



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202200190 A

(43) 公開日：中華民國 111 (2022) 年 01 月 01 日

(21) 申請案號：110109431

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 03 月 16 日

(51) Int. Cl. :

*A61K38/16 (2006.01)**A61K9/08 (2006.01)**A61P3/04 (2006.01)**A61P3/06 (2006.01)**A61P3/08 (2006.01)**A61P3/10 (2006.01)*

(30) 優先權：2020/03/16

歐洲專利局

20163408.6

(71) 申請人：丹麥商西蘭製藥公司 (丹麥) ZEALAND PHARMA A/S (DK)

丹麥

(72) 發明人：維勒德森 傑斯帕 史柯德柏格 VILLADSEN, JESPER SKOVBORG (DK)；戈沙

爾克 博文 泰妮 伊莉莎白 GOTTSCHALK BOVING, TINE ELISABETH (DK)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：44 項 圖式數：0 共 64 頁

(54) 名稱

升糖素類似物之液體調配物

(57) 摘要

本發明係關於升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或其衍生物之調配物；及其例如用於治療低血糖之醫療用途。特定而言，本發明係關於包含賦形劑之組合的升糖素類似物之穩定水性液體調配物，該等賦形劑之組合使該等調配物適合以液體形式長期儲存且能夠以單劑量(SD)或多劑量(MD)調配物形式使用。

The present invention relates to formulations of glucagon analogues, or a pharmaceutically acceptable salt thereof and/or a derivative thereof; and their medical use, for example in the treatment of hypoglycaemia. In particular, the present invention relates to stable aqueous liquid formulations of glucagon analogues comprising combinations of excipients that make them suitable for long term storage as liquids, and are capable of use in single-dose (SD) or multi-dose (MD) formulations.



202200190

**【發明摘要】****【中文發明名稱】**

升糖素類似物之液體調配物

**【英文發明名稱】**

LIQUID FORMULATIONS OF GLUCAGON ANALOGUES

**【中文】**

本發明係關於升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或其衍生物之調配物；及其例如用於治療低血糖之醫療用途。特定而言，本發明係關於包含賦形劑之組合的升糖素類似物之穩定水性液體調配物，該等賦形劑之組合使該等調配物適合以液體形式長期儲存且能夠以單劑量(SD)或多劑量(MD)調配物形式使用。

**【英文】**

The present invention relates to formulations of glucagon analogues, or a pharmaceutically acceptable salt thereof and/or a derivative thereof; and their medical use, for example in the treatment of hypoglycaemia. In particular, the present invention relates to stable aqueous liquid formulations of glucagon analogues comprising combinations of excipients that make them suitable for long term storage as liquids, and are capable of use in single-dose (SD) or multi-dose (MD) formulations.

**【指定代表圖】**

無

**【代表圖之符號簡單說明】**

無

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

升糖素類似物之液體調配物

### 【英文發明名稱】

LIQUID FORMULATIONS OF GLUCAGON ANALOGUES

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於升糖素類似物之調配物及其例如用於治療低血糖之醫療用途。特定而言，本發明係關於升糖素類似物之穩定水性液體調配物。

### 【先前技術】

【0002】 人類前升糖素原係158個胺基酸前體多肽，其在組織中經獨特加工以形成許多結構上相關聯之升糖素原衍生肽，包括升糖素 (Glu)、類升糖素肽-1 (GLP-1)、類升糖素肽-2 (GLP-2)及調酸催素 (OXM)。廣泛多種生理功能涉及此等分子，該等功能包括葡萄糖穩態、胰島素分泌、胃排空及腸道生長以及食物攝入之調控。

【0003】 天然升糖素係對應於前升糖素原之胺基酸53至81的29個胺基酸肽。升糖素係藉由以下幫助維持血液中葡萄糖之水平：與肝細胞上的升糖素受體結合，經由肝醣分解使肝釋放以肝醣形式儲存之葡萄糖。隨著此等存量變得枯竭，升糖素亦刺激肝臟藉由葡萄糖新生合成其他葡萄糖。此葡萄糖經釋放至血流中，防止低血糖症之發生。此已導致升糖素或升糖素類似物之治療性調配物的研發，該等調配物預計用於緩解糖尿病個體之急性低血糖的「救援」情況，例如用於治療已接受過高劑量之胰島素的個體。然而，由於天然升糖素本身物理及化學穩定性相對較低，故而大多數

當前可商購之升糖素產品係以凍乾、固體製劑之形式提供，其在使用前需要在合適液體介質中復水。因為低血糖個體可呈現眩暈及/或混亂之症狀，或在一些情況下甚至可變得昏迷或半昏迷，故而此意謂其可能無法進行或完成所需之初始液體復水及相關升糖素調配物之後續注射。因此，此復水及注射可能必須在過量升糖素凝集產生之前可用的有限時間內由對處理產品無經驗之另一人員來進行。

**【0004】** 此已導致人們在此領域中嘗試製造升糖素類似物之調配物，除在升糖素受體處具有令人滿意之較高活性外，其可充分溶解於液體調配物中(尤其在生理pH下，其中天然升糖素在中性pH下基本不可溶)且在液體調配物中具有物理及化學穩定性，該等液體調配物能夠在無需復水情況下立即使用。此等類似物(i)可有利地以適用於即刻注射之即用型液體醫藥調配物之形式提供，且(ii)可在使用前能夠儲存(包括在周圍條件下由相關個體或患者攜帶)足夠長之時間段。

**【0005】** WO 2011/117417 (諾和諾德(Novo Nordisk A/S))揭示經修飾之升糖素肽，其包括位於升糖素1-29之胺基酸位置25處之突變，該等肽在水溶液中難以凝集。

**【0006】** WO 2016/133863 (禮來公司(Eli Lilly and Company))描述用於鼻部投與之升糖素的粉末組合物，其包括呈以XRPD中氣層高溫峰為特徵之相的環糊精及磷脂界面活性劑。

**【0007】** WO 2019/110838 (Adocia)係關於攜帶羧酸鹽填充劑及疏水性基團之升糖素、共聚胺基酸之調配物。

**【0008】** WO 2008/084237 (Arecor有限公司)描述水性蛋白質組合物，其中使用pKa比蛋白質穩定化之pH大至少一個單位之位移緩衝液。

【0009】 WO 2014/016300 (Zealand Pharma A/S)揭示適合以液體調配物形式使用之升糖素類似物，其中相較於天然人類升糖素，該等類似物具較高可溶性及/或穩定性。描述於WO 2014/016300中之升糖素類似物中之一者稱為達西升糖素(dasiglucagon)且在臨床試驗中係用作即用型療法，其用於治療1型糖尿病之嚴重低血糖且用於治療先天性高胰島素症。達西升糖素之藥物動力學及藥效動力學特徵及與GlucaGen®之比較係揭示於Hövelmann等人，糖尿病護理(Diabetes Care), 2017 (<https://doi.org/10.2337/dc17-1402>)中。

【0010】 WO 2017/053822 (Xeris製藥公司)揭示使用二甲亞砜(DMSO)作為非質子極性溶劑系統之天然升糖素肽的液體調配物。亦可添加離子化穩定賦形劑以提昇溶解化作用。WO 2014/124151 (Xeris製藥公司)揭示升糖素肽之液體調配物於DMSO中，其另外包括諸如海藻糖之低溫保護劑以保護調配物免受凍融循環影響。然而，在此等調配物之溶劑系統中使用DMSO具有若干顯著缺點，此係因為其導致調配物之黏度相對較高，高黏度導致注射困難，且導致諸如以下之非所需副作用：皮膚反應、皮膚乾燥、頭痛、眩暈、嗜睡、噁心、嘔吐、腹瀉、便秘、呼吸問題、視力問題、血液問題及過敏反應。DMSO亦導致類似大蒜之味道、呼吸及體味。此外，在藉由例如注射筆、針筒或泵系統之遞送裝置進行投與時，DMSO溶解塑膠及橡膠，此可為一個缺點。在一些情況下，DMSO係與15-20%之諸如丙二醇或乙醇的共溶劑組合使用以避免含有80-100% DMSO之調配物的相對較高冷凍溫度。然而，若使用DMSO及共溶劑之調配物中包括超過5%之水，則此降低升糖素在調配物中之化學穩定性。

【0011】 因此，在此領域中改良升糖素類似物之調配物、特定而言

提供以下穩定液體調配物仍係一個難題：該調配物能夠長期儲存且肽之活性單體形式不發生過度水平之物理及化學降解，且其克服一些與現存升糖素或升糖素類似物之調配物相關之缺點。

### 【發明內容】

【0012】 大體上，本發明係基於實例中所報導之研究，其已研究且識別能夠用於升糖素類似物之水性液體調配物的賦形劑，該等調配物適合長期儲存為液體且能夠以單劑量(SD)或多劑量(MD)調配物形式使用。

【0013】 在此等研究中，本發明人發現，用於升糖素類似物之調配物的緩衝劑對包含升糖素類似物、特定而言達西升糖素(dasiglucagon)之水性調配物的穩定性具有重要影響。本文中所揭示之實驗顯示，如藉由偵測且量化降解產物所顯示，在微酸至中性pH下，TRIS、Bis-TRIS、ACES及MES緩衝液及/或乙酸鹽、檸檬酸鹽或琥珀酸鹽緩衝液為升糖素類似物調配物提供化學穩定性。降解情況之比較分析顯示，即使在調配物另外具有相同pH時，相對於諸如組胺酸或磷酸鹽之其他受測緩衝液系統，此等緩衝液亦提供較高穩定性，亦即，緩衝液所提供之穩定性至少部分不依賴於其pH調節特性。重要的是，在調配物進一步包含諸如間甲苯酚之防腐劑的本發明之態樣中，調配物在液體形式下具有長期穩定性，且因此適用於多次給藥。此可能提供呈藥物遞送裝置之形式的升糖素類似物之調配物，且特定而言呈單劑量或多劑量遞送裝置形式，諸如載藥針筒、注射裝置、注射筆、可調節劑量自動注射器、拋棄式自動注射器、穿戴式注射器或輸液泵，由此為患者提供即用型調配物於更簡易、更安全且患者更便於使用之裝置中。

【0014】 因此，在第一態樣中，本發明提供一種穩定水性液體醫藥

調配物，其包含以下升糖素類似物：

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物，其中該調配物包含：

(a)升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物，其係以約0.5 mg/mL至約10 mg/mL之濃度存在；

(b)作為緩衝液存在之TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES，其濃度係約25 mM至約75 mM；

(c)作為張力調節劑存在之氯化鈉；且其濃度係約50 mM至約600 mM；及

(d)約5.6至約7.0之pH。

**【0015】** 在一其他態樣中，本發明提供一種穩定水性液體醫藥調配物，其包含以下升糖素類似物：

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物；

其中該調配物包含：

(a)升糖素類似物，其係以約0.5 mg/mL至約10 mg/mL之濃度存在；

(b)作為緩衝液存在之TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES，其濃度係約25 mM至約75 mM，及/或作為緩衝液存在之檸檬酸鹽、乙酸鹽或琥珀酸鹽，其濃度係約1 mM至約30 mM；

(c)作為張力調節劑存在之氯化鈉；且其濃度係約50 mM至約600 mM；及

(d)約5.6至約7.0之pH。

**【0016】** 在包含升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物

的調配物之一些實施例中，該調配物包含以以下濃度存在之升糖素類似物、其醫藥學上可接受之鹽或其衍生物：約0.1 mg/mL至約1.0 mg/mL，諸如約0.1 mg/mL、約0.2 mg/mL、約0.3 mg/mL、約0.4 mg/mL、約0.5 mg/mL、約0.6 mg/mL、約0.7 mg/mL、約0.8 mg/mL、約0.9 mg/mL或約1.0 mg/mL。

**【0017】** 在一些態樣中，本發明人發現，不依賴於由緩衝液所提供之調配物的pH，TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES緩衝液能夠以化學方式直接穩定升糖素類似物。相對於相同測試條件下磷酸鹽緩衝液及/或組胺酸緩衝液中對應調配物中之升糖素類似物的穩定性，可確定以下事實：直接化學穩定作用得到提昇。

**【0018】** 在一其他態樣中，本發明提供用於製造本發明之穩定水性液體醫藥組合物之製程。

**【0019】** 在一其他態樣中，本發明提供一種遞送裝置，其含有本發明之包含升糖素類似物的穩定水性液體調配物。藉助於實例，遞送裝置包括載藥針筒、注射裝置、注射筆、可調節劑量自動注射器、拋棄式自動注射器、穿戴式注射器或輸液泵。

**【0020】** 在一其他態樣中，本發明提供一種製造之物品或一種套組，其包含裝有本發明之穩定水性液體醫藥組合物的容器。

**【0021】** 在一其他態樣中，本發明提供一種用於治療之本發明之升糖素類似物的穩定水性液體調配物。

**【0022】** 在一其他態樣中，本發明提供一種本發明之升糖素類似物之穩定水性液體調配物，其用於治療選自以下之疾病或病況：低血糖(包括(但不限於)嚴重低血糖、急性低血糖及慢性低血糖)、2型糖尿病、葡萄

糖失耐症、1型糖尿病、肥胖、冠心病、動脈粥樣硬化、高血壓、異常血脂症、肝脂肪變性、 $\beta$ -阻斷劑中毒、胰島素瘤或馮吉爾克病(Von Gierkes disease)。特定而言，該調配物可用於治療以下低血糖之形式：例如其中低血糖係選自由以下組成之群：糖尿病性低血糖、急性胰島素誘發之低血糖、高胰島素症性低血糖、非糖尿病性低血糖、反應性低血糖、禁食低血糖、藥物誘發之低血糖、先天高胰島素症性低血糖、酒精誘發之低血糖、胃繞道術誘發之低血糖(包括(但不限於) Roux-en-Y胃繞道術後之餐後低血糖)、減重後低血糖或妊娠期間出現之低血糖，該方法包含向需要治療之患者投與治療有效量之本發明的升糖素類似物之穩定水性液體調配物。

**【0023】** 在一些實施例中，嚴重低血糖具有極低血糖之特質。在一些實施例中，急性低血糖之治療包括治療嚴重低血糖之急性發作期，該急性發作期包括(但不限於)具有極低血糖之特質的嚴重低血糖之急性發作期。

**【0024】** 在一其他態樣中，本發明提供一種治療患有選自以下之疾病或病況的患者之方法：低血糖(包括(但不限於)嚴重低血糖、急性低血糖及慢性低血糖)、2型糖尿病、葡萄糖失耐症、1型糖尿病、肥胖、冠心病、動脈粥樣硬化、高血壓、異常血脂症、肝脂肪變性、 $\beta$ -阻斷劑中毒、胰島素瘤或馮吉爾克病。特定而言，該調配物可用於治療以下低血糖之形式：例如其中低血糖係選自由以下組成之群：糖尿病性低血糖、急性胰島素誘發之低血糖、高胰島素症性低血糖、非糖尿病性低血糖、反應性低血糖、禁食低血糖、藥物誘發之低血糖、先天高胰島素症性低血糖、酒精誘發之低血糖、胃繞道術誘發之低血糖(包括(但不限於) Roux-en-Y胃繞道術後之餐後低血糖)、減重後低血糖或妊娠期間出現之低血糖，該方法包

含向需要治療之患者投與治療有效量之本發明的升糖素類似物之穩定水性液體調配物。

**【0025】** 在一其他態樣中，本發明提供本發明之升糖素類似物之穩定水性液體調配物的用途，其用於製造用於治療選自以下之疾病或病況的藥品：低血糖(包括(但不限於)嚴重低血糖、急性低血糖及慢性低血糖)、2型糖尿病、葡萄糖失耐症、1型糖尿病、肥胖、冠心病、動脈粥樣硬化、高血壓、異常血脂症、肝脂肪變性、 $\beta$ -阻斷劑中毒、胰島素瘤或馮吉爾克病。特定而言，該調配物可用於治療以下低血糖之形式：例如其中低血糖係選自由以下組成之群：糖尿病性低血糖、急性胰島素誘發之低血糖、高胰島素症性低血糖、非糖尿病性低血糖、反應性低血糖、禁食低血糖、藥物誘發之低血糖、先天高胰島素症性低血糖、酒精誘發之低血糖、胃繞道術誘發之低血糖(包括(但不限於) Roux-en-Y胃繞道術後之餐後低血糖)、減重後低血糖或妊娠期間出現之低血糖，該方法包含向需要治療之患者投與治療有效量之本發明的升糖素類似物之穩定水性液體調配物。

**【0026】** 在一些實施例中，使用根據本發明之調配物治療之患者並非處於饑餓狀態，不患有腎上腺功能不全及/或不患有慢性低血糖。在一些實施例中，使用根據本發明之調配物治療之患者的肝醣並未減少。在一些實施例中，使用根據本發明之調配物治療之患者不患有腫瘤於其腎上腺中，腫瘤包括(但不限於)嗜鉻細胞瘤。在一些實施例中，使用根據本發明之調配物治療之患者不患有腫瘤於其胰腺中，腫瘤包括(但不限於)胰島素瘤。

**【0027】** 在一些實施例中，使用根據本發明之調配物治療之患者的年齡係六歲或更大。

**【0028】** 在一其他態樣中，本發明提供一種用於製造穩定水性液體醫藥調配物之製程，該調配物包含以下升糖素類似物：

Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物；

該製程包含調配以下以製造穩定水性液體醫藥調配物：(a)升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物，其係以約0.5 mg/mL至約10 mg/mL之濃度存在；(b)作為緩衝液存在之TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES，其濃度係約25 mM至約75 mM；(c)作為張力調節劑存在之氯化鈉；且其濃度係約50 mM至約600 mM；(d)約5.6至約7.0之pH；及視情況存在之(e)間甲苯酚，其濃度係約1.0 mg/mL至約5.0 mg/mL。在較佳實施例中，該製程提供一種穩定水性液體醫藥調配物，其能夠在2-8°C下穩定儲存至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月。

**【0029】** 在一其他態樣中，本發明提供一種用於製造穩定水性液體醫藥調配物之製程，該調配物包含以下升糖素類似物：

Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物；

該製程包含調配以下以製造穩定水性液體醫藥調配物：(a)升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物，其係以約0.5 mg/mL至約10 mg/mL之濃度存在；(b)作為緩衝液存在之TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES，其濃度係約25 mM至約75 mM；(c)作為張力調節劑存在之氯化鈉；且其濃度係約50 mM至約600 mM；(d)約5.6至約7.0之pH；及視情況存在之(e)間甲苯酚，其濃度係約1.0 mg/mL至約5.0 mg/mL。在較佳實施例中，該製程提供一種穩定水性液體醫藥調配物，其能夠在2-8°C下穩定

儲存至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月。

【0030】 在一些實施例中，升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或其衍生物係以以下濃度存在：約0.1 mg/mL至約1.0 mg/mL，諸如約0.1 mg/mL、約0.2 mg/mL、約0.3 mg/mL、約0.4 mg/mL、約0.5 mg/mL、約0.6 mg/mL、約0.7 mg/mL、約0.8 mg/mL、約0.9 mg/mL或約1.0 mg/mL。

【0031】 在一其他態樣中，本發明提供穩定水性液體醫藥調配物之用途，該調配物包含以下升糖素類似物：

Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物；

其用於提供在2-8°C下儲存時穩定持續24個月之水性液體醫藥調配物，其中該調配物包含以下以製造穩定水性液體醫藥調配物：

(a)升糖素類似物，其係以約0.5 mg/mL至約10 mg/mL之濃度存在；

(b)作為緩衝液存在之TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES，其濃度係約25 mM至約75 mM；

(c)作為張力調節劑存在之氯化鈉；且其濃度係約50 mM至約600 mM；

(d)約5.6至約7.0之pH；及視情況存在之

(e)間甲苯酚，其濃度係約1.0 mg/mL至約5.0 mg/mL。

【0032】 在一些實施例中，升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或其衍生物係以以下濃度存在：約0.1 mg/mL至約1.0 mg/mL，諸如約0.1 mg/mL、約0.2 mg/mL、約0.3 mg/mL、約0.4 mg/mL、約0.5 mg/mL、約0.6 mg/mL、約0.7 mg/mL、約0.8 mg/mL、約0.9 mg/mL或約1.0

mg/mL。

【0033】 在其他態樣中，本發明係關於包含以下之水性液體醫藥調配物：基本上由或由升糖素類似物組成之升糖素類似物及如本文中所定義之其他調配物組分。鑒於本發明，本發明之其他態樣及實施例對熟悉此項技術者而言應係顯而易見的。

【0034】 本文中所用之「及/或」係視為在伴隨或不伴隨另一者之情況下特定揭示兩種指定特點或組分中之各者。舉例而言，「A及/或B」係視為特定揭示(i) A、(ii) B以及(iii) A及B中之各者，正如在本文中單獨陳述各者。

【0035】 除非上下文另外規定，否則上述特點之描述及定義不限於本發明之任何特定態樣或實施例，且同等適用於所描述之所有態樣及實施例。

#### 【實施方式】

#### 【0036】

#### 定義

除非另外指定，否則以下定義係針對上文書面描述中所使用之特定術語提供。

【0037】 在說明書及申請專利範圍中，使用天然胺基酸之習知單字及三字代碼。本發明之肽中的所有胺基酸殘基均較佳具有L構型，然而，亦可呈現D構型胺基酸。Aib表示 $\alpha$ -胺基異丁酸。

#### 【0038】

#### 升糖素類似物

術語「天然升糖素」係指具有序列H-His-Ser-Gln-Gly-Thr- Phe-Thr-

Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-OH (SEQ ID NO: 1)之天然人類升糖素。

【0039】 用於本發明之調配物之較佳化合物至少具有升糖素促效劑活性。可在例如如WO 2014/016300中所描述之活體外分析中分析此活性，其中製造細胞環狀AMP (cAMP)係用於監測升糖素類似物之存在下的人類升糖素受體活性。

【0040】 本文中所揭示之序列係在序列之胺基末端(N端)處併入「Hy-」部分且在序列之羧基末端(C端)併入「-OH」部分之序列。在此類情況下，且除非另外指示，否則相關序列之N端處的「Hy-」部分表示氫原子，而序列之C端處的「-OH」部分表示羥基。

【0041】 相較於天然升糖素，本發明之調配物中所存在之升糖素類似物具有一或多處胺基酸取代、缺失、倒置或添加。此定義亦包括同義術語升糖素模擬物及/或升糖素促效劑。此外，本發明之類似物可另外具有其胺基酸側基、 $\alpha$ -碳原子、末端胺基或末端羧酸基團中之一或多者的化學修飾。化學修飾包括(但不限於)添加化學部分、產生新鍵結及移除化學部分。胺基酸側基處之修飾包括(不限於)賴胺酸 $\epsilon$ -胺基之醯化；精胺酸、組胺酸或賴胺酸之N-烷基化；麩胺酸或天冬胺酸羧酸基團之烷基化；及麩醯胺酸或天冬醯胺酸之脫醯胺。末端胺基之修飾包括(不限於)脫胺基、N-低碳烷基、N-二低碳烷基及N-醯基修飾。末端羧基之修飾包括(不限於)醯胺、低碳烷基醯胺、二烷基醯胺及低碳烷酯修飾。較佳地，本文中之低碳烷基係C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基。此外，一或多個側基或端基可由一般熟練之肽化學師所已知的保護基保護。胺基酸之 $\alpha$ -碳可經單甲基化或二甲基化。

【0042】 在一些態樣中，本發明之液體調配物使用由下式表示之升

糖素類似物：

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH(SEQ ID NO: 2)，化合物1

或其醫藥學上可接受之鹽或衍生物。

【0043】 在三字胺基酸代碼中，此升糖素類似物(達西升糖素(dasiglucagon))係由下式表示：

H-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Aib-Ala-Arg-Ala-Glu-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Glu-Ser-Thr-OH

化合物1 (SEQ ID NO: 2)表示人類升糖素受體處之活體外促效劑活性，如WO 2014/016300中所報導，EC<sub>50</sub>值分別係0.0095 nM及0.030 nM。

【0044】 應理解，亦可以鹽或其他衍生物之形式提供本發明之肽(藥物)。鹽包括如定義中所描述之醫藥學上可接受之鹽。

【0045】 本發明之升糖素類似物之其他衍生物包括具有諸如Mn<sup>2+</sup>及Zn<sup>2+</sup>之金屬離子的配位錯合物、諸如活體內水解酯之酯、游離酸或鹼、水合物、前體藥或脂質。可使用本領域中所熟知之技術在化合物中所存在之羥基或羧基團與合適羧酸或醇反應伴侶之間形成酯。作為化合物之前體藥的衍生物可在活體內或活體外轉化為親代化合物中之一者。通常，在化合物之前體藥形式中，化合物之生物活性中之至少一者將減小且可藉由轉化前體藥以釋放化合物或其代謝物而活化。前體藥之實例包括使用保護基，其可經原位移除，釋放活性化合物，或用於活體內抑制藥物之清除。

【0046】 可使用本領域中所熟知的固相肽合成技術合成用於本發明之調配物的升糖素類似物。藉助於實例，可使用Tentagel S PHB-Thr(tBu)

樹脂(1.13 g, 0.24 mmol/g)、COMU作為偶合劑、DMF作為溶劑及如上文所描述之Fmoc-化學在CEM Liberty肽合成器上進行此合成。偽脯胺酸Fmoc-Phe-Thr ( $\Psi$  Me, Me pro)-OH (於位置6/7處)及Fmoc-Glu-Ser ( $\Psi$ , Me, Me pro)-OH (於位置15/16處)係用於序列。一旦合成，升糖素類似物則可自樹脂裂解，且使用35毫升/分鐘流速之緩衝液A (0.1%水性TFA)與緩衝液B (含有0.1% TFA及90% MeCN之水性溶液)的混合物在Gemini-NX管柱(5厘米，C18，10微米)上進行純化。可將集中之部分凍乾且在進一步純化前再次溶解於水中。可藉由分析性HPLC測定產物之純度，且藉由MS測定單同位素質量。

#### 【0047】

#### 升糖素類似物之調配物

如本文中所描述，根據本發明之穩定水性液體醫藥調配物包含升糖素類似物、緩衝液、張力調節劑且經調配具有生理上與針對患者之投與相容的pH。在一些實施例中，本發明之調配物進一步包含防腐劑，例如能夠製成多劑量調配物之防腐劑。在下文之實例中，本發明人確定，對於調配本發明之組合物的緩衝液之選擇對其長期穩定性具有決定性影響，且包括磷酸鹽緩衝液、組胺酸緩衝液、順丁烯二酸及Milli-Q水(MQW)之許多常用緩衝液不為水性液體調配物提供充分穩定性，例如在25°C下儲存13、26或52週之穩定性。然而，其他類型之緩衝液，尤其TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES緩衝液能夠用於調配升糖素類似物之穩定水性液體調配物。本文中所描述之實驗亦發現，此等緩衝液所提供之穩定性能夠直接以化學方式穩定升糖素類似物，亦即，其方式不受緩衝液所提供之調配物的pH影響。可在相同測試條件下相對於磷酸鹽緩衝液及/或組胺酸緩衝液

確定此效應。

【0048】 TRIS緩衝液係指IUPAC命名法中之(三(羥甲基)胺基甲烷或2-胺基-2-(羥甲基)丙烷-1,3-二醇)。

【0049】 Bis-TRIS緩衝液係指IUPAC命名法中之(雙-三甲烷或2-[雙(2-羥甲基)胺基]-2-(羥甲基)丙烷-1,3-二醇)。

【0050】 ACES緩衝液係指IUPAC命名法中之(*N*-(2-乙醯胺基)-2-胺基乙磺酸或2-(胺甲醯基甲胺基)乙磺酸)。

【0051】 MES緩衝液係指IUPAC命名法中之(2-(*N*-嗎啉基)乙磺酸或2-嗎啉-4-基乙磺酸)。

【0052】 可用作替代物或除此等緩衝液外的其他緩衝液包括檸檬酸鹽、乙酸鹽或琥珀酸鹽，例如呈檸檬酸鈉、乙酸鈉或琥珀酸鈉之形式。較佳地，此等緩衝液係以約1 mM至約30 mM、更佳約10 mM至約30 mM之濃度存在，且更佳以約15 mM之濃度存在。所使用之實際濃度可取決於緩衝液是否單獨或以組合形式使用。

【0053】 引出本發明之實驗工作顯示，升糖素類似物之穩定調配物可避免將極性非質子溶劑包括於液體調配物中，諸如如WO 2017/053822及WO 2014/124151中所使用，使用二甲亞砜(DMSO)，其對所使用之調配物不利。因此，較佳地，本發明之調配物實質上不包括非質子極性溶劑，且更佳地，調配物實質上不包括二甲亞砜(DMSO)。在尤佳實施例中，水係用於製造水性液體調配物之唯一溶劑。

【0054】 與基於使用DMSO之調配物的經驗相反，本文中所描述之工作亦顯示，視情況與共溶劑組合，可能製造存在水且不實質上影響調配物中之升糖素類似物之化學或物理穩定性的調配物。本發明之液體醫藥調

配物之尤其適用的實施例係水性調配物，亦即，包含水之調配物。此類調配物可呈水溶液或水性懸浮液之形式。本發明之水性醫藥調配物之較佳實施例係水溶液。在本發明之上下文中，術語「水性調配物」通常應指包含至少50重量% (50% w/w)之水、更佳至少75% w/w之水、更佳至少80% w/w之水、更佳至少85% w/w之水、更佳至少90% w/w之水、最佳至少95% w/w之水作為溶劑的調配物。同樣，術語「水溶液」通常應指包含至少50% w/w之水的溶液，且術語「水性懸浮液」係指包含至少50% w/w之水的懸浮液。在特定實施例中，本發明之水性調配物實質上不包括非質子極性溶劑，諸如二甲亞砜(DMSO)。在此意義上，實質上意謂水性調配物包括小於5體積% (v/v)非質子溶劑、更佳小於2體積% (v/v)非質子溶劑及甚至更佳小於1體積% (v/v)非質子溶劑。水係用於製造根據特定實施例之水性液體調配物之唯一溶劑。

**【0055】** 在本發明之一些態樣中，升糖素類似物、其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物之穩定水性液體調配物包含：

(a)升糖素類似物，其係以約0.5 mg/mL至約10 mg/mL之濃度存在；

(b)以緩衝液形式存在之TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES，其濃度係約25 mM至約75 mM；

(c)以張力調節劑形式存在之氯化鈉；且其濃度係約50 mM至約600 mM；及

(d)約5.6至約7.0之pH。

**【0056】** 在包含升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物的調配物之一些實施例中，該調配物包含以以下濃度存在之升糖素類似物、其醫藥學上可接受之鹽或其衍生物：約0.1 mg/mL至約1.0 mg/mL，諸

如約0.1 mg/mL、約0.2 mg/mL、約0.3 mg/mL、約0.4 mg/mL、約0.5 mg/mL、約0.6 mg/mL、約0.7 mg/mL、約0.8 mg/mL、約0.9 mg/mL或約1.0 mg/mL。

【0057】術語「醫藥學上可接受之載劑」包括標準醫藥載劑或稀釋劑中之任一者，諸如用於適於經口、經肺、經直腸、經鼻、局部、皮下、肌肉內、靜脈內、腹膜內、皮內、經皮或經陰道投與之組合物或調配物的彼等載劑或稀釋劑。用於治療用途之醫藥學上可接受之載劑係醫藥領域所熟知的且描述於例如**Remington's Pharmaceutical Sciences**, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro編. 1985)中。液體調配物常採用未緩衝或緩衝水溶液作為載劑。舉例而言，可使用無菌鹽水或略酸性、略鹼性或生理pH值下之磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。相關pH-緩衝劑包括參(羥甲基)胺基甲烷(TRIS)、2-[雙(2-羥甲基)胺基]-2-(羥甲基)丙烷-1,3-二醇(Bis-TRIS)、2-(胺甲醯基甲基胺基)乙磺酸(ACES)、順丁烯二酸、2-嗎啉-4-基乙磺酸(MES)以及其混合物。該術語進一步涵蓋美國藥典(US Pharmacopeia)中所列舉之用於動物或人類之任何試劑。

【0058】術語「醫藥學上可接受之鹽」在本發明之上下文中係指對欲用其治療之患者或個體無害之鹽。一般而言，此類鹽係酸加成鹽或鹼性鹽。酸加成鹽包括無機酸之鹽及有機酸之鹽。適合酸加成鹽之非限制性實例包括鹽酸鹽、磷酸鹽、甲酸鹽、乙酸鹽、三氟乙酸鹽及檸檬酸鹽。鹼性鹽之實例包括以下鹽：其中陽離子係選自鹼金屬離子，諸如鈉及鉀；鹼土金屬離子，諸如鈣；以及經取代之銨離子，例如 $\text{NR}(\text{R}')_3^+$ 型，其中R及R'獨立地表示視情況經取代之 $\text{C}_{1-6}$ 烷基、視情況經取代之 $\text{C}_{2-6}$ 烯基、視情況經取代之芳基或視情況經取代之雜芳基。醫藥學上可接受之鹽的其他實例

係描述於Remington's Pharmaceutical Sciences, 第17版. Ed. Alfonso R. Gennaro (編), Mack Publishing Company, Easton, PA, U.S.A., 1985及較新版本中且描述於Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology中。

**【0059】** 在本發明之上下文中所使用之術語「治療(treatment)」(以及「治療(treating)」及其其他語法變體)係指用於獲得有益或所需臨床結果之方法。出於本發明之目的，有益或所需臨床結果包括(但不限於)減輕症狀、減輕疾病之程度、穩定(亦即，非加劇)疾病之狀態、延遲或減緩疾病進程、改善或緩和疾病狀態及緩解(部分或完全) (不論可偵測或不可偵測)。「治療」亦可指與在不存在治療之情況下所預期之存活時間相比存活時間之延長。「治療」係以預防病症之發展或改變病症之病理學為目的所進行之干預。因此，「治療」係指治療性治療與預防性或防治性措施。如在預防性或防治性措施之上下文中所使用，醫藥調配物不需要完全預防疾病或病症之發展。需要治療之彼等者包括已經患病之彼等者以及待預防病症之發展的彼等者。「治療」亦意謂相較於不治療，抑制或減少病理或症狀(例如，增重或低血糖)之增量，且未必意欲表示相關病況之完全終止。

**【0060】** 「穩定」調配物係其中之肽在儲存時基本上保持其物理穩定性及/或化學穩定性及/或生物活性之調配物。較佳地，調配物在儲存時基本上保持其物理及化學穩定性以及其生物活性。一般基於調配物之預期儲存壽命選擇儲存時間段。以例如穩定水性液體調配物之穩定液體調配物形式提供本發明之調配物。舉例而言，可自本領域中獲得各種用於量測蛋白質穩定性之分析性技術，且該等技術係綜述於*Peptide and Protein Drug Delivery*, 247-301, Vincent Lee編, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.,

Pubs. (1991)及Jones, A. *Adv. Drug Delivery Rev.* 10: 29-90 (1993)中。在本發明中，「穩定」調配物包括其中在已於2-8°C下儲存18個月後，調配物中之至少80%、更佳至少85%、更佳至少90%、更佳至少95%、更佳至少96%、更佳至少97%、更佳至少98%且最佳至少99%之升糖素類似物不降解之調配物。亦可能在加速條件下測試穩定性，其通常使用提高之儲存溫度以在縮短之時間段內分析穩定性。舉例而言，在25°C下儲存常指如在加速條件下，可用於在13、26、39或52週之時間段內分析穩定性。藉助於比較，使用諸如磷酸鹽緩衝液或組胺酸緩衝液之其他緩衝液導致在儲存相應時間段後通常小於80%之穩定性水準。

**【0061】** 可在選擇之溫度下量測穩定性持續選擇之時間段，例如使用升高之溫度以縮短測試調配物之時間段。通常，在2至8°C之間的溫度下儲存表示在正常冷藏條件下儲存。在特定實施例中，調配物在此類條件下穩定持續至少6個月、更佳至少12個月、更佳至少18個月、更佳至少24個月。可以各種不同方式定性地及/或定量地評估穩定性，包括評估凝集物形成(例如，使用粒徑篩析層析法、UV光散射、動態光散射、圓偏光二色性、藉由量測濁度及/或藉由肉眼觀察)；藉由使用陽離子交換層析法、圖像毛細管等電聚焦(icIEF)或毛細管帶域電泳分析電荷異質性；胺基末端或羧基末端序列分析；質譜分析；SDS-PAGE分析以比較經還原之抗體與完整抗體；肽地圖(例如胰蛋白酶或LYS-C)分析；評估抗體之生物活性或抗原結合功能；等。不穩定性可涉及以下中之任何一者或多者：凝集、脫醯胺(例如，Asn脫醯胺)、氧化(例如，Met氧化)、異構化(例如，Asp異構化)、裁剪/水解/分裂(例如，鉸鏈區分裂)、琥珀醯亞胺形成、未配對之半胱胺酸、N端延長、C端處理、糖基化差異、加成物形成等。

【0062】 若在例如肉眼檢查顏色及/或澄清度或如藉由UV光散射、動態光散射、圓偏光二色性或藉由粒徑篩析層析法所量測時未顯示凝集、沈澱及/或變性跡象(或極小跡象)且認為仍保持其生物活性，則醫藥調配物中之肽「保持其物理穩定性」。

【0063】 若指定時間處之化學穩定性係肽經認為仍保持其如下文所定義之生物活性，則醫藥調配物中之肽「保持其化學穩定性」。可藉由偵測及量化肽之化學改變形式來分析化學穩定性。化學改變可涉及異構化、氧化、尺寸修改(例如，裁剪)，該等改變可使用例如HPLC或粒徑篩析層析法、SDS-PAGE及/或質譜法評估。化學改變之其他類型包括電荷改變(例如，因脫醯胺而出現)，其可例如藉由HPLC或離子交換層析法或icIEF評估。

【0064】 如本文中所揭示，本發明之升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽或衍生物之穩定水性液體調配物一般包含：

(a)升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽或其衍生物，其係以約0.5 mg/mL至約10 mg/mL之濃度存在；

(b)作為緩衝液存在之TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES，其濃度係約25 mM至約75 mM；

(c)作為張力調節劑存在之氯化鈉；且其濃度係約50 mM至約200 mM；及

(d)約5.6至約7.0之pH。

【0065】 在包含升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物的調配物之一些實施例中，該調配物包含以以下濃度存在之升糖素類似物、其醫藥學上可接受之鹽或其衍生物：約0.1 mg/mL至約1.0 mg/mL，諸

如約0.1 mg/mL、約0.2 mg/mL、約0.3 mg/mL、約0.4 mg/mL、約0.5 mg/mL、約0.6 mg/mL、約0.7 mg/mL、約0.8 mg/mL、約0.9 mg/mL或約1.0 mg/mL。

【0066】藉助於實例，在一些實施例中，升糖素類似物係以約1.0 mg/mL或約4.0 mg/mL之濃度存在。

【0067】較佳地，在本發明之穩定水性液體調配物中，TRIS、Bis-TRIS或ACES係以約50 mM之濃度作為緩衝液存在。

【0068】較佳地，在本發明之穩定水性液體調配物中，氯化鈉係以約50 mM至約600 mM之濃度、以約50 mM至約500 mM之濃度、以約150 mM至約200 mM之濃度或以約60 mM至約120 mM之濃度作為張力調節劑存在。

【0069】較佳地，在本發明之穩定水性液體調配物中，調配物具有約5.8與6.7之間之pH、或約6.0與7.0之間之pH及更佳約6.0或約6.5之pH。在本文中所揭示之一些實施例中，單劑量(SD)調配物具有約6.5之pH，而意欲用於多劑量用途之調配物具有約6.0之pH或約6.5之pH。

【0070】較佳地，在本發明之穩定水性液體調配物中，調配物不包括選自鹽酸、硝酸、硫酸或其組合之離子化穩定賦形劑。

【0071】較佳地，在本發明之穩定水性液體調配物中，調配物係即用型調配物。

【0072】較佳地，在本發明之穩定水性液體調配物中，調配物在2-8°C下穩定持續至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月。較佳地，在本發明之穩定水性液體調配物中，調配物中之升糖素類似物在2-8°C下儲存18個月後保持至少約90%其生物活性。當在2-8°C下儲存反映自製

造至最終使用期間於冷藏條件下儲存時，本發明之液體調配物較佳在環境條件下具有長期儲存穩定性，例如在出售至終端用戶與投與之間的時間內具有長期儲存穩定性。

【0073】 較佳地，在本發明之穩定水性液體調配物中，調配物係無菌的。

【0074】 較佳地，在本發明之穩定水性液體調配物中，調配物係藉由例如經由皮下注射之注射而投與至個體。

【0075】 較佳地，在本發明之穩定水性液體調配物中，緩衝液係TRIS或Bis-TRIS。

【0076】 在一些態樣中，本發明之穩定水性液體調配物可進一步包含防腐劑。較佳地，防腐劑係間甲苯酚，其濃度視情況係約1.0 mg/mL至約5.0 mg/mL。

【0077】 在一個態樣中，本發明提供一種穩定水性液體調配物，其中升糖素類似物係以約0.75 mg/mL至約1.25 mg/mL之濃度存在，TRIS係以約40 mM至約60 mM之濃度存在，氯化鈉係以約150 mM至約200 mM之濃度作為張力調節劑存在，且調配物具有約6.0至約7.0之pH。在此態樣中，穩定水性液體調配物較佳包含以約1.0 mg/mL之濃度存在之升糖素類似物，TRIS係以約50 mM之濃度存在，氯化鈉係以約175 mM之濃度作為張力調節劑存在，且調配物具有約6.5之pH。此調配物一般預計作為單劑量調配物。

【0078】 在一其他態樣中，本發明提供一種穩定水性液體調配物，其中升糖素類似物係以約3.0至5.0 mg/mL之濃度存在，TRIS係以約40 mM至約60 mM之濃度存在，氯化鈉係以約60 mM至約120 mM之濃度作為張

力調節劑存在，間甲苯酚係以約3.0 mg/mL至約4.0 mg/mL之濃度作為防腐劑存在，且調配物具有約6.0至約7.0之pH。在此態樣中，升糖素類似物較佳以約4 mg/mL之濃度存在，TRIS係以約50 mM之濃度存在，氯化鈉係以約90 mM之濃度作為張力調節劑存在，間甲苯酚係以約3.0至約4.0 mg/mL之濃度作為防腐劑存在，且調配物具有約6.5之pH。在此態樣中，調配物一般預計作為多劑量調配物，且因此包括防腐劑。多劑量調配物之一實例具有約6.5之pH、4.0 mg/mL之達西升糖素、以約50 mM TRIS之濃度存在之TRIS，氯化鈉係以約90 mM之濃度作為張力調節劑存在，且間甲苯酚係以約3.15 mg/mL之濃度作為防腐劑存在。

**【0079】** 在一其他態樣中，本發明提供一種穩定水性液體調配物，其中升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物係以約3.0至5.0 mg/mL之濃度存在，TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES係以約25 mM至約75 mM之濃度作為緩衝液存在，及/或檸檬酸鹽、乙酸鹽或琥珀酸鹽係以約1 mM至約30 mM之濃度作為緩衝液存在，氯化鈉係以約50 mM至約150 mM之濃度作為張力調節劑存在，間甲苯酚係以約3.0 mg/mL至約4.0 mg/mL之濃度作為防腐劑存在，且調配物具有約6.0至7.0之pH。在此態樣中，升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物較佳以約4 mg/mL之濃度存在，TRIS、Bis-TRIS、ACES、MES緩衝液係以約50 mM之濃度存在，或檸檬酸鹽、乙酸鹽及/或琥珀酸鹽緩衝液係以約15 mM之濃度存在，氯化鈉係以約90 mM之濃度作為張力調節劑存在，間甲苯酚係以約3.0至約4.0 mg/mL之濃度作為防腐劑存在，且調配物具有約6.5之pH。

**【0080】** 如本文中所使用之術語「穩定調配物」係指具有提高之物理穩定性、提高之化學穩定性或提高之物理及化學穩定性之調配物。

**【0081】** 如本文中所示之術語「物理穩定性」係指肽(例如，本發明之化合物)例如由於肽曝露於應力及/或與去穩定化之界面及表面(諸如疏水性表面及界面)之相互作用而形成肽之可溶性或不溶性凝集物之傾向的量子度。可在於不同溫度下將填充於合適容器(例如，筒或小瓶)中之調配物曝露於機械/物理應力(例如，攪拌)下持續各種時間段後藉由肉眼觀察及或濁度量測之方式評估水性肽調配物之物理穩定性。就肽凝集而言，當調配物呈現可視渾濁時，其可劃分為物理不穩定。或者，可藉由技術者所熟知的一般濁度量測方法評估調配物之濁度。

**【0082】** 亦可藉由使用作為肽之構形狀態之光譜探針的試劑評估水性肽調配物之物理穩定性。探針較佳係優先結合於肽之非天然構型異構物之小分子。此類小分子光譜探針之一個實例係硫代黃素T，其係已廣泛用於偵測類澱粉小纖維之螢光染料。在小纖維之存在下，且亦可能在其他肽構型之存在下，當結合於肽之小纖維形式時，硫代黃素T在約450 nm下產生新的激發最大值且在約482 nm下產生增強之發射。未結合之硫代黃素T在相關波長下基本上無螢光。

**【0083】** 如本文中所示之術語「化學穩定性」係指關於肽結構中之共價/對掌性化學變化之肽的穩定性，相較於天然肽結構，該等變化導致化學降解產物之形成，該等產物可能具有較低生物效價及/或可能具有提高之免疫原性。視天然肽之類型及詳細性質及肽所曝露之環境而定，可形成多種化學降解產物。如本領域中之技術者所熟知，在實踐中，通常無法完全避免在肽調配物中消除化學降解，且在此類調配物之儲存及使用期間經常發現形成提高量之化學降解產物。許多肽對在麩醯胺醯基或天冬醯胺醯基殘基中之側鏈醯胺基水解以形成游離羧酸之降解過程敏感。其他降

解途徑涉及高分子量轉化產物之形成，其中兩個或更多個肽分子經由轉醯胺作用及/或二硫化物相互作用而彼此共價連接，導致共價連接寡聚物及聚合物降解產物之形成(參見例如，**Stability of Protein Pharmaceuticals**, Ahern. T.J.及Manning M.C., Plenum Press, 紐約 1992)。此外，導致肽分解之肽主鏈的水解係廣為人知的。(例如，甲硫胺酸殘基之)氧化係肽之另一形式之化學降解。可在曝露於不同環境條件(例如，常可藉由提高溫度而加速降解產物之形成)後，藉由在各種時間點處量測化學降解產物之量而評估肽調配物之化學穩定性。可藉由分離降解產物以生成「降解圖」而測定各個別降解產物之量。常使用各種層析技術(例如，SEC-HPLC及/或RP-HPLC)基於分子大小及/或電荷進行分離。寡聚物可為共價寡聚物或非共價寡聚物。共價寡聚物係經由共價化學鍵連接且隨後鍵結通常不可逆之兩個或更多個分子。相反，在非共價寡聚物中，一或多個分子係經由非共價化學鍵之相互作用(例如，離子相互作用、疏水性相互作用等)連接在一起。儘管在一些情況下此連接係可逆的，但該等相互作用通常非常牢固，因此其幾乎不可逆，且如共價寡聚物一樣產生醫藥學上不可用之活性藥物。

**【0084】** 升糖素本身在低pH下之化學不穩定性主要歸因於天冬胺酸殘基之異構化及裂解、麩醯胺酸殘基之脫醯胺及甲硫胺酸之氧化。一般而言，Asn及Gln脫醯胺在高pH下進行，其中在約pH 7.4之生理pH下經由環狀醯亞胺環中間體以顯著速率進行，該環狀醯亞胺環中間體可開環以分別產生L-Asp及L-isoAsp或L-Glu及L-isoGlu。該環狀醯亞胺環中間體亦可能導致形成少量的對應D-異構體，指示環狀醯亞胺之緩慢外消旋化。

**【0085】** 在低於生理pH之pH值下，Asn及Gln之脫醯胺速率降低，

但自Asp及Glu形成環狀醯亞胺且因此異構化之速率隨著pH降低而提高。環狀醯亞胺之形成在pH 4與pH 6之間最高。環狀醯亞胺中間體之形成亦可導致肽序列之裂解。

**【0086】** 如上文所陳述，「穩定調配物」可因此指代具有提高之物理穩定性、或提高之化學穩定性、或提高之物理及化學穩定性之調配物。一般而言，調配物應在使用及儲存(遵循推薦之使用及儲存條件)期間係穩定的，至少直至到達指定截止日期。

**【0087】** 在本發明之液體醫藥調配物之特定實施例中，調配物穩定持續至少使用2週及至少儲存6個月。在其他實施例中，調配物穩定持續至少使用2週及至少儲存一年。在又其他實施例中，調配物穩定持續至少使用2週及至少儲存兩年。在其他實施例中，調配物穩定持續至少使用4週及至少儲存兩年，或甚至持續至少使用4週及儲存多於3年。本發明之此類醫藥調配物之尤其適用的實施例係穩定持續至少使用6週及至少儲存3年。就此而言，出於本段之目的的術語「使用」係指出於將調配物用於治療目標之目的，將醫藥調配物自儲存狀態下取出，且因此使其處於不同環境條件(見光、黑暗、溫度、攪拌等條件)下，而出於本段之目的的術語「儲存」係指在非攪拌之條件下儲存於不超過約5°C之溫度的冰箱或冰櫃中。技術者應理解此等醫藥調配物可經歷之使用及儲存條件之典型範圍。

**【0088】** 如本文中所描述，本發明之升糖素類似物之穩定水性液體調配物包括緩衝液以提供pH且包括張力調節劑。根據一般醫藥實踐，本發明之調配物係無菌的及/或不含還原劑。本發明之液體調配物係水性液體調配物。

**【0089】** 如本文中所使用之術語「緩衝液」表示穩定醫藥調配物之

pH的醫藥學上可接受之試劑。合適緩衝液係此項技術中所熟知且可見於文獻中。在較佳實施例中，緩衝液係選自由以下組成之群：TRIS緩衝液、Bis-TRIS緩衝液、ACES緩衝液或MES緩衝液及/或檸檬酸鹽、乙酸鹽或琥珀酸鹽緩衝液，此係因為此等緩衝液提供穩定調配物，其中升糖素類似物溶解且不變黏、渾濁或使肽藥物沈澱。在較佳實施例中，緩衝液係TRIS或Bis-TRIS。通常，緩衝液將以約25 mM至約75 mM之濃度存在。在特定實施例中，緩衝液將以約50 mM之濃度存在。在特定實施例中，TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES緩衝液不依賴於調配物之pH而提供升糖素類似物之直接化學穩定性。在其他實施例中，如在相同測試條件下相對於磷酸鹽緩衝液及/或組胺酸緩衝液所測定，TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES緩衝液提供提昇之直接化學穩定性。在其他實施例中，尤其在彼等關於存在諸如間甲苯酚之防腐劑的多劑量調配物之實施例中，緩衝液亦包括使用檸檬酸鹽、乙酸鹽或琥珀酸鹽，其濃度係約1 mM至約30 mM。在一些實施例中，相對於其中TRIS、BIS-TRIS、ACES或MES緩衝液由相同濃度之磷酸鹽緩衝液及/或組胺酸緩衝液替換且在相同測試條件下評估pH之調配物，該調配物提供提昇之化學穩定性。舉例而言，在25°C下儲存52週後，調配物可具有降解情況，其後在25°C下儲存52週後，調配物含有以下中之一或多者：小於5%之Pyro-Glu 4-29、小於7%之Trp/Tyr氧化、小於4%之犬尿胺酸、小於5%之F-4-29 + F5-29及/或小於2%之F3.29，其中藉由HPLC測定所有百分比。

**【0090】** 如本文中所使用之術語「張力調節劑」表示用於調節調配物之張力的醫藥學上可接受之張力試劑。本發明之調配物較佳係等滲的，亦即其具有實質上與人類血清相同之滲透壓。用於調配物之張力調節劑較

佳係氯化鈉。尤其在調配物意欲等滲時，張力調節劑之濃度應取決於調配物之其他組分的濃度。通常，氯化鈉將以約50 mM至600 mM之濃度用作張力調節劑。在特定實施例中，本調配物中作為張力調節劑存在之氯化鈉的濃度可為約10 mM至約150 mM，諸如約20 mM至約130 mM、約50 mM至約125 mM、約75 mM至約120 mM、約90 mM至約115 mM或約110 mM。在特定實施例中，本調配物中作為張力調節劑存在之氯化鈉的濃度可為約150 mM至約200 mM，視情況約175 mM。在一較佳實施例中，氯化鈉可以約50 mM至約150 mM之濃度且最佳以約90 mM或約75 mM或約125 mM之濃度作為張力調節劑存在於包含防腐劑之調配物中。

**【0091】** 通常，選擇本發明之液體調配物之組分及量以提供具有約5.6之pH或約6.0至約7.0之pH的調配物。在一較佳實施例中，調配物可具有約6.2與約6.8之間的pH。更佳地，調配物可具有約6.3與約6.7之間的pH。更佳地，調配物可具有約6.4與約6.6之間的pH。或者或此外，針對單劑量及多劑量調配物，該等調配物可具有約6.5之pH。

**【0092】** 在特定實施例中，本發明之調配物進一步包含防腐劑。在較佳實施例中，防腐劑係間甲苯酚，其係以約1.0 mg/mL至約5.0 mg/mL之濃度、更佳約2.0 mg/mL至約4.0 mg/mL且最佳以約3.0 mg/mL至約4.0 mg/mL之濃度存在。如監管批准所需，防腐劑之量取決於能夠有效滅殺一系列細菌類型之需要。

**【0093】** 本發明之調配物具有藉由層析分離(例如，藉由粒徑篩析層析法(SEC)及/或反相層析法(RPC))所測定之降解情況。特定而言，本文中所述之實驗進一步發現，在於25°C下儲存52週後，製造根據本發明之穩定調配物之緩衝液的降解產物情況極其相似，而未製造穩定調配物之緩

衝液的降解產物情況係不同的。在下表中，使用HPLC量測降解產物之%。

【0094】 Pyro-Glu(4-29)係其中位置4處之Gln的主鏈氮與側鏈醯胺反應且形成內部內醯胺環之產物。隨後，位置3處之Ser與內醯胺化Glu部分之間的醯胺鍵之水解產生降解產物，其中前三個胺基酸已剪除且N端處存在pyro-Glu部分。Tyr/Trp之氧化導致羥基併入Tyr及Trp之芳環中。犬尿胺酸係Trp殘基之熟知氧化產物。添加琥珀酸係與將達西升糖素添加至順丁烯二酸緩衝液中之雙鍵相關。FX<sup>1</sup>-X<sup>2</sup>係含有胺基酸X<sup>1</sup>至X<sup>2</sup>之片段。

緩衝液	主要降解產物及與TRIS、Bis-TRIS及MES之比較	降解途徑
磷酸鹽	RT 1.35, Pyro-Glu(4-29): 7.5% vs 0.4%	水解
組胺酸	RRT 0.22, Tyr/Trp之氧化, +16Da, 9.9% vs 0.3% RRT 0.75, 犬尿胺酸, +4Da: 4.7% vs 0.2%	氧化
順丁烯二酸	RRT 1.02, 添加琥珀酸, +116Da: 12.5% vs 0.0% RRT 1.23, F-4-29 + F5-29: 6.3% vs 0.6% RRT 1.13, F-3.29: 2.6% vs 0.2%	添加琥珀酸(添加至順丁烯二酸中之雙鍵) 水解

【0095】 總之，相較於磷酸鹽、組胺酸及順丁烯二酸，TRIS、Bis-TRIS、MES及ACES使達西升糖素免於水解及氧化，且TRIS、Bis-TRIS、MES及達西升糖素之間不存在明顯反應。(在52週內)形成少量(在25°C下儲存52週後係0.9%)與ACES (+165 Da)凝聚之達西升糖素。

【0096】 因此，在一些態樣中，如藉由HPLC所測定，本發明之調配物在於25°C下儲存52週後將具有小於5%之Pyro-Glu 4-29，其更佳小於4%，更佳小於3%，更佳小於2%，更佳小於1%且最佳小於0.5%。

【0097】 因此，在一些情況下，如藉由HPLC所測定，本發明之調配物在於25°C下儲存52週後將具有將具有小於7%之Trp/Tyr氧化，其更佳小於5%，更佳小於4%，更佳小於3%，更佳小於2%，更佳小於1%且最佳

小於0.5%。

【0098】 因此，在一些情況下，如藉由HPLC所測定，本發明之調配物在於25°C下儲存52週後將具有將具有小於4%之犬尿胺酸；其更佳小於3%，更佳小於2%，更佳小於1%且最佳小於0.5%。

【0099】 因此，在一些情況下，如藉由HPLC所測定，本發明之調配物在於25°C下儲存52週後將具有小於5%之F-4-29 + F5-29，其更佳小於4%，更佳小於3%，更佳小於2%，更佳小於1%且最佳小於0.5%。

【0100】 因此，在一些情況下，如藉由HPLC所測定，本發明之調配物在於25°C下儲存52週後將具有小於2%之F3.29，其更佳小於1%且最佳小於0.5%。

【0101】 在一個態樣中，穩定水性液體調配物包含濃度係約0.75 mg/mL至約1.25 mg/mL之升糖素類似物、濃度係約40 mM至約60 mM之TRIS、濃度係約150 mM至約200 mM之作為張力調節劑的氯化鈉，且調配物具有約6.2至約6.8之pH。

【0102】 在另一態樣中，穩定水性液體調配物包含濃度係約3.0至5.0 mg/mL之升糖素類似物、濃度係約40 mM至約60 mM之TRIS、濃度係約60 mM至約120 mM之作為張力調節劑的氯化鈉、濃度係約3.0 mg/mL至約4.0 mg/mL之作為防腐劑的間甲苯酚，且調配物具有約6.0之pH。

【0103】 在特定實施例中，升糖素類似物之穩定液體調配物係即用型調配物。如本文中所使用之術語「即用型」係指在藉由指定投與途徑使用前無需使用指定量之例如注射用水或其他合適稀釋劑之稀釋劑復水或稀釋的調配物。

【0104】

## 醫學病況

本發明之升糖素類似物醫藥調配物可用於治療或預防各種病況或病症。視情況，調配物可與一或多種其他治療活性物質組合使用。因此，相關治療用途包括：治療或預防低血糖(包括(但不限於)急性低血糖、慢性低血糖或嚴重低血糖)、2型糖尿病(包括2型糖尿病之疾病進程)、葡萄糖失耐症、1型糖尿病、肥胖(包括與超重或肥胖相關之疾病或狀態)、冠心病、動脈粥樣硬化、高血壓、異常血脂症、肝脂肪變性、 $\beta$ -阻斷劑中毒、胰島素瘤及馮吉爾克病(Von Gierkes disease)；防止個體變得超重；減輕體重；減少食物攝取；提昇能量消耗；延緩自葡萄糖失耐症(IGT)至2型糖尿病之進程；延緩自2型糖尿病至胰島素依賴型糖尿病之進程；調節胃口或誘發飽腹感(包括治療貪食症及治療暴食)；且預防成功減重後之再增重。出於一般原則，本發明之醫藥調配物可用於控制血糖含量。

**【0105】** 能夠根據本發明治療或預防之低血糖之形式係糖尿病性低血糖、急性胰島素誘發之低血糖、高胰島素症性低血糖、嚴重低血糖、非糖尿病性低血糖、反應性低血糖、禁食低血糖、藥物誘發之低血糖、先天高胰島素症性低血糖、酒精誘發之低血糖、胃繞道術誘發之低血糖(包括(但不限於) Roux-en-Y胃繞道術後之餐後低血糖)、減重後低血糖或妊娠期間出現之低血糖。

**【0106】** 在另一實施例中，本發明之包含升糖素類似物之液體調配物係裝於遞送裝置中。在一些實施例中，遞送裝置係載藥針筒、注射裝置、注射筆、可調節劑量自動注射器、拋棄式自動注射器、穿戴式注射器或輸液泵。

**【0107】** 可以例如溶液、懸浮液或乳液形式之各種劑型投與本發明

之調配物，且該等劑型係用於受控釋放、持續釋放、持久釋放、減速釋放或慢速釋放藥物遞送系統之調配物。更特定而言(但並非排他)，本發明之醫藥調配物係與本領域中之彼等技術者所熟知的非經腸受控釋放及持久釋放系統組合使用。就此，可一般參考Handbook of Pharmaceutical Controlled Release (Wise, D.L.編, Marcel Dekker, 紐約, 2000)及Drugs and the Pharmaceutical Sciences第99卷: Protein Formulation and Delivery (MacNally, E.J.編, Marcel Dekker, 紐約, 2000)。

**【0108】** (本發明之液體醫藥調配物的)非經腸投與可例如使用注射器(諸如筆樣注射器及/或載藥型注射器)藉由皮下、肌內、腹膜內或靜脈注射進行。(本發明之液體醫藥調配物的)非經腸投與可例如使用自動注射器(諸如包含針筒之自動注射器)藉由皮下、肌內、腹膜內或靜脈注射進行。自動注射器可為單用或多用的，且其可提供(及/或經配置以提供)一或多劑液體醫藥調配物。在一些實施例中，藉由將本發明之調配物注射至患者之下腹、臀部、大腿或上臂(包括(但不限於)外側上臂)而進行非經腸投與。或者，可使用注射泵進行非經腸投與，其例如呈由個體或患者攜帶之裝置或系統之形式且包含含有本發明之液體調配物的容器及用於將調配物遞送/投與至個體或患者之注射泵，或呈適用於個體或患者體內移植之相應微型化裝置之形式。

**【0109】** 在一些情況下，可藉由向患者投與單劑量之調配物或藉由向患者投與多劑量而治療患者。在一些情況下，可向患者投與第一劑量之調配物，且隨後投與第二劑量之調配物。在一些情況下，可向患者投與第一劑量之調配物，且隨後投與第二劑量之調配物，且隨後投與另外一或多劑調配物(例如，第三劑量，及可能存在之第四或更多劑量)。

**【0110】****實例**

提供以下實例以說明本發明之較佳態樣，且該等實例不意欲限制本發明之範疇。

**【0111】****實例1****材料及方法***合成達西升糖素*

藉由Bachem AG合成達西升糖素。藉由丹麥Zealand Pharma, A/S製備且分析達西升糖素調配物。或者，可如WO 2014/016300 (Zealand Pharma A/S)中所述合成升糖素類似物，該文獻之內容係以其全文引用方式併入。

**【0112】***化學穩定性實驗*

將達西升糖素溶解於MilliQ水中以獲得25 mg/mL之儲備液濃度。藉由以下製備調配物：將肽儲備溶液(937  $\mu$ L)等分至管中，隨後添加緩衝液組分之儲備溶液，且隨後添加MiliQ水至體積之90%。量測pH，且視需要調整pH，隨後添加MiliQ水以獲得最終體積。隨後使用Minisart高流量0.2  $\mu$ m過濾器過濾所有調配物。用氮氣吹掃經過濾之溶液且將其等分至小瓶中，各小瓶中具有1.0 mL。壓緊小瓶且將其置於穩定性腔室中。

**【0113】** 在5°C及25°C下於加快之條件下測試調配物，且在第0週、第9週、第13週、第26週、第34週、第39週及第52週測試。藉由HPLC測定調配物之純度，且藉由LC-MS分析確定分解產物之情況。

【0114】 本發明之單劑量(SD)調配物之組成係呈現於表1及表5中。所有調配物均含有mg/mL達西升糖素且在pH 6.5下調配。調配物1至3研究調配物中不同氯化鈉之量的影響，而調配物4至10研究用於製造調配物之緩衝液之影響。調配物11係對照調配物於Milli-Q水中，且調配物12經設計為係藉助於與單劑量調配物之比較包括於此研究中之多劑量調配物。調配物12 (MD調配物)之組成係pH 6.5，4.0 mg/mL升糖素類似物，50 mM TRIS，90 mM NaCl及3.15 mg/mL間甲苯酚。

【0115】 本發明之多劑量調配物之組成係呈現於表2至4及6中。調配物均包括間甲苯酚及4 mg/mL達西升糖素且在pH 6.0或pH 6.5下調配。表2a、3a及4a報導HPLC分析之結果。表2b、3b及4b報導SEC分析之結果。

【0116】 表2中之調配物研究在pH 6.0及pH 6.5下使用不同緩衝液(Tris、Bis-TRIS、MES、檸檬酸鈉、乙酸鈉及琥珀酸鈉)及兩種濃度之氯化鈉(90mM及125mM)作為張力調節劑對調配物之穩定性的影響。

【0117】 表3、表4及表6中之調配物係與表2中所列出之彼等調配物類似且研究在pH 6.0及pH 6.5下且以一種濃度之氯化鈉(75 mM)作為張力調節劑使用緩衝液之組合對調配物之穩定性的影響。

### 【0118】

#### HPLC

藉由HPLC測定達西升糖素樣本之純度。在Dionex Ultimate3000 HPLC系統上分析樣本。Chromleon係用作分析軟體。使用Kinetex C8管柱(150 mm × 4.6 mm，2.6 μm)自降解產物分離達西升糖素。移動相係由A: 0.45% TFA (V/V)於MilliQ水(MQW)中及B: 0.45% TFA (V/V)於

MeCN/MQW中(90:10)組成。梯度係40分鐘內0.5毫升/分鐘之流速的35至38% B。將管柱爐溫度設為30°C，將偵測器波長設為220 nm且注射2  $\mu$ L。

### 【0119】

#### SEC

在Dionex Ultimate 3000 HPLC系統(賽默飛世爾(Thermo Fisher))上進行粒徑篩析層析法(SEC)實驗，其以0.5毫升/分鐘之流速使用等度溶離分析調配物中寡聚物之存在。移動相係由0.1% TFA、45%乙腈於MQW中組成。215 nm之波長係用於偵測。注射量係2  $\mu$ g肽。用於SEC分析之管柱係TSKgel SuperSW2000 (TOSOH公司)，4 $\mu$ m，30  $\times$  4.6 mm且管柱溫度係25°C。運行時間係12分鐘。

### 【0120】

#### 結果

在25°C下於加快之條件下儲存52週後，針對調配物中所剩餘之達西升糖素之純度%獲得以下結果。

【0121】考慮到用於實驗之加快之儲存條件，相對於其他緩衝液及對照物(Milli-Q水)，不論用於實驗之加快之應力條件如何，穩定性研究均顯示TRIS、Bis-TRIS、ACES及MES緩衝液在25°C下儲存52週後均呈現可接受之穩定性水平，其中80%或更多之達西升糖素保持完整。

【0122】如藉由HPLC及SEC所分析，對於包括間甲苯酚之多劑量調配物，TRIS、Bis-TRIS、ACES或MES以及檸檬酸鹽、乙酸鹽或琥珀酸鹽緩衝液為調配物提供良好水平之穩定性。

表5

調配物編號：	組成	時間，25°C下之週數，加快之儲存， 剩餘達西升糖素%		
		0	13	52
1	TRIS，175mM NaCl	100	96	83
2	TRIS，500mM NaCl	100	95	84
3	TRIS，90mM NaCl	100	96	83
4	TRIS，0mM NaCl	100	95	84
5	磷酸鹽	100	93	76
6	組胺酸	100	90	69
7	Bis-TRIS	100	95	81
8	ACES	100	96	83
9	順丁烯二酸	100	91	57
10	MES	100	90	85
11	MQW，pH 6.5	100	74	n.d.
12	多劑量引導物	100	n.d.	83

表5b

調配物編號：	組成	時間，25°C下之週數，加快之儲存，寡聚物%		
		0	13	52
1	TRIS，175mM NaCl	0.13	0.31	0.61
2	TRIS，500mM NaCl	0.13	0.36	0.74
3	TRIS，90mM NaCl	0.17	0.3	0.57
4	TRIS，0mM NaCl	0.14	0.24	0.51
5	磷酸鹽	0.15	0.59	0.73
6	組胺酸	0.12	0.42	0.84
7	Bis-TRIS	0.12	0.53	2.81
8	ACES	0.16	0.19	0.46
9	順丁烯二酸	0.16	0.55	4.75
10	MES	0.14	0.43	0.74
11	MQW，pH 6.5	0.05	0.26	0.26
12	多劑量引導物	0.19	n.d.	1.4

【0123】鑒於先前技術中關於包括水之升糖素調配物之穩定化所報導之挑戰，該等觀測結果係驚人的。

【0124】如TRIS與Bis-TRIS具有類似化學結構，ACES與MES之結構不同，結果亦出乎意料。

【0125】 實驗亦顯示，液體肽調配物中常用之緩衝液，亦即磷酸鹽、組胺酸及順丁烯二酸無法分別提供能夠長期儲存(75%、68%及57%)之保持完好之達西升糖素的調配物。

【0126】 實驗進一步顯示，可能包括合適量之NaCl作為張力調節劑而不影響四種緩衝液所提供之穩定性。

【0127】 資料顯示，單劑量(SD)調配物(每週0.31%，調配物1)與多劑量(MS)調配物(每週0.32%，調配物12)之間存在類似之達西升糖素損耗趨勢。

【0128】 實驗亦顯示，能夠將防腐劑(間甲苯酚)包括於調配物中同時保持儲存穩定性，允許多劑量調配物之發展且允許調配物與遞送裝置組合使用。

【0129】

## 實例2 - 達西升糖素在Roux-en-Y胃繞道術後緩解餐後低血糖

餐後低血糖係Roux-en-Y胃繞道術(RYGB)後之頻發及虛弱併發症，且不存在有效治療。在概念驗證研究中，吾等研究達西升糖素-一種新穎、穩定升糖素類似物-對RYGB後之餐後低血糖的影響。本研究之主要目標係檢驗兩種劑量之達西升糖素對餐後最低血漿葡萄糖濃度(PG)之影響及經RYGB手術且確定患有餐後低血糖之個體中之低血糖(<3.9 mmol/l)中所花費之時間。

【0130】

### 材料及方法

使十名經RYGB手術(兩名男性、八名女性；BMI 34.6 (21.8-39.0) kg/m<sup>2</sup>；46歲(29-67)歲；HbA<sub>1c</sub> 32 (29-42) mmol/mol；自手術之時間係

9.3 (6-11.5)年；自手術之重量降低量係53.9 (25.1-92.0) kg))且確定患有症狀性餐後低血糖(PG <3.5 mmol/l，藉由6日持續葡萄糖監測所驗證)之個體完成雙盲、隨機交叉研究，研究包含三個獨立治療日，各自包括標準化液體混合餐飲測試(每kg體重25 kJ；50 E%碳水化合物、35 E%脂肪及15 E%蛋白質)。隨後在餐後PG峰、大約在其中使用針對個體之線性回歸模型時PG返回禁食水準之預計時間點前10分鐘皮下注射安慰劑、80或200 µg達西升糖素(D<sub>80µg</sub>及D<sub>200µg</sub>)。以固定時間間隔進行採血且藉由愛丁堡低血糖症狀量表(Edinburgh Hypoglycaemia Symptom Scale)分析低血糖症狀。使用多比較線性混合模型及杜克修正模型分析資料。

### 【0131】

#### 結果

與安慰劑相比，在藥物投與(安慰劑：752±19分鐘×毫莫耳/升；D<sub>80µg</sub>：917±22分鐘×毫莫耳/升；D<sub>200µg</sub>：992±28分鐘×毫莫耳/升； $p < 0.0001$ 及 $p < 0.0001$ )後，使用D<sub>80µg</sub>及D<sub>200µg</sub>之治療顯著提昇最低PG (安慰劑：3.0±0.2 mmol/l；D<sub>80µg</sub>：3.9±0.3 mmol/l；D<sub>200µg</sub>：4.5±0.2 mmol/l； $p = 0.002$ 及 $p = 0.0002$ )及PG增量式AUC (iAUC<sub>70-240分鐘</sub>)。此外，相較於安慰劑(<3.9 mmol/l)，兩種劑量均縮短低血糖之時間(安慰劑：62.0±8分鐘；D<sub>80µg</sub>：27.5±12分鐘；D<sub>200µg</sub>：14.0±9分鐘； $p = 0.05$ 及 $p = 0.003$ )。五名參與者在投與安慰劑後經歷2級低血糖(<3.1 mmol/l)，而無參與者在投與D<sub>200µg</sub>後經歷此現象(2級低血糖之時間：(n=5)：安慰劑：31.0±5分鐘；D<sub>80µg</sub>：7±5分鐘；D<sub>200µg</sub>：0.0±0分鐘； $p > 0.05$ 及 $p = 0.01$ )。三個研究日之間不存在血糖症狀之明顯變化。

### 【0132】

## 結論

單劑量投與達西升糖素有效緩解餐後低血糖且代表一種用於在RYGB後處理餐後低血糖之有前途的新穎治療選擇。

【0133】

## 參考文獻

本文中所提及之所有參考文獻均明確以其全文引用方式併入。

WO 2014/016300 (Zealand Pharma A/S)

Hövelmann等人, *Diabetes Care*, 2017 ([https:// doi.org/ 10.2337/dc17-1402](https://doi.org/10.2337/dc17-1402))

WO 2017/053822 (Xeris Pharmaceuticals, Inc.)

WO 2014/124151 (Xeris Pharmaceuticals, Inc.)

WO 2016/133863 (禮來公司(Eli Lilly and Company))

WO 2019/110838 (Adocia)

WO 2008/084237 (Arecor Limited)

表1

調配物 #	肽濃度 [mg/mL]	pH	賦形劑A	賦形劑B	賦形劑C	賦形劑D	賦形劑E	賦形劑F	賦形劑G	賦形劑H
			TRIS	磷酸鹽	組胺酸	BIS-TRIS	ACES	順丁烯二酸	MES	NaCl
			[mM]	[mM]	[mM]	[mM]	[mM]	[mM]	[mM]	[mM]
1	1	6.5	50							175
2	1	6.5	50							500
3	1	6.5	50							90
4	1	6.5	50							
5	1	6.5		50						
6	1	6.5			50					
7	1	6.5				50				
8	1	6.5					50			
9	1	6.5						50		
10	1	6.5							50	
11	1	6.5								

調配物12 (MD調配物)係pH 6.5、4.0 mg/mL達西升糖素、50 mM TRIS、90 mM NaCl及3.15 mg/mL間甲苯酚。

表2

調配物 #	肽濃度	pH	賦形劑A	賦形劑B	賦形劑C	賦形劑D	賦形劑E	賦形劑F	賦形劑G	賦形劑H
	[mg/mL]		Tris	Bis-Tris	MES	檸檬酸鈉	乙酸鈉	琥珀酸鈉	間甲苯酚	NaCl
			[mM]	[ mM ]	[ mM ]	[ mM ]	[ mM ]	[ mM ]	[mg/mL]	[ mM ]
1	4	6.5	50						3.15	90
2	4	6.0	50						3.15	90
3	4	6.5		50					3.15	90
4	4	6.0		50					3.15	90
5	4	6.5			50				3.15	90
6	4	6.0			50				3.15	90
7	4	6.5				15			3.15	125
8	4	6.0				15			3.15	125
9	4	6.5					15		3.15	125
10	4	6.0					15		3.15	125
11	4	6.5						15	3.15	125
12	4	6.0						15	3.15	125

表2a

調配物編號：	HPLC分析	時間，5°C下之週數，剩餘達西升糖素%		
	組成	0	26	52
1	Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5 (參考調配物)	100	99.75	98.29
2	Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0 (參考調配物pH 6.0)	100	99.54	98.54
3	Bis-Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.30	97.64
4	Bis-Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*
5	MES 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.43	98.40
6	MES 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*
7	檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.64	98.07
8	檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*
9	乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.11	97.15
10	乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*
11	琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.56	98.61
12	琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*

\* 5°C下之沈澱

表2b

調配物編號：	SEC分析	時間，5°C下之週數，寡聚物%		
	組成	0	26	52
1	Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.16	0.25	0.26
2	Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.16	0.25	0.27
3	Bis-Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.16	0.37	0.52
4	Bis-Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	*	*
5	MES 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.27	0.26
6	MES 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	*	*
7	檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.19	0.17
8	檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.14	*	*
9	乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.24	0.24
10	乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	*	*
11	琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.28	0.33
12	琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	*	*

\* 5°C下之沈澱

表2c

調配物編號：	HPLC分析 組成	時間，25°C下之週數，加快之 儲存，剩餘達西升糖素%		
		0	13	26
1	Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5 (對照調配物)	100	95.39	91.35
2	Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0 (對照調配物pH 6.0)	100	96.11	92.17
3	Bis-Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	94.54	89.19
4	Bis-Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.46	91.47
5	MES 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	95.98	92.10
6	MES 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	96.11	92.46
7	檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	95.42	91.89
8	檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.66	91.56
9	乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	94.89	90.15
10	乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.91	91.81
11	琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	95.51	91.42
12	琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	96.22	92.18

表2d

調配物編號：	SEC分析	時間，25°C下之週數，加快之儲存，寡聚物%		
	組成	0	13	26
1	Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.16	0.40	0.62
2	Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.16	0.41	0.59
3	Bis-Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.16	1.16	2.98
4	Bis-Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	0.77	1.52
5	MES 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.42	0.64
6	MES 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	0.45	0.68
7	檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.26	0.35
8	檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.14	0.26	0.35
9	乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.38	0.64
10	乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	0.50	0.76
11	琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.52	0.86
12	琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	0.56	1.02

表3

調配物 #	肽濃度	pH	賦形劑A	賦形劑B	賦形劑D	賦形劑E	賦形劑F	賦形劑G	賦形劑H
	[mg/mL]		Tris	Bis-Tris	檸檬酸鈉	乙酸鈉	琥珀酸鈉	間甲苯酚	NaCl
			[mM]	[mM]	[mM]	[mM]	[mM]	[mg/mL]	[mM]
1	4	6.5	50		15			3.15	75
2	4	6.0	50		15			3.15	75
3	4	6.5	50			15		3.15	75
4	4	6.0	50			15		3.15	75
5	4	6.5	50				15	3.15	75
6	4	6.0	50				15	3.15	75
7	4	6.5		50	15			3.15	75
8	4	6.0		50	15			3.15	75
9	4	6.5		50		15		3.15	75
10	4	6.0		50		15		3.15	75
11	4	6.5		50			15	3.15	75
12	4	6.0		50			15	3.15	75

表3a

調配物編號：	HPLC分析 組成	時間，5°C下之週數，剩餘達西升糖素 %		
		0	26	52
1	Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.17	98.43
2	Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*
3	Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.06	98.38
4	Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*
5	Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.17	98.13
6	Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*
7	Bis-Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.06	98.09
8	Bis-Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*
9	Bis-Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.15	97.55
10	Bis-Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*
11	Bis-Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.03	98.03
12	Bis-Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*

\* 5°C下之沈澱

表3b

調配物編號：	SEC分析 組成	時間，5°C下之週數，寡聚物%		
		0	26	52
1	Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.18	0.16
2	Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	*	*
3	Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.25	0.27
4	Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.14	*	*
5	Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.25	0.25
6	Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.14	*	*
7	Bis-Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.32	0.35
8	Bis-Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.14	*	*
9	Bis-Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.35	0.51
10	Bis-Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	*	*
11	Bis-Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.37	0.55
12	Bis-Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.16	*	*

\* 5°C下之沈澱

表3c

調配物編號：	HPLC分析 組成	時間，25°C下之週數，加快之儲存，剩餘達西升糖素%		
		0	13	26
1	Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	95.22	90.56
2	Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.36	90.07
3	Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	95.55	91.03
4	Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.81	91.42
5	Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	95.05	91.20
6	Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.59	90.96
7	Bis-Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	95.14	90.43
8	Bis-Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.05	90.31
9	Bis-Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	93.86	n.d.
10	Bis-Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.24	n.d.
11	Bis-Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	93.97	n.d.
12	Bis-Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.00	n.d.

表3d

調配物編號：	SEC分析 組成	時間，25°C下之週數，加快之儲存，寡聚物%		
		0	13	26
1	Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.23	0.32
2	Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	0.25	0.34
3	Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.38	0.60
4	Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.14	0.29	0.47
5	Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.39	0.62
6	Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.14	0.27	0.38
7	Bis-Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	0.73	1.83
8	Bis-Tris 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.14	0.57	1.10
9	Bis-Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	1.40	3.75
10	Bis-Tris 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.15	0.83	1.64
11	Bis-Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.15	1.50	4.50
12	Bis-Tris 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.16	0.89	1.85

表4

調配物 #	肽濃度 [mg/mL]	pH	賦形劑A	賦形劑B	賦形劑C	賦形劑D	賦形劑E	賦形劑F
			MES	檸檬酸鈉	乙酸鈉	琥珀酸鈉	間甲苯酚	NaCl
			[mM]	[mM]	[mM]	[mM]	[mM]	[mM]
1	4	6.5	50	15			3.15	75
2	4	6.0	50	15			3.15	75
3	4	6.5	50		15		3.15	75
4	4	6.0	50		15		3.15	75
5	4	6.5	50			15	3.15	75
6	4	6.0	50			15	3.15	75

表4a

調配物編號：	HPLC分析 組成	時間，5°C下之週數，剩餘達西升糖素%		
		0	26	52
1	MES 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.86	99.44
2	MES 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*
3	MES 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.65	99.65
4	MES 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*
5	MES 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	99.72	99.60
6	MES 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	*	*

\* 5°C下之沈澱

表4b

調配物編號：	SEC分析 組成	時間，5°C下之週數，寡聚物%		
		0	26	52
1	MES 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.14	0.19	0.24
2	MES 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.14	*	*
3	MES 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.14	0.22	0.25
4	MES 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.08	*	*
5	MES 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.14	0.23	0.26
6	MES 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.13	*	*

\* 5°C下之沈澱

相較於對照調配物，所有含有乙酸鹽之調配物均可接受DLS及吸光度。

表4c

調配物編號：	HPLC分析 組成	時間，25°C下之週數，加快之儲存，剩餘達西升糖素%		
		0	13	26
1	MES 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	95.90	92.18
2	MES 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.62	91.20
3	MES 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	95.92	92.36
4	MES 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.78	92.55
5	MES 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	96.10	92.39
6	MES 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	100	95.85	92.22

表4d

調配物編號：	SEC分析 組成	時間，25°C下之週數，加快之儲存，寡聚物%		
		0	13	26
1	MES 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.14	0.28	0.36
2	MES 50 mM，檸檬酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.14	0.29	0.38
3	MES 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.14	0.38	0.59
4	MES 50 mM，乙酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.08	0.38	0.62
5	MES 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.14	0.40	0.60
6	MES 50 mM，琥珀酸鈉15 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.0	0.13	0.44	0.68

表6

調配物 #	肽濃度 [mg/mL]	pH	賦形劑A	賦形劑B	賦形劑C	賦形劑D	賦形劑E
			Tris	磷酸鹽	組胺酸	NaCl	間甲苯酚
			[mM]	[mM]	[mM]	[mM]	[mg/mL]
1	4	6.5	50			90	3.15
2	4	6.5		50		90	3.15
3	4	6.5			25	90	3.15
4	4	6.5	50	50		90	3.15
5	4	6.5	50		25	90	3.15
6	4	6.5		50	25	90	3.15

表6a

調配物編 號：	組成	時間，40°C下之天數，加快之儲 存，剩餘達西升糖素%			
		0	7	14	18
		1	Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚 3.15 mg/mL，pH 6.5 (參考調配物)	100	97.4
2	磷酸鹽50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯 酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	96.6	94.4	92.9
3	組胺酸25 mM，NaCl 90 mM，間甲苯 酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	97.5	94.1	92.7
4	Tris 50 mM，磷酸鹽50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	97.5	94.5	92.6
5	Tris 50 mM，組胺酸25 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	97.5	94.1	92.7
6	磷酸鹽50 mM，組胺酸25 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	100	97.6	94.2	92.2

表6b

調配物編 號：	組成	時間，40°C下之天數，加快之 儲存，寡聚物%			
		0	7	14	18
		1	Tris 50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚 3.15 mg/mL，pH 6.5 (參考調配物)	0.11	0.30
2	磷酸鹽50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯 酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.12	0.24	0.30	0.31
3	組胺酸25 mM，NaCl 90 mM，間甲苯 酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.1	0.44	0.85	0.93
4	Tris 50 mM，磷酸鹽50 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.12	0.21	0.27	0.29
5	Tris 50 mM，組胺酸25 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.11	0.35	0.75	0.85
6	磷酸鹽50 mM，組胺酸25 mM，NaCl 90 mM，間甲苯酚3.15 mg/mL，pH 6.5	0.1	0.18	0.28	0.29

## 【序列表】

<110> 丹麥商西蘭製藥公司(ZEALAND PHARMA A/S)

<120> 升糖素類似物之液體調配物

<130> 007371412

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> Xaa = Aib

<400> 1

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa

1                    5                    10                    15

Ala Arg Ala Glu Glu Phe Val Lys Trp Leu Glu Ser Thr

20                    25

## 【發明申請專利範圍】

### 【請求項1】

一種穩定水性液體醫藥調配物，其包含以下升糖素類似物：

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物；

其中該調配物包含：

(a)該升糖素類似物，其係以約0.5 mg/mL至約10 mg/mL之濃度存在；

(b)作為緩衝液存在之TRIS、ACES或MES，其濃度係約25 mM至約75 mM，及/或作為緩衝液存在之檸檬酸鹽、乙酸鹽或琥珀酸鹽，其濃度係約1 mM至約30 mM；

(c)作為張力調節劑存在之氯化鈉，且其濃度係約50 mM至約600 mM；及

(d)約5.6至約7.0之pH。

### 【請求項2】

如請求項1之穩定水性液體調配物，其中不依賴於由該緩衝液所提供之該調配物的該pH，該TRIS、ACES或MES緩衝液以化學方式直接穩定該升糖素類似物。

### 【請求項3】

如請求項1或請求項2之穩定水性液體調配物，其中相對於該TRIS、ACES或MES緩衝液經在相同測試條件下評估之相同濃度及pH的磷酸鹽緩衝液及/或組胺酸緩衝液替代之調配物，該調配物提供經提昇之化學穩定作用。

**【請求項4】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中在25°C下儲存52週後，該調配物具有降解情況，其後在25°C下儲存52週後，該調配物含有以下中之一或多者：小於5%之Pyro-Glu 4-29、小於7%之Trp/Tyr氧化、小於4%之犬尿胺酸、小於5%之F-4-29 + F5-29及/或小於2%之F3.29，其中藉由HPLC測定所有百分比。

**【請求項5】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該調配物具有降解情況，其中除順丁烯二酸外，該升糖素類似物亦不含琥珀酸。

**【請求項6】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該調配物實質上不包括非質子極性溶劑。

**【請求項7】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該調配物實質上不包括二甲亞砜(DMSO)。

**【請求項8】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中水係用於製造該水性液體調配物之唯一溶劑。

**【請求項9】**

如前述請求項中任一項之調配物，其中該升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物係以以下濃度存在：約0.5 mg/mL、0.6 mg/mL、0.7 mg/mL、1.0 mg/mL或約4.0 mg/mL。

**【請求項10】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該TRIS、ACES或MES緩衝液係以約50 mM之濃度的緩衝液形式存在。

**【請求項11】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該氯化鈉係以約150 mM至約200 mM之濃度或以約50 mM至約150 mM之濃度的張力調節劑形式存在。

**【請求項12】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該調配物具有約5.8至6.7之pH，視情況其中該調配物具有約6.5之pH。

**【請求項13】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該調配物不包括選自鹽酸、硝酸、硫酸或其組合之離子化穩定賦形劑。

**【請求項14】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該調配物係即用型調配物。

**【請求項15】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該調配物在2-8°C下穩定持續至少6個月、至少12個月、至少18個月或至少24個月。

**【請求項16】**

如請求項15之穩定水性液體調配物，其中該調配物中之該升糖素類似物在2-8°C下儲存18個月後保持至少約90%其生物活性。

**【請求項17】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該調配物係無

菌的及/或不含還原劑。

**【請求項18】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該調配物經調配以藉由注射投與至個體。

**【請求項19】**

如請求項18之穩定水性液體調配物，其中該注射係皮下注射。

**【請求項20】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其中該緩衝液係TRIS。

**【請求項21】**

如前述請求項中任一項之穩定水性液體調配物，其進一步包含防腐劑。

**【請求項22】**

如請求項21之穩定水性液體調配物，其中該防腐劑係間甲苯酚，視情況其濃度係約1.0 mg/mL至約5.0 mg/mL。

**【請求項23】**

如請求項1至19中任一項之穩定水性液體調配物，其中該升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物係以約0.75 mg/ml至約1.25 mg/mL之濃度存在，該TRIS、ACES或MES緩衝液係以約40 mM至約60 mM之濃度存在，氯化鈉係以約150 mM至約200 mM之濃度的張力調節劑形式存在，且該調配物具有約6.0至約6.8之pH。

**【請求項24】**

如請求項23之穩定水性液體調配物，其中該升糖素類似物或其醫藥

學上可接受之鹽及/或衍生物係以約1.0 mg/mL之濃度存在，TRIS係以約50 mM之濃度存在，氯化鈉係以約175 mM之濃度的張力調節劑形式存在，且該調配物具有約6.5之pH。

**【請求項25】**

如請求項1至22中任一項之穩定水性液體調配物，其中該升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物係以約3.0至5.0 mg/mL之濃度存在，TRIS、ACES或MES緩衝液係以約40 mM至約60 mM之濃度存在，氯化鈉係以約50 mM至約150 mM之濃度的張力調節劑形式存在，間甲苯酚係以約3.0 mg/mL至約4.0 mg/mL之濃度的防腐劑形式存在，且該調配物具有約6.0至約7.0之pH。

**【請求項26】**

如請求項25之穩定水性液體調配物，其中該升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物係以約4 mg/mL之濃度存在，TRIS係以約50 mM之濃度存在，氯化鈉係以約90 mM之濃度的張力調節劑形式存在，間甲苯酚係以約3.0至約4.0 mg/mL之濃度的防腐劑形式存在，且該調配物具有約6.5之pH。

**【請求項27】**

如請求項1至22中任一項之穩定水性液體調配物，其中該升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物係以約3.0至5.0 mg/mL之濃度存在，TRIS、ACES或MES係以約25 mM至約75 mM之濃度的緩衝液形式存在，及/或檸檬酸鹽、乙酸鹽或琥珀酸鹽係以約1 mM至約30 mM之濃度的緩衝液形式存在，氯化鈉係以約50 mM至約150 mM之濃度的張力調節劑形式存在，間甲苯酚係以約3.0 mg/mL至約4.0 mg/mL之濃度的防腐劑形

式存在，且該調配物具有約6.0至7.0之pH。

**【請求項28】**

如請求項27之穩定水性液體調配物，其中該升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物係以約4 mg/mL之濃度存在，TRIS、ACES、MES緩衝液係以約50 mM之濃度存在，或檸檬酸鹽、乙酸鹽及/或琥珀酸鹽緩衝液係以約15 mM之濃度存在，氯化鈉係以約90 mM之濃度的張力調節劑形式存在，間甲苯酚係以約3.0至約4.0 mg/mL之濃度的防腐劑形式存在，且該調配物具有約6.5之pH。

**【請求項29】**

如請求項1至28中任一項之穩定水性液體調配物，其中該緩衝液進一步包含檸檬酸鹽、乙酸鹽或琥珀酸鹽。

**【請求項30】**

如請求項1至29中任一項之穩定水性液體調配物，其中該檸檬酸鹽、乙酸鹽或琥珀酸鹽係以10 mM至30 mM之濃度存在於該調配物中。

**【請求項31】**

一種遞送裝置，其包含如請求項1至30中任一項之液體調配物。

**【請求項32】**

如請求項30之遞送裝置，其中該遞送裝置係載藥針筒、注射裝置、注射筆、可調節劑量自動注射器、拋棄式自動注射器、穿戴式注射器或輸液泵。

**【請求項33】**

一種如請求項1至30中任一項之升糖素類似物之調配物，其用於治療。

**【請求項34】**

一種如請求項1至30中任一項之升糖素類似物之調配物，其用於治療選自以下之疾病或病況：低血糖(包括(但不限於)嚴重低血糖、急性低血糖、慢性低血糖)、2型糖尿病、葡萄糖失耐症、1型糖尿病、肥胖、冠心病、動脈粥樣硬化、高血壓、異常血脂症、肝脂肪變性、 $\beta$ -阻斷劑中毒、胰島素瘤或馮吉爾克病(Von Gierkes disease)。

**【請求項35】**

如請求項33或請求項34之用於治療方法之升糖素類似物之調配物，其中該疾病或病況係低血糖。

**【請求項36】**

如請求項35之用於治療方法之升糖素類似物之調配物，其中該低血糖係選自由以下組成之群：糖尿病性低血糖、急性胰島素誘發之低血糖、嚴重低血糖、非糖尿病性低血糖、反應性低血糖、禁食低血糖、藥物誘發之低血糖、酒精誘發之低血糖、胃繞道術誘發之低血糖(包括(但不限於)Roux-en-Y胃繞道術後之餐後低血糖)或妊娠期間出現之低血糖。

**【請求項37】**

如請求項33至36中任一項之用於治療方法之升糖素類似物之調配物，其中該升糖素類似物係用於治療人類患者。

**【請求項38】**

一種治療患者之方法，該方法包含向有需要之患者投與如請求項1至30中任一項之調配物。

**【請求項39】**

一種治療患者之疾病或病況之方法，該疾病或病況係選自低血糖(包

括(但不限於)嚴重低血糖、急性低血糖、慢性低血糖)、2型糖尿病、葡萄糖失耐症、1型糖尿病、肥胖、冠心病、動脈粥樣硬化、高血壓、異常血脂症、肝脂肪變性、 $\beta$ -阻斷劑中毒、胰島素瘤或馮吉爾克病，該方法包含向有需要之患者投與如請求項1至30中任一項之調配物。

**【請求項40】**

如請求項39之方法，其中該疾病或病況係低血糖。

**【請求項41】**

如請求項40之方法，其中該低血糖係選自由以下組成之群：糖尿病性低血糖、急性胰島素誘發之低血糖、嚴重低血糖、非糖尿病性低血糖、反應性低血糖、禁食低血糖、藥物誘發之低血糖、酒精誘發之低血糖、胃繞道術誘發之低血糖(包括(但不限於) Roux-en-Y胃繞道術後之餐後低血糖)或妊娠期間出現之低血糖。

**【請求項42】**

如請求項38至41中任一項之方法，其中該患者係人類。

**【請求項43】**

一種用於製造穩定水性液體醫藥調配物之方法，該調配物包含以下升糖素類似物：

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物；

該方法包含調配以下以製造該穩定水性液體醫藥調配物：(a)該升糖素類似物或其醫藥學上可接受之鹽及/或衍生物，其係以約0.5 mg/mL至約10 mg/mL之濃度存在；(b)以緩衝液形式存在之TRIS、ACES或MES，其濃度係約25 mM至約75 mM，及/或以緩衝液形式存在之檸檬酸鹽、乙酸

鹽或琥珀酸鹽，其濃度係約1 mM至約30 mM；(c)以張力調節劑形式存在之氯化鈉，且其濃度係約50 mM至約600 mM；(d)約6.0至約7.0之pH；及視情況存在之(e)間甲苯酚，其濃度係約1.0 mg/mL至約5.0 mg/mL。

**【請求項44】**

一種藉由如請求項43之方法製造之調配物，其中該調配物係如請求項1至30中任一項之穩定水性液體調配物。