(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118267455 A
(43)申请公布日 2024.07.02

(21)申请号 202410277209.6

(22)申请日 2019.09.27

(30)优先权数据
18197755.4 2018.09.28 EP

(62)分案原申请数据
201980063594.1 2019.09.27

(71)申请人 西兰制药公司
地址 丹麦

(72)发明人 利塞·吉姆 克拉斯·梅兰德
埃娃·霍恩·默勒

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
专利代理师 张珊珊 吴晓静

(51)Int.Cl.
A61K 38/26(2006.01)
A61K 47/22(2006.01)
A61K 47/20(2006.01)
A61K 47/12(2006.01)
A61K 47/18(2017.01)
A61K 47/26(2006.01)
A61K 9/08(2006.01)
A61P 1/00(2006.01)

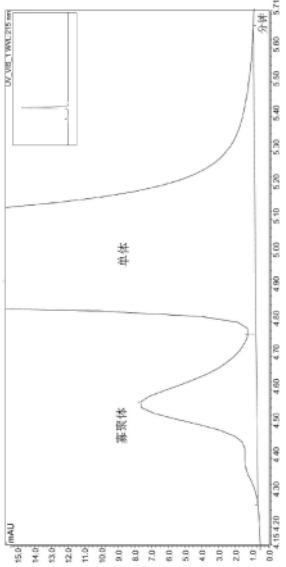
权利要求书5页 说明书39页
序列表（电子公布） 附图9页

(54)发明名称

胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂

(57)摘要

胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂。描述了GLP-2类似物的液体制剂,其使得GLP-2类似物适合于作为液体长期储存和/或使得GLP-2类似物特别适合于通过药物递送装置来递送。还描述了可用于制备液体制剂的包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的乙酸盐的固体组合物。这些液体制剂的开发基于以下发现:来源于GLP-2类似物的制剂中存在的乙酸盐对所述制剂的黏度具有影响:在GLP-2类似物在2至8℃下长期储存期间,共价寡聚体形成的浓度依赖性负相关地依赖于GLP-2类似物浓度的提高;并且制剂中使用的GLP-2类似物与现有技术中针对重构的粉末状或冻干的GLP-2组合物常用的磷酸盐缓冲剂不相容。



CN 118267455 A

1.稳定的液体药物制剂,所述制剂包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

其中:

R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;

X5是Ser或Thr;

X11是Ala或Ser;

R^2是NH_2或OH;以及

Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

其中所述制剂包含:

(a)所述GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

(b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

(c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

(d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

其中所述制剂含有5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的所述GLP-2类似物。

2.根据权利要求1所述的制剂,其中所述制剂中由所述GLP2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物。

3.根据权利要求1或权利要求2所述的制剂,其中所述GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于所述制剂中GLP-2类似物的浓度。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的制剂,其中所述制剂是水性制剂。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的制剂,其中所述制剂当在2至8℃下储存时稳定至少18个月。

6.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述制剂在25℃下测量的黏度为0.8至2.0mPa/秒。

7.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述GLP-2类似物以约2mg/mL、约5mg/mL、约10mg/mL或约20mg/mL的浓度存在于所述制剂中。

8.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述GLP-2类似物以约15mg/mL至约25mg/mL的浓度存在于所述制剂中。

9.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述制剂是即用型制剂。

10.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述GLP-2类似物以约20mg/mL的浓度存在于所述制剂中。

11.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述缓冲剂以约5mM至约25mM的浓度存在于所述制剂中。

12.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述缓冲剂是组氨酸缓冲剂。

13.根据权利要求12所述的制剂,其中所述组氨酸缓冲剂以约15mM的浓度存在于所述

制剂中。

14.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述非离子型张力调节剂以约150mM至约250mM的浓度存在于所述制剂中。

15.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述非离子型张力调节剂是甘露糖醇。

16.根据权利要求15所述的制剂,其中所述甘露糖醇以约230mM的浓度存在于所述制剂中。

17.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述制剂的pH为约6.8至约7.2。

18.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述制剂的pH为约7.0。

19.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述制剂由以下组成:所述GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/ml;缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂和乙酸盐缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油和山梨糖醇,浓度为约90mM至约360mM;精氨酸适量,以提供约6.6至约7.4的pH。

20.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述制剂包含浓度为约20mg/mL的所述GLP-2类似物,浓度为约15mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230mM的甘露糖醇以及提供约7.0的pH的精氨酸适量。

21.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述组氨酸缓冲剂是L-组氨酸。

22.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述甘露糖醇是D-甘露糖醇。

23.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述精氨酸是L-精氨酸/乙酸。

24.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述制剂不含还原剂。

25.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述制剂在2至8℃下稳定至少6个月、至少12个月、至少18个月或至少24个月。

26.根据权利要求25所述的制剂,其中在2至8℃储存18个月之后,所述制剂中的GLP-2类似物保持其生物活性的至少约90%。

27.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其是无菌的。

28.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述制剂通过注射施用于对象。

29.根据权利要求28所述的制剂,其中所述注射是皮下注射。

30.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述GLP-2类似物作为乙酸盐提供。

31.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述GLP-2类似物是ZP1848或ZP1848-乙酸盐。

32.根据前述权利要求中任一项所述的制剂,其中所述制剂由以下组成:浓度为约20mg/mL的ZP1848-乙酸盐,浓度为约15mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230mM的甘露糖醇以及提供约7.0的pH的精氨酸适量。

33.制品或药盒,其包含容纳权利要求1至32中任一项所述的稳定的药物制剂的容器。

34.递送装置,其包含含有权利要求1至32中任一项所述的GLP-2类似物的液体制剂。

35.权利要求34所述的递送装置,其中所述递送装置是预填充注射器、注射器装置、注射笔、可调剂量自动注射器、一次性自动注射器、可穿戴注射器、输注泵。

36.权利要求1至32中任一项所述的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其用于治

疗。

37.权利要求1至32中任一项所述的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其用于用于在人患者中治疗和/或预防胃和肠相关病症的方法。

38.权利要求37所述的用于治疗和/或预防方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述胃和肠相关病症是溃疡、消化障碍、吸收不良综合征、短肠综合征、盲管综合征、炎性肠病、腹型斯泼卢腹泻(例如由麸质诱导的肠病或者乳糜泻引起的)、热带型斯泼卢腹泻、低丙种球蛋白血症型斯泼卢腹泻、肠炎、局限性肠炎(克罗恩病)、溃疡性结肠炎、小肠损伤或短肠综合征(SBS)。

39.权利要求38所述的用于治疗和/或预防方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述胃和肠相关病症是短肠综合征。

40.根据权利要求37所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述胃和肠相关病症是放射性肠炎、感染性或感染后肠炎、或者由于毒剂或其他化学治疗剂引起的小肠损伤。

41.根据权利要求40所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中用所述GLP-2类似物进行的治疗与一种或更多种抗癌治疗组合。

42.根据权利要求41所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述抗癌治疗的治疗包括向所述患者施用一种或更多种化学治疗剂或用放射治疗来治疗所述患者。

43.根据权利要求41或权利要求42所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述制剂用于治疗和/或预防化学治疗或放射治疗的副作用。

44.根据权利要求43所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述化学治疗的副作用是腹泻、腹部痉挛、呕吐或由化学治疗引起的肠上皮的结构和功能损伤。

45.根据权利要求41至44中任一项所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述人患者是患有SBS肠衰竭的患者。

46.根据权利要求41至45中任一项所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述人患者是处于患有SBS肠功能不全与SBS肠衰竭的患者之间的界线上的患者。

47.根据权利要求36至46中任一项所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述方法包括每周一次向所述患者施用所述GLP-2类似物。

48.根据权利要求36至45中任一项所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述方法包括每周两次向所述患者施用所述GLP-2类似物。

49.用于产生包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的稳定的液体药物制剂的方法,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

其中:

R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

X5是Ser或Thr

X11是Ala或Ser

R^2是NH_2或OH;

Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

其中所述方法包括将(a)浓度为约2mg/mL至约30mg/mL的所述GLP-2类似物与以下一起配制:(b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;(c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,所述非离子型张力调节剂以约90mM至约360mM的浓度存在;以及(d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

其中所述制剂含有5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的所述GLP-2类似物。

50.根据权利要求49所述的方法,其中所述GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于所述制剂中所述GLP-2类似物的浓度。

51.根据权利要求49或权利要求50所述的方法,其中(a)包括将所述GLP-2类似物以2mg/mL、5mg/mL、10mg/mL或20mg/mL的浓度配制。

52.根据权利要求49至51中任一项所述的方法,其中所述制剂当在2至8℃下储存时稳定至少18个月。

53.根据权利要求49至52中任一项所述的方法,其中所述制剂中由所述GLP2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物。

54.根据权利要求49至53中任一项所述的方法,其中所述制剂在25℃下测量的黏度为大于0.8且小于或等于2.0mPa/秒。

55.包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的制剂用于提供液体药物制剂的用途,所述液体药物制剂当在2至8℃下储存时稳定24个月,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

其中:

R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

X5是Ser或Thr

X11是Ala或Ser

R^2是NH_2或OH;

Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

其中所述制剂包含:

(a)所述GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

(b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

(c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

(d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

其中所述制剂含有5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的所述GLP-2类似物。

56.根据权利要求55所述的用途,其中所述GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于所述制剂中所述GLP-2类似物的浓度。

57.根据权利要求55或权利要求56所述的用途,其中所述制剂中由所述GLP2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物。

58.根据权利要求55至56中任一项所述的用途,其中所述制剂在25℃下测量的黏度为0.8至2.0mPa/秒。

59.根据权利要求55至58中任一项所述的用途,其中所述制剂包含2mg/mL、5mg/mL、10mg/mL或20mg/mL的浓度的所述GLP-2类似物。

胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂

[0001] 本申请是申请号为201980063594.1、发明名称为“胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂”的中国专利申请的分案申请,该母案申请是2019年9月27日提交的PCT国际专利申请PCT/EP2019/076305进入中国国家阶段的申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及胰高血糖素样肽2(glucagon-like-peptide-2,GLP-2)类似物的制剂及其例如在治疗和/或预防胃和肠相关病症中以及用于改善化学治疗和放射治疗的副作用的医学用途。此外,还描述了可用于制备液体制剂的包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的乙酸盐的固体组合物。

背景技术

[0003] 人GLP-2是具有以下序列的33个氨基酸的肽:

[0004] Hy-His-Ala-Asp-Gly-Ser-Phe-Ser-Asp-Glu-Met-Asn-Thr-Ile-Leu-Asp-Asn-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Asn-Trp-Leu-Ile-Gln-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-OH。

[0005] 其来源于肠的肠内分泌L细胞中和脑干的特定区域中胰高血糖素原的特异性翻译后加工。GLP-2与属于II类胰高血糖素促胰液素家族的单G蛋白偶联受体结合。

[0006] 已经报道了GLP-2通过刺激隐窝中的干细胞增殖以及通过抑制绒毛中的凋亡来诱导小肠黏膜上皮的显著生长(Drucker et al.,1996,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 93:7911-7916)。GLP-2对结肠也具有生长作用。此外,GLP-2抑制胃排空和胃酸分泌(Wojdemann et al.,1999,J.Clin.Endocrinol.Metab.84:2513-2517),增强肠屏障功能(Benjamin et al.,2000,Gut 47:112-119),通过葡萄糖转运蛋白的上调刺激肠己糖转运(Cheeseman,1997,Am.J.Physiol.R1965-71),以及提高肠血流(Guan et al.,2003,Gastroenterology,125:136-147)。

[0007] 在本领域中已经认识到,胰高血糖素样肽-2受体类似物具有用于治疗肠病的治疗潜能。然而,天然的hGLP-2(33个氨基酸的胃肠肽)由于其在人中的半衰期非常短(全长GLP-2为约7分钟[1-33]并且截短的GLP-2为27分钟[3-33]),因此在临床环境中不可用。很大程度上,半衰期短是由于通过酶二肽基肽酶IV(dipeptidylpeptidase IV,DPP-IV)的降解。因此,在本领域中已经尝试开发具有更好的药动学特征的GLP-2受体激动剂,特别地以改善GLP-2分子的半衰期。举例来说,已经提出了具有替换的GLP-2类似物,例如如,在位置2包含Gly替换的GLP-2类似物([hGly2]GLP-2,替度鲁肽(teduglutide)),其将半衰期从7分钟(天然GLP-2)提高至约2小时。还证明用脂肪酸链使肽药物酰化对于延长全身循环以及提高酶稳定性而不破坏生物效力是有益的。然而,尽管这些尝试已经改善了GLP-2类似物的药动学,并且其有时在本领域中被描述为“长效的(long acting)”,但必须记住,这与天然hGLP-2相比,半衰期为约数小时而不是数分钟。反过来,这意味着仍需要每天一次或更多次地向患者施用GLP-2类似物。

[0008] US 5,789,379公开了用于通过注射施用的GLP-2类似物。所述类似物作为粉末状

肽提供,并且在注射之前以130mg/ml的GLP-2浓度在pH 7.3至7.4下与磷酸缓冲盐水(PBS)混合。在一些情况下,将GLP-2/PBS组合物与明胶混合以提供由在PBS/15%明胶中的130mg/l GLP-2的溶液形成的贮库(depot)。US 5,789,379没有公开GLP-2类似物的稳定的水性液体制剂,并且GLP-2类似物通常在注射之前由粉末重构。

[0009] 在WO 97/39031和US 6,184,201中,公开了GLP-2类似物[Gly^2]GLP-2。在此,位置2的丙氨酸已被甘氨酸替代,以使得该肽对DPP IV切割具有抗性。与US 5,789,379一样,GLP-2类似物作为粉末状肽提供,并在注射之前与盐水、PBS或5%右旋糖混合,任选地,添加乙酸作为溶解度增强剂。

[0010] WO 02/066511描述了在体内具有延长的半衰期的GLP-2类似物及其作为药物在治疗胃肠病症,例如炎性肠病中的用途。GLP-2类似物以冻干形式储存,并重构以在介质中施用,例如使用盐水或PBS。

[0011] WO 01/41779描述了h[Gly^2]GLP-2作为用于抑制化学治疗诱导的凋亡和促进细胞存活的预处理的用途。h[Gly^2]GLP-2在于PBS中重构类似物之后,通过皮下或静脉内注射或输注来递送。

[0012] WO 2001/049314涉及GLP-2肽及其类似物的制剂,其在储存和/或暴露于升高的温度之后表现出优异的稳定性。GLP-2组合物包含GLP-2肽或其类似物、磷酸盐缓冲剂、L-组氨酸和甘露糖醇。

[0013] WO 2006/117565描述了GLP-2类似物,其与[hGly^2]GLP-2相比包含多个替换之一,并且其提高了体内生物活性和/或提高了化学稳定性,例如如在体外稳定性测定中所评估的。特别地,描述了GLP-2类似物,其在野生型GLP-2序列的位置8、16、24和/或28中的一处或更多处具有替换,任选地与在位置3、5、7、10和11中的一处或更多处以及位置2处的另外的替换和/或氨基酸31至33中的一个或更多个的缺失组合。这些替换也可与N端或C端稳定肽序列的添加组合。还描述了每天或每天两次施用这些GLP-2类似物。在WO 2006/117565中公开的分子中,glepaglutide(ZP1848)已经被设计成在液体制剂中是稳定的,并且通常使用注射笔通过每天给药来施用。

[0014] 改善GLP-2类似物的制剂,特别是提供能够长期储存而不会发生肽的活性单体形式的过度水平的物理或化学降解的稳定液体制剂,仍然是该领域中的问题。在肽药物的液体制剂中,可引起的化学途径包括形成肽的共价连接的二聚体和寡聚体,通过形成这些共价连接的高分子量寡聚体产物来降低肽的活性单体形式的量。质量作用定律意味着通常情况下,制剂中肽药物的浓度越高,形成共价键合的寡聚体产物的可能性就越高。

[0015] 提供如下制剂也是GLP-2类似物制剂领域中的目标:其中将制剂的黏度控制在使得其适合于用于递送装置(例如预填充注射器、输注泵、可穿戴(wearable)注射器或自动注射器)的范围内。

发明概述

[0017] 广义地讲,本发明基于实施例中报道的得到与GLP-2类似物的液体制剂有关的一些出人意料发现的研究,所述液体制剂使得所述GLP-2类似物适合于作为液体长期储存和/或使得所述GLP-2类似物特别适合于通过药物递送装置来递送。

[0018] 在第一研究中,本发明人发现存在于制剂中的来源于GLP-2类似物的乙酸盐对制

剂的黏度具有作用。这开发了通过改变和/或控制乙酸盐浓度来控制制剂黏度的可能性。低范围黏度的液体制剂可用于临床,因为其通过潜在地降低药物产品制造和/或患者使用期间的破损、给药失败、给药不精确和其他故障而在药物递送装置的开发和制造中提供了优势。此外,低黏度可允许较快的注射和/或使用较窄孔(即,更高规格)的针,这继而可降低注射不适。这开发了以药物递送装置(例如预填充注射器、可调剂量自动注射器、一次性自动注射器、可穿戴注射器或输注泵)的形式提供GLP-2类似物制剂的可能性,从而以更简单、更安全以及更患者友好的装置为患者提供即用型(ready-to-use)制剂。将制剂控制为更高的黏度可适用于其他药物递送装置。

[0019] 在第二研究中,本发明人发现在ZP1848(glepaglutide)于2至8℃下长期储存期间,共价结合的寡聚体的形成是浓度依赖性的。然而,与质量作用定律暗示共价寡聚体形成随肽药物浓度的提高而提高的通常情况相反,本发明人发现寡聚体形成的浓度依赖性负相关地依赖于GLP-2类似物浓度的提高。不希望受任何特定理论的束缚,本发明人认为,随着GLP-2类似物浓度的提高,共价连接的寡聚体的形成降低是GLP-2类似物的赖氨酸尾促进天然肽的自缔合结构装配体形成(这阻碍了制剂中共价结合的寡聚体的形成)的结果。这意味着弱自缔合物质在施用到患者中之后能够解离以释放生物活性单体,而不是导致活性物质损失,如当形成共价结合的寡聚体时发生的那样。

[0020] 在第三研究中,本发明人发现本发明制剂中使用的GLP-2类似物与现有技术中针对重构的粉末状或冻干的GLP-2组合物的常用的磷酸盐缓冲剂不相容。该研究发现,仅一些缓冲剂与配制这些GLP-2类似物相容,使得其适合于以液体形式长期储存。

[0021] 因此,在第一方面中,本发明提供了稳定的液体药物制剂,所述制剂包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0022] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0023] 其中:

[0024] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;

[0025] X5是Ser或Thr;

[0026] X11是Ala或Ser;

[0027] R^2是NH_2或OH;以及

[0028] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0029] 其中所述制剂包含:

[0030] (a)GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

[0031] (b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

[0032] (c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

[0033] (d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂。

[0034] 在一些实施方案中,所述制剂包含5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的GLP-2类似物。作为替代或补充,制剂中由GLP-2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等

于11％乙酸盐/mg GLP-2类似物。作为替代或补充,GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于制剂中GLP-2类似物的浓度。

[0035] 所述制剂的组分及其量为制剂提供了在2至8℃下储存至少18个月时至少90％含量的GLP-2类似物和少于10％的化学降解产物。

[0036] 在另一方面中,本发明提供了制品或药盒,其包含容纳本发明的稳定的药物制剂的容器。

[0037] 在另一方面中,本发明提供了包含含有本发明GLP-2类似物的液体制剂的递送装置。

[0038] 在另一方面中,本发明提供了本发明胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其用于治疗。

[0039] 在另一方面中,本发明提供了本发明胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其用于用于在人患者中治疗和/或预防胃和肠相关病症的方法。

[0040] 在另一方面中,本发明提供了用于产生包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的稳定的液体药物制剂的方法,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0041] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0042] 其中:

[0043] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0044] X5是Ser或Thr

[0045] X11是Ala或Ser

[0046] R^2是NH_2或OH;

[0047] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0048] 其中所述方法包括将(a)浓度为约2mg/mL至约30mg/mL的GLP-2类似物与以下一起配制:(b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;(c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,所述非离子型张力调节剂以约90mM至约360mM的浓度存在;以及(d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0049] 其中所述制剂包含5％或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的GLP-2类似物。

[0050] 在另一方面中,本发明提供了包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的制剂用于提供液体药物制剂的用途,所述液体药物制剂当在2至8℃下储存时稳定24个月,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0051] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0052] 其中:

[0053] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0054] X5是Ser或Thr

[0055] X11是Ala或Ser

[0056] R^2是NH_2或OH;

[0057] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0058] 其中所述制剂包含:

[0059] (a)GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

[0060] (b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

[0061] (c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

[0062] (d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂。

[0063] 在另一方面中,本发明提供了用于调节包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的稳定的液体药物制剂的黏度的方法,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0064] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0065] 其中:

[0066] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0067] X5是Ser或Thr

[0068] X11是Ala或Ser

[0069] R^2是NH_2或OH;

[0070] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0071] 其中所述方法包括将(a)浓度为约2mg/mL至约30mg/mL的GLP-2类似物与以下一起配制:(b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂或MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;(c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,所述非离子型张力调节剂以约90mM至约360mM的浓度存在;以及(d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0072] 其中制剂中由GLP2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物,并且其中所述制剂在25℃下测量的黏度为大于0.8且小于或等于2.0mPa/秒。

[0073] 在另一方面中,本发明提供了用于在稳定的液体药物制剂中降低胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的共价键合的寡聚体产物形成的方法,所述液体药物制剂包含由下式表示的GLP-2类似物或其可药用盐或衍生物:

[0074] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0075] 其中:

[0076] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0077] X5是Ser或Thr

[0078] X11是Ala或Ser

[0079] R^2是NH_2或OH;

[0080] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0081] 其中所述方法包括将(a)浓度为约2mg/mL至约30mg/mL的GLP-2类似物与以下一起配制:(b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂或MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;(c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,所述非离子型张力调节剂以约90mM至约360mM的浓度存在;以及(d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0082] 其中所述制剂包含5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的GLP-2类似物。在一些情况下,在本发明的该方面中,GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于制剂中GLP-2类似物的浓度。

[0083] 在另一方面中,本发明提供了制剂用于在液体药物制剂中降低胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的共价键合的寡聚体产物形成的用途,所述液体药物制剂当在2至8℃下储存时稳定24个月,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0084] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0085] 其中:

[0086] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0087] X5是Ser或Thr

[0088] X11是Ala或Ser

[0089] R^2是NH_2或OH;

[0090] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0091] 其中所述制剂包含:

[0092] (a)GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

[0093] (b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

[0094] (c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

[0095] (d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0096] 其中所述制剂包含5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的GLP-2类似物。在一些情况下,在本发明的该方面中,GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于制剂中GLP-2类似物的浓度。

[0097] 在另一方面中,本发明提供了制剂用于在包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的液体药物制剂中调节液体药物制剂的黏度的用途,所述液体药物制剂当在2至8℃下储存时稳定24个月,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0098] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0099] 其中:

[0100] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0101] X5是Ser或Thr

[0102] X11是Ala或Ser

[0103] R^2是NH_2或OH;

[0104] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0105] 其中所述制剂包含:

[0106] (a)GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

[0107] (b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

[0108] (c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

[0109] (d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0110] 其中制剂中由GLP2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物,并且所述制剂在25℃下测量的黏度为0.8至2.0mPa/秒。

[0111] 在另一方面中,本发明提供了包含具有下式的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的乙酸盐的固体组合物:

[0112] (H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH2),x(CH_3COOH),其中x为1.0至8.0。

[0113] 在另一方面中,本发明提供了稳定的水性药物制剂,所述制剂包含:

[0114] (a)本发明的固体组合物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

[0115] (b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

[0116] (c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

[0117] (d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0118] 其中所述制剂包含5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的GLP-2类似物,并且其中所述制剂在25℃下测量的黏度为0.8至2.0mPa/秒。

[0119] 在本文中所述的本发明的所有方面中,缓冲剂可选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂和乙酸盐缓冲剂。

[0120] 在本文中所述的本发明的所有方面中,非离子型张力调节剂可选自甘露糖醇、蔗糖、甘油和山梨糖醇。

[0121] 在一些实施方案中,所述制剂包含5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的GLP-2类似物。作为替代或补充,制剂中由GLP-2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物。作为替代或补充,GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于制剂中GLP-2类似物的浓度。

[0122] 在另一方面中,本发明涉及稳定的液体药物制剂,所述制剂包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0123] R^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0124] 其中：

[0125] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基；

[0126] X5是Ser或Thr；

[0127] X11是Ala或Ser；

[0128] R^2是NH_2或OH；以及

[0129] Z^2是具有6个Lys氨基酸单元的肽序列；

[0130] 所述制剂包含如本文中列出的本发明的任一个方面中列出的组分。

[0131] 在本发明的该方面中，包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其盐的制剂可用于治疗和/或预防胃和肠相关病症，例如溃疡、消化障碍、吸收不良综合征、短肠综合征(short-gut syndrome)、盲管综合征(cul-de-sac syndrome)、炎性肠病、腹型斯泼卢腹泻(celiac sprue)(例如由麸质诱导的肠病或者乳糜泻(celiac disease)引起的)、热带型斯泼卢腹泻(tropicalsprue)、低丙种球蛋白血症型斯泼卢腹泻(hypogammaglobulinemic sprue)、肠炎、局限性肠炎(克罗恩病(Crohn's disease))、溃疡性结肠炎、小肠损伤或短肠综合征(short bowel syndrome,SBS)。作为替代或补充，胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物可用于治疗和/或预防胃和肠相关病症，例如放射性肠炎、感染性或感染后肠炎、或者由于毒剂或其他化学治疗剂引起的小肠损伤。在该情况下，用GLP-2类似物进行的治疗可任选地与一种或更多种抗癌治疗组合，并因此可包括向患者施用一种或更多种化学治疗剂或用放射治疗来治疗患者。

[0132] 在本发明的一些实施方案中，在上式中，X5是Thr和/或X11是Ala。这些胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的一些实例包括：

[0133] ZP1848 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH_2(SEQ ID NO:1)

[0134] ZP2949 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKK-OH(SEQ ID NO:2)；

[0135] ZP2711 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKK-OH(SEQ ID NO:3)；

[0136] ZP2469 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDK-OH(SEQ ID NO:4)；

[0137] ZP1857 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITD-NH_2(SEQ ID NO:5)；或

[0138] ZP2530 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITD-OH(SEQ ID NO:6)。

[0139] 在本发明的一些实施方案中，在上式中，X5是Ser和/或X11是Ser。这些胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的一些实例包括：

[0140] ZP1846 H-HGEGSFSSELSTILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH_2(SEQ ID NO:7)；

[0141] ZP1855 H-HGEGSFSSELSTILDALAARDFIAWLIATKITD-NH_2(SEQ ID NO:8)；或

[0142] ZP2242 H-HGEGSFSSELSTILDALAARDFIAWLIATKITDK-OH(SEQ ID NO:9)。

[0143] 现在将参考附图通过实例而非限的方式描述本发明的一些实施方案。然而，鉴于本公开内容，本发明的多个其他方面和实施方案对于本领域技术人员而言将是明显的。

[0144] 在本文中使用的“和/或”被认为是对两种特定特征或组分中的每一种在有或没有另一种的情况下的特定公开。例如“A和/或B”被认为是对(i)A、(ii)B、以及(iii)A和B中的每一种的特定公开内容，就如同每一个在本文中单独地列出一样。

[0145] 除非上下文中另外指示，否则对上文列出特征的描述和限定不限于本发明的任何具体方面或实施方案，并且同等地适用于所描述的所有方面和实施方案。

附图简述

[0147] 图1示出了显示寡聚体与ZP1848肽的分离的典型色谱图。

[0148] 图2示出了在制剂制造之后,黏度(方形)和流体力学半径(z平均值)(圆圈)如何作为乙酸盐浓度的函数而变化。数据表明,高于11%乙酸盐,黏度和流体力学半径(z平均值)开始提高。

[0149] 图3示出了使用不同缓冲剂在40℃下持续0至3周的在20mg/mL下的稳定性评价(相对于开始时的100%归一化)。

[0150] 图4示出了使用不同缓冲剂在40℃下持续0至3周的在2mg/m下的稳定性(相对于开始时的100%归一化)。

[0151] 图5示出了使用不同张力剂在40℃下持续0至3周的在20mg/mL下的稳定性评价(相对于开始时的100%归一化)。

[0152] 图6示出了使用不同张力剂在40℃下持续0至3周的在2mg/mL下的稳定性评价(相对于开始时的100%归一化)。

[0153] 图7示出了使用不同浓度的ZP1848乙酸盐、不同盐形式、不同张力剂和不同缓冲剂的制剂1至5的纯度。

[0154] 图8示出了与不同防腐剂组合的肽在25℃下13周的稳定性。

[0155] 图9示出了在25℃(加速条件)下所研究制剂的HPLC纯度。

发明详述

[0157] 定义

[0158] 除非另外说明,否则为在上文书面描述中使用的具体术语提供以下定义。

[0159] 在说明书和权利要求书通篇,使用了用于天然氨基酸的常规单字母和三字母代码。本发明的肽中的所有氨基酸残基优选是L-构型的,但是,也可存在D-构型氨基酸。

[0160] 本发明的优选化合物具有至少一种GLP-2生物活性,特别是在导致肠生长方面。这可在体内测定中评估,例如如在(例如)WO 2006/117565的实施例中所述,其中在已对受试动物进行处理或者使其暴露于GLP-2类似物之后确定肠或其部分的质量。

[0161] 在本发明的一些方面中,包含GLP-2类似物的液体制剂在制剂中的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物,并且更优选小于或等于10%乙酸盐/mg GLP-2类似物,更优选小于或等于9%乙酸盐/mg GLP-2类似物,更优选小于或等于8%乙酸盐/mg GLP-2类似物,更优选小于或等于7%乙酸盐/mg GLP-2类似物,更优选小于或等于6%乙酸盐/mg GLP-2类似物,更优选小于或等于5%乙酸盐/mg GLP-2类似物,更优选小于或等于4%乙酸盐/mg GLP-2类似物,更优选小于或等于3%乙酸盐/mg GLP-2类似物,并且更优选小于或等于2%乙酸盐/mg GLP-2类似物。冻干药物物质中的乙酸盐浓度可通过调节在最终色谱步骤期间使用的流动相中的乙酸的浓度来控制。这将产生乙酸盐含量低于11%的药物物质。因此,例如,对于具有20mg/mL的GLP-2类似物的制剂,总乙酸盐浓度将小于或等于37mM。作为参考,10%总乙酸盐浓度等于34mM,9%等于30mM,8%等于27mM,7%等于24mM以及6%等于20nM。总乙酸盐浓度可使用本领域中已知的方法(例如HPLC)来确定。

[0162] 在下面的实施例中,表明了本发明液体制剂的黏度依赖于总乙酸盐浓度。优选地,所述制剂在25℃下测量的黏度为0.8至2.0mPa/秒。方便地,黏度可通过使用microVISCTM测

量。并行地,流体力学半径可使用动态光散射DLS板阅读器(Wyatt DynaPro II)测量。制备具有包含6%乙酸盐的GLP-2类似物的药物物质(drug substance,DS)的样品,以及模拟具有7.8至15%乙酸盐的DS,然后添加乙酸盐。来自制造乙酸盐浓度从6.7至15%变化的制剂的数据示于下图2中。控制总乙酸盐浓度的作用是可调节本发明制剂的可注射性,例如通过降低总乙酸盐浓度以提供可更容易地注射的较不黏稠的制剂。

[0163] 根据本发明的液体制剂优选是等渗液体制剂。“等渗”意指本发明制剂与体液具有相同或相似的渗透压。优选地,本发明制剂的渗量浓度为如通过渗透计测量的约300±60mOsm。

[0164] 作为补充或替代,本发明表明GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于制剂中GLP-2类似物的浓度。如实施例中所示,该共价键合的寡聚体的量可使用尺寸排阻色谱法并分别确定单体GLP-2类似物和寡聚体的峰下面积来确定。这可使用给出线性梯度的Dionex Ultimate3000 HPLC系统来进行,以0.5mL/分钟的流量用于分析。流动相由45%乙腈和55% Milli-Q水中的0.1% TFA组成。使用215nm的波长进行检测。这意味着本发明制剂通常包含浓度为约2mg/mL至约30mg/mL,更优选浓度为约15mg/mL至约25mg/mL,并且最优选浓度为约20mg/mL的GLP-2类似物。在另一些实施方案中,本发明通常包含浓度为约2mg/mL、5mg/mL、10mg/mL或20mg/mL的GLP-2类似物。在本发明的一些方面中,优选地,选择GLP-2类似物的浓度,使得制剂包含10%或更少,更优选5%或更少,更优选4%或更少,更优选3%或更少,并且更优选2%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的GLP-2类似物,优选地在18个月储存之后。作为举例说明,共价键合的寡聚体产物的量可以在2%至5%范围内,更优选在2%至4%范围内,并且最优选在2%至3%范围内。

[0165] 在一些情况下,本发明制剂可以以每天一次或两次的剂量方案使用。在一些情况下,本发明制剂可以以每周一次或两次的剂量方案使用。作为替代或补充,本发明GLP-2类似物的给药方案可包含在时间上相隔2天、2.5天、3天、3.5天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天或12天的数个剂量或疗程的剂量。在一个优选实施方案中,剂量在时间上相隔3天、3.5天、4天、5天、6天、7天或8天。在一个优选实施方案中,剂量在时间上相隔3天、3.5天、4天或7天。如在本领域中将被理解的,在剂量之间的时间可能在某种程度上有所不同使得各个和每个剂量不是相隔精确相同的时间。这通常将在医师的判断下进行指导。因此,剂量可在时间上相隔临床上可接受的时间范围,例如从约2天至约10天、或从约3或4天至约7或8天。

[0166] 本发明制剂是GLP-2类似物的稳定的液体药物制剂。“稳定的”制剂是这样的制剂:在所述制剂中在其中的肽在储存之后基本上保持其物理稳定性和/或化学稳定性和/或生物活性。优选地,制剂在储存之后基本上保持其物理和化学稳定性以及其生物活性。通常基于制剂的预期保质期来选择储存期。本发明制剂作为稳定的液体制剂,例如稳定的水性液体制剂提供。用于测量蛋白质稳定性的多种分析技术在本领域中是可用的,并且综述于例如Peptide and Protein Drug Delivery,247-301,Vincent Lee Ed.,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,Pubs.(1991)和Jones,A.Adv.Drug Delivery Rev.10:29-90(1993)中。在本发明中,“稳定的”制剂包括这样的制剂:其中在制剂已在2至8℃下储存至少18个月之后,制剂中至少80%,更优选至少90%,更优选至少95%,更优选至少96%,更优选至少97%,更优选至少98%,并且最优选至少99%的GLP-2类似物具有活性。

[0167] 稳定性可以在所选的温度下持续所选的时间来测量,例如使用升高的温度来降低测试制剂所跨越的时间。通常,在2至8℃温度下储存表示在正常冷藏条件下储存。在某些实施方案中,制剂在这样的条件下稳定至少12个月,更优选至少18个月,更优选至少24个月。稳定性可以以多种不同的方式定性和/或定量地评价,所述方式包括评价聚集体形成(例如,使用尺寸排阻色谱法,通过测量浊度和/或通过目视检查);通过使用阳离子交换色谱法、图像毛细管等电聚焦(image capillary isoelectric focusing,icIEF)或毛细管区带电泳评估电荷不均一性;氨基端或羧基端序列分析;质谱分析;SDS-PAGE分析以比较还原抗体和完整抗体;肽图(例如胰蛋白酶的或LYS-C)分析;评价抗体的生物活性或抗原结合功能;等。不稳定性可涉及以下中的任一种或更多种:聚集、脱酰胺化(例如Asn脱酰胺化)、氧化(例如Met氧化)、异构化(例如Asp异构化)、裁剪(clipping)/水解/片段化(例如铰链区片段化)、琥珀酰亚胺形成、未配对的半胱氨酸、N端延伸、C端加工、糖基化差异等。

[0168] 如果肽在例如目视检查颜色和/或澄清度时,或者如通过UV光散射、动态光散射、圆二色性或通过尺寸排阻色谱测量法时,未显示出聚集、沉淀和/或变性的迹象(或极少的迹象),则该肽在药物制剂中“保持其物理稳定性”,并且被认为仍然保持其生物活性。

[0169] 如果在给定的时间处化学稳定性使得肽被认为仍然保持其生物活性,则该肽在药物制剂中“保持其化学稳定性”,如下文所定义。化学稳定性可通过检测和定量肽的化学改变形式来评估。化学改变可涉及异构化、氧化、尺寸改变(例如裁剪),其可使用例如HPLC或尺寸排阻色谱法、SDS-PAGE和/或质谱法进行评价。化学改变的其他类型包括电荷改变n(例如由于脱酰胺化而发生),其可例如通过HPLC或离子交换色谱法或icIEF来评价。

[0170] GLP-2类似物

[0171] 与天然GLP-2相比并且如上所限定的,本发明制剂中存在的GLP-2类似物具有一个或更多个氨基酸替换、缺失、倒位或添加。该定义还包括同义术语GLP-2模拟物和/或GLP-2激动剂。此外,本发明的类似物可另外地具有其氨基酸侧基、α-碳原子、末端氨基基团或末端羧酸基团中的一个或更多个的化学修饰。化学修饰包括但不限于:添加化学部分、产生新键和去除化学部分。氨基酸侧基处的修饰包括但不限于:赖氨酸ε-氨基基团的酰化,精氨酸、组氨酸或赖氨酸的N-烷基化,谷氨酸或天冬氨酸羧酸基团的烷基化,以及谷氨酰胺或天冬酰胺的脱酰胺化。末端氨基的修饰包括但不限于:脱氨基、N-低级烷基、N-二-低级烷基和N-酰基修饰。末端羧基基团的修饰包括但不限于:酰胺、低级烷基酰胺、二烷基酰胺和低级烷基酯修饰。本文中优选的低级烷基为C_1-C_4烷基。此外,一个或更多个侧基或端基可被普通技术的肽化学家已知的保护基保护。氨基酸的α-碳可被单甲基化或二甲基化。

[0172] 在一些方面中,本发明的液体制剂使用由下式表示的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物:

[0173] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0174] 其中:

[0175] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;

[0176] X5是Ser或Thr;

[0177] X11是Ala或Ser;

[0178] R^2是NH_2或OH;以及

[0179] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列。

[0180] 在本发明的一些实施方案中,在上式中,X5是Thr和/或X11是Ala。这些胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的一些实例包括:

[0181] ZP1848 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH_2(SEQ ID NO:1)

[0182] ZP2949 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKK-OH(SEQ ID NO:2);

[0183] ZP2711 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKK-OH(SEQ ID NO:3);

[0184] ZP2469 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDK-OH(SEQ ID NO:4);

[0185] ZP1857 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITD-NH_2(SEQ ID NO:5);或

[0186] ZP2530 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITD-OH(SEQ ID NO:6).

[0187] 在本发明的一个实施方案中,胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物是

[0188] ZP1848 H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH_2(SEQ ID NO:1).

[0189] 在本发明的一些实施方案中,在上式中,X5是Ser和/或X11是Ser。这些胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的一些实例包括:

[0190] ZP1846 H-HGEGSFSSELSTILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH_2(SEQ ID NO:7);

[0191] ZP1855 H-HGEGSFSSELSTILDALAARDFIAWLIATKITD-NH_2(SEQ ID NO:8);或

[0192] ZP2242 H-HGEGSFSSELSTILDALAARDFIAWLIATKITDK-OH(SEQ ID NO:9).

[0193] 在本发明的一个实施方案中,胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物是

[0194] ZP1846 H-HGEGSFSSELSTILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH_2(SEQ ID NO:7).

[0195] 应当理解,本发明的肽(药物物质)也可以以盐或其他衍生物的形式提供。盐包括可药用盐,例如酸加成盐和碱式盐。酸加成盐的一些实例包括盐酸盐、柠檬酸盐、氯化物盐和乙酸盐。优选地,盐是乙酸盐。一般而言,优选地盐不是氯化物盐。碱式盐的一些实例包含其中阳离子是选自以下的盐:碱金属(例如钠和钾);碱土金属(例如钙);和铵离子$^+N(R^3)_3(R^4)$,其中R^3和R^4独立地表示任选经取代的C_{1-6}烷基、任选经取代的C_{2-6}烯基、任选经取代的芳基或任选经取代的杂芳基。可药用盐的另一些实例描述于“Remington's Pharmaceutical Sciences”,第17版.Ed.Alfonso R.Gennaro(Ed.),Mark Publishing Company,Easton,PA,U.S.A.,1985及最近版本,以及Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology中。

[0196] 在一些优选实施方案中,本发明的GLP-2类似物的乙酸盐选自ZP1848-乙酸盐、ZP2949-乙酸盐、ZP2711-乙酸盐、ZP2469-乙酸盐、ZP1857-乙酸盐、ZP2530-乙酸盐、ZP1846-乙酸盐、ZP1855-乙酸盐和ZP2242-乙酸盐。在本发明上下文中,术语“ZP1848-乙酸盐”是指ZP1848分子为乙酸盐的形式。GLP-2类似物的乙酸盐可由式(GLP-2类似物),x(CH_3COOH)表示,其中x为1.0至8.0,即其中x为1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0或8.0。在GLP-2类似物的乙酸盐的任意组合物中,可存在具有不同数目的乙酸盐分子的分子,使得x不一定是整数。在一些情况下,x为4.0至8.0,x为6.0至8.0或者x为4.0至6.5。在一些情况下,x为4.0至6.0,x为2.0至7.0,x为3.0至6.0,x为4.0至6.0或者x为4.0至8.0。

[0197] 在一个优选实施方案中,GLP-2类似物是ZP1848-乙酸盐或H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH_2乙酸盐(SEQ ID NO:1)或(H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH_2),x(CH_3COOH),其中x为1.0至8.0。

[0198] 因此,在另一方面中,本发明提供了包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的乙酸

盐的固体组合物。固体组合物可用于与用于制备本发明液体制剂的赋形剂一起配制。在一个实施方案中,本发明提供了包含具有下式的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的乙酸盐的固体组合物:

[0199] (H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH2),x(CH_3COOH),其中x为1.0至8.0。

[0200] 8.0个乙酸盐分子/GLP-2类似物的上限等于小于11%乙酸盐的乙酸盐含量,并且可被配制成在25℃下测量的黏度为0.8至2.0mPa/秒。

[0201] 与GLP-2类似物的每个分子缔合的乙酸盐分子的数目的范围限定了该制剂组分的分子量范围。例如,对于ZP1848的乙酸盐,与GLP-2类似物的每个分子缔合的乙酸盐分子的数目的范围限定了ZP1848-乙酸盐的分子量范围。举例来说,ZP1848每个分子的1个乙酸盐当量提供了分子量=4316+60=4376Da。因此,对于ZP1848的提高的乙酸盐当量,分子量为如下:1个乙酸盐当量=4376Da;2个乙酸盐当量=4436Da;3个乙酸盐当量=4496Da;4个乙酸盐当量=4556Da;5个乙酸盐当量=4616Da;6个乙酸盐当量=4676Da;7个乙酸盐当量=4736Da并且8个乙酸盐当量=4796Da。这继而限定了如下的分子量范围:1至8个乙酸盐当量=4376Da至4796Da;4至8个乙酸盐当量=4556Da至4796Da并且6至8个乙酸盐当量=4676Da至4796Da。

[0202] 本发明的GLP-2类似物的另一些衍生物包括具有金属离子(例如Mn^{2+}和Zn^{2+})的配位络合物、酯(例如体内可水解酯)、游离酸或碱、水合物、前药或脂质。使用本领域中公知的技术,可在化合物中存在的羟基或羧酸基团与合适的羧酸或醇反应伙伴(reaction partner)之间形成酯。作为化合物的前药的衍生物可在体内或体外转化为母体化合物之一。通常来说,化合物的至少一种生物活性将在化合物的前药形式中降低,并且可通过前药的转化以释放化合物或其代谢物而活化。前药的一些实例包括使用保护基,所述保护基可在原位被去除而释放活性化合物或用于抑制体内药物的清除。

[0203] Z^1和Z^2独立地存在和/或不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元(即1、2、3、4、5或6个Lys残基)的肽序列。Lys残基可具有D-构型或L-构型,但具有一个L-构型。特别优选的序列Z为具有4、5或6个连续的赖氨酸残基,并且特别是6个连续的赖氨酸残基的序列。示例性序列Z示于WO 01/04156中。在某些实施方案中,Z^1不存在。在这样的情况下,Z^2可存在或不存在。

[0204] GLP-2类似物的制剂

[0205] GLP-2类似物的制剂是即用型制剂。本文中使用的术语"即用型"是指在通过指定的施用途径使用之前,不需要用规定量的稀释剂(例如注射用水或其他合适的稀释剂)进行构造或稀释的制剂。

[0206] 如本文中所述,本发明的GLP-2类似物的液体制剂包含缓冲剂、非离子型张力调节剂和提供最终制剂的pH的精氨酸适量。根据常规药学实践,本发明制剂是无菌的和/或不含还原剂。在一些情况下,本发明的液体制剂是水性液体制剂。在一些情况下,本发明的液体制剂是非水性液体制剂。

[0207] 本文中使用的术语"缓冲剂"表示使药物制剂的pH稳定的可药用赋形剂。合适的缓冲剂是本领域中公知的,并且可见于文献中。实施例中的筛选实验表明,本发明制剂优选地包含选自以下的缓冲剂:组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖

氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,因为这些缓冲剂提供了其中GLP-2类似物溶解且不变得黏性、浑浊或使肽药物沉淀的稳定制剂。在一些优选实施方案中,缓冲剂是组氨酸缓冲剂,例如L-组氨酸。通常,缓冲剂将以约5mM至约50mM的浓度,更优选以约5mM至约25mM的浓度,并且最优选以约15mM的浓度存在。基于本申请中的实验,优选地,缓冲剂不是磷酸盐缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂、柠檬酸盐/Tris缓冲剂和/或琥珀酸盐缓冲剂。

[0208] 本文中使用的术语"张力调节剂"表示用于调节制剂的张力的可药用张力剂。本发明制剂优选地是等渗的,即其具有与人血清基本上相同的渗透压。制剂中使用的张力调节剂优选地为非离子型张力调节剂,并且优选地选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖。优选的非离子型张力调节剂是甘露糖醇,例如D-甘露糖醇。张力调节剂的浓度将依赖于制剂的其他组分的浓度,尤其是在制剂旨在是等渗的情况下。通常来说,非离子型张力调节剂将以约90mM至约360mM的浓度,更优选以约150mM至约250mM的浓度,并且最优选以约230mM的浓度使用。

[0209] 通常,选择本发明液体制剂的组分和量以提供pH为约6.6至约7.4,更优选pH为约6.8至约7.2,并且最优选pH为约7.0的制剂。可以适量(quantum sufficit,q.s.)添加精氨酸以调节pH,使得其在期望的pH范围内。根据实施例中所示的实验,优选不使用盐酸或氢氧化钠进行pH调节。

[0210] 在一个实施方案中,本发明的液体制剂由以下组成:GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;精氨酸适量,以提供约6.6至约7.4的pH。

[0211] 在一个实施方案中,本发明的液体制剂由以下组成:GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂和乙酸盐缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油和山梨糖醇,浓度为约90mM至约360mM;精氨酸适量,以提供约6.6至约7.4的pH。

[0212] 在另一个实施方案中,本发明的液体制剂包含浓度为约20mg/mL的GLP-2类似物,浓度为约15 mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230 mM的甘露糖醇和提供约7.0的pH的精氨酸适量。

[0213] 在另一个实施方案中,本发明的液体制剂包含浓度为约20 mg/mL的GLP-2类似物,浓度为约15 mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230 mM的甘露糖醇,并且pH为约7.0。

[0214] 在另一个实施方案中,本发明的液体制剂包含浓度为约20 mg/mL的ZP1848-乙酸盐或H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH_2乙酸盐(SEQID NO:1),浓度为约15 mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230 mM的甘露糖醇和提供约7.0的pH的精氨酸适量。

[0215] 在另一个实施方案中,本发明的液体制剂包含浓度为约20 mg/mL的ZP1848-乙酸盐或H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH_2乙酸盐(SEQID NO:1),浓度为约15 mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230 mM的甘露糖醇,并且pH为约7.0。

[0216] 在另一个实施方案中,本发明的液体制剂包含浓度为约20 mg/mL的具有式(H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH2),x(CH_3COOH)(其中x为1.0至8.0)的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的乙酸盐,浓度为约15 mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230 mM的

甘露糖醇,并且pH为约7.0。

[0217] 在另一个实施方案中,本发明的液体制剂包含浓度为约20 mg/mL的具有式(H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH2),x(CH_3COOH)(其中x为1.0至8.0)的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的乙酸盐,浓度为约15 mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230 mM的甘露糖醇,并且pH为约7.0,为每天一次或两次的给药方案。

[0218] 在另一个实施方案中,本发明的液体制剂包含浓度为约20 mg/mL的具有式(H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH2),x(CH_3COOH)(其中x为1.0至8.0)的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的乙酸盐,浓度为约15 mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230 mM的甘露糖醇,并且pH为约7.0,为每周一次或两次的给药方案。

[0219] 在另一个实施方案中,本发明的液体制剂包含浓度为约20 mg/mL的ZP1846H-HGEGSFSSELSTILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH2(SEQ ID NO:7);浓度为约15 mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230 mM的甘露糖醇和提供约7.0的pH的精氨酸适量。

[0220] 在另一个实施方案中,本发明的液体制剂包含浓度为约20 mg/mL的ZP1846H-HGEGSFSSELSTILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH_2(SEQ ID NO:7);浓度为约15mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230mM的甘露糖醇,并且pH为约7.0。

[0221] 在一些情况下,本发明的液体制剂还包含防腐剂。在一些情况下,防腐剂是选自以下的防腐剂:苯扎氯铵、氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯和山梨酸钾。通常,防腐剂以浓度为最终制剂体积的约0.1%至约1%存在。

[0222] 在另一个实施方案中,液体制剂选自水性液体制剂,在多种亲水或疏水溶剂中的液体制剂,乳剂和液体混悬剂。在一个优选实施方案中,液体制剂是水性液体制剂。

[0223] 举例来说,本发明的液体制剂可通过将GLP-2类似物、缓冲剂、非离子型张力调节剂和任选的防腐剂在水中的储备溶液混合,任选地稀释所得溶液并调节至目标pH来制备。方便地,可首先将缓冲剂和非离子型张力调节剂的溶液混合以提供每种赋形剂的期望浓度。然后可添加GLP-2类似物的溶液,并且如果需要的话调节pH,例如使用乙酸/0.5M L-精氨酸来进行。添加水直至最终体积。

[0224] 优选地,将胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物肠胃外施用于患者,优选地通过注射,最典型地通过皮下注射、肌内注射、静脉内注射或腹膜内注射。优选通过皮下注射进行施用。注射可由医师、护士或其他健康护理专业人员进行,或者可由患者自行施用。如本文中所列出的,在一些方面中,本发明制剂具有有助于将制剂装载到预填充注射器、注射笔或其他注射器装置中的黏度。这可具有预确定施用于患者的制剂的剂量的优点,例如无需通过多用途小瓶(multi-use vial)进行测量。因此,在另一些方面中,本发明提供了制品或药盒,其包含容纳根据本发明的GLP-2类似物的稳定的(例如如水性稳定的)药物制剂的容器;或者预填充注射器或注射器装置或注射笔,其包含根据本发明的包含GLP-2类似物的水性液体制剂。

[0225] 医学病症

[0226] 通过施用有效量的如本文中所述的GLP-2类似物或其盐,本发明的GLP-2类似物制剂可用作用于预防或治疗患有胃肠病症(包括食道的上胃肠道)的个体的药物药剂。胃和肠相关病症包括:任何病因学的溃疡(例如消化性溃疡、药物诱导的溃疡、与感染或其他病原体相关的溃疡)、消化障碍、吸收不良综合征、短肠综合征、盲管综合征、炎性肠病、腹型斯泼

卢腹泻(例如由麸质诱导的肠病或者乳糜泻引起的)、热带型斯泼卢腹泻、低丙种球蛋白血症型斯泼卢腹泻、肠炎、溃疡性结肠炎、小肠损伤和化学治疗诱导的腹泻/黏膜炎(CID)。

[0227] 如上所述,一般而言,将从提高的小肠质量以及随后的正常小肠黏膜结构和功能和/或正常小肠黏膜结构和功能的维持而获益的个体是用本发明的GLP-2类似物进行治疗的候选者。可用GLP-2类似物治疗的特定病症包括多种形式的斯泼卢腹泻,包括:腹型斯泼卢腹泻,其是由对来自小麦的α-麦醇溶蛋白的毒性反应导致的,并且可能是麸质诱导的肠病或乳糜泻的结果,并且通过小肠绒毛的显著损失来标记;热带型斯泼卢腹泻,其是由感染导致的并且通过绒毛的部分平坦化(partial flattening)来标记;低丙种球蛋白血症型斯泼卢腹泻,其通常在患有常见变异型免疫缺陷或低丙种球蛋白血症的患者中观察到并且通过绒毛高度的显著降低来标记。GLP-2类似物治疗的治疗效力可通过检查绒毛形态的肠活检、通过营养素吸收的生物化学评估、通过患者体重增长或通过与这些病症相关的症状的改善来监测。

[0228] 可用本发明的GLP-2类似物治疗或者GLP-2类似物对其可在治疗上和/或预防上是有用的另一种特定病症是短肠综合征(SBS),也被称为短肠综合征(short gut syndrome)或简称为短肠(short gut)),其是由手术切除、先天性缺陷或与疾病相关的肠吸收损失导致的,其中患者随后不能够在常规饮食上维持流体、电解质和营养素平衡。尽管在切除之后的两年中通常会发生适应,但SBS患者的饮食摄取和流体损失降低。

[0229] 可用本发明的GLP-2类似物治疗或者GLP-2类似物对其可在预防上是有用的另一些病症除上述放射性肠炎之外包括感染性或感染后肠炎以及由于癌症化学治疗剂或毒剂引起的小肠损伤。

[0230] GLP-2类似物也可用于治疗营养不良(例如恶病质和厌食)。

[0231] 本发明的一个具体实施方案是关于使用本发明的肽用于预防和/或治疗肠损伤和功能障碍。这样的损伤和功能障碍是癌症化学治疗的公知的副作用。化学治疗施用经常与与胃肠系统相关的不期望副作用,例如黏膜炎、腹泻、细菌移位、吸收不良、腹部痉挛、胃肠出血和呕吐相关。这些副作用是肠上皮的结构和功能损伤的临床后果,并且经常使得需要降低化学治疗的剂量和频率。

[0232] 施用本发明GLP-2肽类似物可增强肠隐窝的营养作用,并快速提供新细胞来替代化学治疗之后受损的肠上皮。通过施用本发明肽而实现的最终目的是降低与正在进行化学治疗的患者的胃肠损伤相关的发病率,同时产生用于治疗癌症的最佳化学治疗方案。可根据本发明向正在或即将进行放射治疗的患者提供伴随的预防性或治疗性治疗。

[0233] 小肠黏膜的干细胞由于其增殖速率快而特别容易受到化学治疗的细胞毒性作用(Keefe et al.,Gut,47:632-7,2000)。针对小肠黏膜的化学治疗诱导的损伤在临床上通常被称为胃肠黏膜炎,并且其特征在于小肠的吸收性损伤和屏障损伤。例如,已经表明,广泛使用的化学治疗剂5-FU、伊立替康(irinotecan)和甲氨蝶呤(methothrexate)在啮齿动物的小肠中提高了凋亡,导致绒毛萎缩和隐窝发育不全(Keefe et al.,Gut 47:632-7,2000;Gibson et al.,J Gastroenterol.Hepatol.Sep;18(9):1095-1100,2003;Tamaki etal.,J.Int.Med.Res.31(1):6-16,2003)。在人中已显示化学治疗剂在施用之后24小时时提高肠隐窝中的凋亡,并随后在化学治疗之后三天降低绒毛区域、隐窝长度、每个隐窝的有丝分裂计数和肠上皮细胞高度(Keefe et al.,Gut,47:632-7,2000)。因此,小肠内的结构变化直

接导致肠功能障碍,并在一些情况下导致腹泻。

[0234] 癌症化学治疗之后的胃肠黏膜炎是一个日益严重的问题,尽管其逐渐缓解,但一旦建立就基本上无法治愈。用常用的抑制细胞的癌症药物5-FU和伊立替康进行的研究表明,用这些药物进行的有效的化学治疗主要影响小肠的结构完整性和功能,而结肠敏感性较低并且主要以黏液形成提高来响应(Gibson et al.,J.Gastroenterol.Hepatol.Sep;18(9):1095-1100,2003;Tamaki et al.,J Int.Med.Res.31(1):6-16,2003)。

[0235] 包含GLP-2类似物的本发明制剂可用于预防和/或治疗胃肠损伤和化学治疗剂的副作用。该潜在重要的治疗应用可应用于当前使用的化学治疗剂,例如但不限于:5-FU、六甲蜜胺(Altretamine)、博来霉素(Bleomycin)、白消安(Busulfan)、卡培他滨(Capecitabine)、卡铂(Carboplatin)、卡莫司汀(Carmustine)、苯丁酸氮芥(Chlorambucil)、顺铂(Cisplatin)、克拉屈滨(Cladribine)、天冬酰胺酶(Crisantaspase)、环磷酰胺(Cyclophosphamide)、阿糖胞苷(Cytarabine)、达卡巴嗪(Dacarbazine)、放线菌素D(Dactinomycin)、柔红霉素(Daunorubicin)、多西他塞(Docetaxel)、多柔比星(Doxorubicin)、表柔比星(Epirubicin)、依托泊苷(Etoposide)、氟达拉滨(Fludarabine)、氟尿嘧啶(Fluorouracil)、吉西他滨(Gemcitabine)、羟基尿素(Hydroxycarbamide)、伊达比星(Idarubicin)、异环磷酰胺(Ifosfamide)、伊立替康、脂质体多柔比星(Liposomal doxorubicin)、亚叶酸(Leucovorin)、洛莫司汀(Lomustine)、美法仑(Melphalan)、巯基嘌呤(Mercaptopurine)、美司钠(Mesna)、甲氨蝶呤、丝裂霉素(Mitomycin)、米托蒽醌(Mitoxantrone)、奥沙利铂(Oxaliplatin)、紫杉醇(Paclitaxel)、培美曲塞(Pemetrexed)、喷司他丁(Pentostatin)、丙卡巴肼(Procarbazine)、雷替曲塞(Raltitrexed)、链脲霉素(Streptozocin)、替加氟-尿嘧啶(Tegafur-uracil)、替莫唑胺(Temozolomide)、噻替哌(Thiotepa)、硫鸟嘌呤(Tioguanine/Thioguanine)、拓扑替康(Topotecan)、苏消安(Treosulfan)、长春花碱(Vinblastine)、长春新碱(Vincristine)、长春地辛(Vindesine)、长春瑞滨(Vinorelbine)、博来霉素、白消安、卡培他滨、卡铂、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、顺铂、克拉屈滨、天冬酰胺酶、环磷酰胺、阿糖胞苷、达卡巴嗪、放线菌素D、柔红霉素、多西他塞、多柔比星、表柔比星、依托泊苷、氟达拉滨、氟尿嘧啶、吉西他滨、羟基尿素、伊达比星、异环磷酰胺、伊立替康、脂质体多柔比星、亚叶酸、洛莫司汀、美法仑、巯基嘌呤、甲氨蝶呤、丝裂霉素、米托蒽醌、奥沙利铂、紫杉醇、培美曲塞、喷司他丁、丙卡巴肼、雷替曲塞、链脲霉素、替加氟-尿嘧啶、替莫唑胺、噻替哌、硫鸟嘌呤、拓扑替康、苏消安、长春花碱、长春新碱、长春地辛和长春瑞滨。

[0236] 制剂的递送

[0237] 在一些方面中,本发明涉及GLP-2类似物的即用型制剂,其旨在用于肠胃外施用,并且适合于用于例如小瓶、预填充注射器、输注泵、可穿戴注射器、一次性自动注射器或可调剂量自动注射器。

实施例

[0238] 提供以下实施例来举例说明本发明的一些优选方面,并且不旨在限制本发明的范围。根据本文中所述的剂量方案施用的GLP-2类似物可根据例如在WO 2006/117565中描述的固相肽合成的方法来制备,其内容通过引用整体明确地并入。

[0239] 实施例1.ZP1848-乙酸盐和类似的GLP-2类似物的合成

[0240] 使用Fmoc固相肽合成(Solid Phase Peptide Synthesis,SPPS)方法在标准偶联条件下合成ZP1848-乙酸盐肽。在完成合成之后,将肽序列脱保护并从固体支持物上切割,并使用制备型反相HPLC对粗制肽进行纯化。通过在最终色谱步骤期间,以合适浓度的乙酸施加流动相来将肽转化为期望的乙酸盐形式并随后冻干。所得药物物质产品的乙酸盐含量低于11%或低于8当量的乙酸盐:批次1(6%乙酸盐,4.6当量的乙酸盐),批次2(7%乙酸盐,5.4当量的乙酸盐)和批次3(6%乙酸盐,4.6当量的乙酸盐)。该合成和纯化方案可适应于制备本发明制剂中使用的其他GLP-2类似物。

[0241] 实施例2.在GLP-2类似物ZP1848-乙酸盐的药物制剂中研究共价结合的寡聚体的形成

[0242] 材料与方法

[0243] 对于共价连接的寡聚体的检测,使用给出线性梯度的Dionex Ultimate3000 HPLC系统以0.5mL/分钟的流量进行分析。流动相由45%乙腈和55% Milli-Q水中的0.1% TFA组成。使用215nm的波长进行检测。注射量为4μg肽。用于分离共价形成的肽的柱是具有4μm粒径和300*4.6mm的尺寸的TSKgel SuperSW2000(TSK BioScience)。总体运行时间为25分钟。对于肽单体的化学稳定性评价,使用具有酸性流动相和乙腈梯度的C18柱。

[0244] 制备甘露糖醇(700mM)、L-组氨酸(200mM)和ZP1848肽(乙酸盐;60mg/mL)在水(Milli-Q)中的储备溶液。以合适的量混合甘露糖醇和组氨酸溶液,得到230mM甘露糖醇和15mM组氨酸。分别添加肽储备溶液至终浓度为0.2、2和20mg/mL。添加水直至最终体积的90%。如果需要的话,使用1M乙酸/0.5M L-精氨酸将pH调节至pH 7。添加水直至最终体积。

[0245] 结果与讨论

[0246] 在本领域中已知的是,提高液体制剂中肽或蛋白质药物的浓度提高了二聚体、三聚体和高阶寡聚体的浓度,因为质量作用效应导致共价反应的可能性较高(参见van Maarschalkerweerd et al.,Intrinsically Disord.Proteins.2015;3(1):e1071302)。因此,共价高分子量降解产物(covalent high molecular weight degradation product,cHMWDP)的形成作为药物物质浓度的函数而提高,并且具有降低制剂中可用的生物活性单体肽的量的作用。因此,在GLP-2类似物ZP1848-乙酸盐的制剂中对此进行了研究。

[0247] 关于寡聚体与ZP1848-乙酸盐单体分离的典型色谱图示于图1中。ZP1848-乙酸盐的寡聚体与ZP1848-乙酸盐单体很好地分离,并且其全部整合为一个峰。峰的面积百分比用于定量寡聚体,特别是共价连接的二聚体和三聚体的量。

[0248] 在2至8℃下储存24个月之后,分析了在制剂中包含0.2、2和20mg/mL ZP1848的制剂。其主要是二聚体(两个共价连接的ZP1848-乙酸盐分子)形成,但在某种程度上也是三聚体形成(通过LC-MS验证)。包含0.2mg/mL的制剂具有2.6%的寡聚体,2mg/mL具有1.91%,以及20.0mg/mL具有1.35%。寡聚体的量的初始值为小于0.1%。

[0249] 表1:在24个月之后在2至8℃下的长期稳定性下共价连接的寡聚体的形成

[0250]

药物产品浓度,ZP1848-乙酸盐	共价连接的寡聚物
0.2mg/mL	2.60%
2mg/mL	1.91%
20mg/mL	1.35%

[0251] 在ZP1848-乙酸盐(glepaglutide)于2至8℃下长期储存期间,出人意料地发现,共价结合的寡聚体的形成是浓度依赖性的,但与一般预期相反,寡聚体形成的浓度依赖性负相关地依赖于GLP-2类似物浓度的提高。不希望受任何特定理论的束缚,本发明人认为,随着药物浓度的提高,共价连接的寡聚体的形成降低是GLP-2类似物的赖氨酸尾促进竞争性反应(这导致了其中GLP-2类似物分子弱缔合在一起而不是共价连接的高阶物质的形成)的结果。这意味着这些弱缔合的物质能够解离以释放生物活性单体,而不是导致活性物质损失,如当形成共价结合的寡聚体时发生的那样。

[0252] 实施例3:用于GLP-2类似物ZP1848乙酸盐的制剂的缓冲剂筛选

[0253] 进行了一项研究,以检查不同的缓冲剂盐对ZP1848-乙酸盐(4mg/mL)制剂的稳定性的作用。制剂中的总缓冲剂浓度为20mM。

[0254] 材料与方法

[0255] 制备下表2中列出的缓冲溶液。用1M HCl/1M NaOH调节缓冲剂的pH。将ZP1848肽(乙酸盐)在为最终样品体积的80%的相关缓冲剂中溶解,得到最终制剂中的4mg/mL。如果需要的话,然后使用200mM乙酸或100mM L-精氨酸将pH调节至所期望的制剂pH。添加缓冲溶液直至最终体积。将每种制剂填充在合适的小瓶(1mL/小瓶)中以进行稳定性测试。

[0256] 结果与讨论

[0257] 视觉外观表明,包含柠檬酸盐缓冲剂、柠檬酸盐/Tris缓冲剂或琥珀酸盐缓冲剂的所有制剂均是黏性和/或混浊的(参见表2)。乙酸盐缓冲剂(20mM,pH 5)、甲磺酸盐缓冲剂(20mM,pH 6)、组氨酸缓冲剂(15mM,pH 7)和组氨酸-精氨酸(15+5mM,pH 7)产生通过目视检查为澄清且无黏性的制剂。

[0258] 表2:筛选不同缓冲剂作用的制剂

[0259]

制剂	pH	缓冲剂	缓冲剂浓度（mM）	目视检查 澄清且无黏性?
1	4.0	柠檬酸盐-TRIS	20	否
2	5.0	柠檬酸盐-TRIS	20	否
3	6.0	柠檬酸盐-TRIS	20	否
4	7.0	柠檬酸盐-TRIS	20	否
5	8.0	柠檬酸盐-TRIS	20	否
6	5.0	琥珀酸盐	20	否
7	5.0	乙酸盐	20	是
8	5.0	组氨酸	20	是
9	6.0	琥珀酸盐	20	否
10	6.0	甲磺酸盐	20	是
11	6.0	组氨酸	20	是
12	7.0	柠檬酸盐	20	否
13	7.0	TRIS	20	是
14	7.0	组氨酸+精氨酸	15 + 5	是

[0260] 实施例4:磷酸盐缓冲剂与GLP-2类似物ZP1848-乙酸盐的不相容性

[0261] 材料与方法

[0262] 制备甘露糖醇(700mM)、磷酸盐缓冲剂(200mM)和ZP1848-乙酸盐肽(60.2mg/mL)在水(Milli-Q)中的储备溶液。以合适的量混合储备溶液,得到下表3中所示的制剂。添加水直至最终体积的90％。如果需要的话,然后使用1M乙酸/0.5M L-精氨酸将pH调节至所期望的制剂pH。添加水直至最终体积。在室温下24小时之后,目视检查样品容器的澄清度和黏度。

[0263] 表3:测试磷酸盐缓冲剂作用的制剂

[0264]

ZP1848 浓度 [mg/mL]	pH	磷酸盐[mM]	甘露糖醇[mM]	目视检查 澄清且无黏性?
0 mg/mL	7.0	20	230	是
20 mg/mL	6.5	20	230	否
20 mg/mL	7.0	20	230	否
20 mg/mL	7.0	50	230	否
20 mg/mL	7.5	20	230	否

[0265] 结果与讨论

[0266] 目视检查表明,在室温下24小时之后,包含20至50mM磷酸盐缓冲剂、pH 6.5至7.5的20mg/mL的ZP1848-乙酸盐制剂是混浊的和/或高黏性的。因此得出结论:在这些制剂中,磷酸盐缓冲剂与ZP1848-乙酸盐不相容。

[0267] 实施例5:乙酸盐含量对GLP-2类似物ZP1848-乙酸盐制剂的黏度的作用

[0268] 进行了一项研究,以确定乙酸盐含量对ZP1848-乙酸盐制剂的黏度的作用。

[0269] 材料与方法

[0270] 使用包含6%乙酸盐的GLP-2类似物ZP1848-乙酸盐的药物物质(DS)制备样品。添加乙酸盐以探究在7.8%至15%乙酸盐范围中的提高的乙酸盐含量的作用(参见表4)。

[0271] 制备甘露糖醇(700mM)、乙酸(1000mM)、组氨酸(200mM)和ZP1848-乙酸盐肽(60mg/mL)在Milli-Q水中的储备溶液。以合适的量混合储备溶液,得到下表4中所示的制剂。添加水直至最终体积的90%。如果需要的话,然后使用250mM精氨酸将pH调节至所期望的制剂pH。添加水直至最终体积。将每种制剂填充在合适的小瓶中以进行稳定性测试。

[0272] 目视检查小瓶的澄清度和黏度。使用microVISCTM黏度计测量黏度。使用Wyatt DynaPro II动态光散射(DLS)板阅读器测量流体力学半径。板上装载的样品大小为170μl。

[0273] 表4:具有不同乙酸盐浓度的pH 7的包含20mg/ml ZP1848-乙酸盐的制剂

[0274]

制剂 #	甘露糖醇 [mM]	组氨酸 [mM]	乙酸盐 %	乙酸盐 [mM]
1	230	15	6	20.3
2	230	15	7	23.7
3	230	15	8	27.1
4	230	15	9	30.5
5	230	15	10	33.9
6	230	15	11	37.3
7	230	15	12	40.7
8	230	15	13	44.0
9	230	15	14	47.4
10	230	15	15	50.8

[0275] 结果与讨论

[0276] 具有不同乙酸盐浓度的制剂的黏度和流体力学半径示于图2中。结果表明,在较高乙酸盐浓度下,ZP1848-乙酸盐制剂的黏度出人意料地以非线性方式提高。因此,如果制剂中的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物,则将黏度控制在低/不变水平是有利的,因为这开发了以药物递送装置的形式提供GLP-2类似物的制剂的可能性。

[0277] 实施例6:缓冲剂盐对2和20mg/mL下的GLP-2类似物ZP1848-乙酸盐的制剂的稳定性的作用

[0278] 进行了一项研究,以检查不同缓冲剂盐对ZP1848-乙酸盐(2和20mg/mL)制剂的稳定性的作用。所有缓冲剂的浓度均为15mM。

[0279] 材料与方法

[0280] 制备甘露糖醇(700mM)、L-组氨酸(200mM)、甘氨酸(400mM)、赖氨酸(200mM)、TRIS(200mM)、bis-TRIS(200mM)、MOPS(100mM)、琥珀酸(200mM)、MES(2-(N-吗啉代)乙磺酸)

(200mM)、甲磺酸盐(200mM)、磷酸盐(200mM)和ZP1848肽(乙酸盐;约50mg/ml)在水(Milli-Q)中的储备溶液。以合适的量混合赋形剂溶液,得到下表5和表6中所示的制剂。所有制剂均包含230mM甘露糖醇和15mM缓冲剂。添加肽储备溶液。添加水直至最终体积的90%。如果需要的话,使用1M乙酸/0.5M L-精氨酸将pH调节至pH 7。添加水直至最终体积。将制剂填充在小瓶中,并将其置于40℃下的稳定性研究中。

[0281] 结果与讨论

[0282] 根据观察到的结果,15mM浓度的缓冲剂组氨酸、甘氨酸、赖氨酸、TRIS、Bis-TRIS、MOPS、甲磺酸盐和MES可用于2mg/mL和20mg/mL肽且pH7.0下的ZP1848-乙酸盐制剂中。

[0283] 表5:用不同缓冲剂制备的制剂的稳定性

[0284]

制剂	肽含量	缓冲剂	目视检查 澄清且无黏性?	
			0 周	3 周 (40℃)
1	20	组氨酸	是	是
2	20	甘氨酸	是	是
3	20	赖氨酸	否	是
4	20	TRIS	是	是
5	20	Bis-TRIS	是	是

6	2	组氨酸	是	是
7	2	甘氨酸	是	是
8	2	赖氨酸	是	是
9	2	TRIS	是	是
10	2	Bis-TRIS	是	是
11	20	MOPS	是	是
12	20	琥珀酸	否	否
13	20	MES	是	是
14	20	甲磺酸盐	是	是
15	20	磷酸盐	否	否
16	2	MOPS	是	是
17	2	琥珀酸	是	否
18	2	MES	是	是
19	2	甲磺酸盐	是	是
20	2	磷酸盐	是	否

[0285]

[0286] 表6:使用不同缓冲剂的制剂中共价连接的寡聚体的形成

制剂	肽含量	缓冲剂	DLS（Z 平均值，nm）	
			0 周	3 周（40℃）
1	20	组氨酸	1.6	1.7
2	20	甘氨酸	1.7	1.8
3	20	赖氨酸	41.9	4.4
4	20	TRIS	35.2	4.3
5	20	Bis-TRIS	1.7	1.7
6	2	组氨酸	2.7	3.1
7	2	甘氨酸	2.4	3.6

[0287]

[0288]

8	2	赖氨酸	3.9	4
9	2	TRIS	3.8	4.1
10	2	Bis-TRIS	4.7	4.1
11	20	MOPS	2.3	2.5
12	20	琥珀酸	27.4	192.5
13	20	MES	2.3	3.2
14	20	甲磺酸盐	25.5	4
15	20	磷酸盐	21.1	244.5
16	2	MOPS	3.3	70.1
17	2	琥珀酸	82.5	259.3
18	2	MES	3.8	3.9
19	2	甲磺酸盐	3.7	4.1
20	2	磷酸盐	333.9	214.5

[0289] 针对不同缓冲剂评价了共价连接的寡聚体的形成(表6)。在20mg/mL下,琥珀酸在1周之后形成了凝胶,并且在稳定性研究的2周和3周时无法评价。在2mg/mL下,相同的缓冲剂具有显著更高的共价连接的寡聚体形成(2.1%)。总体趋势是,在于40℃下加速储存3周之后,与20mg/mL相比,2mg/mL制剂具有更高的共价连接的寡聚体形成。

[0290] 在这些制剂中,磷酸盐缓冲剂和琥珀酸盐缓冲剂与2和20mg/mL下的ZP1848-乙酸盐不相容。

[0291] 肽单体稳定性通过确定在40℃下稳定性研究3周的HPLC纯度来评价。结果呈现在图3和表7中。由于先前描述的凝胶形成,在20mg/mL下,仅可在第一时间点评价琥珀酸。对于2mg/mL,可在三个测试周获得结果。在所评价的缓冲剂之间仅能检测到很小的、不显著的差异。因此,缓冲剂的选择看起来并不影响肽单体的稳定性。

[0292] 表7:使用不同缓冲剂在40℃下持续0至3周的共价连接的寡聚体的形成

[0293]

制剂		缓冲剂	在40℃下的时间/周 0	1	2	3	%/wk
1	20 mg/mL	组氨酸	0.14	0.40	0.55	0.69	0.18
2		甘氨酸	0.15	0.39	0.53	0.64	0.16
3		赖氨酸	0.15	0.38	0.51	0.64	0.16
4		TRIS	0.10	0.38	0.51	0.63	0.17
5		Bis-Tris	0.15	0.42	0.58	0.72	0.19
11		MOPS	0.14	0.38	0.49	0.59	0.15
12		琥珀酸	0.14	0.40	不可评价		
13		MES	0.14	0.37	0.49	0.61	0.15
14		甲磺酸盐	0.14	0.40	0.53	0.65	0.17
15		磷酸盐	不可评价				
6	2 mg/mL	组氨酸	0.16	0.54	0.75	1.0	0.26
7		甘氨酸	0.16	0.49	0.69	0.79	0.21
8		赖氨酸	0.15	0.57	0.76	0.94	0.26
9		TRIS	0.15	0.52	0.71	0.84	0.23
10		Bis-Tris	0.19	0.81	1.19	1.5	0.43
16		MOPS	0.15	0.53	0.71	0.82	0.22
17		琥珀酸	0.21	0.72	1.4	2.1	0.63
18		MES	0.16	0.57	0.75	0.88	0.23
19		甲磺酸盐	0.16	0.60	0.82	1.0	0.26
20		磷酸盐	不可评价				

[0294] 实施例7:张力调节剂对2和20mg/mL下的GLP-2类似物ZP1848-乙酸盐的制剂的稳定性的作用

[0295] 进行了一项研究,以检查不同张力调节剂对ZP1848-乙酸盐(2和20mg/mL)制剂的稳定性的作用。

[0296] 材料与方法

[0297] 制备L-组氨酸(200mM)、蔗糖(730mM)、甘油(977mM)、D-山梨糖醇(801mM)、D-(+)海藻糖脱水合物(500mM)、D-甘露糖醇(700mM)和ZP1848-乙酸盐肽(乙酸盐;约50mg/ml)在水(Milli-Q)中的储备溶液。以合适的量混合赋形剂溶液,得到下表8中所示的制剂。所有制剂均包含15mM组氨酸。根据需要添加肽储备溶液以得到表8中所示的肽含量。添加水直至最终体积的90%。如果需要的话,使用1M乙酸/0.5M L-精氨酸将pH调节至pH 7。添加水直至最终体积。将每种制剂填充在小瓶中,并将其置于40℃下的稳定性研究中。目视检查样品容器的澄清度和黏度,并用DLS(动态光散射)分析分析流体力学半径。

[0298] 结果与讨论

[0299] 根据表8中所示的观察结果,甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖可用于具有2mg/ml和20mg/mL的ZP1848-乙酸盐并且pH 7.0的这些制剂中。

[0300] 表8:使用不同的张力调节剂制备的制剂

[0301]

制剂	肽含量	张力调节剂	目视检查 澄清且无黏性?	
			0 周	3 周（40℃）
1	20	甘露糖醇	是	是
2	20	蔗糖	是	是
3	20	甘油	是	是
4	20	山梨糖醇	是	是
5	20	海藻糖	是	是
6	2	甘露糖醇	是	是
7	2	蔗糖	是	是
8	2	甘油	是	是
9	2	山梨糖醇	是	是
10	2	海藻糖	是	是

[0302] 测量在40℃下多至3周的制剂1至10的共价寡聚体的形成。结果示于表9中。在稳定性测试1周之后，可以看到10种制剂的共价寡聚体形成的差异。另外，速率(斜率)在整个测试期间都相当一致。制剂3(20mg/mL-甘油)、7(2mg/mL-蔗糖)、8(2mg/mL-甘油)、9(2mg/mL-山梨糖醇)的共价连接的寡聚体的形成显著高于其他制剂。甘露糖醇使共价连接的寡聚体的形成最低。总体趋势是，对于所有所研究的张力剂，与20mg/mL相比，2mg/mL下的共价连接的寡聚体的形成更高。

[0303] 表9:在40℃下0至3周的制剂1至10的共价连接的寡聚体的形成

[0304]

制剂			张度剂	在40℃下的时间/周				
				0	1	2	3	%/wk
1		20 mg/mL	甘露糖醇	0.22	0.40	0.57	0.90	0.22
2			蔗糖	0.27	0.50	0.84	1.3	0.34
3			甘油	0.6	2.0	2.8	4.0	1.11
4			山梨糖醇	0.25	0.60	0.84	1.1	0.28
5			海藻糖	0.26	0.60	0.90	1.3	0.34
6		2 mg/mL	甘露糖醇	0.34	0.70	0.90	1.2	0.28
7			蔗糖	0.37	1.4	2.7	4.3	1.31
8			甘油	1.8	12.2	16.4	21.5	6.34
9			山梨糖醇	0.51	1.9	2.8	3.8	1.08
10			海藻糖	0.45	1.1	1.9	2.9	0.81

[0305] 肽单体稳定性通过确定在40℃下稳定性研究3周的HPLC纯度来评价。类似于共价连接的寡聚体，当使用甘油时化学稳定性很差，并且与其他张力剂有所不同。结果呈现于图

5和图6中。

[0306] 实施例8:GLP-2类似物ZP1848-乙酸盐的制剂中用于pH调节的酸和碱的物理稳定性影响

[0307] 材料与方法

[0308] 制备甘露糖醇、组氨酸和ZP1848-乙酸盐肽在水中的储备溶液。将甘露糖醇和组氨酸的储备溶液添加至水并混合,并添加肽溶液使得最终肽含量为10mg/mL。添加水直至最终体积的90%。然后使用250mM精氨酸/1M AcOH或1M NaOH/1M HCl将pH调节至pH 7(参见表10)。添加水直至最终体积。将每种制剂填充在小瓶中进行稳定性测试,并将其置于5℃、25℃和40℃下的稳定性研究中。目视检查样品容器的澄清度和黏度。

[0309] 结果与讨论

[0310] 表10中所示的结果表明,使用1M NaOH/1M HCl进行pH调节对ZP1848-乙酸盐制剂的物理稳定性具有不良作用。

[0311] 表10:酸/碱对物理稳定性的作用

[0312]

制剂	pH 调节剂	目视检查 澄清且无黏性?			
		时间零	40℃ 4 周	25℃ 26 周	5℃ 52 周
1	0.25 M L-Arg/1M AcOH	是	是	是	是
2	1M NaOH/1M HCl	是	是	是	否 (在 13 周时沉淀)

[0313] 实施例9:ZP1848肽乙酸盐和ZP1848肽氯化物盐用于GLP-2类似物ZP1848肽制剂的用途

[0314] 进行了一项研究,以检查在所选的ZP1848制剂中使用ZP1848肽乙酸盐和ZP1848肽盐酸盐的盐的作用。在40℃下加速储存之后,检查盐类型、浓度、缓冲剂和张力调节剂的作用。尝试合成ZP1848肽钠盐,但发现其是不可以的。

[0315] 材料与方法

[0316] 制备甘露糖醇(700mM)、组氨酸(200mM)、山梨糖醇(700mM)、甲磺酸盐(200mM)和ZP1848肽溶液(氯化物盐;约50mg/mL)在Milli-Q水中的储备溶液。以合适的量混合赋形剂溶液,得到下表11和表12中所示的制剂。添加肽储备溶液以得到所期望的最终肽含量。添加水直至最终体积的90%。如果需要的话,然后使用1M乙酸/0.5M L-精氨酸将pH调节至所期望的制剂pH。添加水直至最终体积。将每种制剂填充在小瓶中,并将其置于40℃下的稳定性研究中。目视检查样品容器的澄清度和黏度,并用DLS分析流体力学半径。

[0317] 结果与讨论

[0318] 表11和12中所示的结果表明,在40℃下3周之后,制剂1、2、3和4的Z平均值、黏度和

视觉外观具有不变的稳定性，如通过视觉外观和DLS所评价的。制剂5显示出随时间的稳定性的变化，如通过Z平均值、黏度和视觉外观所评价的。

[0319] 表11:肽盐类型的作用

[0320]

制剂 No:	肽盐	肽含量	甘露糖醇	组氨酸	山梨糖醇	甲磺酸盐	目视检查 澄清且无黏性?	
							0 周	3 周（40℃）
1	ZP1848 乙酸盐	20	230	15	-	-	是	是
2	ZP1848 氯化物盐	20	230	15	-	-	是	是
3	ZP1848 氯化物盐	2	230	15	-	-	是	是
4	ZP1848 氯化物盐	20	-	15	230	-	是	是
5	ZP1848 氯化物盐	20	230	-	-	15	否	否

[0321] 表12:肽盐类型的作用

[0322]

制剂	肽盐	肽含量	甘露糖	组氨酸	山梨糖	甲磺酸	DLS（Z 平均值，

[0323]

			醇		醇	盐	nm）	
							0 周	3 周（40℃）
1	ZP1848 乙酸盐	20	230	15	-	-	1.5	2.1
2	ZP1848 氯化物盐	20	230	15	-	-	2.3	3.3
3	ZP1848 氯化物盐	2	230	15	-	-	2.7	2.8
4	ZP1848 氯化物盐	20	-	15	230	-	2.2	3.3
5	ZP1848 氯化物盐	20	230	-	-	15	24.1	6.9

[0324] 在40℃下追踪制剂1至5的化学稳定性多至4周。所获得的纯度在释放时相对于100％归一化。结果示于图中。对于制剂1、2、4和5，看到肽单体化学稳定性无显著差异。在4周之后，制剂3显示出略低但可接受的化学稳定性，并且这最可能是由该制剂的较低浓度引起。

[0325] 测量在40℃下多至4周的制剂1至5的共价寡聚体的形成。结果示于表13中。即使在稳定性测试1周之后，仍可以看到5种制剂的共价寡聚体形成的差异。另外，速率(斜率)在整个测试期间都相当一致。制剂1(20mg/mL，ZP1848的乙酸盐，组氨酸作为张力剂)是最稳定的制剂，其在40℃下稳定性研究4周之后形成约1.1％的共价寡聚体。制剂5(20mg/mL，ZP1848的氯化物盐，甲磺酸盐作为张力剂)是第二稳定的制剂，其在40℃下稳定性研究4周之后具有约2.1％的共价寡聚体形成。第三稳定的是制剂3(2mg/mL，ZP1848的氯化物盐，组氨酸作为张力剂)。第四稳定的是制剂2(20mg/mL，ZP1848的氯化物盐，组氨酸作为张力剂)。最不稳定的制剂是制剂4(20mg/mL，ZP1848的氯化物盐，山梨糖醇作为张力剂)。

[0326] 对于在40℃下3周之后的ZP1848的乙酸盐，先前已看到与甘露糖醇相比，当使用山梨糖醇时，稳定性略有降低的趋势(对于甘露糖醇为0.9％，而对于山梨糖醇为1.1％)，参见实施例7。当比较乙酸盐和氯化物盐时，含山梨糖醇的制剂与含甘露糖醇的制剂之间的差异更显著，其中20mg/mL的含氯化物盐和山梨糖醇的制剂具有约3.9％的共价寡聚体形成。当比较2mg/mL和20mg/mL的氯化物盐制剂时，在40℃下4周之后，共价寡聚体的形成对于2mg/mL为2.4％(每周提高0.53％)以及对于20mg/mL为3.3％(每周提高0.75％)。这是出人意料地，因为这不是对于乙酸盐所观察到的情况。对于20mg/mL的乙酸盐，在40℃下3周之后共价寡聚体的形成为0.9％(每周提高0.21％)，而2mg/mL为1.2％(每周提高0.27％)。在较低的乙酸盐浓度下这种较高的共价连接的寡聚体形成也与在长期稳定性期间看到的一致。然而，对于氯化物盐，情况相反，随着ZP1848浓度提高，共价连接的寡聚体的形成更高。

[0327] 表13:在40℃下0至4周的制剂1至5的共价连接的寡聚体的形成

[0328]

	在40℃下的时间/周					速率
	0	1	2	3	4	%/wk
制剂 1	0.13	0.43	0.67	0.89	1.1	0.24
制剂 2	0.22	1.5	2.2	2.8	3.3	0.75
制剂 3	0.22	0.99	1.5	1.9	2.4	0.53
制剂 4	0.23	1.7	2.5	3.4	3.9	0.91
制剂 5	0.22	0.86	1.3	1.6	2.1	0.44

[0329] 实施例10:ZP1848肽乙酸盐和防腐剂用于20mg/mL的GLP-2类似物ZP1848肽的制剂的用途

[0330] 进行了一项研究,以检查ZP1848肽乙酸盐与常用防腐剂的相容性。在加速储存之后检查防腐剂和温度的作用。

[0331] 材料与方法

[0332] 制备甘露糖醇(700mM)、组氨酸(200mM)和ZP1848肽溶液(乙酸盐;约50mg/mL)在Milli-Q水中的储备溶液。肽的终浓度为20mg/mL,甘露糖醇为230mM,组氨酸为15mM。以合适的量混合防腐剂溶液,得到下表14中所示的制剂。添加肽储备溶液以得到所期望的最终肽含量。添加水直至最终体积的90%。如果需要的话,然后使用1M乙酸/0.5M L-精氨酸将pH调节至所期望的制剂pH。添加水直至最终体积。将每种制剂均填充在小瓶中。目视检查样品容器的澄清度和黏度,并通过SEC分析共价连接的寡聚体,并通过HPLC分析肽单体稳定性。

[0333] 结果与讨论

[0334] 来自该研究的结果列于表14、表15和图8中。与其中不添加防腐剂的制剂1相比,通过添加防腐剂,制剂看起来不受影响。

[0335] 通过确定共价连接的寡聚体和肽单体的稳定性(纯度)来评价化学稳定性。制剂4(山梨酸钾)具有较高的共价连接的寡聚体形成,但在可接受的范围内。所有其他制剂具有相似量的共价连接的寡聚体。在25℃下13周之后的归一化纯度表明ZP1848-乙酸盐再次具有与制剂4相似的稳定性,其纯度略低,但可接受。

[0336] 表14:在25℃下26周的防腐剂筛选的作用

[0337]

制剂 No:	苯扎氯铵	对羟基苯甲酸甲酯	山梨酸钾	目视检查 澄清且无黏性?	
				0 周	26 周 (25℃)
1	-	-	-	澄清	澄清
2	0.02%	-	-	澄清	澄清
3	-	0.2%	-	澄清	澄清
4	-	-	0.2%	澄清	澄清

[0338] 表15:在25℃下持续13周,不同防腐剂的共价连接的寡聚体的形成

[0339]

	在25℃下的时间/周					速率
	0	2	4	8	13	%/wk
制剂 1	0.12	0.27	0.35	0.47	0.62	0.04
制剂 2	0.13	0.26	0.35	0.48	0.59	0.03
制剂 3	0.14	0.34	0.49	0.79	1.15	0.08
制剂 4	0.14	0.93	1.73	3.46	5.4	0.41

[0340] 实施例11:ZP1848肽乙酸盐和防腐剂用于2和20mg/mL的GLP-2类似物ZP1848肽的制剂的用途

[0341] 材料与方法

[0342] 制备甘露糖醇(700mM)、组氨酸(200mM)和ZP1848肽溶液(乙酸盐;约50mg/mL)在Milli-Q水中的储备溶液。肽的终浓度为20和2mg/mL,甘露糖醇为230mM,以及组氨酸为15mM。以合适的量混合防腐剂溶液(间甲酚和苯酚),得到下表14中所示的制剂。添加水直至最终体积的90%。如果需要的话,然后使用1M乙酸/0.5M L-精氨酸将pH调节至所期望的制剂pH(7.0)。添加水直至最终体积。将每种制剂均填充在小瓶中。目视检查样品容器的澄清度和黏度,并通过HPLC分析肽单体稳定性。

[0343] 结果与讨论

[0344] 来自该研究的结果列于下表16中。所有制剂均在5℃下测试长期稳定性,持续52周。在研究的时间框中,所有受试的溶液均保持澄清且无黏性。

[0345] 表16:在5℃下52周稳定性研究之后测试制剂的物理外观

[0346]

制剂 No：	mg/mL	间甲酚（mg/mL）	苯酚（mg/mL）	目视检查 澄清且无黏性?	
				0 周	52 周 (5℃)
1	2	0	0	澄清	澄清
2	2	3.2	0	澄清	澄清

[0347]

3	2	0	5.5	澄清	澄清

[0348] 在25℃下加速稳定性研究之后通过HPLC对ZP1848-乙酸盐的评价示于图9中。对于含苯酚的制剂,看到化学稳定性略低,并且间甲酚的化学稳定性与未防腐的制剂相似。在5℃的长期稳定性研究下,在12个月的稳定性研究之后,针对样品未看到明显差异,并且所有样品的归一化ZP1848-乙酸盐纯度均高于94％(数据未示出)。因此,所有所研究的制剂在至少52周的长期稳定性研究中均是稳定的。

[0349] 尽管已经结合上述实施方案描述了本发明,但是当给出本公开内容时,许多等同的修改和变化对于本领域技术人员而言将是明显的。因此,所阐述的本发明的一些实施方案被认为是举例说明性的而非限制性的。在不脱离本发明的精神和范围的情况下,可进行针对所描述的实施方案的多种改变。本文中引用的所有文献均出于所有目的通过引用整体明确地并入。

[0350] 本发明还涉及以下各项实施方案(它们对应于原申请的权利要求书):

[0351] 1.稳定的液体药物制剂,所述制剂包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0352] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0353] 其中:

[0354] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基;

[0355] X5是Ser或Thr;

[0356] X11是Ala或Ser;

[0357] R^2是NH_2或OH;以及

[0358] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0359] 其中所述制剂包含:

[0360] (a)所述GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

[0361] (b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

[0362] (c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

[0363] (d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0364] 其中所述制剂含有5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的所述GLP-2类似物。

[0365] 2.根据实施方案1所述的制剂,其中所述制剂中由所述GLP2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物。

[0366] 3.根据实施方案1或实施方案2所述的制剂,其中所述GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于所述制剂中GLP-2类似物的浓度。

[0367] 4.根据实施方案1至3中任一项所述的制剂,其中所述制剂是水性制剂。

[0368] 5.根据实施方案1至4中任一项所述的制剂,其中所述制剂当在2至8℃下储存时稳定至少18个月。

[0369] 6.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述制剂在25℃下测量的黏度为0.8至2.0mPa/秒。

[0370] 7.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述GLP-2类似物以约15mg/mL至约25mg/mL的浓度存在于所述制剂中。

[0371] 8.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述制剂是即用型制剂。

[0372] 9.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述GLP-2类似物以约20mg/mL的浓度存在于所述制剂中。

[0373] 10.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述缓冲剂以约5mM至约25mM的浓度存在于所述制剂中。

[0374] 11.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述缓冲剂是组氨酸缓冲剂。

[0375] 12.根据实施方案11所述的制剂,其中所述组氨酸缓冲剂以约15mM的浓度存在于所述制剂中。

[0376] 13.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述非离子型张力调节剂以约150mM至约250mM的浓度存在于所述制剂中。

[0377] 14.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述非离子型张力调节剂是甘露糖醇。

[0378] 15.根据实施方案14所述的制剂,其中所述甘露糖醇以约230mM的浓度存在于所述制剂中。

[0379] 16.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述制剂的pH为约6.8至约7.2。

[0380] 17.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述制剂的pH为约7.0。

[0381] 18.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述制剂由以下组成:所述GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/ml;缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂和乙酸盐缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油和山梨糖醇,浓度为约90mM至约360mM;精氨酸适量,以提供约6.6至约7.4的pH。

[0382] 19.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述制剂包含浓度为约20mg/mL的所述GLP-2类似物,浓度为约15mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230mM的甘露糖醇以及提供约7.0的pH的精氨酸适量。

[0383] 20.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述组氨酸缓冲剂是L-组氨酸。

[0384] 21.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述甘露糖醇是D-甘露糖醇。

[0385] 22.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述精氨酸是L-精氨酸/乙酸。

[0386] 23.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述制剂不含还原剂。

[0387] 24.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述制剂在2至8℃下稳定至少6个月、至少12个月、至少18个月或至少24个月。

[0388] 25.根据实施方案24所述的制剂,其中在2至8℃储存18个月之后,所述制剂中的GLP-2类似物保持其生物活性的至少约90%。

[0389] 26.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其是无菌的。

[0390] 27.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述制剂通过注射施用于对象。

[0391] 28.根据实施方案27所述的制剂,其中所述注射是皮下注射。

[0392] 29.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述GLP-2类似物作为乙酸盐提供。

[0393] 30.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述GLP-2类似物是ZP1848或ZP1848-乙酸盐。

[0394] 31.根据前述实施方案中任一项所述的制剂,其中所述制剂由以下组成:浓度为约20mg/mL的ZP1848-乙酸盐,浓度为约15mM的组氨酸缓冲剂,浓度为约230mM的甘露糖醇以及提供约7.0的pH的精氨酸适量。

[0395] 32.制品或药盒,其包含容纳实施方案1至31中任一项所述的稳定的药物制剂的容器。

[0396] 33.递送装置,其包含含有实施方案1至31中任一项所述的GLP-2类似物的液体制剂。

[0397] 34.实施方案33所述的递送装置,其中所述递送装置是预填充注射器、注射器装置、注射笔、可调剂量自动注射器、一次性自动注射器、可穿戴注射器、输注泵。

[0398] 35.实施方案1至31中任一项所述的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其用于治疗。

[0399] 36.实施方案1至31中任一项所述的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其用于用于在人患者中治疗和/或预防胃和肠相关病症的方法。

[0400] 37.实施方案36所述的用于治疗和/或预防方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述胃和肠相关病症是溃疡、消化障碍、吸收不良综合征、短肠综合征、盲管综合征、炎性肠病、腹型斯泼卢腹泻(例如由麸质诱导的肠病或者乳糜泻引起的)、热带型斯泼卢腹泻、低丙种球蛋白血症型斯泼卢腹泻、肠炎、局限性肠炎(克罗恩病)、溃疡性结肠炎、小肠损伤或短肠综合征(SBS)。

[0401] 38.实施方案37所述的用于治疗和/或预防方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述胃和肠相关病症是短肠综合征。

[0402] 39.根据实施方案36所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述胃和肠相关病症是放射性肠炎、感染性或感染后肠炎、或者由于毒剂或其他化学治疗剂引起的小肠损伤。

[0403] 40.根据实施方案39所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中用所述GLP-2类似物进行的治疗与一种或更多种抗癌治疗组合。

[0404] 41.根据实施方案40所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述抗癌治疗的治疗包括向所述患者施用一种或更多种化学治疗剂或用放射治疗来治疗所述患者。

[0405] 42.根据实施方案40或实施方案41所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述制剂用于治疗和/或预防化学治疗或放射治疗的副作用。

[0406] 43.根据实施方案42所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述化学治疗的副作用是腹泻、腹部痉挛、呕吐或由化学治疗引起的肠上皮的结构和功能损伤。

[0407] 44.根据实施方案40至43中任一项所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述人患者是患有SBS肠衰竭的患者。

[0408] 45.根据实施方案40至44中任一项所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述人患者是处于患有SBS肠功能不全与SBS肠衰竭的患者之间的界线上的患者。

[0409] 46.根据实施方案35至45中任一项所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述方法包括每周一次向所述患者施用所述GLP-2类似物。

[0410] 47.根据实施方案29至43中任一项所述的用于治疗方法的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的制剂,其中所述方法包括每周两次向所述患者施用所述GLP-2类似物。

[0411] 48.用于产生包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的稳定的液体药物制剂的方法,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0412] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0413] 其中:

[0414] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0415] X5是Ser或Thr

[0416] X11是Ala或Ser

[0417] R^2是NH_2或OH;

[0418] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0419] 其中所述方法包括将(a)浓度为约2mg/mL至约30mg/mL的所述GLP-2类似物与以下一起配制:(b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;(c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,所述非离子型张力调节剂以约90mM至约360mM的浓度存在;以及(d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0420] 其中所述制剂含有5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的所述GLP-2类似物。

[0421] 49.根据实施方案48所述的方法,其中所述GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于所述制剂中所述GLP-2类似物的浓度。

[0422] 50.根据实施方案48或实施方案49所述的方法,其中所述制剂当在2至8℃下储存时稳定至少18个月。

[0423] 51.根据实施方案48至50中任一项所述的方法,其中所述制剂中由所述GLP2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物。

[0424] 52.根据实施方案48至51中任一项所述的方法,其中所述制剂在25℃下测量的黏度为大于0.8且小于或等于2.0mpa/秒。

[0425] 53.包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的制剂用于提供液体药物制剂的用途,所述液体药物制剂当在2至8℃下储存时稳定24个月,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0426] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0427] 其中:

[0428] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0429] X5是Ser或Thr

[0430] X11是Ala或Ser

[0431] R^2是NH_2或OH;

[0432] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0433] 其中所述制剂包含:

[0434] (a)所述GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

[0435] (b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

[0436] (c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

[0437] (d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0438] 其中所述制剂含有5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的所述GLP-2类似物。

[0439] 54.根据实施方案53所述的用途,其中所述GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于所述制剂中所述GLP-2类似物的浓度。

[0440] 55.根据实施方案53或实施方案54所述的用途,其中所述制剂中由所述GLP2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物。

[0441] 56.根据实施方案53至54中任一项所述的用途,其中所述制剂在25℃下测量的黏度为0.8至2.0mpa/秒。

[0442] 57.用于调节包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的稳定的液体药物制剂的黏度的方法,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0443] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0444] 其中:

[0445] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0446] X5是Ser或Thr

[0447] X11是Ala或Ser

[0448] R^2是NH_2或OH;

[0449] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0450] 其中所述方法包括将(a)浓度为约2mg/mL至约30mg/mL的所述GLP-2类似物与以下一起配制:(b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂或MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;(c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,所述非离子型张力调节剂以约90mM至约360mM的浓度存在;以及(d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0451] 其中所述制剂中由所述GLP2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物,并且其中所述制剂在25℃下测量的黏度为大于0.8且小于或等于2.0mPa/秒。

[0452] 58.用于在稳定的液体药物制剂中降低胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的共价键合的寡聚体产物形成的方法,所述液体药物制剂包含由下式表示的GLP-2类似物或其可药用盐或衍生物:

[0453] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0454] 其中:

[0455] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0456] X5是Ser或Thr

[0457] X11是Ala或Ser

[0458] R^2是NH_2或OH;

[0459] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0460] 其中所述方法包括将(a)浓度为约2mg/mL至约30mg/mL的所述GLP-2类似物与以下一起配制:(b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂或MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;(c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,所述非离子型张力调节剂以约90mM至约360mM的浓度存在;以及(d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0461] 其中所述制剂含有5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的所述GLP-2类似物。

[0462] 59.实施方案58所述的方法,其中所述GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于所述制剂中所述GLP-2类似物的浓度。

[0463] 60.制剂用于在液体药物制剂中降低胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的共价键合的寡聚体产物形成的用途,所述液体药物制剂当在2至8℃下储存时稳定24个月,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0464] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0465] 其中:

[0466] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0467] X5是Ser或Thr

[0468] X11是Ala或Ser

[0469] R^2是NH_2或OH;

[0470] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0471] 其中所述制剂包含:

[0472] (a)所述GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

[0473] (b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

[0474] (c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

[0475] (d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0476] 其中所述制剂含有5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的所述GLP-2类似物。

[0477] 61.根据实施方案60所述的用途,其中所述GLP-2类似物的共价连接的寡聚体的形成负相关地依赖于所述制剂中所述GLP-2类似物的浓度。

[0478] 62.制剂用于在包含胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物或其可药用盐或衍生物的液体药物制剂中调节液体药物制剂的黏度的用途,所述液体药物制剂当在2至8℃下储存时稳定24个月,其中所述GLP-2类似物由下式表示:

[0479] R^1-Z^1-His-Gly-Glu-Gly-X5-Phe-Ser-Ser-Glu-Leu-X11-Thr-Ile-Leu-Asp-Ala-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Ile-Ala-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Z^2-R^2

[0480] 其中:

[0481] R^1是氢、C_{1-4}烷基(例如甲基)、乙酰基、甲酰基、苯甲酰基或三氟乙酰基

[0482] X5是Ser或Thr

[0483] X11是Ala或Ser

[0484] R^2是NH_2或OH;

[0485] Z^1和Z^2独立地不存在,或是具有1至6个Lys氨基酸单元的肽序列;

[0486] 其中所述制剂包含:

[0487] (a)所述GLP-2类似物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

[0488] (b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

[0489] (c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

[0490] (d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0491] 其中所述制剂中由所述GLP2类似物产生的总乙酸盐浓度为小于或等于11%乙酸盐/mg GLP-2类似物,并且所述制剂在25℃下测量的黏度为0.8至2.0mPa/秒。

[0492] 63.固体组合物,其包含具有下式的胰高血糖素样肽2(GLP-2)类似物的乙酸盐:

[0493] (H-HGEGTFSSELATILDALAARDFIAWLIATKITDKKKKKK-NH2),x(CH_3COOH),其中x为1.0

至8.0。

[0494] 64.实施方案63所述的固体组合物,其中x为4.0至6.0。

[0495] 65.实施方案63所述的固体组合物,其中x为2.0至7.0。

[0496] 66.实施方案63所述的固体组合物,其中x为3.0至6.0。

[0497] 67.实施方案63所述的固体组合物,其中x为4.0至6.0。

[0498] 68.实施方案63所述的固体组合物,其中x为4.0至8.0。

[0499] 69.稳定的水性药物制剂,所述制剂包含

[0500] (a)实施方案63至67所述的固体组合物,其浓度为约2mg/mL至约30mg/mL;

[0501] (b)缓冲剂,其选自组氨酸缓冲剂、甲磺酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、甘氨酸缓冲剂、赖氨酸缓冲剂、TRIS缓冲剂、Bis-Tris缓冲剂和MOPS缓冲剂,所述缓冲剂以约5mM至约50mM的浓度存在;

[0502] (c)非离子型张力调节剂,其选自甘露糖醇、蔗糖、甘油、山梨糖醇和海藻糖,浓度为约90mM至约360mM;以及

[0503] (d)精氨酸适量,以提供pH为约6.6至约7.4的制剂;

[0504] 其中所述制剂含有5%或更少的作为共价键合的寡聚体产物形式的所述GLP-2类似物,并且其中所述制剂在25℃下测量的黏度为0.8至2.0mPa/秒。

[0505] 70.实施方案69所述的制剂,其中所述制剂当在2至8℃下储存时稳定至少18个月。

[0506] 71.实施方案69或实施方案70所述的制剂,其中在2至8℃储存18个月之后,所述制剂中的所述GLP-2类似物保持其生物活性的至少约90%。

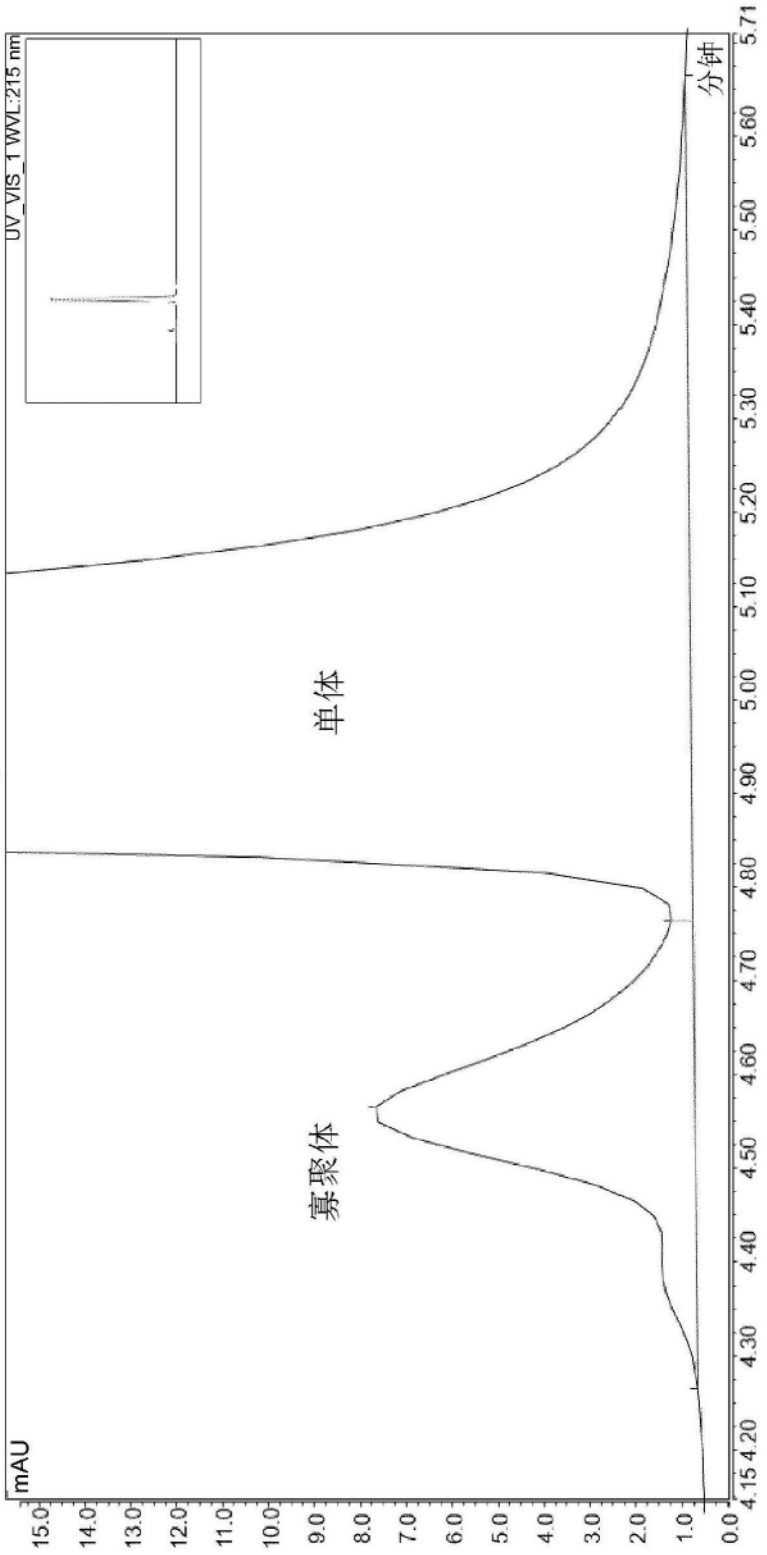

UV_VIS_1 WVL:215 nm
mAU
分钟
寡聚体
单体
15.0
14.0
13.0
12.0
11.0
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
4.15 4.20 4.30 4.40 4.50 4.60 4.70 4.80 4.90 5.00 5.10 5.20 5.30 5.40 5.50 5.60 5.71

图1

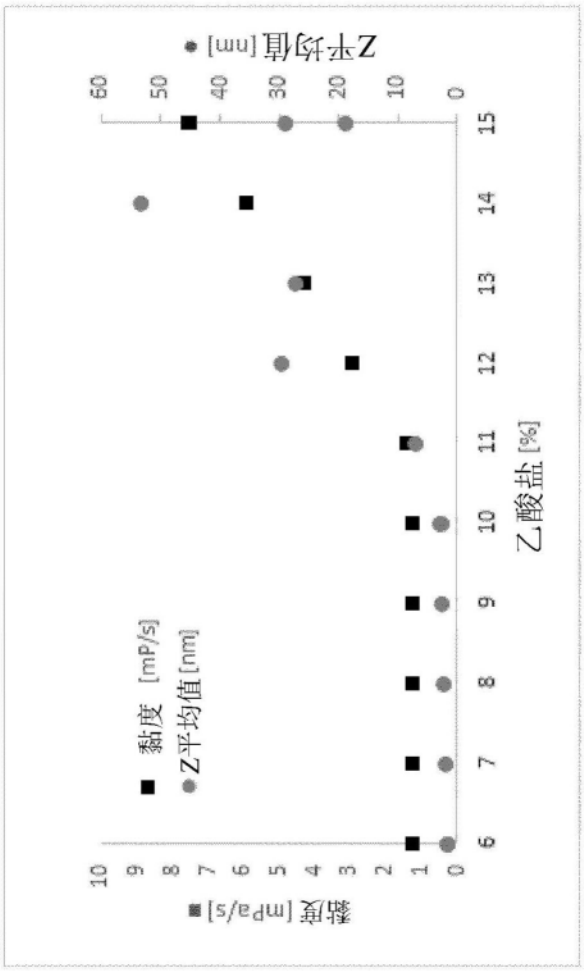

Z平均值 [nm]
60
50
40
30
20
10
0
15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
乙酸盐 [%]
黏度 [mP/s]
Z平均值 [nm]
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
黏度 [mPa/s]

图2

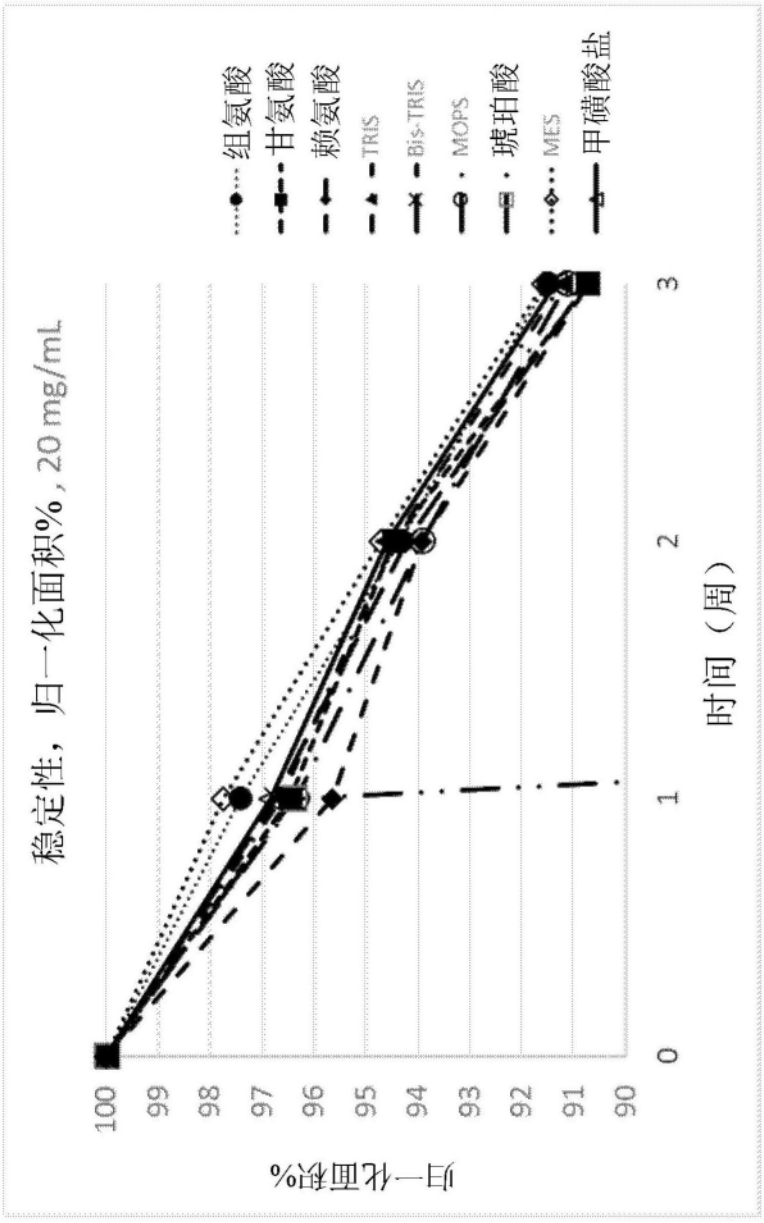

稳定性，归一化面积%，20 mg/mL
归一化面积%
100
99
98
97
96
95
94
93
92
91
90
0
1
2
3
时间（周）
组氨酸
甘氨酸
赖氨酸
TRIS
Bis-TRIS
MOPS
琥珀酸
MES
甲磺酸盐

图3

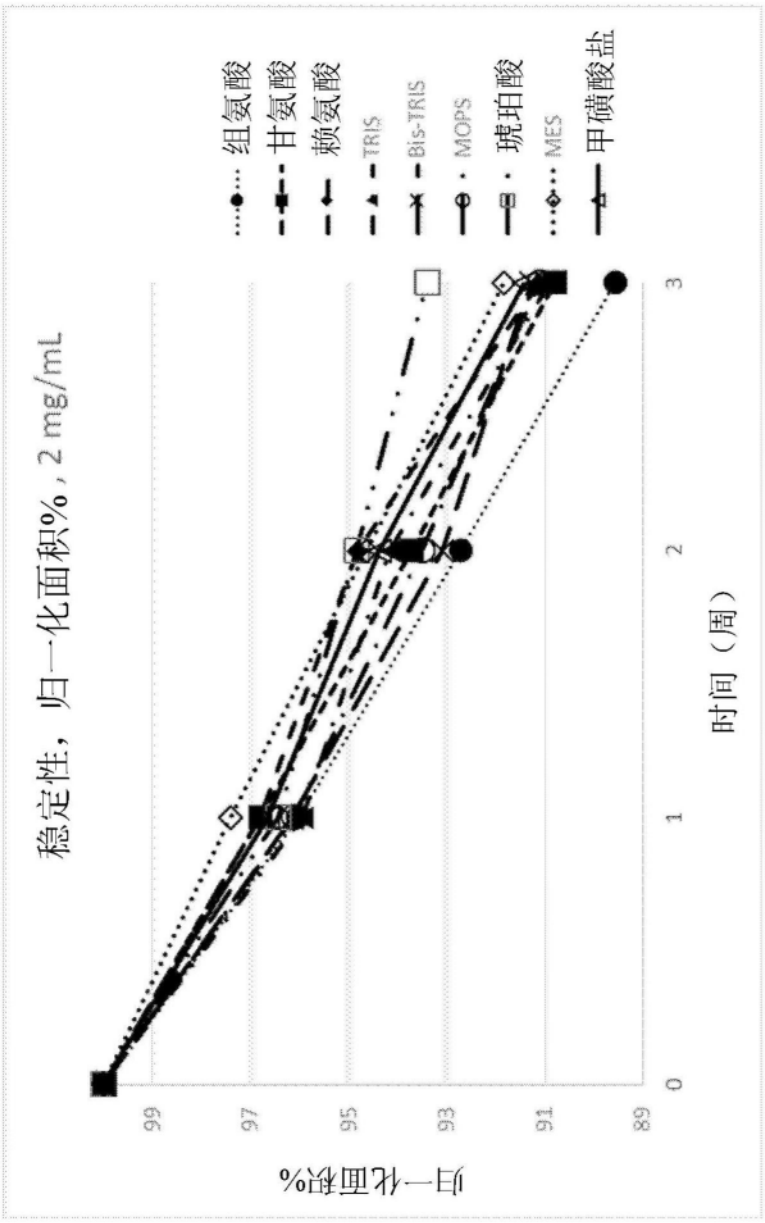

稳定性，归一化面积%，2 mg/mL
归一化面积%
99
97
95
93
91
89
0
1
2
3
时间（周）
组氨酸
甘氨酸
赖氨酸
TRIS
Bis-TRIS
MOPS
琥珀酸
MES
甲磺酸盐

图4

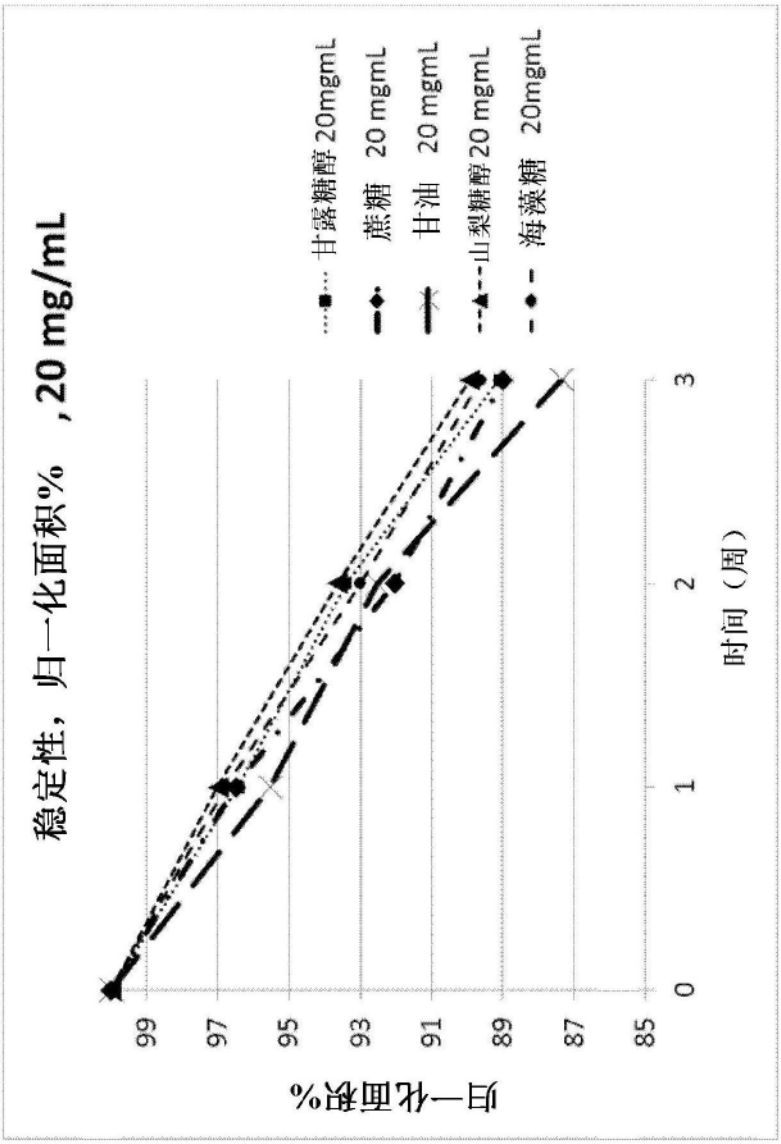

稳定性，归一化面积% ，20 mg/mL
甘露糖醇 20mgmL
蔗糖 20 mgmL
甘油 20 mgmL
山梨糖醇 20 mgmL
海藻糖 20mgmL
归一化面积%
99
97
95
93
91
89
87
85
0
1
2
3
时间（周）

图5

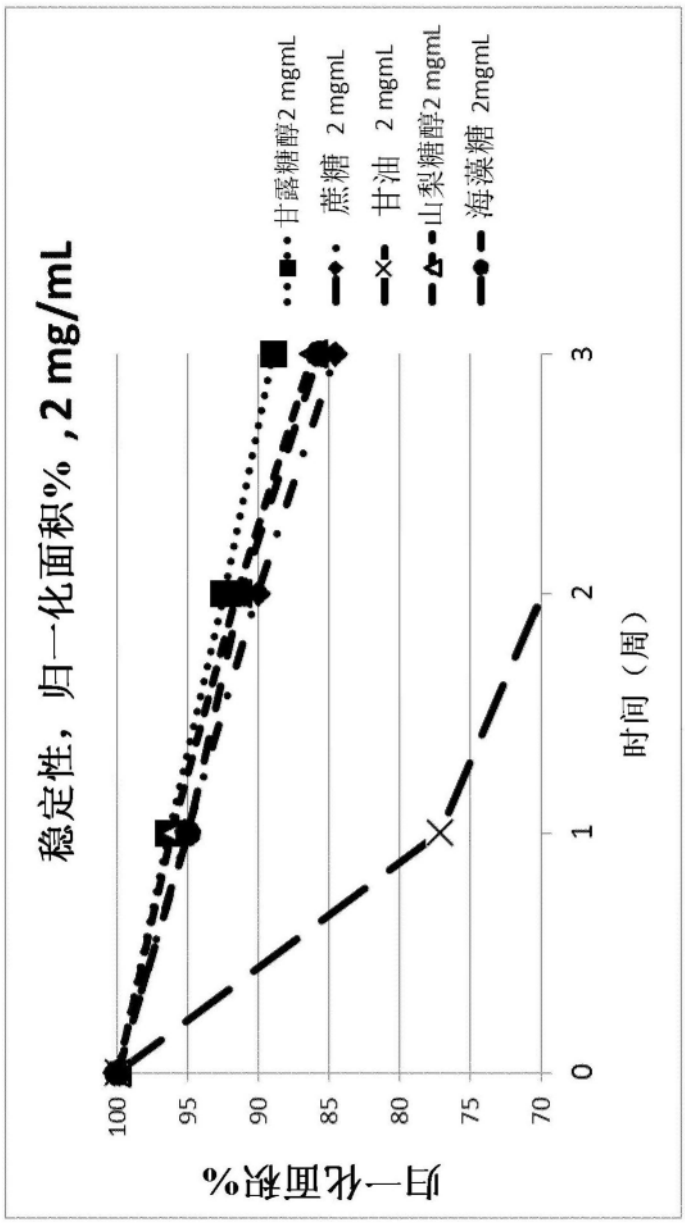

稳定性，归一化面积%，2 mg/mL
甘露糖醇2 mgmL
蔗糖 2 mgmL
甘油 2 mgmL
山梨糖醇2 mgmL
海藻糖 2mgmL
归一化面积%
100
95
90
85
80
75
70
0
1
2
3
时间（周）

图6

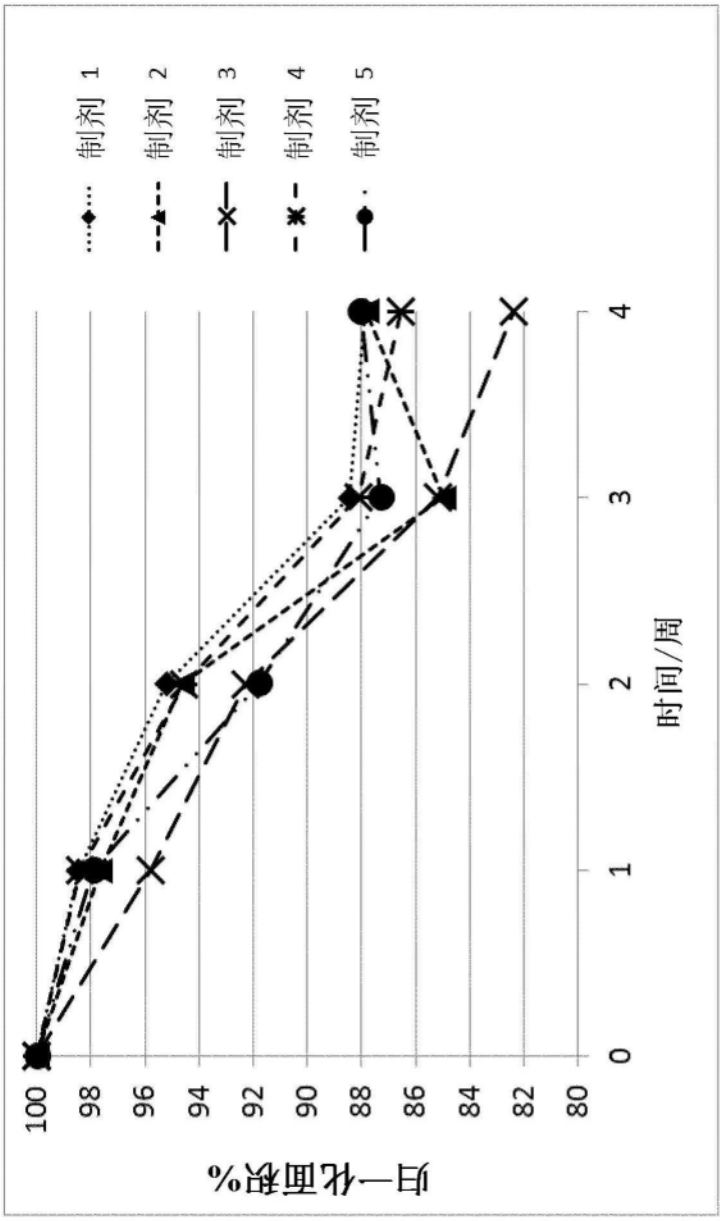

制剂 1
制剂 2
制剂 3
制剂 4
制剂 5
归一化面积%
100
98
96
94
92
90
88
86
84
82
80
0
1
2
3
4
时间/周

图7

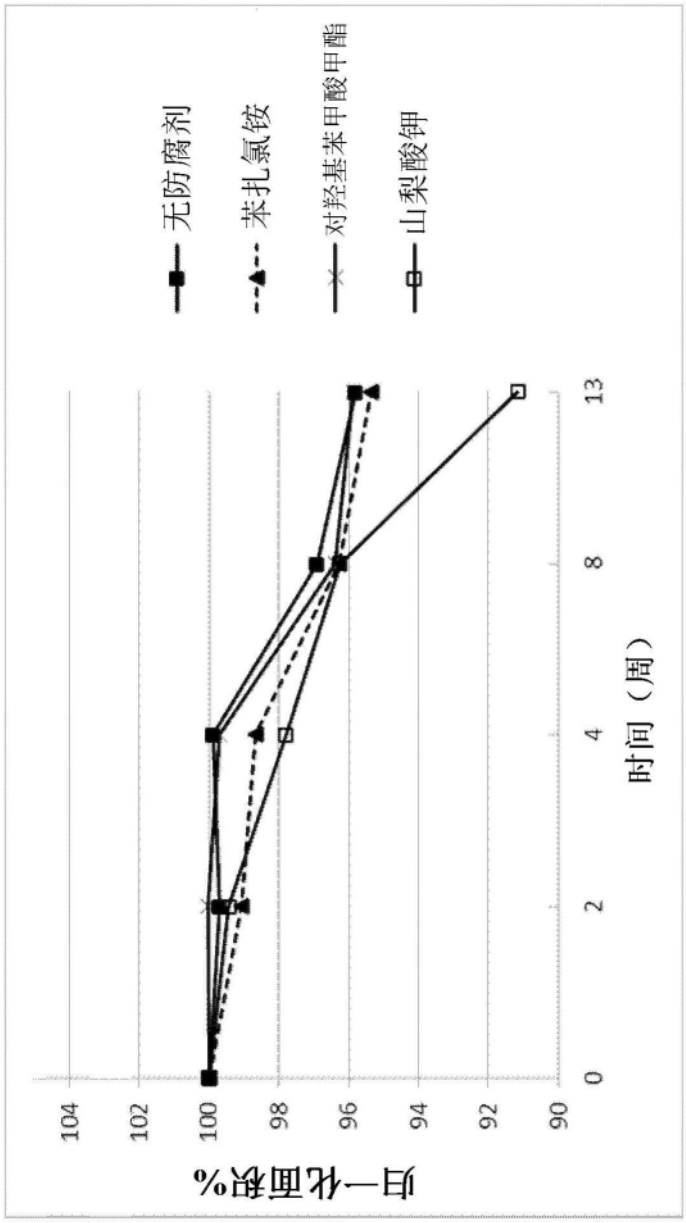

无防腐剂
苯扎氯铵
对羟基苯甲酸甲酯
山梨酸钾
归一化面积%
104
102
100
98
96
94
92
90
0
2
4
8
13
时间（周）

图8

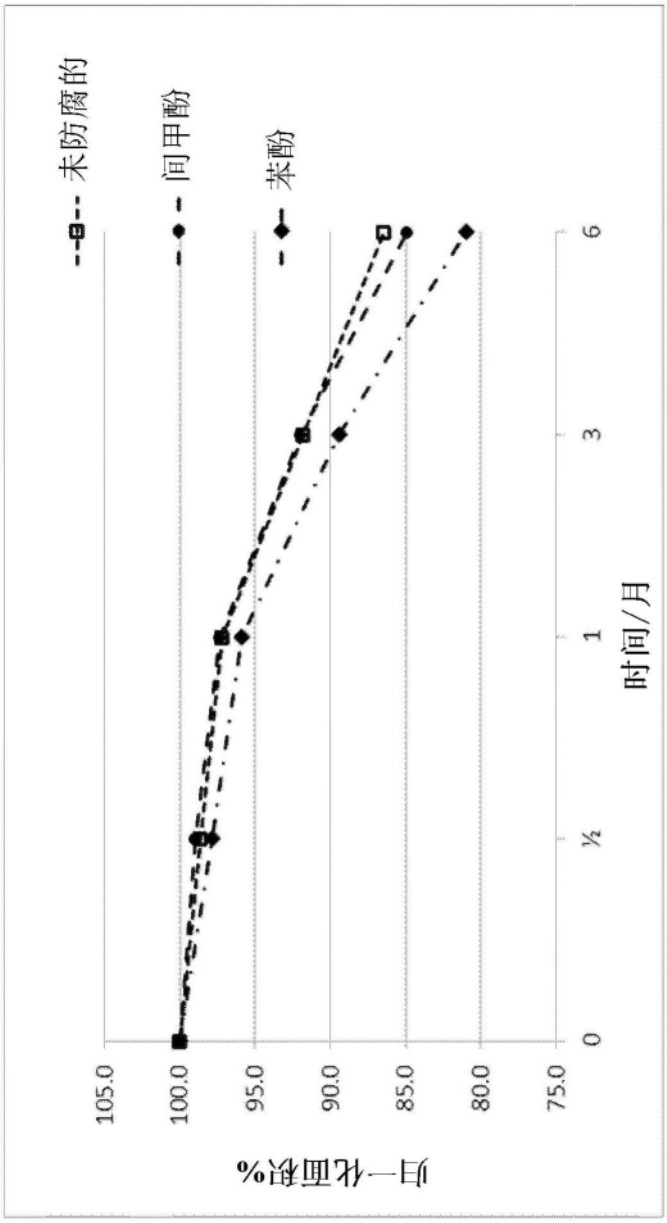


图9