

desPro³⁶[Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸]エキセンジン-4(1-39)

又はその薬理学的に許容される塩

を含む群より選択される、上記の医薬製剤を提供する。

【0030】

本発明はさらに、ペプチドLys₆-NH₂がエキセンジン-4のアナログのC末端に結合されている、上記の医薬製剤を提供する。

【0031】

本発明はさらに、エキセンジン-4のアナログが、

H-(Lys)₆-desPro³⁶[Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)-Lys₆-NH₂

desAsp²⁸Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ エキセンジン-4(1-39)-NH₂

H-(Lys)₆-desPro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)-NH₂

H-Asn-(Glu)₅-desPro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)-NH₂

desPro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)-

30

40

50

(Lys)₆-NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Asp²⁸]エキセンジン
-4(1-39)- (Lys)₆-NH₂、
H-Asn-(Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- (Lys)₆-NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶[Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- Lys₆-NH₂、
H-des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
H-Asn-(Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- (Lys)₆-NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- (Lys)₆-NH₂、
H-Asn-(Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- (Lys)₆-NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶[Met(O)¹⁴, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- Lys₆-NH₂、
des Met(O)¹⁴ Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
H-Asn-(Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- (Lys)₆-NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- Lys₆-NH₂、
H-Asn-(Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- (Lys)₆-NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- Lys₆-NH₂、
des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
H-Asn-(Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- (Lys)₆-NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- Lys₆-NH₂、
H-Asn-(Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- (Lys)₆-NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
H-Asn-(Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- (Lys)₆-NH₂、
H-Asn-(Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- (Lys)₆-NH₂、
H-(Lys)₆-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
H-Asn-(Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸[Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]エキセンジン-4(1-39)- NH₂、
又はその薬理学的に許容される塩
を含む群より選択される、上記の医薬製剤を提供する。

本発明はさらに、Arg³⁴, Lys²⁶(N-(D-グルタミル(N-ヘキサデカノイル))GDP-1(7-37)[リラグルチド]又はその薬理学的に許容される塩をさらに含む、上記の医薬製剤を提供する。

【0033】

本発明はさらに、アミノ酸メチオニンを、好ましくは10mg/mlまで、特に好ましくは3mg/mlまでの濃度範囲で含む、上記の医薬製剤を提供する。

【0034】

本発明はさらに、

(a)構成成分を水溶液中に導入する工程、及び

(b)pHを調整する工程

10

を含む、上記の製剤を調製するための方法を提供する。

【0035】

本発明はさらに、糖尿病を処置するための上記の製剤の使用を提供する。

【0036】

本発明は、上記の製剤から構成される、糖尿病を処置するための薬剤を提供する。

【0037】

本製剤はさらに、保存剤(例えばフェノール、クレゾール、パラベン)、等張化剤(例えばマンニトール、ソルビトール、ラクトース、デキストロース、トレハロース、塩化ナトリウム、グリセリン)、緩衝物質、塩、酸、アルカリ及びさらなる添加物も含み得る。これらの物質は、それぞれ個別に、あるいは混合物として存在し得る。

20

【0038】

グリセリン、デキストロース、ラクトース、ソルビトール、及びマンニトールは、典型的には医薬製剤中に100~250mMの濃度で、NaClは150mMまでの濃度で存在する。例えばリン酸緩衝剤、酢酸緩衝剤、シトарат、アルギニン、グリシルグリシン、又はTRIS(すなわち、2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール)緩衝剤のような緩衝物質、及び対応する塩も5~250mMの濃度、好ましくは10~100mMの濃度で存在し得る。さらなる添加剤には塩又はアルギニンが含まれ得る。

【0039】

本発明はさらに、60~6000nmol/mlの濃度(これは0.35~70mg/ml又は10~1000単位/mlの濃度にほぼ相当する)、好ましくは240~3000nmol/mlの濃度(これは1.4~35mg/ml又は40~500単位/mlの濃度にほぼ相当する)でインスリンアナログを含み;

30

そして5~200μg/ml、好ましくは5~120μg/ml、そしてより好ましくは20~75μg/mlの濃度で界面活性剤を含む、上記の医薬製剤を提供する。

【0040】

本発明はさらに、グリセリン及び/若しくはマンニトールを100~250mMの濃度で、並びに/又はNaClを好ましくは150mMまでの濃度で含む、上述の医薬製剤を提供する。

【0041】

本発明はさらに、緩衝物質を5~250mMの濃度で含む、上述の医薬製剤を提供する。

【0042】

本発明はさらに、塩、例えばインスリンの放出を遅らせるもののようなさらなる添加物を含む医薬インスリン製剤を提供する。上記の处方を有するこの種の遅延放出インスリンの混合物もこれに含まれる。

【0043】

本発明はさらに、この種の医薬製剤を製造する方法を提供する。糖尿病を処置するためのこの種の製剤の使用も同様に本発明により提供される。本発明はさらに、インスリン、インスリンアナログ若しくはインスリン誘導体又はその製剤を製造する過程の間の安定

40

50

化剤としての界面活性剤の使用又は添加を提供する。

【0044】

実施例の番号を参照して以下に記載される詳細は、いかなる制限的効果も有すると意図されない。

【図面の簡単な説明】

【0045】

【図1】ラットにおける式Iの新規インスリンアナログの血糖低下効果を示す図である。

【図2】イヌにおける式Iの新規インスリンアナログの血糖低下効果を示す図である。

【図3】イヌにおけるYKL205の血糖低下効果を示す図である。

【図4】イヌにおけるYKL205の低血糖効果の亜鉛依存性を示す図である。

10

【実施例】

【0046】

以下の実施例は、いかなる制限効果も有することなく、本発明の概念を説明することを意図される。

【0047】

実施例1：最適pHの評価に関する研究

約25%の注射用水を導入することにより溶液を調製した。続いて、SAR161271及び塩化亜鉛ストック溶液を加えて攪拌した。1M HClを加えてpH2のpHでSAR161271を溶解させた。この溶液を攪拌し、次いで1M NaOHを加えてpHを3.75(3.8)に調整した。注射用水を使用してバッチサイズの90%にした。続いてこの溶液に攪拌しながらグリセリン8.5%及びm-クレゾールを加えた。注射用水を使用して所望の最終重量にした。シリングに取り付けられたフィルターを使用してこの溶液をろ過した。この溶液調製方法を使用して、以下のpHレベルに調整された製剤を製造した：pH 3.0、3.25、3.5、3.75、4.0、及び4.5。3ヶ月の安定性研究をこれらの製剤を使用して行った。3.0、4.0、及び4.5のpHを有する製剤の2ヶ月の安定性研究結果を以下に示す。

20

【0048】

【表1】

	t 0			t 2ヶ月; 5°C			t 2ヶ月; 25°C / 60% RH		
	pH 3.5	pH 4.0	pH 4.5	pH 3.5	pH 4.0	pH 4.5	pH 3.5	pH 4.0	pH 4.5
pH	3.5	4.0	4.5	3.5	4.0	4.5	3.5	4.0	4.5
アッセイ SAR171271 [mg/ml]	3.87	3.81	3.68	3.71	3.80	3.69	3.76	3.72	3.53
他の類似不純物／類似不純物合計[%]	0.6/ 2.8	0.6/ 2.8	0.6/ 2.9	0.7/ 2.7	0.7/ 2.9	1.0/ 3.4	1.0/ 3.1	1.1/ 4.1	1.8/ 7.2
アッセイ m-クレゾール [mg/ml]	2.8	2.5	2.9	2.7	2.5	2.8	2.7	2.4	2.8
HMWP [%]	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	1.0
濁り	透明	透明	透明	透明	透明	透明	透明	透明	透明

30

【0049】

これらの結果は、溶液のpHが酸性であるほど溶液が安定であることを示す。

【0050】

40

50

実施例 2 : 等張化剤の選択に関する研究

実施例 1 に記載されるように溶液を調製した。2.5% グリセリン対 0.8% NaCl を用いた 2 ヶ月の安定性研究の結果を以下に示す：

2.5% グリセリン

S A R 1 6 1 2 7 1 の量

2M+5 : 3.56 mg / ml

2M+25 : 3.46 mg / ml

不純物

2M+5 : 2.6%

2M+25 : 3.8%

10

高分子量タンパク質

2M+5 : 0.2%

2M+25 : 0.4%

0.8% NaCl

S A R 1 6 1 2 7 1 の量

2M+5 : 3.52 mg / ml

2M+25 : 3.49 mg / ml

不純物

2M+5 : 2.7%

2M+25 : 4.8%

20

高分子量タンパク質

2M+5 : 0.2%

2M+25 : 1.1%

【0051】

この研究からの結果を使用して、2.5% の濃度でのグリセリンを等張化剤として選択した。製剤は等張化剤としての 0.8% NaCl と比較してより安定であった。さらに、不溶性の沈殿が製造の間に NaCl を使用した場合に見られた。両方の物質についてオスモル濃度は 290 ± 30 mosmol / kg であった。

【0052】

実施例 3 : 保存剤の選択に関する研究

30

以下に記載される製剤を実施例 1 に記載されるように製造した。異なる保存剤を用いた製剤を微生物品質管理に渡し、ここでそれらは保存剤負荷試験 (Ph. Eur. 5.5 Criterion A 及び USP 29 に対応する) を受けた。

m - クレゾール : 1.5、1.8、2.1、及び 2.7 mg / ml

フェノール : 2.7 mg / ml

m - クレゾール : 1.5 mg / ml 及び フェノール : 0.6 mg / ml 1

ベンジルアルコール : 15 mg / ml

選択された保存剤は m - クレゾールであった。2 mg / ml の濃度を選択したが、1.5 mg / ml だけでも保存には十分だっただろう。それにもかかわらず、微生物学的安全性の面及び規定された仕様のためにより高い m - クレゾール濃度を選択した。さらに、処方 (2.1 mg / ml の m - クレゾールは別として) を安定性 (3 ヶ月) に関して設計した。

40

【0053】

実施例 4 : アミド化インスリン誘導体の製剤

実施例 4 ~ 8 は、最初にその製剤の準備も含めて、式 I のインスリンアナログの生物学的、薬理学的、及び物理化学的特性の決定 (実施例 4)、次いで対応する試験の実行 (実施例 5 ~ 8) のためにのみ役立つ。化合物を含む溶液を以下のように調製した：本発明のインスリンアナログを $80 \mu\text{g} / \text{ml}$ 亜鉛 (塩化亜鉛として) を含む 1 mM 塩酸中に標的濃度 $240 \pm 5 \mu\text{M}$ で溶解した。

【0054】

50

溶解媒体として使用した組成は以下のとおりである：

- a) 1 mM 塩酸
- b) 1 mM 塩酸、 5 µg / mL 亜鉛（塩化亜鉛又は塩酸として添加される）
- c) 1 mM 塩酸、 10 µg / mL 亜鉛（塩化亜鉛又は塩酸として添加される）
- d) 1 mM 塩酸、 15 µg / mL 亜鉛（塩化亜鉛又は塩酸として添加される）
- e) 1 mM 塩酸、 30 µg / mL 亜鉛（塩化亜鉛又は塩酸として添加される）
- f) 1 mM 塩酸、 80 µg / mL 亜鉛（塩化亜鉛又は塩酸として添加される）
- g) 1 mM 塩酸、 120 µg / mL 亜鉛（塩化亜鉛又は塩酸として添加される）

【0055】

この目的のために、分子量及び標的濃度に基づいて必要とされる量よりも約30%多い凍結乾燥した物質の量を最初に秤量した。その後、現存濃度を分析用HPLCを用いて決定し、次いで80 µg / mL 亜鉛を含む5 mM 塩酸を用いて、その溶液を標的濃度を達成するために必要とされる体積にした。必要な場合、pHを3.5 ± 0.1に再調整した。HPLCによる最終分析で標的濃度240 ± 5 µMを確認した後、完成した溶液を、0.2 µm フィルターアタッチメントを有するシリンジを使用して、セプタム及びクリンプキヤップで密閉した滅菌バイアルに移した。本発明のインスリン誘導体の短期の単一試験については、例えば等張化剤、保存剤又は緩衝物質の添加に関して処方の最適化は行わなかった。

【0056】

実施例5：ラットにおける新規インスリンアナログの血糖減少作用の評価

選択された新規インスリンアナログの血糖低下効果を健常雄性正常血糖ウイスター ラットにおいて試験した。雄性ラットに9 nmol / kg の用量のインスリンアナログを皮下注射した。インスリンアナログの注射の直前及び注射後8時間までの規則的な間隔を空けて血液サンプルを動物から採取し、そしてそれらの血糖含有量を決定した。この実験は、本発明のインスリンアナログが有意に遅延された作用開始及びより長く均一な作用持続期間をもたらすということを明らかに示した（図1を参照）。

【0057】

実施例6：イヌにおける新規インスリンアナログの血糖減少作用の評価

選択された新規インスリンアナログの血糖低下効果を、健常雄性正常血糖ビーグルにおいて試験した。雄性動物に6 nmol / kg の用量のインスリンアナログを皮下注射した。インスリンアナログの注射の直前及び注射後48時間までの規則的な間隔を空けて血液サンプルを動物から採取し、そしてそれらの血糖含有量を決定した。この実験は、使用された本発明のインスリンアナログが有意に遅延された作用開始及びより長く均一な作用持続期間をもたらすということを明らかに示した（図2を参照）。

【0058】

実施例7：イヌにおける2倍増加した用量を用いた血糖減少作用の評価

選択された新規インスリンアナログの血糖低下効果を、健常雄性正常血糖ビーグルで試験した。雄性動物に6 nmol / kg 及び12 nmol / kg の用量のインスリンアナログを皮下注射した。インスリンアナログの注射の直前及び注射の48時間後までの規則的な間隔を空けて血液サンプルを動物から採取し、そしてそれらの血糖含有量を決定した。この実験は、使用された本発明のインスリンアナログが用量依存性効果を有するが、2倍増加した用量にもかかわらず効果プロフィールは平坦であり、すなわち顕著に低い点（底）は観察されないとということを明らかに示した（図3を参照）。このことから、本発明のインスリンが、公知の遅延インスリンと比較して、有意に少ない低血糖事象をもたらすと推測され得る。

【0059】

実施例8：製剤中の異なる濃度の亜鉛を用いた、イヌにおける血糖減少効果の評価

これらの実験を実施例5に記載されるように行った。図4に結果を示す。従って、本発明のインスリンアナログの時間 / 活性曲線は、作用の急速な開始がゼロ又は低い亜鉛含有量で観察され、そして作用が24時間にわたって持続するが、より高い亜鉛含有量では、

10

20

30

40

50

作用の平坦な開始が観察され、そしてインスリンの効果は24時間よりもずっと長く持続するように、同じ濃度のインスリンを含む製剤中の亜鉛の量に影響を受け得る。

【0060】

実施例9：アミド化インスリン誘導体の製剤

実施例9～11は、最初にその製剤の準備も含めて、式¹のインスリニアナログの生物学的、薬理学的、及び物理化学的特性の決定（実施例9）、次いで対応する試験の実行（実施例10及び11）のためにのみ役立つ。本発明のインスリニアナログを、80μg/m1亜鉛（塩化亜鉛として）を含む1mM塩酸中に240±5μMの標的濃度で溶解した。この目的のために、分子量及び標的濃度に基づいて必要とされる量よりも約30%多い凍結乾燥した物質の量を最初に秤量した。その後、現存濃度を分析用HPLCを用いて決定し、次いで80μg/m1亜鉛を含む5mM塩酸を用いて、その溶液を標的濃度を達成するために必要とされる体積にした。必要な場合、pHを3.5±0.1に再調整した。HPLCによる最終分析で標的濃度240±5μMを確認した後、完成した溶液を、0.2μmフィルターアタッチメントを有するシリンドを使用して、セプタム及びクリンプキヤップで密閉した滅菌バイアルに移した。本発明のインスリニアナログの短期の単一試験については、例えば等張化剤、保存剤又は緩衝物質の添加に関して処方の最適化は行わなかった。10

【0061】

実施例10：ラットにおける新規インスリニアナログの血糖減少作用の評価

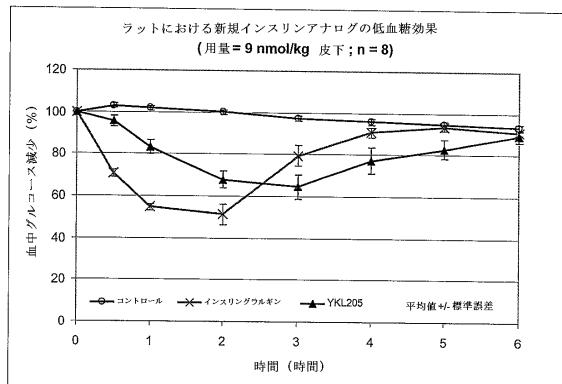
選択された新規インスリニアナログの血糖低下効果を健常雄性正常血糖ウイスターラットにおいて試験した。雄性ラットに9nmol/kgの用量のインスリニアナログを皮下注射した。インスリニアナログの注射の直前及び注射後8時間までの規則的な間隔を空けて血液サンプルを動物から採取し、そしてそれらの血糖含有量を決定した。この実験は、本発明のインスリニアナログが有意に遅延された作用開始及びより長く均一な作用持続期間をもたらすということを明らかに示した。20

【0062】

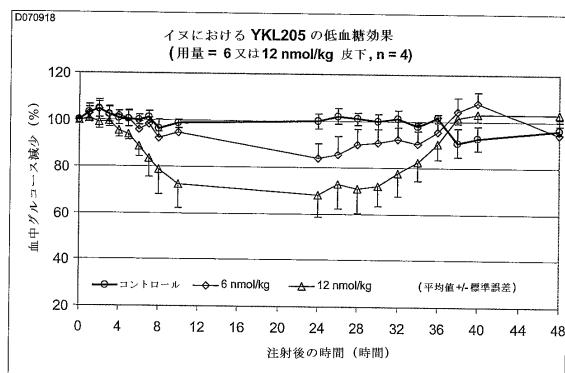
実施例11：イヌにおける新規インスリニアナログの血糖減少作用の評価

選択された新規インスリニアナログの血糖低下効果を、健常雄性正常血糖ビーグルにおいて試験した。雄性動物に6nmol/kgの用量のインスリニアナログを皮下注射した。インスリニアナログの注射の直前及び注射後48時間までの規則的な間隔を空けて血液サンプルを動物から採取し、そしてそれらの血糖含有量を決定した。この実験は、本発明のインスリニアナログが作用の有意に遅延された平坦な開始及びより長く均一な作用持続期間をもたらすということを明らかに示した。30

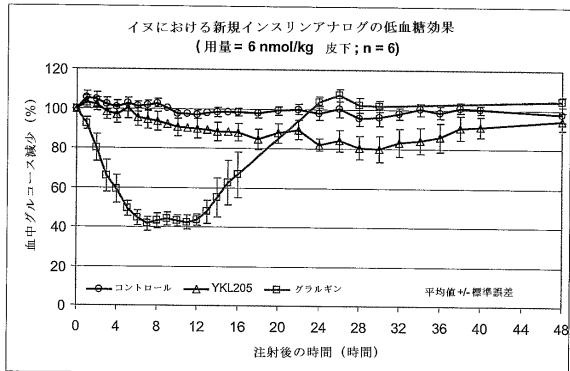
【図1】



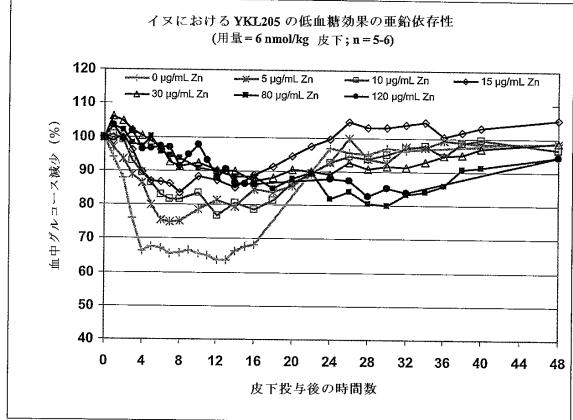
【図3】



【図2】



【図4】



【配列表】

0005675799000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 61 K 47/26 (2006.01)	A 61 K 47/26
A 61 K 38/26 (2006.01)	A 61 K 37/28
A 61 K 47/18 (2006.01)	A 61 K 47/18
A 61 P 5/50 (2006.01)	A 61 P 5/50
A 61 P 3/10 (2006.01)	A 61 P 3/10

(31)優先権主張番号 102010013133.4

(32)優先日 平成22年3月27日(2010.3.27)

(33)優先権主張国 ドイツ(DE)

(72)発明者 イザベル・シェットレ

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン . サノフィ - アベンティス・ドイチュ
ラント・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者 クリストイアーネ・フルスト

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン . サノフィ - アベンティス・ドイチュ
ラント・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者 フェレナ・ジーフケ - ヘンツラー

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン . サノフィ - アベンティス・ドイチュ
ラント・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者 ゲリット・ハオック

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン . サノフィ - アベンティス・ドイチュ
ラント・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者 ヴァルター・カム

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン . サノフィ - アベンティス・ドイチュ
ラント・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者 ユリア・シュニーデルス

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン . サノフィ - アベンティス・ドイチュ
ラント・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者 ユッタ・ツィールス

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン . サノフィ - アベンティス・ドイチュ
ラント・ゲー・エム・ベー・ハー

(72)発明者 ゲルト・ヴォルフ

ドイツ連邦共和国 6 5 9 2 6 フランクフルト・アム・マイン . サノフィ - アベンティス・ドイチュ
ラント・ゲー・エム・ベー・ハー

審査官 安居 拓哉

(56)参考文献 国際公開第2008/006496 (WO, A1)

特表2001-521004 (JP, A)

特表平03-504240 (JP, A)

国際公開第2009/087081 (WO, A1)

Weiss, M.A., The Journal of Biological Chemistry, 2001年, Vol.276(43), pp.40018-40
024

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 61 K 38 / 00

9 / 00

(21)

JP 5675799 B2 2015.2.25

4 7 / 0 0
A 6 1 P 3 / 1 0