



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년09월03일
(11) 등록번호 10-1978527
(24) 등록일자 2019년05월08일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/19 (2006.01) A61K 38/26 (2006.01)
A61K 38/28 (2006.01) A61K 9/08 (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2013-7026683</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2012년03월09일
심사청구일자 2017년03월08일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2013년10월10일</p> <p>(65) 공개번호 10-2014-0041460</p> <p>(43) 공개일자 2014년04월04일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2012/028621</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2012/122535
국제공개일자 2012년09월13일</p> <p>(30) 우선권주장
61/451,568 2011년03월10일 미국(US)
(뒷면에 계속)</p> <p>(56) 선행기술조사문헌
GB2119248 A*
US20100120660 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌</p> | <p>(73) 특허권자
엑스에리스 파머수티클스, 인크.
미국 텍사스 78705 오스틴 스위트 300, 3208 레드 리버</p> <p>(72) 발명자
프리스트렐스키, 스티븐
미국 캘리포니아 92130 샌디에고 4413 그레이돈 로드
킨젤, 존
미국 캘리포니아 94903 산라파엘 1029 리아 드라 이브</p> <p>(74) 대리인
남건필, 차상윤, 한상민, 박종수</p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 23 항

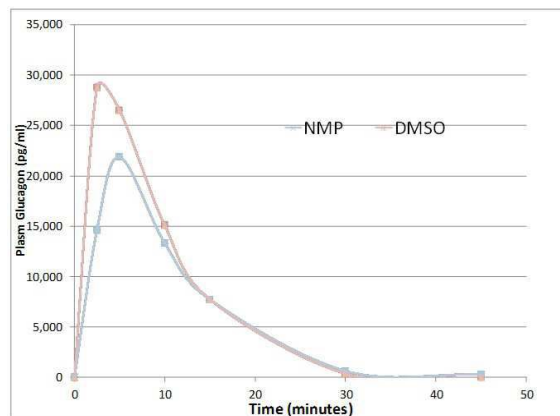
심사관 : 이민정

(54) 발명의 명칭 펩티드 약물의 비경구 주입을 위한 안정한 제형

(57) 요약

본 발명은 펩티드 약물의 비경구 주입을 위한 안정한 제형 및 이 안정한 제형을 사용하는 방법을 제공한다. 특히, 본 발명은 글루카곤의 비경구 주입을 위한 안정한 제형 및 저혈당, 특별히 심한 저혈당을 응급 환경에서 치료하기 위해 글루카곤 제형을 사용하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(30) 우선권주장

61/478,692 2011년04월25일 미국(US)

61/553,388 2011년10월31일 미국(US)

61/609,123 2012년03월09일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

(a) 비휘발성 버퍼로부터 건조된 글루카곤 또는 이의 염으로서, 여기서 상기 건조된 글루카곤은 pH 메모리를 갖는, 글루카곤 또는 이의 염; 및

(b) 비양자성 극성 용매를 포함하는 비경구 주입을 위한 안정한 용액으로서,

여기서 상기 건조된 글루카곤은 상기 비양자성 극성 용매에서 상기 건조된 글루카곤이 재구성되고 용해되는 경우 상기 pH 메모리를 유지하며, 상기 pH 메모리는 2 내지 3인,

비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 용액의 수분량은 5% 미만인,

비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 비휘발성 버퍼는 글리신 버퍼, 시트레이트 버퍼, 포스페이트 버퍼, 또는 이의 혼합물로부터 선택되는,

비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 pH 메모리는 상기 비휘발성 버퍼 내 글루카곤의 pH와 동일한 pH 메모리인,

비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 5

삭제

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 비양자성 극성 용매는, 디메틸설폭사이드(DMSO), n-메틸 피롤리돈(NMP), 에틸 아세테이트, 및 이의 혼합물로부터 선택되는,

비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 7

제 1항에 있어서,

상기 용액의 응고점을 낮추는 공용매를 추가로 포함하고, 여기서 상기 공용매는 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세롤, 및 이의 혼합물로부터 선택되는,

비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 8

제 1항에 있어서,
 당류, 녹말류, 및 이의 혼합물로부터 선택되는 안정화 부형제를 추가로 포함하는,
 비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 9

제 1항에 있어서,
 0.1 mg/mL 내지 용해한도(solubility limit)까지의 상기 건조된 글루카곤을 포함하는,
 비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 10

제 1항에 있어서,
 0.1 mg/mL 내지 100 mg/mL의 상기 건조된 글루카곤 또는 1 mg/mL 내지 30 mg/mL의 상기 건조된 글루카곤을 포함하는,
 비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 11

제 1항에 있어서,
 상기 버퍼는 글리신 버퍼이고, 상기 비양자성 극성 용매는 디메틸설폭사이드(DMSO)인,
 비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 12

제 11항에 있어서,
 상기 용액은 당류, 녹말류, 및 이의 혼합물로부터 선택되는 안정화 부형제를 더 포함하는,
 비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 13

제 12항에 있어서,
 상기 안정화 부형제는 트레할로스인,
 비경구 주입을 위한 안정한 용액.

청구항 14

비경구 주입을 위한 안정한 용액을 제조하는 방법으로서, 상기 방법은:

(a) 비휘발성 버퍼 내에 글루카곤 또는 이의 염을 포함하는 혼합물을, 건조된 글루카곤으로 건조하는 단계로서, 여기서 상기 건조된 글루카곤은 pH 메모리를 갖는, 단계; 및

(b) 상기 건조된 글루카곤을 비양자성 극성 용매에 재구성하는 단계를 포함하고,

여기서 상기 용액의 수분량은 5% 미만이고, 그리고 여기서 상기 건조된 글루카곤은 상기 비양자성 극성 용매에서 상기 건조된 글루카곤이 재구성되고 용해되는 경우 상기 pH 메모리를 유지하고,

여기서 상기 pH 메모리는 2 내지 3인,

비경구 주입을 위한 안정한 용액을 제조하는 방법.

청구항 15

제 14항에 있어서,

상기 비양자성 극성 용매에 0.1 mg/mL 내지 용해한도까지의 상기 건조된 글루카곤을 첨가하는 단계를 포함하는, 비경구 주입을 위한 안정한 용액을 제조하는 방법.

청구항 16

제 14항에 있어서,

상기 비양자성 극성 용매에 0.1 mg/mL 내지 100 mg/mL의 상기 건조된 글루카곤 또는 상기 비양자성 극성 용매에 1 mg/mL 내지 30 mg/mL의 상기 건조된 글루카곤을 첨가하는 단계를 포함하는,

비경구 주입을 위한 안정한 용액을 제조하는 방법.

청구항 17

제 14항에 있어서,

상기 버퍼는 글리신 버퍼, 시트레이트 버퍼, 포스페이트 버퍼, 및 이의 혼합물로부터 선택되는 비휘발성 버퍼인,

비경구 주입을 위한 안정한 용액을 제조하는 방법.

청구항 18

삭제

청구항 19

제 14항에 있어서,

상기 비양자성 극성 용매는, 디메틸설폭시드(DMSO), n-메틸 피롤리돈(NMP), 에틸 아세테이트, 및 이의 혼합물로부터 선택되는,

비경구 주입을 위한 안정한 용액을 제조하는 방법.

청구항 20

제 14항에 있어서,

상기 버퍼는 글리신 버퍼이고, 상기 비양자성 극성 용매는 디메틸설폭시드(DMSO)인,

비경구 주입을 위한 안정한 용액을 제조하는 방법.

청구항 21

제 20항에 있어서,

상기 용액은 당류, 녹말류, 및 이의 혼합물로부터 선택되는 안정화 부형제를 더 포함하는,

비경구 주입을 위한 안정한 용액을 제조하는 방법.

청구항 22

제 21항에 있어서,

상기 안정화 부형제는 트레할로스인,

비경구 주입을 위한 안정한 용액을 제조하는 방법.

청구항 23

제1항 내지 제4항, 제6항 내지 제13항 중 어느 한 항의 안정한 용액을 비경구적으로(parenterally) 투여하기 위한 조성물.

청구항 24

유효량의 제1항 내지 제4항, 제6항 내지 제12항 중 어느 한 항의 안정한 용액을 이를 필요로 하는 대상에 비경구적으로 투여함에 의해 저혈당을 치료하기 위한 조성물.

청구항 25

유효량의 제1항 내지 제4항, 제6항 내지 제12항 중 어느 한 항의 안정한 용액을 이를 필요로 하는 대상에 비경구적으로 투여함을 포함하는 당뇨병을 치료하기 위한 조성물.

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

- 청구항 40
- 삭제
- 청구항 41
- 삭제
- 청구항 42
- 삭제
- 청구항 43
- 삭제
- 청구항 44
- 삭제
- 청구항 45
- 삭제
- 청구항 46
- 삭제
- 청구항 47
- 삭제
- 청구항 48
- 삭제
- 청구항 49
- 삭제
- 청구항 50
- 삭제
- 청구항 51
- 삭제
- 청구항 52
- 삭제
- 청구항 53
- 삭제
- 청구항 54
- 삭제
- 청구항 55
- 삭제

- 청구항 56
- 삭제
- 청구항 57
- 삭제
- 청구항 58
- 삭제
- 청구항 59
- 삭제
- 청구항 60
- 삭제
- 청구항 61
- 삭제
- 청구항 62
- 삭제
- 청구항 63
- 삭제
- 청구항 64
- 삭제
- 청구항 65
- 삭제
- 청구항 66
- 삭제
- 청구항 67
- 삭제
- 청구항 68
- 삭제
- 청구항 69
- 삭제
- 청구항 70
- 삭제
- 청구항 71
- 삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 이 출원은 미국 가출원 제 61/451,568호(2011년 3월 10일 출원, 발명의 명칭 "Stable Formulations for Parenteral Injection of Peptide Drugs"; 미국 가출원 제 61/478,692호(2011년 4월 25일, 발명의 명칭 "Stable Formulations for Parenteral Injection of Peptide Drugs"; 미국 가출원 제 61/553,388호, 2011년 10월 31일에 출원, 발명의 명칭 "Formulations for the Treatment of Diabetes")의 우선권 및 이익을 주장하며, 이 전체 문헌은 모든 목적을 위해 참조로서 본원에 통합되어 있다.

[0002] 본 발명은 약제학적 제형에 관한 것이다. 더욱 특별하게는 개선된 안정성을 가지는 펩티드의 약제학적 제형에 관한 것이고, 여러 질병, 질환 및 장애를 치료하는 이러한 약제학적 제형을 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 당뇨병은 현대 사회에서 심각한 건강 문제이다. 인슐린은 타입 I 및 타입 II 당뇨병 둘 모두를 위한 결정적 치료 방법이다. 인슐린의 사용을 통한 글루코스의 타이트한 메타볼릭 제어는 사고를 줄이고 타입 1 및 타입 2 당뇨병을 가진 사람에 합병증의 발달을 지연시키는 것으로 지난 20년에 걸친 연구는 증명했다. 불행하게도, 타이

트한 글루코스 제어를 달성하는데 요구되는 집중(intensive) 인슐린 치료는 또한 저혈당 또는 "낮은 혈액 당류"를 발달시키는 위험이 크게 증가하는 것과 관련되어 있다.

- [0004] 저혈당의 증상은 환자마다 크게 다양하지만, 일반적으로 진전(tremor), 심계항진, 과민성, 불안, 신경 과민, 기아, 빈맥, 두통 및 창백을 포함한다. 정상 수준으로 혈장 글루코스가 회복되자 이 증상들은 일반적으로 사라진다. 저혈당이 회복되지 않는다면, 혈장 글루코스의 추가 감소는 중추신경의 글루코스의 결핍을 이끌 수 있고 신경 포도당 결핍 증상, 예컨대 집중 어려움, 불명료언어, 몽롱, 체온 감소, 행동 변화 및 치료되지 않는다면, 무의식, 발작 및 아마도 죽음과 관련될 수 있다.
- [0005] 일반적으로, 저혈당은 작은 내지 중간 저혈당 또는 심산 저혈당으로서 다음과 같이 정의될 수 있다:
- [0006] 작은 내지 중간 저혈당: 증상의 심함에 무관하게 환자가 스스로 치료할 수 있는 에피소드, 또는 혈액 글루코스 수준이 70 mg/dL (3.9 mmol/L) 미만인 임의의 증상없는 혈액 글루코스 측정치.
- [0007] 심한 저혈당: 환자는 스스로 치료할 수 없어서 외부 도움이 필요한, 저혈당의 에피소드로서 기능적으로 정의됨. 일반적으로, 약 50 mg/dL (2.8 mmol/L)의 혈액 글루코스 수준에서 신경포도당결핍 증상 및 인지 손상이 시작된다.
- [0008] 작은 내지 중간 저혈당의 대부분의 에피소드는 빠른-작용 카르보하이드레이트 예컨대 글루코스 타블렛 또는 음식(주스, 소프트 드링크 또는 당류 스낵)을 섭취함에 의해 상대적으로 쉽게 자가-치료될 수 있다. 정의에 의한 심한 저혈당은 자가 치료될 수 없고 따듯 외부 조정(intervention)이 요구된다. 환자가 삼킬 수 있고 협력가능하다면, 볼 안에 젤 또는 벌꿀 또는 젤리와 같은 제품을 위치시킴을 사용함이 적당하다. 환자가 삼킬 수 없다면, 피하 또는 근육내 주입되는 글루카곤가 심한 저혈당을 치료하기 위해 사용된다.
- [0009] 글루카곤은 천연 발생 펩티드 호르몬으로서 29 아미노산 길이이고 췌장의 α 세포에 의해 분비된다. 글루카곤의 주된 기능은 간을 통해 대부분 중재되는 글루코제놀리시스 및 글루코네오제네시스를 통한 글루코스 생산을 유지하는 것이다. 글루카곤은 인슐린에 대한 주된 대응 조절 호르몬이고 당뇨병 환자의 심한 저혈당의 제 1 라인 치료로서 사용된다.
- [0010] 응급 상황에서 심한 저혈당을 치료하기 위한 글루카곤 구제 약물을 만드는 여러 시도는 이뤄졌다. 현재, 두 가지의 글루카곤 키트가 사용되고 있으며, Eli Lilly (Glucagon Emergency Kit) 및 Novo Nordisk (GlucaGen® HypoKit)에 의해 제조되어 미국에서 현재 입수 가능하다. 두 제품은 수성 희석물이 미리 채워진 주사기를 가진 동결 건조된 글루카곤의 비알(vial)로 이뤄져 있다. 응급 상황에서 사용하기에 어려운 복잡한 절차를 사용하여 이 동결 건조된 글루카곤은 재구성되어야 한다. 이 제품은 또한 글루카곤이 물에 잘 녹지 않기 때문에 큰 부피의 주입을 제공한다. 최근에, 더욱 안전한 글루카곤 유사체를 만들고/거나 파우더 주입을 통한 글루카곤의 전달을 개선하는, 수용액에서의 글루카곤의 안정성 향상을 위한 시도들이 이뤄지고 있다.
- [0011] 일부 진전이 있었지만, 여전히 응급 상황에서 심한 저혈당을 치료하기 위한 더욱 사용자 친화적인 글루카곤 구제 약품에 대한 필요성이 남아 있다. 이러한 글루카곤 구제 약품은 당뇨병 환자 및/또는 이의 보호자에 의해 계속 운반되어야 할 필요가 있을 것이고, 따라서 연장된 기간(2년 이상) 냉장 온도가 아닌 온도(25-30°C)에서 안정할 필요가 있을 것이다. 이상적으로, 일반 대중에 대해서 투여가 간단할 필요가 또한 있을 것이고, 저혈당증 환자에 투여 전 과도한 준비과정/재구성이 요구되지 않을 필요가 있을 것이다. 글루카곤 구제 약품은 또한 0°C 내지 30°C 범위의 온도를 포함하는 온도 범위에 걸쳐 기능할 필요가 있을 것이다.

발명의 내용

- [0012] 이러한 필요 및 다른 것들을 알리기 위해, 본 발명은 안전한 글루카곤 구제 제형 뿐만 아니라 심한 저혈당을 치료하는데 이 안전한 글루카곤 제형의 사용 방법을 제공한다. 이롭게는 이 글루카곤은 본 발명의 제형에서 안정하여 오랜 기간 저장이 가능하고/거나 긴 시간에 걸쳐 운반될 수 있다. 또한 본 발명의 글루카곤 제형은 연장된 시간 동안 냉장이 아닌 온도에서 안정하고 재구성의 필요성 없이 투여가 간단하고 0°C 내지 30°C 범위의 온도를 포함하는 온도 범위에 걸쳐 기능한다.
- [0013] 중요하게는, 본 발명의 제형 기술은 글루카곤과 같이 수성 환경에서 안정하지 않고 제한된 안정성을 보이고 잘 용해되지 않으며 제한된 용해도를 보이는 많은 다른 펩티드의 전달을 위해 넓게 사용될 수 있다. 사실, 비양자성 극성 용매, 예컨대 DMSO, NMP, 에틸 아세테이트 또는 이의 혼합물과의 높은 농도의 비수성 용액으로의 펩티드의 제형은 펩티드 치료제의 이 중요한 분류를 위해 가치 있는 전달 플랫폼임이 명백하다. 추가로, 본 발명의 제형 기술은 동일한 용액에서 둘 또는 그 초과 펩티드의 전달을 위해 넓게 사용될 수 있다.

- [0014] 따라서, 일 측면으로서, 본 발명은 비경구 주입을 위한 안정한 제형을 제공하며, 이 제형은 다음을 포함한다: (a) 펩티드 또는 이의 염(상기 펩티드는 비휘발성 버퍼에서 건조되고, 상기 건조된 펩티드는 비휘발성 버퍼에서 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 가진다) 및 (b) 비양자성 극성 용매(여기서 제형의 수분량은 5% 미만이고, 건조된 펩티드는 상기 건조된 펩티드가 비양자성 극성 용매에서 재구성되는 경우 비휘발성 버퍼에서 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 유지한다).
- [0015] 또 다른 측면으로서, 본 발명은 비경구 주입을 위한 안정한 제형을 제공하며, 상기 제형은 다음을 포함한다: (a) 제 1 펩티드 또는 이의 염(여기서 상기 제 1 펩티드는 제 1 비휘발성 버퍼에서 건조되고, 상기 제 1 건조된 펩티드는 상기 제 1 비휘발성 버퍼에서 제 1 펩티드의 pH와 거의 동일한 제 1 pH 메모리를 가진다); (b) 제 2 펩티드 또는 이의 염(여기서 제 2 펩티드는 제 2 비휘발성 버퍼에서 건조되고, 여기서 제 2 건조된 펩티드는 제 2 비휘발성 버퍼에서 제 2 펩티드의 pH와 거의 동일한 제 2 pH 메모리를 가진다); 및 (c) 비양자성 극성 용매(여기서 상기 제형의 수분량은 5% 미만이고, 여기서 상기 제 1 건조된 펩티드는 상기 제 1 건조된 펩티드가 비양자성 극성 용매에서 재구성되는 경우 제 1 비휘발성 버퍼에서 제 1 펩티드의 pH와 거의 동일한 제 1 pH 메모리를 유지하고, 여기서 상기 제 2 건조된 펩티드는 상기 제 2 건조된 펩티드가 상기 비양자성 극성 용매에서 재구성되는 경우 제 2 비휘발성 버퍼에서 상기 제 2 펩티드의 pH와 거의 동일한 제 2 pH 메모리를 유지한다).
- [0016] 또 다른 측면에서, 본 발명은 비경구 주입을 위한 안정한 제형을 제공하며, 상기 제형은 다음을 포함한다: 펩티드 또는 이의 염(예컨대, 염산 또는 이의 아세테이트 염); 및 비양자성 극성 용매(여기서, 제형의 수분량은 5% 미만임).
- [0017] 본원에 기재된 안정한 제형은 수성 환경에서 제한되거나 열악한 안정성 또는 용해성을 가지는 임의의 펩티드의 비경구 주입을 위해 유용하다. 따라서, 일부 실시예에서, 펩티드(또는 제 1 및 제 2 펩티드 각각) 또는 이의 염은 글루카곤, 프람린티드, 인슐린, 류프로라이드, LHRH 아고니스트, 부갑상선 호르몬 (PTH), 아밀린, 보툴리눔 독신, 헤마티드, 아밀로이드 펩티드, 콜레시스토키닌, 코노톡신, 위 억제 펩티드, 인슐린-유사 성장 인자, 성장 호르몬 촉진 인자, 항균성 인자, 글라티라메르, 글루카곤-유사 펩티드-1 (GLP-1), GLP-1 아고니스트, 엑세나타이드, 이의 유사체, 및 이의 혼합물로 구성되는 군으로부터 선택된다. 바람직한 실시예에서, 펩티드는 글루카곤 이거나 글루카곤 유사체이거나 글루카곤 펩티도미메틱(peptidomimetic)이다. 또 다른 실시예에서, 펩티드는 부갑상선 호르몬이다. 또 다른 실시예에서, 펩티드는 류프로라이드이다. 또 다른 실시예에서, 펩티드는 글라티라메르이다. 또 다른 실시예에서, 제 1 펩티드는 프람린티드이고 제 2 펩티드는 인슐린이다. 또 다른 실시예에서, 제 1 펩티드는 글루카곤이고 제 2 펩티드는 엑세나타이드이다.
- [0018] 펩티드(또는 제형이 둘 또는 그 초과인 펩티드를 포함하는 실시예에서, 각 펩티드)는 비휘발성 버퍼와 혼합되고 건조 펩티드 파우더로 건조된다. 적합한 비휘발성 버퍼는 제한된 없이 글리신 버퍼, 시트레이트 버퍼, 포스페이트 버퍼, 및 이의 혼합물을 포함한다. 일 바람직한 실시예에서, 비휘발성 버퍼는 글리신 버퍼이다. 또 다른 바람직한 실시예에서, 비휘발성 버퍼는 시트레이트 버퍼 및 포스페이트 버퍼의 혼합물이다. 일부 실시예에서, 상기 제형은 둘 또는 그 초과인 펩티드를 포함하며, 상기 제 1 비휘발성 버퍼와 제 2 비휘발성 버퍼는 동일하다. 일부 실시예에서, 제형이 둘 또는 그 초과인 펩티드를 포함하는 경우, 제 1 비휘발성 버퍼와 제 2 비휘발성 버퍼는 다르다.
- [0019] 본 발명의 일부 제형은 펩티드는 비휘발성 버퍼 및 안정화 부형제와 혼합되고 그 다음에 건조 펩티드 파우더로 건조된다. 적합한 안정화 부형제는 제한된 없이 당류, 녹말류, 및 이의 혼합물을 포함한다. 일부 실시예에서, 당류는 트레할로스이다. 일부 실시예에서, 전분은 히드록시에틸 전분(HES)이다. 일부 실시예에서, 안정화 부형제는 약 1% (w/v) 내지 약 60% (w/v), 약 1% (w/v) 내지 약 50% (w/v), 약 1% (w/v) 내지 약 40% (w/v), 약 1% (w/v) 내지 약 30% (w/v), 약 1% (w/v) 내지 약 20% (w/v), 약 5% (w/v) 내지 약 60% (w/v), 약 5% (w/v) 내지 약 50% (w/v), 약 5% (w/v) 내지 약 40% (w/v), 약 5% (w/v) 내지 약 30% (w/v), 약 5% (w/v) 내지 약 20% (w/v), 약 10% (w/v) 내지 약 60% (w/v), 약 10% (w/v) 내지 약 50% (w/v), 약 10% (w/v) 내지 약 40% (w/v), 약 10% (w/v) 내지 약 30% (w/v), 또는 약 10% (w/v) 내지 약 20% (w/v)의 양으로 제형에 존재한다. 일부 실시예에서, 상기 제형이 두 펩티드를 포함하는 경우, 제 1 비휘발성 버퍼에서 제 1 펩티드와 제 2 비휘발성 버퍼에서의 제 2 펩티드는 안정화 부형제를 포함하고, 제 1 비휘발성 버퍼에서 제 1 펩티드와의 안정화 부형제와 제 2 비휘발성 버퍼에서의 제 2 펩티드와의 안정화 부형제는 동일하다. 다른 실시예에서, 상기 제형은 두 펩티드를 포함하는 경우에, 제 1 비휘발성 버퍼에서 제 1 펩티드와 제 2 비휘발성 버퍼에서의 제 2 펩티드의 두 펩티드는 안정화 부형제를 추가로 포함하고, 제 1 비휘발성 버퍼에서 제 1 펩티드와의 안정화 부형제와 제 2 비휘발성 버퍼에서의 제 2 펩티드와의 안정화 부형제는 상이하다.

- [0020] 펩티드 또는 펩티드들 그리고 비휘발성 버퍼 또는 펩티드, 비휘발성 버퍼 및 안정화 부형제가 과우더로 건조되자마자, 건조된 펩티드 과우더는 비양자성 극성 용매에 용해되거나 재구성된다. 비양자성 극성 용매의 예는 제한됨 없이 다음을 포함한다: 디메틸설폭시드 (DMSO), 디메틸포름아미드(DMF), 에틸 아세테이트, n-메틸 피롤리돈(NMP), 디메틸아세트아미드(DMA), 프로필렌 카르보네이트, 및 이의 혼합물. 디메틸설폭시드 (DMSO), n-메틸 피롤리돈 (NMP), 에틸 아세테이트, 및 DMSO, NMP, 및 에틸 아세테이트의 하나 또는 그 초과 혼합물은 특별히 바람직한 비양자성 극성 용매이다. 바람직한 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO이다. 또 다른 바람직한 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO 및 NMP의 혼합물이다. 또 다른 바람직한 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO 및 에틸 아세테이트의 혼합물이다.
- [0021] 일부 실시예에서, 펩티드 또는 펩티드들은 비양자성 극성 용매(e.g., 디메틸설폭시드(DMSO), 디메틸포름아미드(DMF), 에틸 아세테이트, n-메틸 피롤리돈(NMP), 디메틸아세트아미드(DMA), 프로필렌 카르보네이트, 또는 이의 혼합물) 및 상기 제형의 어느점을 낮추는 공용매의 혼합물로 재구성된다. 일부 실시예에서, 상기 공용매는 적어도 약 5°C, 적어도 약 10°C, 적어도 약 15°C, 또는 적어도 약 20°C 만큼 상기 제형의 어느점을 낮춘다. 일부 실시예에서, 공용매는 제형의 어느점을 약 3°C, 약 2°C, 약 1°C, 또는 약 0°C 또는 그 이하로 낮춘다. 일부 실시예에서, 공용매는 극성 양자성 용매이다. 바람직한 실시예에서, 공용매는 에탄올, 프로필렌 글리콜(PG), 글리세롤, 및 이의 혼합물로부터 선택된다. 일부 실시예에서, 공용매는 약 10% (w/v) 내지 약 50% (w/v), 약 10% (w/v) 내지 약 40% (w/v), 약 10% (w/v) 내지 약 30% (w/v), 약 10% (w/v) 내지 약 25% (w/v), 약 15% (w/v) 내지 약 50% (w/v), 약 15% (w/v) 내지 약 40% (w/v), 약 15% (w/v) 내지 약 30% (w/v), 또는 약 15% (w/v) 내지 약 25% (w/v)의 범위의 양으로 제형에 존재한다.
- [0022] 중요하게, 본 발명의 제형은 매우 적은 잔여 습기를 가지고, 따라서, 이러한 제형에서 펩티드는 연장된 기간에 걸쳐 안정하게 남아 있다. 바람직한 실시예에서, 본 발명의 제형의 수분량은 적어도 약 4%, 바람직하게 적어도 약 3%, 바람직하게 적어도 약 2%, 및 더욱 바람직하게 적어도 약 1%, 바람직하게 적어도 약 0.5%, 바람직하게 적어도 약 0.25%, 바람직하게 적어도 약 0.2%, 바람직하게 적어도 약 0.15%, 또는 바람직하게 적어도 약 0.1%이다. 다른 바람직한 실시예에서, 본 발명의 제형의 수분량은 약 0.01% 내지 약 4%, 바람직하게, 약 0.01% 내지 약 3%, 바람직하게, 약 0.01% 내지 약 2%, 바람직하게, 약 0.01% 내지 약 1%, 바람직하게, 약 0.1% 내지 약 4%, 바람직하게, 약 0.1% 내지 약 3%, 바람직하게, 약 0.1% 내지 약 2%, 바람직하게, 약 0.1% 내지 약 1%, 바람직하게, 약 0.25% 내지 약 4%, 바람직하게, 약 0.25% 내지 약 3%, 바람직하게, 약 0.25% 내지 약 2%, 바람직하게, 약 0.25% 내지 약 1%, 또는 바람직하게, 약 0.5% 내지 약 1%이다.
- [0023] 펩티드가 비휘발성 버퍼와 혼합되는 경우에, 비휘발성 버퍼는 펩티드가 수성 환경에서 최대 안정성, 최대 용해성, 및 최소 약화의 pH를 가지도록 선택된다. 건조되자마자, 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화의 pH 메모리를 가질 것이고 비양자성 극성 용매에서 재구성되거나 용해되는 경우에 pH 메모리를 유지할 것이다. 또한 바람직한 실시예에서, 상기 제형에서 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 보장하도록 약 2.0 내지 약 3.0의 pH 메모리를 가질 것이다. 다른 실시예에서, 이 제형에서의 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 보장하도록 약 3.0 내지 약 5.0의 pH 메모리를 가질 것이다. 다른 실시예에서, 이 제형에서 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 보장하도록 약 4.0 내지 약 5.0의 pH 메모리를 가질 것이다. 다른 실시예에서, 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 보장하도록 약 4.0 내지 약 6.0의 pH 메모리를 가질 것이다. 다른 실시예에서, 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 보장하도록 약 6.0 내지 약 8.0의 pH 메모리를 가질 것이다. 일부 실시예에서, 제형이 두 펩티드를 포함하는 경우, 제 1 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 보장하도록 약 4.0 내지 약 6.0의 pH 메모리를 가질 것이고, 제 2 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 보장하도록 약 1.5 내지 약 2.5, 또는 약 6.0 내지 약 8.0의 pH 메모리를 가질 것이다. 일부 실시예에서, 제형이 두 펩티드를 포함하는 경우에, 제 1 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 보장하도록 약 3.0 내지 약 5.0의 pH 메모리를 가질 것이고, 제 2 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 보장하도록 약 1.5 내지 약 2.5, 또는 약 6.0 내지 약 8.0의 pH 메모리를 가질 것이다. 다른 실시예에서, 제형이 두 펩티드를 포함하는 경우, 제 1 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 보장하도록 약 2.0 내지 약 3.0의 pH 메모리를 가질 것이고, 제 2 펩티드는 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 보장하도록 약 4.0 내지 약 5.0의 pH 메모리를 가질 것이다. 최대 안정성, 최대 용해성 및 최소 약화를 가지는 펩티드를 얻기 위해 최적 pH를 결정하는 방법은 당업자에 쉽게 명백할 것이다.
- [0024] 임의의 적합한 용량의 펩티드 또는 펩티드는 본 발명의 안정한 제형에서 제형될 수 있다. 일반적으로 펩티드(또는, 둘 또는 그 초과 펩티드를 포함하는 실시예에서 각 펩티드)는 약 0.5 mg/mL 내지 약 100 mg/mL 범위의 양

으로 제형에 존재한다. 일 실시예에서, 펩티드는 약 10 mg/mL 내지 약 60 mg/mL의 범위의 양으로 제형에 존재한다. 다른 실시예에서, 펩티드는 약 20 mg/mL 내지 약 50 mg/mL 범위의 양으로 제형에 존재한다. 다른 실시예에서, 펩티드는 약 5 mg/mL 내지 약 15 mg/mL 범위의 양으로 제형에 존재한다. 다른 실시예에서, 펩티드는 약 0.5 mg/mL 내지 약 2 mg/mL의 범위의 양으로 제형에 존재한다. 다른 실시예에서, 펩티드는 약 1 mg/mL 내지 약 50 mg/mL 범위의 양으로 제형에 존재한다. 다시, 펩티드 용량은 사용되는 펩티드 및 치료될 질병, 장애 및 질환에 의존하여 바뀔 수 있음은 당업자에 쉽게 명백할 것이다.

[0025] 일부 실시예에서, 본 발명의 제형은 추가로 항산화제를 포함한다. 다른 실시예에서, 제형은 킬레이터를 추가로 포함한다. 또 다른 실시예에서, 본 발명의 제형은 보존제를 추가로 포함한다.

[0026] 또 다른 측면에서, 본 발명은 질병, 질환 또는 장애를 치료, 경감 또는 예방의 유효량으로 상기 기재된 안정한 펩티드 제형을 대상에 투여함에 의해 치료, 경감 또는 예방할 수 있는 질병, 질환 또는 장애를 치료하기 위한 방법을 제공한다. 일부 실시예에서, 이 질병, 질환 또는 장애는 저혈당이다. 일부 실시예에서, 이 질병, 질환 또는 장애가 저혈당인 경우, 상기 방법은 저혈당을 치료하는 유효량으로 본 발명의 안정한 글루카곤 제형을 투여함을 포함한다. 일부 실시예에서, 이 질병, 질환 또는 장애는 당뇨병이다. 일부 실시예에서, 이 질병, 질환 또는 장애가 당뇨병인 경우, 상기 방법은 당뇨병을 치료하는 유효량으로 본 발명의 안정한 글루카곤 제형을 투여함을 포함한다.

[0027] 또 다른 측면으로서, 본 발명은 비경구 주입을 위한 안정한 제형을 만드는 방법을 제공하며, 이 방법은 다음을 포함한다: 펩티드 및 비휘발성 버퍼를 건조 펩티드 파우더로 건조; 비양자성 극성 용매로 건조 펩티드 파우더를 재구성, 이로써 안정한 제형을 만들, 여기서 안정한 제형의 수분량은 5% 미만임. 일부 실시예에서, 상기 건조된 펩티드 파우더는 비휘발성 버퍼에서 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 가지고, 건조된 펩티드 파우더는 상기 건조된 펩티드 파우더가 상기 비양자성 극성 용매에서 재구성되는 경우 상기 비휘발성 버퍼에서 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모를 유지한다.

[0028] 또 다른 측면에서, 본 발명은 질병, 질환 또는 장애를 위한 키트를 제공하며, 이 키트는 다음을 포함한다: 하나 또는 그 초과 펩티드 또는 이의 염을 포함하는 안정한 제형(펩티드는 비휘발성 버퍼에서 건조되고, 여기서 건조된 펩티드는 비휘발성 버퍼에서 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 가진다); 및 비양자성 극성 용매(제형의 수분량은 5% 미만이고, 건조된 펩티드는 건조된 펩티드가 비양자성 극성 용매에서 재구성되는 경우 비휘발성 버퍼에서 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모를 유지한다); 및 대상에 안정한 제형의 투입을 위한 주사기.

[0029] 일부 실시예에서, 키트는 저혈당을 치료하기 위한 것이고, 안정한 제형은 상기 기재된 글루카곤 제형을 포함한다. 일부 실시예에서, 이 키트는 당뇨병을 치료하기 위한 것이고 상기 안정한 제형은 상기 기재된 인슐린 및 프 램린티드 제형을 포함한다. 일부 구체예에서, 주사기는 펜 주입 장치, 자동 주입 장치 또는 펌프의 일부이다. 일부 실시예에서, 주사기는 안정한 제형으로 미리 채워져 있다. 일부 실시예에서, 키트는 추가로 설명서를 포함하며, 여기서 상기 설명서는 필요로 하는 대상을 치료하기 위한 안정한 제형의 적용 방법을 설명한다.

[0030] 본 발명의 다른 목적, 특징 및 이점은 아래 상세한 설명 및 청구범위로부터 당업자는 명백히 이해할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은 DMSO 또는 NMP에서 용해된 동결 건조된 글루카곤-글리신-트레할로스의 주입 후 혈장 글루카곤 수준을 예시한다.

도 2는 DMSO 또는 NMP에서 용해된 동결 건조된 글루카곤-글리신-트레할로스의 주입 후 혈액 글루코스 수준을 예시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 도입

[0033] 펩티드는 탈아미드화, 산화, 가수분해, 이황화물 교환 및 라세미화를 포함하는 많은 상이한 메커니즘을 통해 분해될 수 있다. 더구나, 물은 가소제로서 역할하며, 이는 단백질 분자 및 비가역 분자 집합의 중첩플림(unfolding)을 촉진한다. 그래서 주위 또는 생리적 온도에서 시간이 지남에 대해 안정한 펩티드 제형을 제공하기 위해, 비수성이거나 실제로 비수성인 펩티드 제형은 일반적으로 요구된다.

[0034] 수성 펩티드 제형을 건조 파우더 제형으로 축소하는 것은 약학적 펩티드 제형의 안정성을 향상시키는 방법의 하나이다. 예를 들어, 펩티드 제형은 분무 건조, 동결 건조 또는 냉동 건조 및 건조의 다양한 기술을 사용하여 건

조될 수 있다. 건조 파우더 펩티드 제형은 이러한 기술에 의해서 주변 또는 생리학적 온도에서 초과 시간에 상당히 향상된 안정성을 보이도록 달성된다.

[0035] 본 발명은 안정한 펩티드 제형(예를 들면, 안정한 글루카곤 구급 제형)이 비휘발성 버퍼에서 제1 동결 건조된 하나 또는 그 이상의 펩티드(예를 들면, 글루카곤 펩티드)에 의해 건조 펩티드 파우더로 손쉽게 준비될 수 있다는 놀라운 발견에 기초한다. 상기 건조된 펩티드는 펩티드가 건조되는 것으로 부터 비휘발성 버퍼 내에서 펩티드 pH의 정의된 "pH 메모리"를 가진다. 한번 건조된 펩티드 파우더, 예를 들면 동결 건조된 글루카곤은 비양자성 극성 용매에 녹고, 그로 인해 안정한 제형을 형성하며, 상기 제형의 수분량은 5% 미만, 바람직하게는 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 1% 미만, 0.5 미만, 0.25% 미만, 0.15% 미만 또는 0.1% 미만이다. 상기 건조된 펩티드는 비양자성 극성 용매에서 재구성되는 경우 정의된 pH 메모리를 유지하며, 다시 말해서 비양자성 극성 용매에서 재구성되는 경우 펩티드의 pH는 건조되는 것으로부터 비휘발성 버퍼 내 펩티드의 pH와 거의 동일하다. 유리하게, 한번 준비된 제형(예를 들면, 글루카곤 제형)은 장기적으로 안정하고, 재구성 할 필요 없이 사용할 수 있으며, 광범위한 온도에서 기능적이다.

[0036] 중요하게, 본 발명의 제형 기술은 수성 환경에서 취약하고 한정적인 안정성 및 용해성을 가지는 글루카곤과 같은 많은 다른 펩티드를 전달하는데 광범위하게 적용할 수 있다. 사실, 높은 농도, 비수성 용매 안으로 비양자성 극성 용매(예를 들면, DMSO, NMP, 에틸아세티이트 또는 이들의 혼합물)와 함께 있는 펩티드 제형은 약제-치료 펩티드의 중요한 등급을 위한 매우 유용한 전달 플랫폼이라는 것은 분명하다. 여기에서 설명된 안정한 제형은 펩티드 약물의 균일한 전달을 촉진하고, 응집, 산화 및 분해 경로와 관계하는 가수분해에 대한 저장 안전성을 제공한다.

[0037] 바람직한 실시예로, 여기에서 설명된 안정한 제형은 긴 시간동안, 예를 들면 사용하기 전에 약제가 수용할 수 없는 수준으로 분해되는 일 없이 제형의 요구되는 유통기한에 제공될 수 있도록 충분한 시간동안 펩티드 약물을 안정한 형태로 보존한다. 주사 가능 제형의 요구되는 특성은 비수성이고, 펩티드에 대한 비반응성이다. 이러한 실시예는, 주입 장치 자체에서 직접 주사형 제형의 저장이 가능하다.

[0038] 본 발명의 안정한 주사형 제형은 치료 펩티드 또는 펩티드의 필수 전달 투여량(예를 들면, 약물 치료를 위해 요구되는 투여량)을 포함하고, 바람직하게는 저용량이다. 예를 들면, 한 실시예로, 펩티드(예를 들면, 글루카곤)의 치료 투여량을 포함하는 주사형 제형은 적어도 약 1.0 마이크로리터(충진 장치 기능의 하한), 더 바람직하게는 약 10 밀리리터 내지 약 250 마이크로리터의 용량을 가진다. 본 발명에 따라, 저용량에서 펩티드의 치료 투여량의 전달은 주입을 위한 적당한 비양자성 극성 용매에서 안정한 형태로 치료 펩티드 또는 펩티드(예를 들면, 글루카곤)의 투여량을 농축함으로써 바람직한 실시예로 완수된다.

[0039] 더욱이, 본 발명의 안정한 제형은 주입 전에 희석을 요구하지 않고 투여하는데 적절하다. 많은 현재 사용 가능한 치료 펩티드 및 백신 제품은 저장하는 동안 안정성을 향상시키기 위해 고체 미립자 형태로 생산된다. 이러한 제형은 주입하기 전에 멸균수, 포스페이트 버퍼, 또는 식염수로 희석된다. 반면, 본 발명의 바람직한 실시예에서, 치료 펩티드는 주입을 위한 제형을 준비하는 제약 업계에 의해 정기적으로 채택되는 입자 준비 처리 기술(예를 들면, 분무 건조, 동결 건조 등)을 사용하여 농축된다. 더 바람직한 실시예로, 펩티드 약물의 치료 투여량은 펩티드를 용해함으로써 달성되며, 먼저 비휘발성 버퍼(및 안정화 부형제와 같은 선택적 첨가 성분)로 매우 적은 잔여 수분량을 가지는 건조 파우더로 동결 건조된다. 일단 준비된, 건조된 펩티드 파우더는 DMSO, NMP, 에틸 아세티이트 또는 이러한 용매의 혼합물과 같은 비양자성 극성 용매에서 용해된다. 따라서 본 발명의 목표에 따라, 본 발명의 저용량, 안정한 제형은 대부분의 재구성 제품에 의해 요구되는 것처럼 주입 전에 제형을 먼저 희석하는 일 없이 주입되고, 침투되거나 또는 동물(예를 들면, 사람 환자)에 투여된다. 이처럼, 바람직한 실시예로, 본 발명의 저용량 제형은 먼저 희석되거나, 재구성되거나 냉각되지 않고 투여 가능하다.

[0040] **II. 정의**

[0041] 본 발명의 목적을 위해, 다음의 용어는 다음의 의미를 가진다.

[0042] 용어 "치료제"는 약학적으로 허용 가능한 염과 함께 펩티드 화합물을 포함한다. 유용한 염은 당업자에게 알려져 있으며, 무기산, 유기산, 무기염 또는 유기염의 염을 포함한다. 본 발명에서 유용한 치료제는 단독으로 또는 다른 약학 부형제 또는 불활성 성분과 함께 인간 또는 동물에 투여에 영향을 미치며, 요구되고, 유익하며, 종종 약학상에 영향을 미치는 펩티드 화합물이다.

[0043] 용어 "펩티드", "폴리펩티드" 및/또는 "펩티드 화합물"은 아미드(CONH) 결합에 의해 묶인 약 80 정도의 아미노산 잔기의 고분자를 말한다. 여기에서 설명된 펩티드 화합물의 유사체, 유도체, 아고니스트, 안타고니스트 및

약학적으로 수용 가능한 염은 이 용어에 포함된다. 이 용어는 구조의 일부분으로 D- 또는 L-배열 및/또는 펩토미네틱(peptomimetic) 단위에 D-아미노산, 수정된, 유도된 또는 비자연적 발생 아미노산을 가지는 펩티드 및/또는 펩티드 화합물을 포함한다.

- [0044] 용어 "약학적으로 수용 가능한 전달체"는 약학적으로 수용 가능한 용매, 서스펜션화제 또는 동물이나 인간과 같은 포유류에 본 발명의 펩티드 화합물을 전달하기 위한 매체를 의미한다. 현재의 바람직한 실시예에서, 약학적으로 수용 가능한 전달체는 비양자성 극성 용매이다.
- [0045] 용어 "비양자성 극성 용매"는 산의 수소를 포함하지 않고, 수소 결합 공여체로서 기능하지 않는 극성 용매를 의미한다. 비양자성 극성 용매의 예로, 이에 한정되는 것은 아니지만, 디메틸설폭시드(DMSO), 디메틸포름아미드(DMF), 에틸 아세테이트, n-메틸 피롤리돈(NMP), 디메틸아세트아민(DMA), 및 프로필렌 카보네이트를 포함한다. 용어 비양자성 극성 용매는 또한 두 개 또는 그 이상의 비양자성 극성 용매, 예를 들면 디메틸설폭시드(DMSO), 디메틸포름아미드(DMF), 에틸 아세테이트, n-메틸 피롤리돈(NMP), 디메틸아세트아민(DMA), 및 프로필렌 카보네이트의 두 개 또는 그 이상의 혼합물을 포함한다.
- [0046] 용어 "약학적으로 수용 가능한" 성분, 부형제 또는 화합물은 합리적인 이익/위험 비율에 상응하는 과도한 부작용(독성, 자극 및 알레르기 반응)이 없는 인간 및/또는 동물에 사용하기에 적당한 것이다.
- [0047] 용어 "화학적 안정성"은 치료제에 대하여 산화 또는 가수분해와 같은 화학 경로에 의해 생산되는 분해 산물이 수용 가능한 퍼센트로 형성된다는 것을 의미한다. 특히, 제형은 의도된 보관 온도(예를 들면, 실온)에서 1년 동안 저장, 30°C/60% 상대 습도에서 1년 동안 저장, 40°C/75% 상대 습도에서 1달 동안 저장, 더 적절하게는 3달 저장 후에 분해 산물이 약 20% 이상이 아니라면 화학적으로 안정한 것으로 고려된다. 한 실시예로, 화학적으로 안정한 제형은 의도된 저장 온도에서 장시간 저장 후에 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 또는 1% 미만의 분해 산물이 생성된다.
- [0048] 용어 "물리적 안정성"은 치료제에 대하여, 수용 가능한 응집(예를 들면, 이량체, 삼량체 및 더 큰 형태)이 생성된다는 것을 의미한다. 특히, 제형은 의도된 보관 온도(예를 들면, 실온)에서 1년 동안 저장, 30°C/60% 상대 습도에서 1년 동안 저장, 40°C/75% 상대 습도에서 1달 동안 저장, 더 적절하게는 3달 저장 후에 응집이 약 15% 이상이 아니라면 물리적으로 안정한 것으로 고려된다. 한 실시예로, 물리적으로 안정한 제형은 의도된 저장 온도에서 장시간 저장 후에 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 또는 1% 미만의 응집이 생성된다.
- [0049] 용어 "안정한 제형"은 최소한 약 65%의 화학적 및 물리적으로 안정한 치료제가 실온에서 저장 2달 후에 남아있는 것을 의미한다. 특히 바람직한 제형은 최소 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 화학적 및 물리적으로 안정한 치료제가 이러한 저장 조건에서 남아있는 것이다. 특히 바람직한 안정한 제형은 방사선 살균(예를 들면, 감마, 베타 또는 전자빔) 후에 분해를 발현하지 않는 것이다.
- [0050] 용어 "본질적으로 포함한다"는 문구가 참조하는 안정한 제형의 필수 속성을 실질적으로 변경할 다른 요소를 배제하기 위해 사용된다.
- [0051] 용어 "생물학적 이용 가능성"은 펩티드 화합물과 같은 치료제가 제형으로부터 흡수되는 것과 같은 정도로 본 발명의 목적을 위해 정의되었다.
- [0052] 용어 "체순환"은 어떤 대상에 펩티드 화합물과 같은 치료제의 전달 또는 투약에 대하여, 치료제는 그 대상의 혈장에서 생물학적으로 중요한 수준에서 검출 가능하다는 것을 의미한다.
- [0053] 용어 "조절 방출"은 혈액(예를 들면, 혈장) 농도가 약 1시간 또는 그 이상, 더 바람직하게는 12시간 또는 그 이상의 시간이 넘도록 치료 범위 내에서 유지되면서, 그러나 독성 농도 아래인 비율로 치료제가 방출되는 것으로 본 발명의 목적을 위해 정의되었다.
- [0054] 용어 "비경구 주입"은 펩티드와 같은 치료제의 투약을 인간과 같은 동물의 피부 또는 점액막의 하나 또는 그 이상의 층 속에 또는 층을 통하여 주입한다는 것을 의미한다. 표준 비경구 주입은 동물, 예를 들면 사람 환자의 피내로, 피하로 또는 근육에 주입된다. 한 실시예로, 깊은 위치는 여기에서 설명된 주사제의 주입을 위한 타겟이 된다.
- [0055] 용어 "치료한다" 또는 "치료"는 질병이나 이 용어가 적용되는 조건, 또는 이러한 질병 또는 조건의 하나 또는 그 이상의 증상의 발생 지연, 진행의 억제, 완화 또는 예방을 말한다.

[0056] 용어 "환자", "대상" 또는 "개체"는 상호 교환적으로 포유류, 예를 들면, 인간 또는 비인간 포유류, 예를 들면, 영장류, 개, 고양이, 소, 돼지, 말, 생쥐, 쥐, 햄스터, 토끼 또는 기니피그를 말한다.

[0057] **III. 안정한 펩티드 제형**

[0058] 한 측면에서, 본 발명은 비경구 주입을 위한 안정한 제형을 제공한다. 바람직하게, 일단 준비된 제형은 장시간 동안 안정하고, 재구성 할 필요 없이 사용할 준비가 되며, 광범위한 온도에서 기능적이다. 게다가, 본 발명의 안정한 제형은 수성 환경에서 취약하고 한정적인 안정성 및 용해성을 가지는 펩티드의 비경구 주입에 유용하다. 한 실시예로, 본 발명의 제형은 예를 들면, 펩티드 또는 펩티드의 응집 형성을 예방하거나 감소시킴으로써 펩티드 또는 펩티드 제형의 물리적 안정성을 증가시킨다.

[0059] 한 실시예로, 상기 제형은 (a) 펩티드 또는 이의 염, 상기 펩티드는 비휘발성 버퍼에서 건조되고, 상기 건조된 펩티드가 상기 비휘발성 버퍼 내 펩티드와 거의 동일한 pH 메모리를 가지며; (b) 비양자성 극성 용매;를 포함하고, 여기에서 상기 제형의 수분량은 5% 미만이고, 상기 건조된 펩티드가 상기 비양자성 극성 용매에서 재구성되는 경우 상기 비휘발성 버퍼 내 상기 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 유지한다.

[0060] 다른 실시예로, 상기 제형은 (a) 제 1 펩티드 또는 이의 염, 상기 제1 펩티드는 제1 휘발성 버퍼에서 건조되고, 상기 제2 건조된 펩티드는 제1 비휘발성 버퍼 내 제1 펩티드와 거의 동일한 제1 pH 메모리를 가지며; (b) 제2 펩티드 또는 이의 염, 상기 제2 펩티드는 제2 휘발성 버퍼에서 건조되고, 상기 제2 건조된 펩티드는 제2 비휘발성 버퍼 내 제2 펩티드와 거의 동일한 제2 pH 메모리를 가지며; (c) 비양자성 극성 용매를 포함하고, 여기에서 상기 제형의 수분량은 5% 미만이고, 상기 제1 건조된 펩티드는 제1 건조된 펩티드가 비양자성 극성 용매 내에서 재구성되는 경우 제1 비휘발성 버퍼 내 제1 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 유지하며, 상기 제2 건조된 펩티드는 제2 건조된 펩티드가 비양자성 극성 용매에서 재구성되는 경우 제2 휘발성 버퍼 내 제2 펩티드의 pH와 거의 동일한 제2 pH 메모리를 유지한다.

[0061] 다른 실시예로, 상기 제형은 (a) 펩티드 또는 이의 염, 상기 펩티드는 비휘발성 버퍼에서 건조되며, 상기 건조된 펩티드는 비휘발성 버퍼 내 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 가지며, (b) 비양자성 극성 용매를 본질적으로 포함하며, 여기에서 제형의 수분량은 5% 미만이고, 상기 건조된 펩티드는 건조된 펩티드가 비양자성 극성 용매에서 재구성되는 경우 비휘발성 버퍼 내 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 유지한다.

[0062] **A. 펩티드**

[0063] 본 발명의 안정한 제형은 하나, 두 개, 세 개, 네 개, 또는 그 이상의 펩티드 또는 염, 유사체, 및/또는 이들의 혼합물을 포함한다. 본 발명의 제형에 사용하기 적당한 펩티드(뿐만 아니라 염)는 글루카곤, 프람린티드, 인슐린, 류프로라이드, 고나도트로핀 방출 호르몬(LHRH) 아고니스트, 부갑상선 호르몬 (PTH), 아밀린, 보툴리눔 독소, 헤마티드, 아밀로이드 펩티드, 콜레스티스토키닌, 위 억제 펩티드, 인슐린-유사 성장 인자, 성장 호르몬 촉진 인자, 항균성 인자, 글라티라메르, 글루카곤-유사 펩티드-1 (GLP-1), GLP-1 아고니스트, 엑세나타이드, 이의 유사체, 및 이의 혼합물을 포함하며, 이에 한정되는 것은 아니다. 한 실시예로, 상기 펩티드는 염산 염 또는 아세트레이트 염이다.

[0064] 바람직한 실시예로, 펩티드는 글루카곤 또는 글루카곤 유사체 또는 펩티도미메틱(peptidomimetic), 또는 이의 염(예를 들면, 글루카곤 아세트레이트)이다. 다른 실시예로, 상기 펩티드는 부갑상선 호르몬이다. 다른 실시예로, 상기 펩티드는 류프로라이드이다. 다른 실시예로, 상기 펩티드는 글라티라메르이다. 다른 실시예로, 상기 펩티드는 아밀린 또는 아밀리노미메틱(amylinomimetic, 예를 들면, 프람린티드)이다. 다른 실시예로, 상기 펩티드는 인슐린 또는 인슐린 유사체(예를 들면, 리스프로)이다. 다른 실시예로, 상기 인슐린 또는 인슐린 유사체 제는 저아연 또는 아연-프리 제이다.

[0065] 다른 실시예로, 상기 제형은 두 가지 펩티드를 포함하며, 제1 펩티드는 아밀린 또는 아밀리노미메틱이고, 제2 펩티드는 인슐린 또는 인슐린 유사체이다. 다른 실시예로, 제1 펩티드는 프람린티드이고, 제2 펩티드는 인슐린이다. 다른 실시예로, 제1 펩티드는 프람린티드이고, 제2 펩티드는 저아연 인슐린 제 또는 아연-프리 인슐린 제이다.

[0066] 다른 실시예로, 상기 제형은 두 가지 펩티드를 포함하며, 제1 펩티드는 글루카곤이고, 제2 펩티드는 글루카곤-유사-펩티드-1(GLP-1) 또는 GLP-1 유사체 또는 아고니스트(예를 들면, 엑세나타이드)이다. 다른 실시예로, 제1 펩티드는 글루카곤이고, 제2 펩티드는 GLP-1이다. 다른 실시예로, 제1 펩티드는 글루카곤이고, 제2 펩티드는 엑세나타이드이다.

- [0067] 펩티드 또는 펩티드의 적절한 투여량은 본 발명의 제형을 사용하여 투약될 수 있다. 투약되는 투여량은 물론 특정 펩티드, 염 또는 이들의 조합의 약물학적 특징; 나이, 건강 또는 대상의 무게; 증상의 성격과 범위; 치료제와 환자의 대사 특성, 동시 치료의 종류; 치료의 빈도; 또는 원하는 효과와 같은 알려진 인자에 따라 다양하다. 일반적으로, 펩티드(또는, 두 개 또는 그 이상의 펩티드를 포함하는 안정한 제형, 각각의 펩티드)는 제형에 약 0.5mg/mL 내지 약 100 mg/mL (e.g., 약 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, or 100 mg/mL)의 양으로 존재한다.
- [0068] 한 실시예로, 펩티드는 제형에 약 0.5 mg/mL 내지 약 60 mg/mL의 양으로 존재한다. 다른 실시예로, 펩티드는 제형에 약 10 mg/mL 내지 약 50 mg/mL의 양으로 존재한다. 다른 실시예로, 펩티드는 제형에 약 20 mg/mL 내지 약 50 mg/mL의 양으로 존재한다. 다른 실시예로, 펩티드는 상기 제형에 약 5 mg/mL 내지 약 15 mg/mL의 양으로 존재한다. 다른 실시예로, 펩티드는 제형에 약 0.5 mg/mL 내지 약 2 mg/mL의 양으로 존재한다. 다시 말해, 펩티드 투약량은 사용되는 펩티드, 질병, 장애 또는 치료되는 조건에 따라 다양할 수 있다는 것은 당업자에게는 용이하게 도출될 수 있다.
- [0069] 바람직한 실시예로, 상기 펩티드는 비휘발성 버퍼 및 선택적으로 안정화 부형제와 혼합된 후, 건조 펩티드 파우더로 건조된다. 안정한 제형이 두 개 또는 그 이상의 펩티드를 포함하는 경우, 각각의 펩티드는 각각 비휘발성 버퍼 및 선택적으로 안정화 부형제와 혼합되고, 그 다음 건조 펩티드 파우더로 건조된다. 펩티드는 아스파라긴 잔기와의 결합 및 메티오닌의 산화 작용에서 가수 분해되고, 본 발명의 제형에서 비휘발성 버퍼의 사용은 유익하게 화학적 안정성에 영향을 미친다. 아래 더 상세한 설명에 따르면, pH는 비양자성 극성 용매 내에서 관련이 없는 반면, 비양자성 극성 용매 내에서 펩티드의 전하 프로파일은 안정성에 영향을 미칠 것이다. 상기 비양자성 극성 용매 내에서 펩티드의 전하 프로파일은 미리 건조된 것으로부터, 다시 말해 비양자성 극성 용매 내 용해 또는 재구성된 후에 "pH 메모리"가 있는 것으로부터 수성 용액의 pH의 작용일 것이다. 비양자성 극성 용매에 용해된 펩티드의 요구되는 전하 프로파일을 달성하기 위해, 펩티드는 비양자성 극성 용매에서 최적의 안정성, 최적의 용해성, 및 최소의 분해를 얻는 pH에서 버퍼 수성 용액으로부터 건조된다.
- [0070] 이처럼, 여기에서 설명된 제형 내에서 유용한 비휘발성 버퍼는 건조된 펩티드 파우더로부터 잔여 수분 또는 수분 함량을 제거하는데 도움이 될 뿐만 아니라 최대의 안정성, 최대의 용해성 및 최소 분해의 pH를 만드는데 도움이 된다. 비휘발성 버퍼는 건조/동결 건조 시 수분과 어느 정도 유사한 방식으로 떨어져 증발하지 않는 버퍼를 포함한다. 적절한 비휘발성 버퍼로는 예를 들면, 글리신 버퍼, 시트레이트 버퍼, 포스페이트 버퍼 및 이의 혼합물을 포함한다. 한 실시예로, 상기 비휘발성 버퍼는 글리신 버퍼 또는 시트레이트 버퍼이다. 다른 실시예로, 상기 비휘발성 버퍼는 글리신 버퍼이다. 다른 실시예로, 비휘발성 버퍼는 글리신 버퍼와 시트레이트 버퍼의 혼합물이다. 다른 실시예로, 상기 비휘발성 버퍼는 시트레이트 버퍼와 포스페이트 버퍼의 혼합물이다.
- [0071] **B. 안정화 부형제**
- [0072] 바람직한 실시예에 있어서, 여기에 설명된 제형은 그 내부에 포함된 펩티드의 안정성을 보장함으로써 추가적으로 안정화될 수 있다. 일 실시예에 있어서, 주사용 제형의 안정성은 펩티드 또는 펩티드들의 건조 전에 제형에 하나 이상의 안정화 물질 또는 안정화 부형제(excipient)를 포함시킴으로써 향상될 수 있다. 다른 실시예에 있어서, 주사용 제형의 안정성은 비양자성 극성 용매 내에서 안정화 물질 또는 안정화 부형제를 이용하여 건조된 펩티드 또는 펩티드들을 재구성함으로써 향상될 수 있다.
- [0073] 일 실시예에 있어서, 안정화 부형제는 동해방지제(cryoprotectant)일 수 있다. 아래 실시예에 설명되는 바와 같이, 트리할로오스(trehalose)와 같은 동해방지제의 첨가는 동결-용해 주기와 연관된 불안정성에 대항하여 본 발명의 펩티드 제형을 보호한다. 또한, 동해방지제의 첨가는 냉동된 펩티드 제형의 향상된 해동을 촉진한다. 이러한 향상된 해동 특성은 심각한 저혈당 사건과 같은 매우 긴급한 상황에서 매우 도움이 되고, 본 발명의 펩티드 제형은 얼려져서 관리될 필요가 있다. 본 발명의 일 실시예에 있어서, 안정한 제형은 향상된 냉동-해동 안정성, 향상된 해동 속도 및/또는 향상된 해동 거동을 갖는다.
- [0074] 일 실시예에 있어서, 안정화 부형제는 당류(sugars), 녹말질(starches), 당알콜(sugar alcohols) 및 이들의 혼합물로부터 선택될 수 있다. 안정화 부형제를 위한 적당한 당류의 예들은 트리할로오스, 글루코스, 수크로오스 등을 포함하고, 이들에 제한되지 않는다. 안정화 부형제를 위한 적당한 녹말질의 예들은 하이드록시에틸 전분(hydroxyethyl starch, HES)을 포함하고, 이에 제한되지 않는다. 안정화 부형제를 위한 적당한 당알콜의 예들은 마니톨(mannitol) 및 소비톨(sorbitol)을 포함하고, 이들에 제한되지 않는다. 일 실시예에 있어서, 적어도 하나의 안정화 부형제(예를 들어, 당류, 녹말, 당알콜 또는 이들의 혼합물)는 냉동-해동 과정동안 펩티드의 안정성

을 향상시키거나, 제형의 해동 속도를 향상시키거나, 제형의 해동 거동을 향상시킬 수 있다.

[0075] 일 실시예에 있어서, 안정화 부형제는 제형 내에서 약 1%(w/v) 내지 60%(w/v), 약 1%(w/v) 내지 50%(w/v), 약 1%(w/v) 내지 40%(w/v), 약 1%(w/v) 내지 30%(w/v), 약 1%(w/v) 내지 20%(w/v), 약 5%(w/v) 내지 60%(w/v), 약 5%(w/v) 내지 50%(w/v), 약 5%(w/v) 내지 40%(w/v), 약 5%(w/v) 내지 30%(w/v), 약 5%(w/v) 내지 20%(w/v), 약 10%(w/v) 내지 60%(w/v), 약 10%(w/v) 내지 50%(w/v), 약 10%(w/v) 내지 40%(w/v), 약 10%(w/v) 내지 30%(w/v) 또는 약 10%(w/v) 내지 20%(w/v)의 함량으로 존재할 수 있다. 일 실시예에 있어서, 안정화 부형제는 제형이 내에서 약 1%(w/v), 약 5%(w/v), 약 10%(w/v), 약 15%(w/v), 약 20%(w/v), 약 25%(w/v), 약 30%(w/v), 약 35%(w/v), 약 40%(w/v), 약 45%(w/v), 약 50%(w/v), 약 55%(w/v) 또는 약 60%(w/v)의 함량으로 존재할 수 있다.

[0076] 2 이상의 펩티드들을 포함하는 제형들에 있어서, 어떤 실시예에서는 각각의 펩티드들이 비휘발성 버퍼 및 안정화 부형제를 포함하는 혼합물 내에서 건조될 수 있다. 비휘발성 버퍼 및 안정화 부형제의 혼합물은 펩티드들 각각에 대해 동일하거나, 각각의 펩티드 건조를 위해 사용되는 비휘발성 버퍼, 안정화 부형제 또는 버퍼와 부형제 모두는 서로 다를 수 있다. 다른 실시예에서는 펩티드들의 전부가 아닌 일부는 비휘발성 버퍼 및 안정화 부형제를 포함하는 혼합물 내에서 건조될 수 있고, 다른 펩티드들은 안정화 부형제가 없는 비휘발성 버퍼 내에서 건조될 수 있다.

[0077] 일 실시예에 있어서, 제형은 예를 들어 산화방지제(antioxidants), 킬레이터(chelators) 및 방부제(preservatives)를 포함하는 추가적인 안정화 물질을 더 포함할 수 있다. 적당한 산화방지제의 예들은 아스코브산(ascorbic acid), 시스테인(cysteine), 메티오닌(methionine), 모노티오글리세롤(monothioglycerol), 티오황산염 나트륨(sodium thiosulphate), 아황산염(sulfites), 부틸히드록시톨루엔(BHT), 부틸하이드록시아니솔(butylated hydroxyanisole, BHA), 팔미트산아스코빌(ascorbyl palmitate), 프로필갈레이트(propyl gallate), N-아세틸-L-시스테인(N-acetyl-L-cystein, NAC) 및 비타민 E를 포함하고, 이들에 한정되지 않는다. 적당한 킬레이터의 예들은 EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid), 타르타르산과 이의 염(tartaric acid and salts thereof), 글리세린(glycerin) 및 시트릭산과 이의 염(시트릭산 and salts thereof)을 포함하고, 이들에 한정되지 않는다. 적당한 방부제의 예들은 벤질알콜(benzyl alcohols), 메틸파라벤(methyl parabens), 프로필파라벤(propyl parabens) 및 이들의 혼합물을 포함하고, 이들에 한정되지 않는다.

[0078] 일 실시예에 있어서, 제형은 안정화 폴리올(polyol)을 더 포함할 수 있다. 이런 제형 및 물질은 예를 들어 미국 특허 제6290991호 및 제6331310호에 설명되어 있고, 이들 특허 각각의 내용은 참조문헌으로 본 발명에 병합된다.

[0079] **C. 건조된 펩티드들의 재구성**

[0080] 본 발명의 안정한 제형에 있어서, 펩티드와 비휘발성 버퍼 그리고 선택적 안정화 부형제가 파우더로 건조되거나, 또는 제형이 2개 이상의 펩티드들을 포함하고 각각의 펩티드 및 비휘발성 버퍼 그리고 선택적 안정화 부형제가 파우더로 건조되면, 건조된 펩티드 분말 또는 건조된 펩티드 분말들은 비양자성 극성 용매에 용해되거나 재구성된다. 일 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO(dimethylsulfoxide), DMF(dimethylformamide), 에틸아세테이트(ethyl acetate), n-메틸 피롤리돈(n-methyl pyrrolidone, NMP), DMA(dimethylacetate), 프로필렌 카보네이트(propylene carbonate) 및 이들의 혼합물들로부터 선택된다. 일 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO(dimethylsulfoxide), DMF(dimethylformamide), 에틸아세테이트(ethyl acetate), n-메틸 피롤리돈(n-methyl pyrrolidone, NMP), DMA(dimethylacetate) 및 프로필렌 카보네이트(propylene carbonate) 중 2 이상의 혼합물일 수 있다. 특히 생체적합 용매인 DMSO(dimethylsulfoxide), 에틸아세테이트(ethyl acetate) 및 n-메틸 피롤리돈(n-methyl pyrrolidone, NMP)이 비양자성 극성 용매로 바람직하다. 일 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO(dimethylsulfoxide)이다. 다른 실시예에서 비양자성 극성 용매는 n-메틸 피롤리돈(n-methyl pyrrolidone, NMP)이다. 또 다른 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO(dimethylsulfoxide)와 n-메틸 피롤리돈(n-methyl pyrrolidone, NMP)의 혼합물이다. 또 다른 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO(dimethylsulfoxide)와 에틸아세테이트(ethyl acetate)의 혼합물이다. 일 실시예에서, 건조된 펩티드 분말은 예를 들면 조용매(co-solvent)를 포함하지 않는 순수한 비양자성 극성 용매 내에서 재구성될 수 있다. 일 실시예에서, 건조된 펩티드 분말은 비양자성 극성 용매를 포함하고, 조용매로서 물을 함유하지 않는 용액 내에서 재구성될 수 있다.

[0081] 일 실시예에 있어서, 본 발명의 제형은 제형의 어는점을 떨어뜨리는 적어도 하나의 조용매(co-solvent)를 더 포함할 수 있다. 조용매는 극성 양성자성 용매(polar protic solvent)일 수 있다. 일 실시예에서, 조용매는 에탄

올(ethanol), 프로필렌 글리콜(propylene glycol, PG), 글리세롤(glycerol) 및 이들의 혼합물들로부터 선택될 수 있다. 일 실시예에서, 조용매는 에탄올 또는 프로필렌 글리콜일 수 있다. 조용매는 제형 내에 약 10%(w/v) 내지 50%(w/v), 예를 들어, 약 10%(w/v), 약 15%(w/v), 약 20%(w/v), 약 25%(w/v), 약 30%(w/v), 약 35%(w/v), 약 40%(w/v), 약 45%(w/v) 또는 약 50%(w/v)이 함량으로 존재할 수 있다. 일 실시예에서, 조용매는 제형 내에서 약 10%(w/v) 내지 50%(w/v), 약 10%(w/v) 내지 40%(w/v), 약 10%(w/v) 내지 30%(w/v), 약 10%(w/v) 내지 25%(w/v), 약 15%(w/v) 내지 50%(w/v), 약 15%(w/v) 내지 40%(w/v), 약 15%(w/v) 내지 30%(w/v) 또는 약 15%(w/v) 내지 25%(w/v)의 함량으로 존재할 수 있다. 일 실시예에서, 적어도 하나의 조용매는 제형이 어는점을 조용매를 포함하지 않는 제형과 비교하여 적어도 5°C, 적어도 10°C, 적어도 15°C, 적어도 20°C 이상 떨어뜨린다. 일 실시예에서, 적어도 하나의 조용매는 제형의 어는점을 약 3°C, 약 2°C, 약 1°C 또는 약 0°C 이하로 떨어뜨린다.

[0082] **D. 습기 함량 (Moisture content)**

[0083] 본 발명의 제형은 매우 적은량의 잔류 습기를 갖고, 그 결과 제형 내에서의 펩티드는 더 연장된 시간 동안 안정한 상태를 유지한다. 일 실시예에 있어서, 본 발명의 안정한 제형은 5% 미만의 습기 함유량을 가질 수 있다. 일 실시예에서, 습기 함유량은 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 1% 미만, 0.5% 미만, 0.1% 미만, 0.5% 미만, 0.4% 미만, 0.3% 미만, 0.25% 미만, 0.2% 미만, 0.15% 미만, 0.1% 미만, 0.075% 미만, 0.05% 미만, 0.025% 미만 또는 0.01% 미만일 수 있다. 바람직한 일 실시예에 있어서, 본 발명에 따른 제형의 습기 함유량은 약 0.01% 내지 5%, 약 0.01% 내지 4%, 약 0.01% 내지 3%, 약 0.01% 내지 2%, 약 0.01% 내지 1.5% 또는 약 0.01% 내지 1%일 수 있다. 바람직한 다른 실시예에 있어서, 본 발명에 따른 제형의 습기 함유량은 약 0.1% 내지 5%, 약 0.1% 내지 4%, 약 0.1% 내지 3%, 약 0.1% 내지 2%, 약 0.1% 내지 1.5% 또는 약 0.1% 내지 1%일 수 있다. 바람직한 또 다른 실시예에 있어서, 본 발명에 따른 제형의 습기 함유량은 약 0.25% 내지 5%, 약 0.25% 내지 4%, 약 0.25% 내지 3%, 약 0.25% 내지 2% 또는 약 0.25% 내지 1.5%일 수 있다. 바람직한 또 다른 실시예에 있어서, 본 발명에 따른 제형의 습기 함유량은 약 0.5% 내지 1%일 수 있다.

[0084] **E. pH 메모리 (pH Memory)**

[0085] 펩티드의 pH 메모리는 완충 수용액(예를 들어 비 휘발성 버퍼)으로부터 펩티드를 건조한 후 최종 전하 프로파일 (양성자 첨가 상태(protonation state))이다. 매우 낮은 또는 제로(zero) 습기의 비수성 용매 내에서의 양성자 첨가 상태 그리고 이로 인한 펩티드의 가용성 및 안정성은 건조 전 펩티드 용액의 수용액 pH 및 채용된 건조 조건들에 영향을 받는다. 펩티드가 산성 성분 및 기초 성분이 비휘발성인 버퍼 종류 내에서 건조될 때, 건조된 펩티드의 pH 메모리는 비 휘발성 버퍼 내에서의 펩티드 pH와 거의 동일할 것이다. 예를 들어 *Enzymatic Reactions in Organic Media*, Koskinen, A.M.P. 및 Klibanov, A.M., 편집자, Springer(1996)를 참조하라. 또한, 내부의 펩티드가 건조된 완충 수용액(예를 들어 비휘발성 버퍼)의 pH는 건조된 펩티드가 비양자성 극성 용매 내에서 나중에 재구성될 때 최적 안정성, 최대 가용성 및 최소 손상을 초래하는 펩티드의 pH 메모리를 산출할 수 있도록 최적화될 수 있다. 비양자성 극성 용매는 교환가능한 양성자를 가지고 있지 않으므로, 건조된 펩티드가 비양자성 극성 용매 내에서 재구성될 때 재구성된 제형은 최적 pH 메모리의 가용성 및 안정성 특성들을 유지할 것이다.

[0086] 2, 3, 4 또는 그 이상의 펩티드들을 포함하는 안정한 제형에 대해서, 각각의 펩티드는 최대 가용성, 최대 안정성 및 최소 손상을 위해 최적화된 그 자신의 pH 메모리를 가지도록 건조된다. 제형 내에 2 이상의 펩티드들이 있는 실시예에 있어서, 제1 펩티드의 pH 메모리 범위는 부분적으로 제2 펩티드의 pH 메모리 범위와 중첩될 수 있다. (예를 들어 제1 펩티드의 pH 메모리는 약 4.0 내지 6.0이고, 제2 펩티드의 pH 메모리는 약 6.0 내지 8.0 일 수 있다.)

[0087] 펩티드의 pH 메모리는 몇가지 방법에 의해 측정될 수 있다. 일 방법에 있어서, 펩티드의 pH 메모리는 건조된 펩티드를 비완충된 물로 재구성하고, pH 시험지나 보정된 보정된 pH 전극과 같은 pH 지시기(pH indicator)를 이용하여 재구성된 펩티드의 pH를 측정함으로써 측정될 수 있다. 이와 달리, 펩티드의 pH 메모리는 적어도 20%의 물 (water)을 비양자성 극성 용매로 첨가하고, pH 지시기를 이용하여 pH를 측정함으로써, 비양자성 극성 용매(예를 들어 DMSO) 내에서 재구성된 펩티드에 대해 결정될 수 있다. 예를 들어 *Baughman 및 Kreevoy의 Dtermination of Acidity in 80% Dimethyl Sulfoxide-20% Water*, *Journal of Physical Chemistry*, 78(4):421-23(1974)를 참조하라. 비양자성 극성 용매와 물의 용액 내에서의 pH 측정은 미세한 보정을 필요로 한다. (예를 들어 위의 *Baughman 및 Kreevoy*에 따라 0.2 pH 단위 이하)

[0088] 일 실시예에 있어서, 건조된 펩티드는 비휘발성 버퍼 내의 펩티드 pH와 거의 동일한 pH를 갖는다. 비휘발성 버

퍼 내에서 펩티드를 건조하는 경우, 펩티드는 비양자성 극성 용매 내에서 재구성된 펩티드의 pH 메모리가 비휘발성 버퍼 내에 있는 펩티드의 pH의 pH 단위(pH unit) 내에 있을 때 건조된다. (따라서 예를 들어 펩티드가 건조되는 비휘발성 버퍼 내에서 3.0의 pH를 갖는 펩티드의 경우, 비양자성 극성 용매 내에서 재구성되었을 때 상기 펩티드에 대한 2.0 내지 4.0의 pH 메모리는 하나의 pH 단위 내에 있을 것이고, 그에 따라 건조된 펩티드의 pH 메모리는 비휘발성 버퍼 내에 있는 펩티드의 pH와 거의 동일할 것이다.) 일 실시예에서, 건조된 펩티드는 비휘발성 버퍼 내에 있는 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 갖는다. 비휘발성 버퍼 내에서 펩티드를 건조하는 경우, 비양자성 극성 용매 내에서 재구성될 때의 펩티드의 pH 메모리가 비휘발성 버퍼 내에 있는 건조된 펩티드의 pH의 pH 단위(pH unit)의 절반 내에 있을 때 건조된다. (따라서 예를 들어 펩티드가 건조되는 비휘발성 버퍼 내에서 3.0의 pH를 갖는 펩티드의 경우, 비양자성 극성 용매 내에서 재구성되었을 때 상기 펩티드에 대한 2.5 내지 3.5의 pH 메모리는 pH 단위의 절반 내에 있을 것이고, 그에 따라 건조된 펩티드의 pH 메모리는 비휘발성 버퍼 내에서 있는 펩티드의 pH와 거의 동일할 것이다.)

[0089] 일 실시예에 있어서, 안정한 제형의 펩티드는 약 1.5 내지 2.5의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 2.0 내지 3.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 2.0 내지 4.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 2.5 내지 4.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 2.5 내지 3.5의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 3.0 내지 5.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 3.0 내지 4.5의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 4.0 내지 5.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 4.0 내지 6.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 6.0 내지 8.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 6.5 내지 8.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 6.5 내지 7.5의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 6.5 내지 9.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 7.0 내지 9.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 8.0 내지 10.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 안정한 제형의 펩티드는 약 8.5 내지 10.0의 pH 메모리를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 펩티드의 pH 메모리는 약 1.5, 약 2.0, 약 2.5, 약 3.0, 약 3.5, 약 4.0, 약 4.5, 약 5.0, 약 5.5, 약 6.0, 약 6.5, 약 7.0, 약 7.5, 약 8.0, 약 8.5, 약 9.0, 약 9.5 또는 약 10.0일 수 있다.

[0090] **F. 예시적 제형 (Exemplary Formulations)**

[0091] 특정 일 실시예에 있어서, 본 발명은 안정한 글루카곤 제형(glucagon formulation)을 제공하고, 글루카곤 제형은 글루카곤 펩티드 또는 이의 염(예를 들어 글루카곤 아세테이트)을 포함한다. 글루카곤은 산화글루시늄 버퍼(glucine buffer), 시트로산염 버퍼(citrate buffer), 인산염 버퍼(phosphate buffer) 및 이들의 혼합물들로부터 선택된 비휘발성 버퍼 내에서 건조되었다. 건조된 글루카곤은 약 2.0 내지 3.0의 pH 메모리를 가지고, 비양자성 극성 용매는 DMSO, 에틸 아세테이트, n-메틸 피롤리돈(NMP) 및 이들의 혼합물들로부터 선택된다. 제형의 습기 함유량은 5% 미만이다. 건조된 글루카곤이 비양자성 극성 용매 내에서 재구성될 때 건조된 글루카곤은 약 2.0 내지 3.0의 pH 메모리를 유지한다. 일 실시예에서, 글루카곤은 제형 내에 약 0.5 mg/mL 내지 약 100 mg/mL 또는 약 1 mg/mL 내지 50 mg/mL의 함유량으로 존재한다. 일 실시예에서, 제형의 습기 함유량은 약 2% 미만, 약 1% 미만, 약 0.5% 미만 또는 약 0.01% 미만이다. 일 실시예에서, 제형의 습기 함유량은 약 0.01% 내지 3%이다. 일 실시예에서, 제형은 당류(예를 들어 트리할로우스), 녹말질(예를 들어 하이드록시에틸 전분(HES)) 및 이들의 혼합물들로부터 선택된 안정화 부형제를 더 포함할 수 있다. 안정화 부형제는 제형 내에 약 1%(w/v) 내지 60%(w/v)의 함유량으로 존재할 수 있다. 일 실시예에서, 제형은 제형의 어는점을 떨어뜨리는 조용매(co-solvent)를 더 포함할 수 있다. 조용매는 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세롤 및 이들의 혼합물들로부터 선택될 수 있다. 조용매는 제형 내에 약 10%(w/v) 내지 50%(w/v)의 함유량으로 존재할 수 있다.

[0092] 특정 다른 실시예에 있어서, 본 발명은 안정한 글루카곤 제형을 제공하고, 글루카곤 제형은 글루카곤 펩티드 또는 이의 염(또는 글루카곤 아날로그(glucagon analog) 또는 펩티도미메틱(peptidomimetic)) 그리고 DMSO, n-메틸 피롤리돈(NMP) 및 이들의 혼합물들로 이루어진 그룹으로부터 선택된 비양자성 극성 용매를 포함한다. 제형의 습기 함유량은 3% 미만일 수 있다. 바람직한 일 실시예에서, 제형의 습기 함유량은 2% 미만, 1% 미만, 0.5% 미만 또는 0.25% 미만일 수 있다. 바람직한 다른 실시예에서, 습기 함유량은 0.25% 내지 3%, 보다 바람직하게는 0.25% 내지 2%, 보다 바람직하게는 0.25% 내지 1.5%, 보다 바람직하게는 0.25% 내지 1%, 보다 바람직하게는 0.5% 내지 1%일 수 있다.

[0093] 특정 다른 실시예에 있어서, 안정한 글루카곤 제형은 비휘발성 버퍼 및 당류(sugars), 녹말질(starches) 또는

당알콜(sugar alcohols)인 안정화 부형제를 더 포함할 수 있다. 예를 들면, 일 실시예에 있어서, 글루카곤 제형은 산화글루시늄 버퍼(glucine buffer) 및 마니톨(mannitol), 또는 시트로산염 버퍼(citrate buffer) 및 마니톨(mannitol), 또는 인산염 버퍼(phosphate buffer) 및 마니톨(mannitol)을 더 포함할 수 있다. 일 실시예에 있어서, 글루카곤 제형은 산화글루시늄 버퍼(glucine buffer) 및 트리할로오스(trehalose), 또는 시트로산염 버퍼(citrate buffer) 및 트리할로오스(trehalose), 또는 인산염 버퍼(phosphate buffer) 및 트리할로오스(trehalose)를 더 포함할 수 있다. 이러한 실시예에 있어서, 비양자성 극성 용매는 DMSO, NMP, 에틸 아세테이트 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 예를 들면, 바람직한 일 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO이고, 비휘발성 버퍼는 산화글루시늄 버퍼(glucine buffer)일 수 있다. 바람직한 다른 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO이고, 비휘발성 버퍼는 시트로산염 버퍼(citrate buffer)이며, 안정화 부형제는 마니톨(mannitol)일 수 있다. 바람직한 또 다른 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO이고, 비휘발성 버퍼는 산화글루시늄 버퍼(glucine buffer)이며, 안정화 부형제는 트리할로오스(trehalose)일 수 있다. 바람직한 또 다른 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 DMSO이고, 비휘발성 버퍼는 시트로산염 버퍼(citrate buffer)일 수 있다. 바람직한 또 다른 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 NMP이고, 비휘발성 버퍼는 산화글루시늄 버퍼(glucine buffer)일 수 있다.

[0094] 다른 특정 실시예에 있어서, 본 발명은 안정한 제형을 제공하고, 제형은 글루카곤 또는 이의 염(예를 들어 글루카곤 아세테이트)를 포함한다. 글루카곤은 비휘발성 버퍼 내에서 건조되었다. 건조된 글루카곤은 산화글루시늄 버퍼(glucine buffer), 시트로산염 버퍼(citrate buffer), 인산염 버퍼(phosphate buffer) 및 이들의 혼합물들로부터 선택된 비휘발성 버퍼 내에 있는 글루카곤의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 갖는다. 건조된 글루카곤의 pH 메모리는 약 2.0 내지 3.0일 수 있고, 비양자성 극성 용매는 DMSO, n-메틸 피롤리돈(NMP), 에틸 아세테이트 및 이들의 혼합물들로부터 선택될 수 있다. 제형의 습기 함유량은 1% 미만이다. 건조된 글루카곤이 비양자성 극성 용매 내에서 재구성될 때 건조된 글루카곤은 비휘발성 버퍼 내에 있는 글루카곤의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 유지한다. 일 실시예에서, 글루카곤 제형은 제형의 어는점을 떨어뜨리는 조용매(co-solvent)를 더 포함할 수 있다. 조용매는 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세롤 및 이들의 혼합물들로부터 선택될 수 있다. 일 실시예에서, 글루카곤 제형은 당류, 녹말질 및 이들의 혼합물들로부터 선택된 안정화 부형제를 더 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 글루카곤은 제형 내에 약 1 mg/mL 내지 50 mg/mL의 함유량으로 존재할 수 있다.

[0095] 다른 특정 실시예에 있어서, 본 발명은 안정한 글루카곤 제형을 제공하고, 글루카곤 제형은 필수적으로 글루카곤 펩티드 또는 이의 염(예를 들어 글루카곤 아세테이트)을 포함한다. 글루카곤은 산화글루시늄 버퍼(glucine buffer), 시트로산염 버퍼(citrate buffer), 인산염 버퍼(phosphate buffer) 및 이들의 혼합물들로부터 선택된 비휘발성 버퍼 내에서 건조되었다. 건조된 글루카곤은 약 2.0 내지 3.0의 pH 메모리를 가지고, 비양자성 극성 용매는 DMSO, 에틸 아세테이트, n-메틸 피롤리돈(NMP) 및 이들의 혼합물들로부터 선택된다. 제형의 습기 함유량은 5% 미만이다. 건조된 글루카곤이 비양자성 극성 용매 내에서 재구성될 때 건조된 글루카곤은 약 2.0 내지 3.0의 pH 메모리를 유지한다.

[0096] 또 다른 특정 실시예에 있어서, 본 발명은 안정한 글루카곤 제형을 제공하고, 글루카곤 제형은 필수적으로 글루카곤 펩티드 또는 이의 염(예를 들어 글루카곤 아세테이트) 및 비양자성 극성 용매와 제형의 어는점을 떨어뜨리는 조용매의 혼합물을 포함한다. 글루카곤은 산화글루시늄 버퍼(glucine buffer), 시트로산염 버퍼(citrate buffer), 인산염 버퍼(phosphate buffer) 및 이들의 혼합물들로부터 선택된 비휘발성 버퍼 내에서 건조되었다. 건조된 글루카곤은 약 2.0 내지 3.0의 pH 메모리를 갖는다. 비양자성 극성 용매는 DMSO, 에틸 아세테이트, n-메틸 피롤리돈(NMP) 및 이들의 혼합물들로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 조용매는 에탄올(ethanol), 프로필렌 글리콜(propylene glycol, PG), 글리세롤(glycerol) 및 이들의 혼합물들로부터 선택된다. 제형의 습기 함유량은 5% 미만이다. 건조된 글루카곤이 비양자성 극성 용매 내에서 재구성될 때 건조된 글루카곤은 약 2.0 내지 3.0의 pH 메모리를 유지한다.

[0097] 다른 특별한 실시예에서, 본 발명은 안정한 글루카곤 제형을 제공하고, 상기 글루카곤 제형은 글루카곤 펩티드 또는 이의 염(예를 들어 글루카곤 아세테이트)을 필수 구성으로 포함하고, 이 경우 글루카곤은 비휘발성 버퍼 및 안정화 부형제의 혼합물에서 건조되었으며, 비휘발성 버퍼는 글리신 버퍼, 시트레이트 버퍼, 포스페이트 버퍼, 및 이의 혼합물로부터 선택되고, 안정화 부형제는 당류(예를 들어 트레할로스), 녹말류(예를 들어 히드록시에틸 전분(HES)), 및 여기의 혼합물들로부터 선택되며, 상기 건조된 글루카곤은 약 2.0 내지 약 3.0의 pH 메모리를 갖고; 비양자성 극성 용매는 디메틸설폭사이드(DMSO), 에틸 아세테이트, n-메틸 피롤리돈(NMP), 및 이의 혼합물로 이루어진 그룹으로부터 선택되며; 제형의 수분량은 5% 미만이고, 상기 건조된 글루카곤은 상기 건조된 글루카곤 비양자성 극성 용매에서 재구성되었을 때 약 2.0 내지 약 3.0의 pH 메모리를 유지한다.

[0098] 또 다른 특별한 실시예에서, 본 발명은 인슐린; 프람린티드; 및 디메틸설폭사이드(DMSO), n-메틸 피롤리돈

(NMP), 에틸 아세테이트 및 이의 혼합물로부터 선택된 비양자성 극성 용매를 포함한 안정한 제형을 제공하고, 상기 인슐린은 글리신 버퍼, 시트레이트 버퍼, 포스페이트 버퍼, 및 이의 혼합물로부터 선택된 제 1 비휘발성 버퍼에서 건조되었으며, 상기 건조된 인슐린은 제 1 비휘발성 버퍼에서의 인슐린의 pH와 거의 동일한 제 1 pH 메모리를 갖고, 이 경우 제 1 pH 메모리는 약 1.5 내지 약 2.5, 또는 약 6.0 내지 약 8.0이며; 상기 프람린티드는 글리신 버퍼, 시트레이트 버퍼, 포스페이트 버퍼, 및 이의 혼합물로부터 선택된 제 2 비휘발성 버퍼에서 건조되었고, 상기 건조된 프람린티드는 제 2 비휘발성 버퍼에서 프람린티드의 pH와 거의 동일한 제 2 pH 메모리를 가지며, 상기 제 2 pH 메모리는 약 3.0 내지 약 5.0, 약 4.0 내지 약 6.0이고; 상기 제형의 수분량은 1% 미만이고, 상기 건조된 인슐린은 상기 건조된 인슐린이 비양자성 극성 용매에서 재구성되었을 때 제 1 비휘발성 버퍼에서의 인슐린의 pH와 거의 동일한 제 1 pH 메모리를 유지하며, 상기 건조된 프람린티드는 상기 건조된 프람린티드가 비양자성 극성 용매에서 재구성되었을 때 제 2 비휘발성 버퍼에서의 프람린티드의 pH와 거의 동일한 제 2 pH 메모리를 유지한다. 일정한 실시예에서, 인슐린 및 프람린티드 제형은 제형의 어느점을 떨어뜨리는 공용매를 추가로 포함하고, 상기 공용매는 에탄올, 프로피렌 글리콜, 글리세롤, 및 이의 혼합물로부터 선택된다. 일정한 실시예에서, 제 1 비휘발성 버퍼에서의 인슐린 및 제 2 비휘발성 버퍼에서의 프람린티드 중 하나 또는 둘 모두는 당류, 녹말류, 및 이의 혼합물로부터 선택된 안정화 부형제를 추가로 포함한다. 일정한 실시예에서, 제 1 비휘발성 버퍼 및 제 2 비휘발성 버퍼는 동일하다. 일정한 실시예에서, 제 1 비휘발성 버퍼 및 제 2 비휘발성 버퍼는 상이하다. 일정한 실시예에서, 인슐린 및 프람린티드의 각각은 약 1 mg/mL 내지 약 50 mg/mL의 양으로 제형에 존재한다. 일정한 실시예에서, 제 1 pH 메모리는 약 1.5 내지 약 2.5이다. 일정한 실시예에서, 제 1 pH 메모리는 약 6.0 내지 약 8.0이다. 일정한 실시예에서, 제 2 pH 메모리는 약 3.0 내지 약 5.0이다. 일정한 실시예에서, 제 2 pH 메모리는 약 4.0 내지 약 6.0이다. 일정한 실시예에서, 제 1 pH 메모리는 약 1.5 내지 약 2.5이고, 제 2 pH 메모리는 약 3.0 내지 약 5.0이다.

[0099] IV. 안정한 펩티드 제형을 만드는 방법

[0100] 또 다른 태양에서, 본 발명은 비경구 주입을 위한 안정한 제형을 만드는 프로세스를 제공한다. 일정한 실시예에서, 프로세스는 펩티드 및 비휘발성 버퍼를 건조한 펩티드 파우더로 건조시키는 단계; 및 건조된 펩티드 파우더를 비양자성 극성 용매와 함께 재구성하는 단계를 포함하고, 이에 의해 안정한 제형을 만드며, 이 경우 안정한 제형의 수분량은 5% 미만이다. 일정한 실시예에서, 건조된 펩티드 파우더는 비휘발성 버퍼의 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 갖고, 건조된 펩티드 파우더는 건조된 펩티드 파우더가 비양자성 극성 용매에서 재구성되었을 때 비휘발성 버퍼에서의 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 유지한다.

[0101] 안정한 펩티드 제형을 만드는 프로세스는 수용성 환경에서 제한된 또는 열등한 안정성 또는 용해도를 갖는 어떠한 펩티드를 제형하는데 이용될 수 있다. 본 발명의 제형에서 이용하기에 적절한 펩티드(또는 이의 염)는 글루카곤, 인슐린, 류프로라이드, 황체 형성 호르몬 방출 호르몬 (LHRH) 아고니스트, 프람린티드, 부갑상선 호르몬 (PTH), 아밀린, 보툴리눔 독신, 코노톡신, 헤마티드, 아밀로이드 펩티드, 콜레시스토키닌, 위 억제 펩티드, 인슐린-유사 성장 인자, 성장 호르몬 촉진 인자, 향균성 인자, 글라티라메르, 글루카곤-유사 펩티드-1 (GLP-1), GLP-1 아고니스트, 엑세나타이드, 이의 유사체를 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다. 바람직한 실시예에서, 펩티드는 글루카곤 또는 글루카곤 아날로그 또는 펩티도미메틱이다. 다른 실시예에서, 펩티드는 부갑상선 호르몬이다. 또 다른 실시예에서, 펩티드는 류프로라이드이다. 또 다른 실시예에서, 펩티드는 글라티라메르이다.

[0102] 일정한 실시예에서, 둘, 셋, 넷 또는 그 초과 펩티드가 안정한 제형으로 제형화되었다. 둘 또는 그 초과 펩티드가 안정한 제형으로 제형화된 실시예에서, 각각의 펩티드는 건조한 펩티드 파우더로 비휘발성 버퍼와 함께 개별적으로 건조되고, 각각의 건조된 펩티드 파우더는 비휘발성 버퍼에서 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 갖는다(예를 들면 제 1 펩티드는 제 1 비휘발성 버퍼에서 제 1 펩티드의 pH와 거의 동일한 제 1 pH 메모리를 갖고, 제 2 펩티드는 제 2 비휘발성 버퍼에서 제 2 펩티드의 pH와 거의 동일한 제 2 pH 메모리를 갖는다). 둘 또는 그 초과 건조된 펩티드 파우더는 비양자성 극성 용매와 함께 재구성되고, 이에 의해 안정한 제형을 만들며, 안정한 제형의 수분량은 5% 미만이고, 각각의 건조된 펩티드 파우더는 건조된 펩티드 파우더가 비양자성 극성 용매에서 재구성될 때 비휘발성 버퍼에서 펩티드의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 갖는다(예를 들면 제 1 건조된 펩티드는 제 1 건조된 펩티드가 비양자성 극성 용매에서 재구성될 때 제 1 pH 메모리를 유지하고, 제 2 건조된 펩티드는 제 2 건조된 펩티드가 비양자성 극성 용매에서 재구성될 때 제 2 pH 메모리를 유지한다).

[0103] 안정한 펩티드 제형을 만드는 프로세스에서, 적절한 비휘발성 버퍼는 예를 들어 글리신 버퍼, 시트레이트 버퍼, 포스페이트 버퍼, 및 이의 혼합물을 포함한다. 일정한 실시예에서, 비휘발성 버퍼는 글리신 버퍼 또는 시트레이트

트 버퍼이다. 일정한 실시예에서, 비휘발성 버퍼는 시트레이트 버퍼 및 포스페이트 버퍼의 혼합물이다. 일정한 실시예에서, 펩티드는 비휘발성 버퍼 및 안정화 부형제(당류, 전분, 또는 이의 혼합물과 같은 것들)와 혼합되고, 이후 건조된 펩티드 파우더로 건조된다. 일정한 실시예에서, 안정화 부형제(당류, 전분, 당류 알코올, 또는 이의 혼합물과 같은 것들)는 비양자성 극성 용매에서 재구성된 펩티드로 부가된다. 일정한 실시예에서, 안정화 부형제는 약 1% (w/v) 내지 약 60% (w/v), 예를 들어 약 1%, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, or 약 60% (w/v)의 범위의 양으로 제형에 존재한다. 일정한 실시예에서, 안정화 부형제 트레할로스이다. 일정한 실시예에서, 안정화 부형제 HES이다. 일정한 실시예에서, 안정화 부형제 트레할로스 및 HES의 혼합물이다.

[0104] 위에서 설명한 것처럼, 펩티드가 비휘발성 버퍼와 혼합될 때, 비휘발성 버퍼는 수용성 환경에서 최대 안정성/최소 저하(degradation)의 pH를 펩티드가 갖도록 선택된다. 일단 건조되면, 펩티드는 최대 안정성/최소 저하의 pH 메모리를 가질 것이고, 비양자성 극성 용매에서 용해되거나 또는 재구성되었을 때 pH 메모리를 유지할 것이다. 이와 같이, 일 실시예에서, 비휘발성 버퍼의 pH는 건조된 펩티드 파우더가 약 2 내지 약 3의 pH 메모리를 갖도록 한다. 다른 실시예에서, 비휘발성 버퍼의 pH는 건조된 펩티드 파우더가 약 4 내지 약 6의 pH 메모리를 갖도록 한다. 또 다른 실시예에서, 비휘발성 버퍼의 pH는 건조된 펩티드 파우더가 약 4 내지 약 5의 pH 메모리를 갖도록 한다. 또 다른 실시예에서, 비휘발성 버퍼의 pH는 건조된 펩티드 파우더가 약 6 내지 약 8의 pH 메모리를 갖도록 한다.

[0105] 펩티드 및 비휘발성 버퍼(및 건조 이전에 펩티드 및 비휘발성 버퍼에 첨가되는 안정화 부형제와 같은 선택적으로 다른 구성요소)가 파우더로 건조되면, 건조된 펩티드 파우더는 여기서 설명된 것과 같은 비양자성 극성 용매(예를 들어 디메틸설폭사이드 (DMSO), n-메틸 피롤리돈 (NMP), 에틸 아세테이트, 및 이의 혼합물). 일정한 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 디메틸설폭사이드 (DMSO)이다. 다른 실시예에서, 비양자성 극성 용매는 n-메틸 피롤리돈 (NMP)이다.

[0106] 일정한 실시예에서, 건조된 펩티드 파우더를 재구성하는 단계는 제형의 어느점을 떨어뜨리는 공용매 및 비양자성 극성 용매를 포함한 혼합물과 건조된 펩티드를 희석시키거나 또는 재구성하는 단계를 포함한다. 일정한 실시예에서, 공용매는 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세롤, 및 이의 혼합물로부터 선택된다. 일정한 실시예에서, 공용매는 약 10% (w/v) 내지 약 50% (w/v), 예를 들어 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 또는 약 50% (w/v)의 범위의 양으로 제형에 존재한다.

[0107] 본 발명의 제형은 매우 적은 잔류 수분을 갖고, 따라서 이러한 제형에서의 펩티드는 시간의 연장된 주기에 걸쳐 안정하게 유지된다. 바람직한 실시예에서, 본 발명의 프로세스에 의해 만들어진 안정한 제형의 수분량은, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 1% 미만, 0.5% 미만, 0.4% 미만, 0.3% 미만, 0.25% 미만, 0.2% 미만, 0.15% 미만, 0.1% 미만, 0.075% 미만, 0.05% 미만, 0.025% 미만, 또는 0.01% 미만이다.

[0108] 이전의 프로세스에서, 비휘발성 버퍼(및 선택적으로 안정화 부형제)와 함께 펩티드 화합물을 건조시키는 것은, 스프레이-건조 기술, 냉동 건조 기술 또는 동결건조 기술을 이용하여 수행된다. 스프레이-건조 기술은 이 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려져 있다. 스프레이-건조는 노즐 스프링 디스크 또는 다른 장치를 통해 하나 이상의 고체(예를 들어 치료제)를 포함한 용액의 원자화(atomization) 단계 이후 드롭렛으로부터 용매의 증발이 뒤따른다. 결과적인 파우더의 성질은 최초 용질의 농도, 만들어진 드롭렛의 크기 분포 및 용질 제거 속도의 함수로 나타난다. 만들어진 입자는 용매 제거의 속도 및 조건에 따라서 결정 및/또는 비결정 고체로 이루어진 주요 입자의 집합체를 포함할 수 있다.

[0109] 단백질, 올리고펩티드, 고분자량 폴리사카리드, 및 핵산과 같은 생체 고분자의 매우 미세한 파우더를 제조하기 위한 스프레이-건조 프로세스는 예를 들어 미국 특허 제6,051,256호에서 설명되어 있다. 냉동 건조 과정은 이 기술 분야에서 잘 알려져 있고, 예를 들어 미국 특허 제4,608,764호 및 미국 특허 제4,848,094호에서 설명된다. 스프레이-동결-건조 프로세스는 예를 들어 미국 특허 제5,208,998호에서 설명된다. 다른 스프레이-건조 기술은 예를 들어 미국 특허 제6,253,463; 6,001,336; 5,260,306호 및 PCT 국제특허공보 제 WO 91/16882 및 WO 96/09814호에서 설명된다.

[0110] 동결 건조 기술은 이 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려져 있다. 동결 건조는 생산물이 냉각 상태에서(진공 하에서 얼음 승화) 및 진공 하에서(가벼운 가열에 의해 건조시킴) 있는 동안 일어난 건조 기술이다. 이러한 조건은 생산물을 안정화시키고 산화 및 다른 저하 프로세스를 최소화한다. 냉동 건조의 조건은 낮은 온도에서 프로세스를 수행하는 것을 허용하고, 따라서 열적으로 불안정한 생산물이 보존될 수 있다. 냉동 건조에서의 단계는 사전 처리, 냉동, 1차 건조 및 2차 건조를 포함한다. 사전 처리는 냉동 이전에 생산물을

처리하는 어떠한 방법이라도 포함한다. 이는 생산물을 농축시키고, 제형 수정(예를 들어 안정성을 증가시키고 및/또는 프로세스를 향상시키도록 구성요소를 첨가시킴), 높은 증기압 용매를 감소시키거나 또는 표면적을 증가시킨다. 사전 처리 방법은 다음과 같은 내용을 포함한다: 동결 농축, 용액상 농축, 및 생산물 외관을 보존하거나 또는 반응성 생산물을 위한 료프로텍션(lyoprotection)을 제공하도록 특별히 제형화하고, 이는 예를 들어 미국 특허 제 6,199,297호에서 설명된다. "표준" 동결 건조 조건은 예를 들어 미국 특허 제 5,031,336호, 및 "약제학적 냉동 건조" (DeLuca, Patrick P., J. Vac. Sci. Technol., Vol. 14, No. 1, January/February 1977); 및 "약제학적 동결 건조: 리터처 리뷰" (Williams, N. A., and G. P. Polli, 비경구 사이언스 앤드 테크놀러지 저널, Vol. 38, No. 2, March/April 1984)에서 설명된다.

[0111] 일정한 바람직한 실시예에서, 동결 건조 사이클은 치료제 제형의 유리 전이 온도(Tg)를 넘어서 부분적으로 수행되고, 이에 의해 질량의 붕괴를 유도하여 잔류 수분을 함유한 치밀한 케이크(cake)를 형성한다. 다른 실시예에서, 동결 건조 사이클은 유리 전이 온도 미만에서 수행되고, 이에 의해 입자의 완전한 건조를 이루기 위해 붕괴를 피하게 된다.

[0112] **V. 약제학적 방법**

[0113] 다른 태양에서, 본 발명은 질병, 질환 또는 장애를 치료하거나, 완화시키거나 또는 예방하는데 효과적인 양만큼 여기서 설명된 것과 같은 안정한 제형을 대상(subject)에게 투여함에 의해 질병 또는 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 일정한 실시예에서, 본 발명의 안정한 제형으로 치료되어야 하는 질병, 질환 또는 장애는 당뇨 질환이다. 당뇨 질환의 예는 타입 1 당뇨병, 타입 2 당뇨병, 임신 당뇨병, 프리-당뇨병, 고혈당, 저혈당, 및 대사증후군을 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다. 일정한 실시예에서, 질병, 질환 또는 장애는 저혈당이다. 일정한 실시예에서, 질병, 질환 또는 장애는 당뇨병이다.

[0114] 일정한 실시예에서, 본 발명의 약제학적 방법은 저혈당을 치료하는데 효과적인 양으로 여기서 설명된 것과 같은 안정한 제형을 저혈당은 갖는 대상에게 투여함에 의해 저혈당을 치료하는 것을 포함한다. 일정한 실시예에서 대상에게 글루카곤을 포함한 안정한 제형이 투여된다.

[0115] 일정한 실시예에서, 본 발명의 약제학적 방법은 당뇨병을 치료하는데 효과적인 양으로 여기서 설명된 것과 같은 안정한 제형을 당뇨병을 가진 대상에게 투여함에 의해 당뇨병을 치료하는 것을 포함한다. 일정한 실시예에서, 대상에게 인슐린을 포함한 안정한 제형이 투여된다. 일정한 실시예에서 대상에게 프람린티드를 포함한 안정한 제형이 투여된다. 일정한 실시예에서 대상에게 인슐린 및 프람린티드를 포함한 안정한 제형이 투여된다. 일정한 실시예에서 대상에게 엑세나타이드를 포함한 안정한 제형이 투여된다. 일정한 실시예에서 글루카곤 및 엑세나타이드를 포함한 안정한 제형이 투여된다.

[0116] 질병, 질환, 장애(예를 들어 당뇨 질환, 당뇨 질환, 예를 들어 저혈당 또는 당뇨병)를 치료하기 위해 여기서 설명된 것과 같은 펩티드 약에 대한 투여 복용량은, 당업자에 의해 실행된 스케줄 식이 요법 및 복용량에 따른다. 본 발명에서 이용된 모든 약리작용제의 적절한 복용량에 대한 일반적인 지침은 *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Edition, 2006, *supra*, 및 in a Physicians' Desk Reference (PDR), 예를 들어, in the 65th (2011) or 66th (2012) Eds., PDR Network, LLC에서 제공되며, 이들 각각은 여기서 참조로 인용된다. 여기서 설명된 것과 같은 질병, 질환 또는 장애를 치료하기 위한 펩티드 약의 적절한 복용량은, 조성물의 제형, 환자 반응, 질병의 심각도, 환자의 몸무게, 및 처방 의사의 판단을 포함한 다양한 인자에 따라 변경될 것이다. 설명된 제형들의 효과적인 복용은 펩티드 약의 의학적으로 효과적인 양을 전달한다. 복용량은 개별 환자에 의해 요구되는 것처럼, 시간에 따라 증가 또는 감소될 수 있다.

[0117] 효과적인 양 또는 복용량의 결정은 여기서 제공된 상세한 개시 내용의 관점에서 볼 때 당업자의 가능성 범위내에 있다. 일반적으로 이러한 복용량을 전달하기 위한 제형은 하나, 둘, 셋, 넷 또는 그 초과 펩티드들 또는 펩티드 아날로그(펩티드 아날로그가 표현적으로 제외되지 않는다면 집합적으로 "펩티드")를 포함할 수 있고, 각각의 펩티드는 제형에서 약 0.1mg/mL 내지 펩티드의 용해도 한계의 농도로 존재한다. 이러한 농도는 약 1 mg/mL 내지 약 100 mg/mL, 예를 들어, 약 1 mg/mL, 약 5 mg/mL, 약 10 mg/mL, 약 15 mg/mL, 약 20 mg/mL, 약 25 mg/mL, 약 30 mg/mL, 약 35 mg/mL, 약 40 mg/mL, 약 45 mg/mL, about 50 mg/mL, 약 55 mg/mL, 약 60 mg/mL, 약 65 mg/mL, 약 70 mg/mL, 약 75 mg/mL, 약 80 mg/mL, 약 85 mg/mL, 약 90 mg/mL, 약 95 mg/mL, 또는 약 100 mg/mL인 것이 바람직하다.

[0118] 본 발명의 제형은 피하의, 피내의, 또는 근육 내의 투여에 대한 것일 수 있다 (예를 들어 주입 또는 투입에 의해). 일정한 실시예에서, 제형은 피하로 투여된다.

- [0119] 본 명세서의 제형은 적절한 장치를 이용하여 투입 또는 주입에 의해 투여된다. 예를 들면, 본 발명의 제형은 주사기, 펌 주입 장치, 자동 주입 장치, 또는 펌프 장치 안에 위치할 수 있다. 일정한 실시예에서, 주입 장치는 다중 복용 주입기 펌프 장치 또는 다중 복용 자동 주입기 장치이다. 제형은 펩티드 약을 전달하기 위해 자동 주입기와 같은 주입 장치의 구동시 바늘로부터 쉽게 밖으로 유동될 수 있는 방식의 장치에 존재한다. 적절한 펌/자동 주입기 장치는, Becton-Dickenson, Swedish Healthcare Limited (SHL Group), Ypsomed Ag 및 이와 유사한 회사에 의해 제조된 펌/자동 주입 장치를 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다. 적절한 펌프 장치는 Tandem Diabetes Care, Inc., Delsys Pharmaceuticals 및 이와 유사한 회사에 의해 제조된 펌프 장치를 포함하나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0120] 일정한 실시예에서, 본 발명의 제형은 유리병, 카트리지, 미리 채워진 주사기를 통해 쉽게 제공된다.
- [0121] 다른 태양에서, 본 발명은 제형의 펩티드로 치료될 수 있는 질병, 질환 또는 장애의 치료를 위한 의약의 제형을 위해 여기서 설명된 것처럼 안정한 제형의 이용을 제공한다. 일정한 실시예에서, 안정한 제형은 당뇨병, 예를 들어 타입 1 당뇨병, 타입 2 당뇨병, 임신 당뇨병, 프리-당뇨병, 고혈당, 저혈당, 및 대사증후군의 치료를 위한 의약을 제형화하는데 이용된다.
- [0122] 일정한 실시예에서, 안정한 제형은 저혈당의 치료를 위한 의약을 제형화하는데 이용된다. 일정한 실시예에서 안정한 제형은, 글루카곤 또는 이의 염 (예를 들어 글루카곤 아세테이트)을 포함한다. 일정한 실시예에서, 안정한 제형은 글루카곤 및 액세나타이드를 포함한다.
- [0123] 일정한 실시예에서, 안정한 제형은 당뇨병의 치료를 위한 의약을 제형화하는데 이용된다. 일정한 실시예에서, 안정한 제형은 인슐린을 포함한다. 일정한 실시예에서, 안정한 제형은 액세나타이드를 포함한다. 일정한 실시예에서, 안정한 제형은 프람린티드를 포함한다. 일정한 실시예에서, 안정한 제형은 인슐린 및 프람린티드를 포함한다.
- [0124] **VI. 키트**
- [0125] 다른 태양에서, 본 발명은 여기서 설명된 것과 같은 질병, 질환 또는 장애를 치료하기 위한 키트를 제공한다. 일정한 실시예에서, 이러한 키트는 안정한 제형; 비양자성 극성 용매; 및 주사기를 포함하고, 안정한 제형은 하나, 둘, 셋, 넷 또는 그 초과인 펩티드 또는 이의 염을 포함하고, 펩티드(들)은 비휘발성 버퍼에서 건조되었으며, 건조된 펩티드(들)은 비휘발성 버퍼에서 펩티드(들)의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 갖고, 제형의 수분량은 5% 미만이며, 건조된 펩티드(들)은 건조된 펩티드(들)이 비양자성 극성 용매에서 재구성되었을 때 비휘발성 버퍼에서 펩티드(들)의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 유지하고, 주사기는 대상에게 안정한 제형을 투여하기 위한 것이다.
- [0126] 일정한 실시예에서, 키트는 대상에서 저혈당을 치료하는데 이용되는 여기서 설명된 것과 같은 안정한 글루카곤 제형을 포함한다. 일정한 실시예에서, 키트는 글루카곤 제형을 포함하는데, 이는 글루카곤 또는 이의 염 (예를 들어 글루카곤 아세테이트)을 포함하고, 글루카곤은 비휘발성 버퍼에서 건조되었으며, 상기 건조된 글루카곤은 글리신 버퍼, 시트레이트 버퍼, 포스페이트 버퍼, 및 이의 혼합물로부터 선택된 비휘발성 버퍼에서의 글루카곤의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 갖고, 상기 건조된 글루카곤의 pH 메모리는 약 2.0 내지 약 3.0이며; 디메틸술폭시드 (DMSO), n-메틸 피롤리돈 (NMP), 에틸 아세테이트, 및 이의 혼합물로부터 선택된 비양자성 극성 용매를 포함하고, 제형의 수분량은 1% 미만이며, 상기 건조된 글루카곤은 상기 건조된 글루카곤이 비양자성 극성 용매에서 재구성될 때 글루카곤의 pH와 거의 동일한 pH 메모리를 유지한다. 일정한 실시예에서, 글루카곤 제형은 제형의 어느점을 떨어뜨리는 공용매를 추가로 포함하고, 이러한 공용매는 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세롤, 및 이의 혼합물로부터 선택된다. 일정한 실시예에서, 글루카곤 제형은 당류, 녹말류, 및 이의 혼합물로부터 선택된 안정화 부형제를 추가로 포함한다. 일정한 실시예에서, 글루카곤은 약 1 mg/mL 내지 약 50 mg/mL 범위의 양으로 제형에 존재한다.
- [0127] 일정한 실시예에서, 키트는 대상에서 당뇨병을 치료하는데 이용되는 여기서 설명된 안정한 인슐린 및 프람린티드 제형을 포함한다. 일정한 실시예에서, 키트는 인슐린 및 프람린티드 제형을 포함하고, 이는 인슐린; 프람린티드; 및 디메틸술폭시드 (DMSO), n-메틸 피롤리돈 (NMP), 에틸 아세테이트, 및 이의 혼합물로부터 선택된 비양자성 극성 용매를 포함하며, 인슐린은 글리신 버퍼, 시트레이트 버퍼, 포스페이트 버퍼, 및 이의 혼합물로부터 선택된 제 1 휘발성 버퍼에서 건조되었고, 상기 건조된 인슐린은 제 1 비휘발성 버퍼에서 인슐린의 pH와 거의 동일한 제 1 pH 메모리를 갖고, 제 1 pH 메모리는 약 1.5 내지 약 2.5 또는 약 6.0 내지 약 8.0이며; 프람린티드는 글리신 버퍼, 시트레이트 버퍼, 포스페이트 버퍼, 및 이의 혼합물로부터 선택된 제 2 휘발성 버퍼에서 건

조되었으며, 상기 건조된 프람린티드는 제 2 비휘발성 버퍼에서 프람린티드의 pH와 거의 동일한 제 2 pH 메모리를 갖고, 제 2 pH 메모리는 약 3.0 내지 약 5.0 또는 약 4.0 내지 약 6.0이며; 제형의 수분량은 1% 미만이고, 상기 건조된 인슐린은 상기 건조된 인슐린이 비양자성 극성 용매에서 재구성되었을 때 제 1 비휘발성 버퍼에서 인슐린의 pH와 거의 동일한 제 1 pH 메모리를 유지하며, 상기 건조된 프람린티드는 상기 건조된 프람린티드는 비양자성 극성 용매에서 재구성될 때 제 2 비휘발성 버퍼에서 프람린티드의 pH와 거의 동일한 제 2 pH 메모리를 유지한다. 일정한 실시예에서, 인슐린 및 프람린티드 제형은 제형의 어는점을 떨어뜨리는 공용매를 추가로 포함하고, 공용매는 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세롤, 및 이의 혼합물로부터 선택된다. 일정한 실시예에서, 제 1 비휘발성 버퍼의 인슐린 및 제 2 비휘발성 버퍼의 프람린티드 중 하나 또는 둘 모두는 당류, 녹말류, 및 이의 혼합물로부터 선택된 안정화 부형제를 추가로 포함한다. 일정한 실시예에서, 제 1 비휘발성 버퍼 및 제 2 비휘발성 버퍼는 동일하다. 일정한 실시예에서, 제 1 비휘발성 버퍼 및 제 2 비휘발성 버퍼는 상이하다. 일정한 실시예에서, 인슐린 및 프람린티드의 각각은 약 1 mg/mL 내지 약 50 mg/mL의 범위의 양으로 제형에 존재한다. 일정한 실시예에서, 제 1 pH 메모리는 약 1.5 내지 약 2.5이다. 일정한 실시예에서, 제 1 pH 메모리는 약 6.0 내지 약 8.0이다. 일정한 실시예에서, 제 2 pH 메모리는 약 3.0 내지 약 5.0이다. 일정한 실시예에서, 제 2 pH 메모리는 약 4.0 내지 약 6.0이다. 일정한 실시예에서, 제 1 pH 메모리는 약 1.5 내지 약 2.5이고, 제 2 pH 메모리는 약 3.0 내지 약 5.0이다.

[0128] 일정한 실시예에서, 키트는 펜 주입 장치, 자동 주입기 장치 또는 펌프의 일부분인 주사기를 포함한다. 일정한 실시예에서, 주사기는 안정한 제형으로 미리 채워진다. 일정한 실시예에서, 키트는 지시사항을 추가로 포함하고, 이 경우 지시사항은 필요한 대상(예를 들어 저혈당 또는 당뇨병을 가진 대상)을 치료하는데 안정한 제형의 투여를 지시한다.

[0129] VII. 실시예

[0130] 본 발명은 특정 실시예를 통해 더 상세하게 기재될 것이다. 아래 실시예들은 예시적 목적으로 제공되고 임의의 방식으로 본 발명을 제한하려는 의도는 아니다. 당업자는 동일한 결과를 실제로 얻기 위해 바뀔 수 있거나 변경될 수 있는 다양한 임계적이지 않은 파라미터를 쉽게 인식할 것이다.

[0131] **실시예 1: 동결 건조에서 사용을 위한 글루카곤 용액의 제조**

[0132] 10 mg/mL의 농도에서 글루카곤을 함유하기 위해 다양한 용액을 제조하였다. 이 용액은 대안적으로 글리신, 시트레이트 또는 포스페이트를 5mM에서 함유하였고, 일반적으로 pH 3의 버퍼를 제공하였다. 이 용액은 또한 당류를 단독으로 또한 조합하여 함유하였고, 그 양은 글루카곤의 양(w/v)과 동일(1:1)하거나 글루카곤의 양의 200%(2:1)이었다. 이 당류는 트레할로스, HES, 및 β-시클로덱스트린(β-CD)였다. 일부 용액은 또한 Tween-20을 계면활성제로서 0.10% w/v 만큼 함유하였다. 이 다양한 제형을 아래 표 1에 기재된 양으로 실제로 균일하게 혼합하였다.

[0133] 표 1은 후속 동결건조(Lyophilization)를 위한 글루카곤 혼합물에 대한 것이다.

표 1

제형 #	글루카곤 (mg/ml)	글리신 버퍼 (mM)	시트레이트 버퍼 (mM)	포스페이트 버퍼 (mM)	트레할로스 (mg/ml)	HES (mg/ml)	β-CD (mg/ml)	Tween-20 (mg/ml)
1	5	5	0	0	0	0	0	0
2	5	5	0	0	0	0	0	0.01
3	5	5	0	0	10	0	0	0
4	5	5	0	0	0	10	0	0
5	5	5	0	0	5	5	0	0
6	5	5	0	0	0	0	10	0
7	5	0	5	0	0	0	0	0
8	5	0	5	0	0	0	0	0.01
9	5	0	5	0	10	0	0	0
10	5	0	5	0	0	10	0	0
11	5	0	5	0	5	5	0	0
12	5	0	5	0	0	0	10	0
13	5	0	0	5	0	0	0	0
14	5	0	0	5	0	0	0	0.01
15	5	0	0	5	10	0	0	0

16	5	0	0	5	0	10	0	0
17	5	0	0	5	5	5	0	0
18	5	0	0	5	0	0	10	0
19	5	5	0	0	10	0	0	0.01
20	5	5	0	0	0	10	0	0.01
21	5	5	0	0	5	5	0	0.01

[0135] 이 혼합물들을 제조하기 위해, 글루카곤을 10 mg/mL 만큼 각 버퍼(포스페이트, 시트레이트, 및/또는 글리신 버퍼, 5 mM, pH 3.0)에 용해 시켰다. 그 다음에 이 용액을 다양한 용질과 1:1 (v/v) 비율로 혼합하였고, 이를 상응하는 버퍼를 사용하여 요구되는 농도로 두 번 제조하였으며, 5 mg/mL의 최종 글루카곤 농도 및 최종 요구된 용질 농도를 얻었다. 그 다음에 이 용액을 0.2µm Millipore PES 멤브레인을 통해 여과시켜서 불용성 물질을 제거하였다. 이 샘플 제조를 4°C 차가운 룬에서 수행하였다. 이 글루카곤 농도 및 순도는 RP- 및 Size-Exclusion (SE)-HPLC에 의해 측정하였다.

[0136] **실시예 2: 동결 건조에 의한 건조 글루카곤 파우더의 제조**

[0137] 표 1의 상기 제형을 3-mL 얼림 건조(lyophilization) 비알(vials)(13-mm ID)로 피켓(0.3 mL)하였다. 이 제형을 FTS Durastop 동결 건조기(Stoneridge, NY)에서 얼림 건조시켰다. 2.5°C/분의 속도로 샘플을 -40°C에서 동결시켰고 2시간 동안 유지하여서 충분히 동결되도록 하였다. 그 다음에 이 샘플 온도를 2°C/분의 속도로 -5°C로 증가시켰고 2시간 동안 어닐링(annealing) 단계로서 유지하였다. 그 다음에 이 온도를 1.5°C/분의 속도로 30°C로 감소시켰고 60mTorr에서 진공을 켜다. 주 건조를 24시간 동안 세팅하였다. 이 온도를 점차로 0.5°C/분의 속도로 40°C로 증가시켰고 추가 10분 동안 유지하였다. 건조가 완성된 후, 이 비알을 진공 하에서 XX 스타퍼(West Pharmaceutical company (product # 10123524))를 사용하여 캡핑하였다. 어떠한 제형도 동결 건조 후 케이크 붕괴의 증거를 보이지 않았다. 최종 건조 생성물의 수분량은 1% w/w 미만이었다.

[0138] **실시예 3: 비양자성 극성 용매에서 글루카곤 제형의 제조**

[0139] 표 1의 용액으로부터 만든 건조 파우더 중 6개를 극성, 비양자성 용매에서의 제형을 위해 선택하였다:

- [0140] 1. 버퍼 (글리신) + 트레할로스 (글루카곤에 비해 200%) (제형 #3)
- [0141] 2. 버퍼 (글리신) + HES (글루카곤에 비해 200%) (제형 #4)
- [0142] 3. 버퍼 (글리신) + 트레할로스 (글루카곤에 비해 100%) + HES (글루카곤에 비해 100%) (제형 #5)
- [0143] 4. 버퍼 (글리신) + Tween-20 (0.01% w/v) + 트레할로스 (글루카곤에 비해 200%) (제형 #19)
- [0144] 5. 버퍼 (글리신) + Tween-20 (0.01% w/v) + HES (글루카곤에 비해 200%) (제형 #20)
- [0145] 6. 버퍼 (글리신) + Tween-20 (0.01% w/v) + 트레할로스 (글루카곤에 비해 100%) + HES (글루카곤에 비해 100%) (제형 #21)

[0146] **실시예 4: 4-5의 pH 메모리로 글루카곤 용액의 제조**

[0147] 10-20 mg/mL의 농도로 글루카곤을 함유하도록 용액을 제조하였다. 이 용액은 pH 4-5를 설정하는 시트레이트 버퍼를 함유하였다. 또한 이 용액은 당류 알코올, 만니톨을 50-100 mg/mL로 함유하였다. 이 제형을 실제로 균질하게 혼합하였고 실시예 2에 기재된 건조 사이클을 통해 동결 건조하여 잔여 습기가 0.5% w/w 미만이 되도록 하였다. 이 건조 파우더는 DMSO로 용해시켜서 10-20 mg/mL의 글루카곤 및 50-100 mg/mL의 만니톨의 농도가 되도록 하였다.

[0148] **실시예 5: 낮은 습기 및 낮은 어는점의 PTH(1-34) 용액의 제조**

[0149] 10-20 mg/mL의 농도의 PTH (1-34)을 함유하는 용액을 제조하였다. 이 용액은 4-5의 pH를 설정하는 시트레이트 버퍼를 함유하였다. 또한 이 용액은 당류 알코올, 만니톨을 50 mg/mL의 농도로 함유하였다. 이 제형을 실제로 균일하게 혼합하였고 0.5% w/w 미만의 잔여 습기가 되도록 실시예2에 기재된 건조 사이클을 통해 냉동 건조시켰다. 이 건조 파우더를 DMSO로 용해시켜 10-20 mg/mL의 PTH (1-34) 및 50-100 mg/mL의 만니톨의 농도가 되도록 하였다.

[0150] **실시예 6: 글루카곤 제형의 적용 후 혈액 글루카곤 및 혈액 글루코스 수준의 증가**

[0151] NMP 또는 DMSO에 용해된 글루카곤-글리신-트레할로스 과우더에 기초한 비양자성 극성 용매 내 두 개의 비수성 글루카곤 제형을 래트 약동학 방법(rat pharmacokinetic) 및 약역학 연구 방법(pharmacodynamic study)으로 시험하였고 수성 제형과 비교하였다. 래트들에 모두 10 mg 글루카곤/래트의 속도로 투여하였다. 수성 글루카곤 용액을 수성 대조군 용액으로서 10 mL 피하 주사 방법으로 적용하였다. 시험된 모든 제형은 혈액 글루카곤 농도의 빠른 증가를 보여주었다(참조 도 1).

[0152] 약동학(Pharmacokinetic (PK)) 파라미터는 4개의 치료 군에 수성 대조군을 더해서 분석하였다. 비구획 PK 분석을 각 래트(rat)에 대해 수행하였다. C_{max} 및 T_{max}를 얻은 데이터로부터 계산하였다. AUC(Area-under-the-curve) 추정치를 외삽 없이 계산하였다. 5개 군 ANOVA를 사용하여 이 데이터를 분석하여 군들에 대한 PK 파라미터를 비교하였다. 3개 군에 걸친 C_{max}, T_{max} 또는 AUC에서의 큰 차이는 관찰되지 않았다. 수성 대조군에 비해 NMP and DMSO 제형의 상대적 생물학적 이용가능성은 모두 거의 100%였다(76% 및 92%, 각각). 따라서, 이 래트 PK 연구의 결과에 기초하여 비수성 제형은 수성 글루카곤 제형과 본질적으로 생물학적 등가성이다.

[0153] 약동학적 결과로부터 예측되는 바와 같이, 비수성 글루카곤 제형은 동일한 용량(dose) 수준에서 수성-재구성된 글루카곤 제형과 본질적으로 등가인 약동학적 프로필을 생산하였다(참조, 도 2).

[0154] **실시예 7: 수성 용액에 비해 비양자성 극성 용매에서 글루카곤의 증가된 용해도**

[0155] 글루카곤을 아래 버퍼 중 하나에 용해를 통해 1.0 mg/mL로 제조하였다.

[0156] 1. 2 mM 시트르산, pH 2.0 (농축된 HCl로 적정됨)("C2.0")

[0157] 2. 2 mM 시트르산, pH 3.0 (농축된 HCl로 적정됨)("C3.0")

[0158] 1 mL 채움 부피로, 각 제형을 살균된 2 cc 비알에 두었다. 샘플을 냉동건조시켜 잔여 습기를 낮췄고 DMSO, NMP, 또는 50/50 DMSO/NMP 공용매 내 다양한 명목상 농도로 재구성시켰다. 재구성 농도는 1 내지 30 mg/mL의 범위였다. A₆₃₀, 및 RP-HPLC를 통해 투명도, 혼탁도의 가시 검사에 의해 용해도를 측정하였다.

[0159] 아래 표 2와 같이, 2.0 및 3.0의 pH 메모리의 시트레이트 버퍼와 함께 동결 건조된 글루카곤은 30 mg/mL의 농도로 쉽게 용해가능하였다. 동일한 제형은 더 낮은 농도의 H₂O에서 단지 완전히 용해가능하였다. 3.0의 pH 메모리에서, H₂O에서 5 mg/mL에서 완전한 재구성을 단지 달성하였다. 추가로 H₂Odptj 용해된 글루카곤은 단지 준 용해성(meta-stable)이었다, 즉, 몇 시간 동안 단지 용해성을 보이고 그 다음에 젤이 되기 시작하거나 소섬유성(fibrillate)이 되며 이 속도는 pH 및 농도에 의존하며, 반면 비양자성 극성 용매/공용매에 용해된 글루카곤은 무기한으로 안정적이었다.

[0160] 표 2는 2.0 및 3.0의 pH 메모리에서 글루카곤의 용해도에 관한 것이다.

표 2

[0161]

Formulation	Solvent	1	5	10	20	30
		mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml
C2.0	H ₂ O	1	5	10	18	24
	DMSO	1	5	10	20	30
	DMSO/NMP	1	5	10	20	30
	NMP	1	5	10	20	30
C3.0	H ₂ O	1	5	7	17	9
	DMSO	1	5	10	20	30
	DMSO/NMP	1	5	10	20	30
	NMP	1	5	10	20	30

[0162] **실시예 8: 비양자성 극성 용매 내 글루카곤의 용해도에 대한 pH의 효과**

[0163] 실시예 8 및 표 2의 데이터를 pH 메모리 관점으로부터 보는 경우에, 글루카곤의 더 높은 용해도는 더 높은 pH에서 보다 더 낮은 pH 메모리 (예를 들어, pH 2.0)에서 비양자성 극성 용매에서 달성될 수 있음은 명백하다. 더구나, 표 2의 리커버리즈(recoveries)는 본질적으로 100%의 명목상 농도를 보여주지만, A₆₃₀ 측정치는 순수한 NMP 및 DMSO/NMP 공용매에서 3.0 (C3.0)의 pH 메모리의 글루카곤의 30 mg/mL 용액의 증가하는 혼탁도를 보여주었고,

반면에, pH 메모리 2.0의 C2.0 제형은 본질적으로 혼탁도가 없었다.

[0164] 또 다른 예에서, 비양자성 극성 용매 내 글루카곤의 용해도에 대한 pH의 효과를 2 mL 글리신 또는 2 mM 시트레이트 버퍼와 함께 2mg/mL의 H₂O에서 용해된 글루카곤 아세테이트에 대해서 측정하였고 요구된 값으로 pH 조절하였다. 샘플을 동결 건조시켰고 DMSO, NMP, 또는 50/50 DMSO/NMP 공용매에서 다양한 명목상 농도로 재구성시켰다. A₆₃₀, 및 RP-HPLC를 통해 투명도, 혼탁도에 대한 가시적 검사에 의해 용해도를 측정하였다.

[0165] 동결 건조(lyophilization)로부터 "pH 메모리"는 글루카곤 안정성에 대해 주된 효과를 가졌음을 발견되었다. "G2.5" (pH 메모리 2.5) 동결 건조(lyophiles) DMSO, DMSO/NMP, 및 NMP에 대해 30 mg/mL 재구성까지 글루카곤은 용해성이 있었다. "G3.5" (pH 메모리 3.5) 동결 건조에 대한 크게 줄은 용해도가 관찰되었다. G3.5 동결 건조는 모두 혼탁했고(cloudy) 10 mg/mL의 명목상 재구성 농도에서조차도 리커버리는 완전보다 적었다. DMSO 및 DMSO/NMP 공용매는 약 95% 리커버리를 보여주었고 반면에 NMP는 단지 약 60% 리커버리를 보여주었다.

[0166] **실시예 9: DMSO에서의 글루카곤 용해도에 대한 버퍼 종의 효과**

[0167] 아래 버퍼 중 하나에서의 용해를 통해 1.0 mg/mL의 글루카곤 아세테이트를 제조하였다.

[0168] 1. 2 mM L-글리신, pH 3.0 (농축된 HCl로 적정됨)

[0169] 2. 2 mM 시트르산, pH 3.0 (농축된 HCl로 적정됨)

[0170] 이 제형들을 냉동건조시켰고 5 mg/mL 글루카곤의 명목상 농도로 DMSO에서 재구성시켰다. 제형을 5°C, 25°C, 및 40°C의 안정 배양기에 두었다. 가역 상 HPLC 방법으로 글루카곤 순도를 측정하였다.

[0171] 글리신 버퍼 내 제형의 안정성은 다양한 온도에서의 배양 1 달 후 훨씬 더 컸다. 아래 표 3은 40°C에서 여러 번의 소에서의 RP-HPLC 순도를 보여준다.

[0172] 표 3은 DMSO 내 글루카곤의 안정성에 대한 버퍼 종의 효과에 관한 것이다.

표 3

제형	Time=0	1 주	2 주	4 주
글리신, pH 3.0	99.4	99.1	99.0	96.6
시트레이트, pH 3.0	98.6	97.7	97.3	92.7

[0174] **실시예 10: DMSO 내 글루카곤 안정성에 대한 습기의 효과**

[0175] 아래 버퍼 중 하나의 용해를 통해 1.0 mg/mL의 글루카곤 아세테이트를 제조하였다.

[0176] 1. 2 mM L-글리신, pH 3.0 (농축된 HCl로 적정됨)

[0177] 2. 2 mM L-글리신, pH 3.0 (농축된 HCl로 적정됨)

[0178] 이 제형을 냉동건조시켰고 5 mg/mL 글루카곤의 명목상 농도에서 DMSO에서 재구성시켰다. 제 2 제형에 추가 습기를 더했다. Karl Fisher 방법을 사용하여 수분량을 측정하였다. 제 1 제형은 0.13% (w/w)의 수분량을 가졌고, 반면에, 제 2 제형은 0.54% (w/w)의 수분량을 가졌다. 제형을 5°C, 25°C, 및 40°C의 안정한 배양기에 두었다. 가역 상 HPLC 방법으로 글루카곤 순도를 측정하였다.

[0179] 더 낮은 습기를 가진 제형의 안정성은 여러 온도에서의 1달의 배양 후 훨씬 더 컸다. 아래 표 4는 40°C에서 여러 번의 배양에서의 RP-HPLC 순도를 보여준다. 1% 아래의 수분량에서도, 안정성에서의 훨씬 큰 차이는 탐지될 수 있다.

[0180] 표 4는 DMSO에서 글루카곤의 안정성에 대한 잔여 습기의 효과에 관한 것이다.

표 4

제형	Time=0	1 주	2 주	4 주
더 낮은 습기	99.4	99.1	99.0	96.6
추가 습기	99.2	98.9	98.8	95.6

[0182] **실시예 11: DMSO 용액의 어는점 감소**

[0183] PerkinElmer Instruments PYRIS Diamond Differential Scanning Calorimetry ("DSC")을 사용하여, -40°C로 샘플을 냉동시켰고 스크린 목적을 위해 분당 8°C의 속도로 40°C로 가열시켰다.

[0184] **DMSO/NMP 혼합**

[0185] 아래를 포함하는 여러 DMSO 및 NMP 혼합을 시험하였다:

- [0186] 1. 90% DMSO + 10% NMP
- [0187] 2. 80% DMSO + 20% NMP
- [0188] 3. 70% DMSO + 30% NMP
- [0189] 4. 60% DMSO + 40% NMP
- [0190] 5. 50% DMSO + 50% NMP

[0191] 용매의 결정화 온도는 순수한 DMSO에 대해 점진적으로 ~18°C로부터 그리고 50% NMP/50% DMSO 혼합에 대해 -5.7°C로 감소하였음을 DSC 스캔은 보여주었다. 글루카곤 아세테이트의 추가, 글루카곤 농도 5 mg/mL로의 글리신 동결조건은 어는점에 추가 약 1°C 감소의 결과를 제공하였다.

[0192] **DMSO/에틸 아세테이트 혼합**

[0193] 아래를 포함하는 여러 DMSO 및 에틸 아세테이트 혼합을 시험하였다.

- [0194] 1. 80% DMSO + 20% 에틸 아세테이트 ($T_c = 16^\circ\text{C}$)
- [0195] 2. 70% DMSO + 30% 에틸 아세테이트
- [0196] 3. 60% DMSO + 40% 에틸 아세테이트 ($T_c = 6.5^\circ\text{C}$)
- [0197] 4. 50% DMSO + 50% 에틸 아세테이트 ($T_c = 2.9^\circ\text{C}$)
- [0198] 5. 40% DMSO + 60% 에틸 아세테이트 ($T_c =$ 관찰되지 않음)

[0199] 용매의 결정화의 온도가 순수한 DMSO에 대해 약 18°C로부터 50% NMP/50% DMSO 혼합에 대해 2.9°C로 점진적으로 감소됨을 DSC 스캔은 보여주었다. 40% DMSO/60% 에틸 아세테이트 혼합에 대해 어떠한 결정화 피크도 관찰되지 않았다. 추가로, 여러 일 동안 냉장 온도(4°C)에서 이 제형들을 저장하였고 동결의 증거에 대해 가시적으로 관찰하였다. 공용매 내의 30% 에틸 아세테이트 또는 그 초과인 모든 제형은 액체 상태였고 동결하지 않았다. 이는 DSC 연구에서 관찰된 T_c 와 다소 상이하다.

[0200] **알코올 공용매로의 DMSO 용액**

[0201] 아래를 포함하는 알코올 공용매 (에탄올, 글리세롤, or 프로필렌 글리콜)가 더해진 여러 DMSO 용액을 시험하였다.

- [0202] 1. 95% DMSO + 5% 알코올
- [0203] 2. 90% DMSO + 10% 알코올
- [0204] 3. 80% DMSO + 20% 알코올
- [0205] 4. 70% DMSO + 30% 알코올
- [0206] 5. 60% DMSO + 40% 알코올
- [0207] 6. 50% DMSO + 50% 알코올
- [0208] 7. 40% DMSO + 60% 알코올
- [0209] 8. 30% DMSO + 70% 알코올
- [0210] 9. 20% DMSO + 80% 알코올

[0211] 10. 10% DMSO + 90% 알코올

[0212] 여러 일 동안 냉장 온도(4℃)에서 이 제형들을 저장하였고 동결의 증거를 위해 가시적으로 관찰하였다. 20% 알코올 공용매 또는 그 초과를 가진 모든 제형들은 액체 상태였고 동결하지 않았다. DSC 스캔은 20% 알코올 공용매의 어는점이 각각 에탄올, 글리세롤 및 프로필렌 글리콜에 대해 2.3℃, 0.6℃, 및 3.3℃임을 보여주었다.

[0213] **실시예 12: 글루카곤의 동결 용해 안정성**

[0214] 2 mM L-글리신(pH 3.0)에서 용해를 통해 글루카곤 아세테이트를 1.0 mg/mL로 제조하였다(농축된 HCl로의 적정). 이 글루카곤 제형을 동결건조하였고 5mg/mL 글루카곤의 명목상 농도의 DMSO에서 재구성하였다. 용액 샘플을 나뉘고 트레할로스를 하나의 용액에 더해서 5%의 농도로 하였다. 이 제형을 비알로 분획하였고 5℃에서 안정한 배양기에 두었다. 5℃에서, 이 용액은 동결됨이 관찰되었다. 여러 간격으로 이 글루카곤 용액을 용해시켰고 630nm의 흡광도를 사용하여 혼탁도를 결정하였다.

[0215] 아래 표 5는 5℃에서 여러번의 배양에서 글루카곤 용액의 혼탁도를 보여준다. 트레할로스 없는 용액은 배양의 여러 시점에서 혼탁도의 증가를 보여주었다. 그러나 트레할로스를 함유하는 용액은 혼탁도의 증가를 보여주지 않았다. 이 혼탁도 측정은 가시적 관찰을 통해 확인하였다. 트레할로스 없이 배양되고 동결된 샘플은 관찰시 클라우디(cloudy)하거나 헤이지(hazy) 하였다.

[0216] 표 5는 5℃에서 배양 후 글루카곤 용액의 혼탁도에 관한 것이다.

표 5

제형	Time=0	1 주	2 주	4 주
트레할로스 없음	0.024	0.142	0.130	0.160
5% 트레할로스	0.016	0.029	0.028	0.035

[0218] 놀랍게도, 카르보하이드레이트 첨가제, 예컨대 트레할로스의 DMSO 내 펩티드의 용액에서의 사용은 동결 용해 과정 중 펩티드의 안정성을 높인다.

[0219] **실시예 13: 트레할로스로의 증가된 용해 속도**

[0220] 실시예 13을 위해 상기 기재된 바와 같이 2 mM L-글리신(pH 3.0)에서 용해를 통해 1.0 mg/mL의 글루카곤 아세테이트를 제조하였다(농축된 HCl로 적정됨). 5℃에서 저장으로부터 제거 시, 트레할로스를 함유하는 글루카곤 용액의 샘플은 트레할로스 없는 용액보다 훨씬 짧은 시간에 완전해 용해 됨이 관찰되었다. 트레할로스-함유 샘플은 30초 미만에 완전히 용해됨이 관찰되었고, 이는 트레할로스 없는 글루카곤 용액과 비교되며, 이 용액은 일반적으로 수 분에 걸쳐 완전히 용해됨이 관찰되었다. 펩티드 제형을 빠르게 용해하는 능력은 용액이 얼었고 빠르게 주입되어야 하는 경우에, 응급 의학 세팅에 특히 이로울 수 있다.

[0221] **실시예 14: 인슐린 용해도에 대한 pH의 효과**

[0222] 인슐린을 각 pH 2 또는 pH 7인 10 mM 포스페이트/시트레이트-1 mM EDTA 버퍼로 10 mg/mL의 H₂O에서 용해시켰다. 보수적 사이클(conservative cycle)을 사용하여 이 용액을 동결 건조(>1% 잔여 습기)시켰고 DMSO에서 여러 명목상 농도로 재구성하였다. A₆₃₀를 사용하여 투명도 및 혼탁도에 대해 가시적 검사에 의해 용해도를 측정하였다.

[0223] pH 2에서, 인슐린은 적어도 100 mg/mL의 농도에 대해 용해성이 있음이 관찰되었다. 그러나 pH 메모리 7에서, 10 mg/mL인 시험된 가장 낮은 농도에서도, 증가된 빛 산란(A₆₃₀)을 가진 클라우디 또는 헤이즈 용액으로서 인슐린의 열악한 용해도는 관찰되었다. pH 메모리 7로, 일부 더 낮은 농도, 예를 들어, 10 mg/mL, 인슐린 용액은 약 24시간의 기간에 걸쳐 투명한 용액으로 천천히 용해됨이 관찰되었다.

[0224] **실시예 15: 프람린티드 용해도에 대한 pH의 효과**

[0225] 프람린티드 아세테이트를 10 mM 시트레이트 버퍼(pH 4) 또는 10 mM 포스페이트 버퍼(pH 7)로 2 mg/mL H₂O에서 용해시켰다. 이 용액들을 보수적 사이클을 사용하여 동결 건조(>1% 잔여 습기)시켰고 DMSO 내 여러 명목상 농도로 재구성시켰다. A₆₃₀를 통해 투명도 및 혼탁도에 대해 용해도를 가시적 검사에 의해 측정하였다.

[0226] DMSO 내 pH 메모리 7의 프람린티드는 어떠한 농도에서도 용해성이 없었다. 그러나 pH 메모리 4의 프람린티드의

낮은 농도는 DMSO에서 용해성이 있었다.

[0227] **실시예 16: 비양자성 극성 용매 내 펩티드의 공-제형(co-preparation)**

[0228] 비양자성 극성 용매로 재구성 시 최적 용해도/안정성을 제공하는 수성 용액으로부터 개별 화합물의 제형을 별도로 건조하여 공제형의 제조를 하였다. 용액 pH는 펩티드 용해도에 영향을 미치는 특성이므로, 건조된 펩티드는 비양자성 극성 용매 재구성되는 경우에, 비휘발성 버퍼가 사용되는 경우 건조되는 수성 제형의 pH 메모리"로 남아 있을 것이다. 비양자성 극성 용매가 교환가능한 프로톤을 가지지 않기 때문에, 이 개별 펩티드는 최적 pH 메모리의 용해도 및 안정성을 유지할 것이다.

[0229] 현재 프람린티드 및 인슐린 제형은 이들의 버퍼링 시스템에서 충돌하고, 혼합된 제형의 공존가능성을 어렵게 만든다. 대부분의 인슐린 및 인슐린 유사체들은 5-6 범위의 등전점(isoelectric point)을 가지고 따라서 약 pH 7로 제형되거나 더 낮은 약 pH 2로 제형된다. 프람린티드는 >10.5의 등전점을 가지고 최적으로 안정한 약 4 pH에서 제형된다. 상이한 pH 및 상이한 버퍼링 능력에서 프람린티드와 인슐린 제형의 상호작용은 종종 용해성 인슐린 성분의 침전 또는 결정성 인슐린 성분의 용해의 결과를 제공한다. 여러 양의 인슐린은 고정된 양의 프람린티드와 혼합되는 경우에 프람린티드의 인비트로 연구 및 단- 및 장-작용 인슐린 제형은 인슐린 용해도에서의 실질적 가변성을 발견하였다.

[0230] 따라서, 본 발명은 제형을 제공함으로써, 빠른-작용 인슐린 종과 아밀린 유사체가 안정하고 주입을 위한 단일 제형 또는 제형들로부터 동시에 투여될 수 있다. 이 제형은 종래 기술보다 혈액 글루코즈에서 후-프란디얼(post-prandial) 증가에 대한 천연 생리학적 반응을 더욱 친밀하게 흉내낸다.

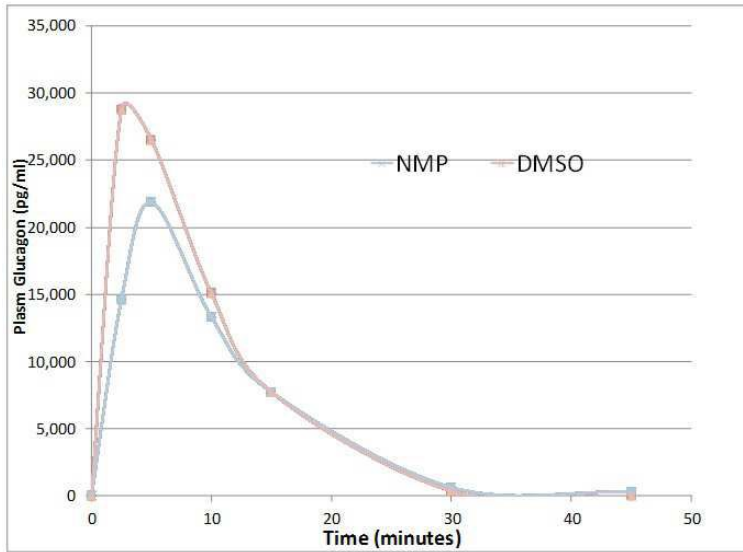
[0231] 공제형될 수 있는 펩티드의 예는 제한됨 없이: (1) 인슐린-아밀린(인슐린, pH 메모리 약 2.0 또는 약 7.0, 및 아밀린 또는 아밀린 유사체(예를 들어, 프람린티드), pH 메모리 약 4.0); 및 (2) 글루카곤-GLP-1(글루카곤, pH 메모리 약 3.0 또는 그 이하, 그리고 글루카곤-유사 펩티드-1(GLP-1) 또는 이의 유사체(예를 들어, 엑세나타이드), pH 메모리 약 4.0-5.0)를 포함한다.

[0232] 인슐린과 프람린티드의 공제형을 다음과 같이 제조하였다: 인슐린 제형(100 mg/mL 인슐린, pH 메모리 2)을 실시예14와 같이 제조하였다. 프람린티드 제형(1 mg/mL 프람린티드, pH 메모리 4)를 실시예15와 같이 제조하였다. 5 μl의 인슐린 제형을 95 ml 프람린티드 용액과 혼합하였다. 그 결과 얻은 용액을 관찰하였고 투명하였으며 따라서 각각 pH 메모리 2 및 4의 인슐린과 프람린티드의 용해성 공제형을 만들었다.

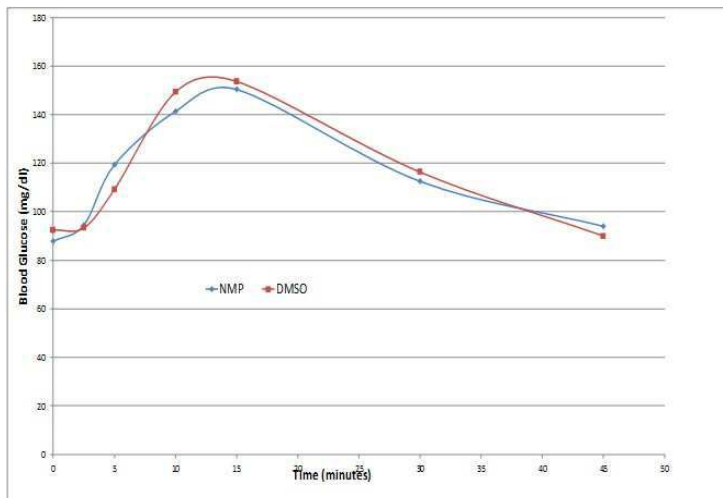
[0233] 상기 상세한 설명은 예시의 목적이므로 제한되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 많은 예들은 상기 상세한 설명을 읽음에 당업자에 명백할 것이다. 그래서 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명의 참조에 의해서가 아니고 아래 청구범위의 참조로 결정되어야 한다. 특허 출원, 특허 및 PCT 공개문을 포함하는 모든 문헌 및 참조의 공개 모든 목적을 위해 참조로서 본원에 통합되어 있다.

도면

도면1



도면2



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 24, 25

【변경전】

제1항 내지 제12항

【변경후】

제1항 내지 제4항, 제6항 내지 제12항

【직권보정 2】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 23

【변경전】

제1항 내지 제13항

【변경후】

제1항 내지 제4항, 제6항 내지 제13항