(19)日本国特許庁(JP)　　(12)公開特許公報(A)　　(11)公開番号
特開2023-123742
(P2023-123742A)
(43)公開日　令和5年9月5日(2023.9.5)

(51)国際特許分類			FI		
A61K	*38/22*	*(2006.01)*	A61K	38/22	ZNA
A61K	*38/02*	*(2006.01)*	A61K	38/02	
A61K	*47/14*	*(2017.01)*	A61K	47/14	
A61K	*47/10*	*(2017.01)*	A61K	47/10	
A61K	*47/22*	*(2006.01)*	A61K	47/22	

審査請求　有　請求項の数　39　ＯＬ　外国語出願　（全31頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-106969(P2023-106969)
(22)出願日　令和5年6月29日(2023.6.29)
(62)分割の表示　特願2021-555499(P2021-555499)の分割
原出願日　令和2年3月11日(2020.3.11)
(31)優先権主張番号　62/819,096
(32)優先日　平成31年3月15日(2019.3.15)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(71)出願人　594197872
イーライ リリー アンド カンパニー
アメリカ合衆国 インディアナ州 ４６２８５ インディアナポリス リリー コーポレイト センター （番地なし）
(74)代理人　100145403
弁理士　山尾 憲人
(74)代理人　100126778
弁理士　品川 永敏
(74)代理人　100162684
弁理士　呉 英燦
(72)発明者　ミシュラ，ディネシュ シャムデオ
アメリカ合衆国４６２０６－６２８８インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス６２８８、イー
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　保存製剤

(57)【要約】　（修正有）
【課題】非経口投与に適した、タンパク質またはペプチドと界面活性剤を含有する医薬組成物を提供する。
【解決手段】ａ）タンパク質またはペプチドと、ｂ）非イオン性界面活性剤と、ｃ）フェノール防腐剤と、ｄ）溶媒変性剤と、を含み、前記非イオン性界面活性剤および前記フェノール防腐剤が、溶媒変性剤の非存在下でそれらの濃度閾値を超える濃度で存在し、前記溶媒変性剤が、溶液が透明なままであることを保証するのに十分な濃度で存在する、水性組成物を提供する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
水性組成物であって、
ａ）タンパク質またはペプチドと、
ｂ）非イオン性界面活性剤と、
ｃ）フェノール防腐剤と、
ｄ）溶媒変性剤と、を含み、
前記非イオン性界面活性剤および前記フェノール防腐剤が、溶媒変性剤の非存在下でそれらの濃度閾値を超える濃度で存在し、
前記溶媒変性剤が、溶液が透明なままであることを保証するのに十分な濃度で存在する、水性組成物。
【請求項２】
前記タンパク質またはペプチドが、約０．１～約１００ｍｇ／ｍＬの範囲の濃度で存在する、請求項１に記載の組成物。
【請求項３】
前記タンパク質またはペプチドが、約０．５～約５０ｍｇ／ｍＬの範囲の濃度で存在する、請求項１に記載の組成物。
【請求項４】
前記タンパク質またはペプチドが、約１～約１０ｍｇ／ｍＬの範囲の濃度で存在する、請求項１に記載の組成物。
【請求項５】
前記タンパク質またはペプチドがデュラグルチドである、請求項１～４のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項６】
デュラグルチドの濃度が約１．５～約９ｍｇ／ｍＬである、請求項５に記載の組成物。
【請求項７】
前記デュラグルチドの濃度が、約１．５、約３．０、約６．０および約９．０ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される、請求項６に記載の組成物。
【請求項８】
前記非イオン性界面活性剤が、ポリソルベート２０、ポリソルベート８０、ポロキサマー１８８、ポロキサマー４０７およびそれらの混合物からなる群から選択される、請求項１～７のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項９】
前記非イオン性界面活性剤が、約０．１ｍｇ／ｍＬ～約０．４ｍｇ／ｍＬの濃度のポリソルベート８０である、請求項８に記載の組成物。
【請求項１０】
ポリソルベート８０の濃度が、約０．２ｍｇ／ｍＬおよび約０．２５ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される、請求項９に記載の組成物。
【請求項１１】
前記フェノール防腐剤が、フェノール、ｍ－クレゾール、ベンジルアルコールおよびフェノキシエタノールからなる群から選択される、請求項１～１０のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１２】
前記フェノール防腐剤がフェノールである、請求項１１に記載の組成物。
【請求項１３】
フェノール濃度が約４ｍｇ／ｍＬである、請求項１２に記載の組成物。
【請求項１４】
前記フェノール防腐剤がフェノールとｍ－クレゾールの混合物である、請求項１～１０のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１５】

前記フェノール濃度が約３．５ｍｇ／ｍＬであり、前記ｍ－クレゾール濃度が約０．３２ｍｇ／ｍＬである、請求項１４に記載の組成物。
【請求項１６】
前記溶媒変性剤が、ＰＰＧ、グリセロール、ＰＥＧ４００およびＮＭＰからなる群から選択される、請求項１～１５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１７】
前記溶媒変性剤がＰＰＧである、請求項１～１５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１８】
ＰＰＧ濃度が約１５ｍｇ／ｍＬである、請求項１７に記載の組成物。
【請求項１９】
前記溶媒変性剤がグリセロールである、請求項１～１６のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２０】
前記グリセロール濃度が約２０ｍｇ／ｍＬである、請求項１９に記載の組成物。
【請求項２１】
前記組成物が緩衝液をさらに含む、請求項１～２０のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２２】
前記緩衝液が、ＴＲＩＳ、リン酸塩およびクエン酸塩からなる群から選択される、請求項２１に記載の組成物。
【請求項２３】
緩衝液がクエン酸塩である、請求項２２に記載の組成物。
【請求項２４】
クエン酸塩濃度が１０ｍＭである、請求項２３に記載の組成物。
【請求項２５】
前記組成物のｐＨが約６～８である、請求項１～２４のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２６】
前記組成物のｐＨが約６．５である、請求項１～２５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２７】
ａ）デュラグルチドと、
ｂ）ＰＳ８０と、
ｃ）フェノール、ｍ－クレゾールおよびそれらの混合物からなる群から選択されるフェノール防腐剤と、
ｄ）ＮＭＰ、ＰＥＧ４００、ＰＰＧおよびグリセロールからなる群から選択される溶媒変性剤と、を含む、組成物。
【請求項２８】
ＰＳ８０の濃度が約０．２ｍｇ／ｍＬである、請求項２７に記載の組成物。
【請求項２９】
デュラグルチド濃度が、約１．５ｍｇ／ｍＬ、約３ｍｇ／ｍＬ、約６ｍｇ／ｍＬおよび約９ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される、請求項２８に記載の組成物。
【請求項３０】
前記フェノール防腐剤が約４ｍｇ／ｍＬのフェノールである、請求項２９に記載の組成物。
【請求項３１】
前記フェノール防腐剤が、約３．５ｍｇ／ｍＬのフェノールと約０．３２ｍｇ／ｍＬのｍ－クレゾールの組み合わせである、請求項３０に記載の組成物。
【請求項３２】
前記溶媒変性剤がＰＰＧである、請求項２８～３１のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項３３】
ＰＰＧの濃度が約１５ｍｇ／ｍＬである、請求項３２に記載の組成物。
【請求項３４】

前記溶媒変性剤がグリセロールである、請求項２８～３１のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項３５】
グリセロールの濃度が約２０ｍｇ／ｍＬである、請求項３４に記載の組成物。
【請求項３６】
１０ｍＭクエン酸緩衝液をさらに含み、前記組成物のｐＨが６．５である、請求項２８～３５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項３７】
請求項１～３６のいずれか一項に記載の組成物を調製するための方法であって、
ａ）緩衝液を調製することまたは得ることと、
ｂ）前記溶媒変性剤を添加することと、
ｃ）前記フェノール防腐剤を添加することと、
ｄ）前記タンパク質またはペプチドを添加することと、
ｅ）前記非イオン性界面活性剤を添加することと、を含む、方法。
【請求項３８】
非イオン性界面活性剤およびフェノール防腐剤をそれらの濃度閾値を超えて含む水性組成物を調製する方法であって、前記組成物が透明なままであることを保証するのに十分な濃度の溶媒変性剤を前記組成物中に含むことを含む、方法。
【請求項３９】
前記組成物が、請求項１～３５に記載の組成物のいずれかを含む、請求項３８に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
本発明は、非経口投与に適した、保存された界面活性剤含有医薬組成物に関する。組成物は、メタクレゾールまたはフェノール等の１つまたは複数の保存剤、ポリソルベート８０（ＰＳ８０）等の１つまたは複数の界面活性剤、デュラグルチド等の１つまたは複数の医薬品有効成分（ＡＰＩ）、およびプロピレングリコール（ＰＰＧ）、Ｎ－メチル－２－ピロリドン（ＮＭＰ）、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）４００またはグリセロール等の１つまたは複数の溶媒変性剤を含む。
【０００２】
タンパク質およびペプチドベースの医薬品は、典型的には、経口投与した場合のタンパク質およびペプチドの消化管でのタンパク質分解に対する感受性のために非経口的に投与されなければならず、場合によっては、保存中および使用中の条件全体を通してタンパク質の安定性を確保するために、非イオン性界面活性剤を用いて製剤化する必要がある。しかしながら、特定のレベルを超える界面活性剤濃度を必要とするそのような界面活性剤含有製剤の限界は、界面活性剤と防腐剤との相互作用が許容できない目に見える沈殿物の形成をもたらすため、それらを複数回使用する形態として十分に保存することができないことである。界面活性剤と防腐剤とのこの非相溶性は以前に認識されている。例えば、Ｓ．Ｋａｚｍｉ ａｎｄ Ａ．Ｍｉｔｃｈｅｌｌ，Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｐｒｅｓｅｒｖａｔｉｖｅｓ ｗｉｔｈ Ｃｅｔｏｍａｃｒｏｇｏｌ，２３Ｊ．ＰＨＡＲＭ．ＰＨＡＲＭＡＣ．４８２－４８９（１９７０）；Ｊ．Ｂｌａｎｃｈａｒｄ，Ｅｆｆｅｃｔ ｏｆ Ｓｏｒｂｉｔｏｌ ｏｎ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｐｈｅｎｏｌｉｃ Ｐｒｅｓｅｒｖａｔｉｖｅｓ ｗｉｔｈ Ｐｏｌｙｓｏｒｂａｔｅ ８０，６６Ｊ．ＰＨＡＲＭ．ＳＣＩ．１０，１４７１－１４７２（１９７７）；Ｊ．Ｂｌａｎｃｈａｒｄ，Ｅｆｆｅｃｔ ｏｆ Ｐｏｌｙｏｌｓ ｏｎ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｐａｒａｂｅｎ Ｐｒｅｓｅｒｖａｔｉｖｅｓ ｗｉｔｈ Ｐｏｌｙｓｏｒｂａｔｅ ８０，６９Ｊ．ＰＨＡＲＭ．ＳＣＩ．２，１６９－１７３（１９８０）；Ｒ．Ｔｏｒｏｓａｎｔｕｃｃｉ，Ｐｒｏｔｅｉｎ－Ｅｘｃｉｐｉｅｎｔ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓ Ｅｖａｌｕａｔｅｄ ｖｉａ Ｎｕｃｌｅａｒ Ｍａｇｎｅｔｉｃ Ｒｅｓｏｎａｎｃｅ Ｓｔｕｄｉｅｓ ｉｎ Ｐｏｌｙｓｏｒｂａｔｅ－Ｂａｓｅｄ Ｍｕｌｔｉｄｏｓｅ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｆｏ

ｒｍｕｌａｔｉｏｎｓ：Ｉｎｆｌｕｅｎｃｅ ｏｎ Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂｉａｌ Ｅｆｆｉｃａｃｙ ａｎｄ Ｐｏｔｅｎｔｉａｌ Ｓｔｕｄｙ Ａｐｐｒｏａｃｈ，１０７Ｊ．ＰＨＡＲＭ．ＳＣＩ．１０，２５３１－２５３７（２０１８）．を参照されたい。しかしながら、その非相溶性に対する解決策は記載されていない。

【０００３】

したがって、安定剤として特定の濃度の界面活性剤を必要とする現在入手可能なタンパク質およびペプチドベースの医薬品は、保存されていない単回使用製剤として販売されている。例えば、デュラグルチドは、ＴＲＵＬＩＣＩＴＹ（商標）の商品名で販売されているグルカゴン様ペプチド１（ＧＬＰ－１）受容体アゴニスト融合タンパク質であり、安定化の目的で０．２０ｍｇ／ｍＬのポリソルベート８０を必要とするが、規制要件を満たすのに十分な濃度でフェノール防腐剤を添加した場合に起こる相分離のためにフェノール防腐剤を含まない。皮下使用については、ＴＲＵＬＩＣＩＴＹ（デュラグルチド）注射、処方情報のハイライトを参照されたい（２０１４年に最初に米国ＦＤＡが承認）。したがって、デュラグルチドは現在、１回使用した後に廃棄しなければならないデバイスで販売されており、保存された複数回使用製品と比較して、売却原価（ＣＯＰＳ）の増加および物理的廃棄物の増加等の欠点と関連している。

【０００４】

デュラグルチドの現在の市販製剤に使用されているものと同様の濃度の界面活性剤、または無菌性の規制要件を満たすのに十分な濃度の防腐剤を含むタンパク質またはペプチドベースの医薬品の製剤は、両方ではないが、以前に記載されている。例えば、米国特許出願第２００９／０２３２８０７号は、ＧＬＰ－１－Ｆｃ融合タンパク質の製剤について記載しており、該出願がＴｗｅｅｎ８０（登録商標）（ポリソルベート８０としても知られる）等の「可溶化剤」およびｍ－クレゾール等の防腐剤として記載するものを含む様々な賦形剤のカテゴリおよび例を列挙している。しかしながら、該出願は、記載される「可溶化剤」および記載される防腐剤の両方を含む製剤のいずれの例または実施形態も提供していない。米国特許出願第２０１００１９６４０５は、約０．２％（ｗ／ｖ）の濃度でポリソルベート８０を含む製剤等のデュラグルチドの製剤について記載している。しかしながら、該出願は、防腐剤を含む製剤については記載していない。

【０００５】

タンパク質またはペプチドを安定化するのに十分な濃度の界面活性剤と、複数回使用する注射用製品の抗菌要件を満たすのに十分な濃度の防腐剤を含む製剤の必要性が残っている。

【０００６】

一態様では、本発明は、

ａ）タンパク質またはペプチドと、

ｂ）非イオン性界面活性剤と、

ｃ）フェノール防腐剤と、

ｄ）溶媒変性剤と、を含み、

非イオン性界面活性剤およびフェノール防腐剤が、溶媒変性剤の非存在下でそれらの濃度閾値を超える濃度で存在し、溶媒変性剤が、溶液が透明なままであることを保証するのに十分な濃度で存在する、組成物を提供する。

【０００７】

別の態様では、本発明は、溶媒変性剤を組成物中に含むことを含む、溶媒変性剤の非存在下で、非イオン性界面活性剤およびフェノール防腐剤をそれらの濃度閾値を超える濃度で含む透明な製剤を調製する方法を提供する。

【０００８】

別の態様では、本発明は、

ａ）タンパク質またはペプチドと、

ｂ）非イオン性界面活性剤と、

ｃ）フェノール防腐剤と、

ｄ）溶媒変性剤と、を含み、
非イオン性界面活性剤およびフェノール防腐剤が、溶媒変性剤の非存在下でそれらの濃度閾値を超える濃度で存在し、溶媒変性剤が、溶液が透明なままであることを保証するのに十分な濃度で存在する水性組成物を含む、製造物品を提供する。

【０００９】

別の態様では、本発明は、非イオン性界面活性剤およびフェノール防腐剤をそれらの濃度閾値を超えて含む組成物を調製する方法であって、組成物が透明なままであることを保証するのに十分な濃度の溶媒変性剤を組成物中に含むことを含む、方法を提供する。

【００１０】

上記のように、界面活性剤は、タンパク質またはペプチドのＡＰＩを安定させるために、多くのタンパク質またはペプチドベースの医薬品の製剤に含まれる。本明細書で使用される場合、「タンパク質またはペプチドベースの医薬品」という用語は、対象の疾患または状態を治療または予防する際に使用するための薬学的に許容される組成物を指し、該組成物は、ペプチドまたはタンパク質である少なくとも１つのＡＰＩを含む。ペプチドおよびタンパク質は時々サイズによって区別され、ペプチドが２～５０アミノ酸を有し、タンパク質が５０アミノ酸超を有するが、本明細書に記載の製剤は、ペプチドまたはタンパク質である１つまたは複数のＡＰＩを含む医薬品に等しく適用できるため、その２つの違いは本発明の目的には関係ない。本発明の製剤は、安定性の目的で非イオン性界面活性剤を必要とする多種多様なタンパク質またはペプチドベースの薬物に適用可能であり得る。

【００１１】

本発明の製剤に使用するのに好ましい薬物はデュラグルチドであり、これは、免疫グロブリンのＦｃ部分のアナログのＮ末端にペプチドリンカーを介してそのＣ末端で融合しているＧＬＰ－１アナログの二量体を含むヒトＧＬＰ－１Ｒアゴニストであり、ＣＡＳ登録番号９２３９５０－０８－７で識別され、以下の化学名を提供する：免疫グロブリンＧ４（合成ヒトＦｃ断片）、二量体を含む、ペプチド（合成１６－アミノ酸リンカー）融合タンパク質を含む、７－３７－グルカゴン様ペプチドＩ［８－グリシン、２２－グルタミン酸、３６－グリシン］（合成ヒト）融合タンパク質。デュラグルチドの各単量体は、配列番号１に記載のアミノ酸配列を有する：

【化１】

```
          10         20         30         40         50         60
HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGGSGGGGSGGGGSAESKYGPPCPPCPA
          70         80         90         100        110        120
PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
          130        140        150        160        170        180
REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL
          190        200        210        220        230        240
PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT
          250        260        270
VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
```

（配列番号１）。

【００１２】

２つの単量体は５５位と５８位のシステイン残基間のジスルフィド結合によって結合して二量体を形成する。デュラグルチドの構造、機能、生成、およびＴ２ＤＭの治療における使用は、ＵＳ７，４５２，９６６および米国特許出願第ＵＳ２０１００１９６４０５号により詳細に記載されている。本明細書で使用される場合、用語「デュラグルチド」は、配列番号１のアミノ酸配列を有する２つの単量体の任意のＧＬＰ－１Ｒアゴニストタンパク質二量体を指し、当該タンパク質の承認を求める当事者が実際にそのタンパク質をデュラグルチドとして特定するか、またはいくつかの他の用語を使用するかどうかにかかわら

ず、Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ　ａｎｄ　Ｃｏｍｐａｎｙによって規制当局に提出されたデュラグルチドに関係するデータに全体的または部分的に依存する、ＧＬＰ－１Ｒアゴニスト生成物の承認を求める規制提出書類の対象である任意のタンパク質を含む。

【００１３】

本発明の形成に使用され得るタンパク質またはペプチドの他の例として、以下の実施例に記載されるもの、ならびに他のＦｃ融合タンパク質、他のＧＬＰ－１アゴニスト、胃抑制ペプチド（ＧＩＰ）受容体アゴニスト、グルカゴン受容体アゴニスト、ペプチドＹＹ（ＰＹＹ）およびそれらの変異体、ＧＤＦ１５およびその変異体等の成長分化（ＧＤＦ）因子、アミリン受容体アゴニスト、カルシトニン受容体アゴニストならびにインターロイキンおよびそれらの変異体が挙げられるが、これらに限定されない。

【００１４】

多くのタンパク質およびペプチドは、水溶液中で製剤化されると変性および／または凝集しやすく、そのような問題を軽減するために、そのようなタンパク質およびペプチドの製剤には界面活性剤が添加されることが多い。界面活性剤は、親水性部分と疎水性部分を有し、かつ、水溶液中で凝集してミセルとして知られる凝集体を形成する傾向がある分子で構成されているペプチドベースまたはタンパク質ベースの医薬品の水溶液に界面活性剤を含めると、溶液の表面張力が低下し、ペプチドまたはタンパク質が容器内のいずれかの酸素と接触するのを防ぐのに役立つ。非経口医薬組成物に使用するために開示された界面活性剤の例として、ポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ（登録商標）２０）およびポリソルベート８０（ＴＷＥＥＮ（登録商標）８０）等のポリソルベート、ならびにポロキサマー１８８（ＣＡＳ番号９００３－１１－６、商品名ＰＬＵＲＯＮＩＣ（登録商標）Ｆ－６８で販売）およびポロキサマー４０７（ＰＬＵＲＯＮＩＣ（登録商標）Ｆ１２７）等のブロック共重合体が挙げられる。

【００１５】

本発明の製剤は、１つまたは複数の非イオン性界面活性剤を含む。特定の実施形態において、非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート型の界面活性剤である。ポリソルベートは、脂肪酸エステル化されたエトキシ化ソルビタンであり、特定のポリソルベートは、ポリオキシエチレンソルビタンに関連する脂肪酸エステルの種類によって識別される。例えば、ポリソルベート２０はモノラウレートを含み、ポリソルベート４０はモノパルミテートを含み、ポリソルベート６０はモノステアレートを含み、ポリソルベート８０はモノオレエートを含む。ポリソルベート２０およびポリソルベート８０は、非経口投与用の医薬製品において一般的に使用される界面活性剤であり、本発明の特定の好ましい実施形態において界面活性剤（複数可）として含まれる。他の実施形態において、非イオン性界面活性剤はポロキサマーである。ポロキサマーは、ポリオキソプロピレン鎖と２つのポリオキシエチレン鎖で構成されるブロック共重合体であり、一般に、ポリオキシプロピレンコアの質量およびポリオキシエチレンの割合を示す数によって分類される。例として、ポロキサマー１８８およびポロキサマー４０７が挙げられる。特に、ポロキサマー１８８は、非経口投与用の医薬製品において一般的に使用される界面活性剤であり、本発明の特定の好ましい実施形態において界面活性剤（複数可）として含まれる。

【００１６】

特定の好ましい実施形態において、非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート８０、ポリソルベート２０およびポロキサマー１８８からなる群から選択される。特定の実施形態において、非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート８０である。特定の実施形態において、ポリソルベート８０の濃度は、約０．０１ｍｇ／ｍＬ～約１ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ポリソルベート８０の濃度は、約０．０５ｍｇ／ｍＬ～約０．５ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ポリソルベート８０の濃度は、約０．１ｍｇ／ｍＬ～約０．４ｍｇ／ｍＬである。特定の好ましい実施形態において、ポリソルベート８０の濃度は、約０．２ｍｇ／ｍＬ～約３ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ポリソルベート８０の濃度は、約０．２ｍｇ／ｍＬおよび約０．２５ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される。特定の実施形態において、ポリソルベート８０の濃度は、約０．２ｍ

ｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ポリソルベート８０の濃度は、約０．２５ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート２０である。特定の実施形態において、ポリソルベート２０の濃度は、約０．０１ｍｇ／ｍＬ～約１ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ポリソルベート２０の濃度は、約０．０５ｍｇ／ｍＬ～約０．５ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ポリソルベート２０の濃度は、約０．１ｍｇ／ｍＬ～約０．４ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、非イオン性界面活性剤は、ポロキサマー１８８である。特定の実施形態において、ポロキサマー１８８の濃度は、約０．０１～約２ｍｇ／ｍＬの範囲である。特定の実施形態において、ポロキサマー１８８の濃度は、約０．０１～約２ｍｇ／ｍＬの範囲である。特定の実施形態において、ポロキサマー１８８の濃度は、約０．５～約１．５ｍｇ／ｍＬの範囲である。しかしながら、当業者は、所与の組成物において十分な安定化効果を提供するために必要な界面活性剤の同一性および濃度を特定することができるため、これらの実施形態は限定的であると解釈されるべきではない。

【００１７】

本発明の製剤はまた、抗菌特性を提供するために添加される１つまたは複数の防腐剤を含む。しかしながら、組成物は、最初に生成されたときは無菌であり、組成物が複数回使用するバイアルまたはカートリッジで提供される場合、製剤の他の成分と相溶性のある抗菌性防腐剤化合物または化合物の混合物が、典型的には、規制要件ならびに欧州薬局方（ＥＰ）および米国薬局方（ＵＳＰ）によって公開されるもの等の薬局方の抗菌性防腐剤要件を満たすのに十分な強さで添加される。欧州薬局方、第９版、セクション５．１．３、抗菌性防腐剤の有効性、米国薬局方ＵＳＰ＜５１＞、抗菌効果試験（Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，ＭＤ）を参照されたい。

【００１８】

複数回使用の非経口投与に適した医薬製品に一般的に使用される防腐剤は、フェノール化合物、またはそのような化合物の混合物を含む。具体例として、フェノール（ＣＡＳ番号１０８－９５－２、分子式C_6H_5OH、分子量９４．１１）、ｍ－クレゾール（ＣＡＳ番号１０８－３９－４、分子式C_7H_8O、分子式量１０８．１４）、ベンジルアルコール（ＣＡＳ番号：１００－５１－６、分子式C_7H_8O、分子量１０８．１４ｇ／ｍｏｌ）およびフェノキシエタノール（ＣＡＳ番号：１２２－９９－６、分子式$C_8H_{10}O_2$、分子量１３８．１７ｇ／ｍｏｌ）が挙げられる。本発明の特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、フェノールおよびｍ－クレゾールならびにそれらの混合物からなる群から選択される。複数回使用製品の規制要件を満たすのに必要な防腐剤の濃度は、限定されないが、使用するフェノール防腐剤の同一性および溶液のｐＨを含む複数の要因に依存する。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、約１０～約１５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するフェノキシエタノールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、ベンジルアルコールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、約１０ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するベンジルアルコールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤はフェノールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、約１～約１０ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するフェノールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、約３～約６ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するフェノールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、少なくとも約３ｍｇ／ｍＬの濃度のフェノールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、３、３．５、４、４．５または５ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される濃度のフェノールである。￥［ｄｅｌｅｔｅ］好ましい実施形態において、フェノール防腐剤は、約４ｍｇ／ｍＬの濃度のフェノールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、ｍ－クレゾールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、約０．１～約１０ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するｍ－クレゾールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、約２～約６ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するｍ－クレゾールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、約３．５～約５．５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するｍ－クレゾールである。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、約３．１５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するｍ－クレゾール

である。他の実施形態において、フェノール防腐剤は、フェノールとｍ－クレゾールの混合物である。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、フェノールとｍ－クレゾールの混合物であり、フェノールは、約１～約５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在し、ｍ－クレゾールは、約０．１～約３．５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、フェノールとｍ－クレゾールの混合物であり、フェノールは約１．５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在し、ｍ－クレゾールは１．５８ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、フェノールとｍ－クレゾールの混合物であり、フェノールは約２ｍｇ／ｍＬの濃度で存在し、ｍ－クレゾールは約１．５８ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、フェノールとｍ－クレゾールの混合物であり、フェノールは約３．５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在し、ｍ－クレゾールは約０．３２ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する。特定の実施形態において、フェノール防腐剤は、フェノールとｍ－クレゾールの混合物であり、フェノールは約３．５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在し、ｍ－クレゾールは約０．６３ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する。しかしながら、当業者は、既知の技術を使用して規制要件を満たすのに必要なフェノール防腐剤およびその濃度を選択することができるため、これらの実施形態は限定的であると解釈されるべきではない。例えば、欧州薬局方、第９版、セクション５．０１．０３「抗菌性防腐剤の有効性」、米国薬局方ＵＳＰ４０－ＮＦ３５、第＜５１＞章「抗菌効果試験」を参照されたい。例えば、Ｍｅｙｅｒ，Ｂ．Ｋ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂｉａｌ Ｐｒｅｓｅｒｖａｔｉｖｅ ｕｓｅ ｉｎ Ｐａｒｅｎｔｅｒａｌ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ：Ｐａｓｔ ａｎｄ Ｐｒｅｓｅｎｔ，Ｊ．ＰＨＡＲＭ．ＳＣＩ．，Ｖｏｌ．９６，Ｎｏ．１２（２００７）を参照されたい。

【００１９】

しかしながら、界面活性剤および防腐剤の両方が特定の濃度で組成物に含まれる場合、それらは相分離をもたらすように相互作用し、許容できない目に見える混濁または濁りの形成をもたらす。理論に束縛されることを望まないが、この現象は、フェノール防腐剤の分子が架橋引力を介して非イオン性界面活性剤のミセルと結合するときに起こると考えられる。例えば、Ｃｈｅｎ，Ｊ．，ｅｔ ａｌ．，Ｆｒｏｍ ｔｈｅ ｄｅｐｌｅｔｉｏｎ ａｔｔｒａｃｔｉｏｎ ｔｏ ｔｈｅ ｂｒｉｄｇｉｎｇ ａｔｔｒａｃｔｉｏｎ：Ｔｈｅ ｅｆｆｅｃｔ ｏｆ ｓｏｌｖｅｎｔ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ｏｎ ｔｈｅ ｅｆｆｅｃｔｉｖｅ ｃｏｌｌｏｉｄａｌ ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓ，ＴＨＥ ＪＯＵＲＮＡＬ ＯＦ ＣＨＥＭＩＣＡＬ ＰＨＹＳＩＣＳ ２０１５，１４２，０８４９０４；Ｊｉｅ，Ｃ．，ｅｔ ａｌ．，Ｓｉｚｅ ｅｆｆｅｃｔｓ ｏｆ ｓｏｌｖｅｎｔ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ ｏｎ ｔｈｅ ｐｈａｓｅ ｂｅｈａｖｉｏｒ ａｎｄ ｅｆｆｅｃｔｉｖｅ ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎ ｏｆ ｃｏｌｌｏｉｄａｌ ｓｙｓｔｅｍｓ ｗｉｔｈ ｔｈｅ ｂｒｉｄｇｉｎｇ ａｔｔｒａｃｔｉｏｎ．ＪＯＵＲＮＡＬ ＯＦ ＰＨＹＳＩＣＳ：ＣＯＮＤＥＮＳＥＤ ＭＡＴＴＥＲ ２０１６，２８，（４５），４５５１０２；Ｙｕａｎ，Ｇ．；Ｌｕｏ，Ｊ．；Ｈａｎ，Ｃ．Ｃ．；Ｌｉｕ，Ｙ．Ｇｅｌａｔｉｏｎ ｔｒａｎｓｉｔｉｏｎｓ ｏｆ ｃｏｌｌｏｉｄａｌ ｓｙｓｔｅｍｓ ｗｉｔｈ ｂｒｉｄｇｉｎｇ ａｔｔｒａｃｔｉｏｎｓ．ＰＨＹＳＩＣＡＬ ＲＥＶＩＥＷ Ｅ ２０１６，９４，（４），０４０６０１を参照されたい。これにより、複数の界面活性剤ミセルが結合し、その結果、溶液から沈殿する。当業者は、ミセルが界面活性剤分子の集合体であり、非イオン性界面活性剤分子の親水性部分が疎水性部分を取り囲む外表面またはシェルを形成し、親水性部分によって形成される外表面またはシェルによって疎水性部分が水性溶媒から保護されることを理解するであろう。そのようなミセルが形成される界面活性剤の濃度は、臨界ミセル濃度、またはＣＭＣとして知られており、当該技術分野で既知の技術を使用して決定することができる。例えば、Ｋｅｒｗｉｎ，Ｂ．Ａ．Ｐｏｌｙｓｏｒｂａｔｅｓ ２０ ａｎｄ ８０ ｕｓｅｄ ｉｎ ｔｈｅ ｆｏｒｍｕｌａｔｉｏｎ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎ ｂｉｏｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ：Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ａｎｄ ｄｅｇｒａｄａｔｉｏｎ ｐａｔｈｗａｙｓ．ＪＯＵＲＮＡＬ ＯＦ ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ ＳＣＩＥＮＣＥＳ ２００８，９７，（８），２９２４－２９３５を参照されたい。この

場合も、理論に拘束されることを望まないが、本明細書に記載の溶媒変性剤の使用は、防腐剤分子と界面活性剤ミセルとの間の架橋引力を阻害すると考えられる。

【００２０】

しかしながら、機構の詳細に関係なく、相分離は、所与の組成物中の界面活性剤と防腐剤の合計濃度が、本明細書でそれらの「濃度閾値」と呼ばれる濃度以上である場合に起こり、それは、界面活性剤と防腐剤の組み合わせが、溶媒変性剤の非存在下で、相分離を引き起こし、混濁したまたは乳白色の外観の形成もたらす濃度を意味する。任意の界面活性剤と防腐剤の組み合わせに一般的に適用できる普遍的な濃度閾値は存在しない。代わりに、濃度閾値は、特に界面活性剤（複数可）および防腐剤（複数可）の同一性を含む、当該製剤の詳細に依存する。

【００２１】

任意の所与の製剤における所与の界面活性剤と防腐剤の組み合わせの濃度閾値は、特に目視観察を含む既知の方法を使用して当業者によって決定され得るが、後述の実施例に記載される濁度分析等の定量分析も用いることができる。例えば、欧州薬局方７．０、セクション２．２．１、液体の透明度および混濁の程度を参照されたい。目に見える相分離の形成を直接反映しない可能性があるが、目に見える相分離の最終的な発生または形成のための所与の組成物の可能性に関連し得る他の分析には、以下が含まれる：サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）、高精度液体粒子カウンター（ＨＩＡＣ）による分析、およびマイクロフローイメージング（ＭＦＩ）。

【００２２】

さらに、濃度閾値を超える界面活性剤と防腐剤の組み合わせを含むいくつかの組成物における視覚的に検出可能な相分離は、本質的に界面活性剤と防腐剤を組み合わせた直後に起こるが、他の組成物において、相分離は、製剤が調製された後ある程度の時間が経過するまで視覚的に明らかにならない。例えば、ｍ－クレゾール含有製剤では、視覚的に検出可能な相分離がほぼ即時に起こることが観察されているが、特定のフェノール含有製剤では、製剤が調製されてから最大約１５分まで製剤は視覚的に検出可能にならない。したがって、溶媒変性剤が、そうでなければその濃度閾値を超えるフェノール防腐剤と界面活性剤の組み合わせによる相分離を十分に低減することを確認するには、製剤が調製されてから少なくとも１０分、好ましくは少なくとも１５分後に製剤の外観を検査する必要がある。

【００２３】

上記のように、所与の界面活性剤と防腐剤の組み合わせの濃度閾値は、界面活性剤（複数可）および防腐剤（複数可）の同一性と濃度の両方に依存し、特定の市販製品は界面活性剤と防腐剤の両方を含むが、それらの製品における界面活性剤と防腐剤の組み合わせがそれらの濃度閾値を下回っているため、透明かつ無色のままである。例えば、ＬＡＮＴＵＳ（登録商標）の商品名で販売されているインスリングラルギンの製剤は、０．０２ｍｇ／ｍＬのポリソルベート２０と２．７ｍｇ／ｍＬのｍ－クレゾールを含み、ＡＰＩＤＲＡ（登録商標）の商品名で販売されているインスリングルリジンの製剤は、０．０１ｍｇ／ｍＬのポリソルベート２０と３．１５ｍｇ／ｍＬのｍ－クレゾールを含むが、ポリソルベート２０とｍ－クレゾールの合計濃度がいずれの場合にもこの特定の組み合わせの濃度閾値を下回っているため、これらの製剤はどちらも透明である。実際、後述の実施例に示すように、３．１５ｍ－クレゾールの濃度でｍ－クレゾールを含む製剤では、ポリソルベート２０がそのＣＭＣの約２倍以下の濃度で含まれている場合、相分離は起こらないが、ＣＭＣの約５倍以上の濃度では相分離が起こる。

【００２４】

本明細書で使用される場合、「相分離」という用語は、溶液から沈殿する物理的な微粒子の形成を指す。所与の組成物における相分離の発生の有無は、視覚的に、すなわち、透明な外観とは対照的な、混濁したまたは乳白色の外観によって示されるように、または当業者に既知の分析技術によって決定することができる。同様に、本明細書で使用される場合、「透明」という用語は、混濁したまたは乳白色の外観を有さず、目に見えて検出可能

な材料の固体粒子を含まない、透き通った溶液を指す。当業者に既知の分析技術を使用することができるが、製剤が透明で微粒子を含まないかどうかの決定は視覚的に決定することができる。

【００２５】

本発明は、界面活性剤（複数可）および防腐剤（複数可）が、そうでなければ（すなわち、溶媒変性剤の非存在下では）それらの濃度閾値以上の濃度で含まれる組成物における相分離の発生を低減するための溶媒変性剤の使用に関与する。本発明の製剤において溶媒変性剤として使用することができる化合物は、ＰＰＧ（ＣＡＳ番号５７－５５－６、分子式$C_3H_8O_2$、分子量７６．０９５）、ＮＭＰ（ＣＡＳ番号８７２－５０－４、分子式C_5H_9NO、分子量９９．１３３）およびＰＥＧ４００（ＣＡＳ番号２５３２２－６８－３、分子式$C_{2n}H_{4n+2}O_{n+1}$、ｎ＝８．２～９．１、分子量３８０－４２０ｇ／ｍｏｌ）グリセロール（ＣＡＳ番号５６－８１－５、分子式$C_3H_8O_3$、分子量９２．０９３８２）を含む。

【００２６】

本発明の製剤において溶媒変性剤として使用され得る前段落で特定された化合物は、場合によっては、製剤処方において一般的に使用される賦形剤であり、本発明の製剤における溶媒変性剤としての使用以外の機能を有し得ることに留意されたい。例えば、グリセロールは、等張性の目的で一般的に使用される薬剤であり、ＬＡＮＴＵＳ（登録商標）（インスリングラルギン）、ＡＰＩＤＲＡ（登録商標）（インスリングルリジン）、ＨＵＭＡＬＯＧ（登録商標）（インスリンリスプロ）、ＮＯＶＯＬＯＧ（登録商標）（インスリンアスパルト）、ＴＲＥＳＩＢＡ（登録商標）（インスリンデグルデク）、ＨＵＭＵＬＩＮ（登録商標）（ヒトインスリン）、およびＴＯＵＪＥＯ（登録商標）（インスリングラルギン）等のインスリン含有製品の製剤に含まれる。しかしながら、これらのインスリン含有製品は、いずれの界面活性剤も含まないか、または界面活性剤を含むが、それらの製剤中のフェノール防腐剤（複数可）と組み合わせてそれらの濃度閾値を下回るかのいずれかである。同様に、ＰＰＧもまた、溶媒変性剤としての使用以外の機能に一般的に使用される医薬品添加剤であり、例えば、ＶＩＣＴＯＺＡ（登録商標）（リラグルチド）は１４ｍｇ／ｍＬのＰＰＧを含むが、非イオン性界面活性剤は含まない。ＰＥＧ４００もまた一般的な賦形剤であり、例えばＡＴＩＶＡＮ（登録商標）（ロラゼパム）に含まれるが、その製品は非イオン性界面活性剤を含まない。最後に、グリセロールまたはＰＰＧほど一般的には使用されていないものの、ＮＭＰがＥＬＩＧＡＲＤ（酢酸リュープロリド）と称される製品に使用されるが、その製品は非水性であり、フェノール防腐剤または界面活性剤を含まない。

【００２７】

界面活性剤および防腐剤がそれらの濃度閾値を超える濃度で含まれる相分離を低減するために必要な溶媒変性剤の濃度に関して、濃度閾値が所与の界面活性剤と防腐剤の組み合わせによって異なるように、必要な溶媒変性剤の濃度も、以下の同一性および濃度を含む複数の変数に依存する：（ａ）使用される特定の界面活性剤（複数可）および防腐剤（複数可）、（ｂ）使用されている特定の溶媒変性剤（複数可）、ならびに（ｃ）製剤中の他の賦形剤、特に後により詳細に記載する等張化剤。本発明の特定の実施形態において、溶媒変性剤はグリセロールである。本発明の特定の実施形態において、溶媒変性剤は、約１０～約１００ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するグリセロールである。特定の実施形態において、グリセロールの濃度は、約２０～約８０ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、グリセロールの濃度は、約２０、約２５または約８０ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される。特定の実施形態において、グリセロールの濃度は、約２０ｍｇ／ｍＬである。本発明の特定の実施形態において、溶媒変性剤はＰＰＧである。本発明の特定の実施形態において、溶媒変性剤は、約１０～約１００ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するＰＰＧである。特定の実施形態において、ＰＰＧの濃度は、約１５～約６０ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ＰＰＧの濃度は、約１５、約２０または約６０ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される。特定の実施形態において、ＰＰＧの濃度は、約１５ｍｇ／ｍＬである。本発明の

特定の実施形態において、溶媒変性剤はＮＭＰである。本発明の特定の実施形態において、溶媒変性剤は、約１０ｍｇ／ｍＬ～約１００ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するＮＭＰである。特定の実施形態において、ＮＭＰの濃度は、約２０～約９０ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ＮＭＰの濃度は、約２７～約８０ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ＮＭＰの濃度は、約２７、約５４、および約８０ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される。本発明の特定の実施形態において、溶媒変性剤は、ＰＥＧ４００である。本発明の特定の実施形態において、溶媒変性剤は、約５～約１５０ｍｇ／ｍＬの濃度で存在するＰＥＧ４００である。特定の実施形態において、ＰＥＧ４００の濃度は、約４０～約１２０ｍｇ／ｍＬである。特定の実施形態において、ＰＥＧ４００の濃度は、約４０、約８０、約１１０および約１２０ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される。しかしながら、所与の組成物に使用する溶媒変性剤の適切な濃度の選択は、目視観察および濁度ならびに後述の実施例に記載されるような微粒子分析を含む既知の技術を使用して、当業者によって容易に決定され得るため、これらの濃度は限定的であると解釈されるべきではない。

【００２８】

界面活性剤と防腐剤との非相溶性を低減することに加えて、溶媒変性剤は、特に等張化剤として等、特定の組成物において追加の機能を有し得る。本発明の製剤は非経口投与用であるため、体液とほぼ等張ではない溶液を投与した際に、痛みを伴う刺すような感覚を引き起こし得るので、組成物を投与する際には注入部位の体液の張度（すなわち、浸透圧）と可能な限り厳密にほぼ一致させることが望ましい。組成物の浸透圧が組織の浸透圧よりも十分に低い場合（血液の場合、約３００ｍＯｓｍｏｌ／ｋｇ；浸透圧に関する欧州薬局方要件は＞２４０ｍＯｓｍｏｌ／ｋｇ）、組成物の張度を約３００ｍＯｓｍｏｌ／ｋｇに増加させる必要がある。グリセロールおよびＰＰＧは本発明の製剤に使用するための溶媒変性剤の例であるが、非経口製品の等張化剤としても一般的に使用されるため、このような効果は、十分な濃度の溶媒変性剤の添加によって達成することができる。したがって、グリセロールおよび／またはＰＰＧは、本発明の組成物において、溶媒変性剤および／または等張化剤の両方として機能するように使用され得る。例えば、後述の実施例に記載のデュラグルチド含有組成物において、グリセロールおよびＰＰＧは、組成物の張度を注射部位で体液とほぼ等張になるように増加させるため、およびそれらの組成物中の界面活性剤（複数可）と防腐剤（複数可）との非相溶性を低減するために十分な濃度で添加されている。

【００２９】

組織の浸透圧よりも低い組成物の張度を増加させることは、追加の等張化剤を添加することによっても達成することができる。しかしながら、一般的に使用される等張化剤には、塩化ナトリウムおよびマンニトールが含まれ、特定の製剤において、これらの薬剤は、相分離につながる界面活性剤と防腐剤との相互作用を悪化させ、したがって、濃度閾値に達する界面活性剤および／もしくは防腐剤の最小濃度を低下させる、ならびに／または相分離を回避するためにより高い濃度の溶媒変性剤を必要とする可能性があることが発見された。いずれにせよ、等張化剤の添加が必要な場合、添加する等張化剤の量は、標準的な技術を使用して容易に決定される。Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，Ｄａｖｉｄ Ｂ．Ｔｒｏｙ ａｎｄ Ｐａｕｌ Ｂｅｒｉｎｇｅｒ，ｅｄｓ．，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ＆Ｗｉｌｋｉｎｓ，２００６，ｐｐ．２５７－２５９；Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｅｓｓｅｎｔｉａｌｓ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃｓ，Ｌｉｎｄａ Ｅｄ Ｆｅｌｔｏｎ，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｐｒｅｓｓ，２０１３，ｐｐ．２７７－３００。さらに、塩化ナトリウムまたはマンニトール等の等張化剤の添加が必要であり、その添加が界面活性剤と防腐剤との相互作用を悪化させる場合、望ましくない相分離を防止するために添加する必要のある溶媒変性剤の量は、後述の実施例に記載されるような既知の技術を使用して当業者によって容易に決定され得る。

【００３０】

上記のように、本発明の製剤に使用するための界面活性剤、防腐剤および溶媒変性剤の

濃度は、後述の実施例に記載されるような既知の技術を使用して当業者によって決定され得る。例えば、タンパク質またはペプチドベースの医薬品の複数回使用製剤を調製しようとする処方者は、場合によっては、最初に十分な安定化効果を提供するために必要な非イオン性界面活性剤の同一性および濃度を決定し、次に十分な抗菌能力を提供するために必要な防腐剤の同一性および濃度を決定し、相分離が起こったかどうかを観察することができる。相分離が起こらなかった場合、非イオン性界面活性剤と防腐剤の組み合わせはその濃度閾値を下回っており、溶媒変性剤は必要ない。相分離が起こった場合、処方者は、異なる界面活性剤と防腐剤の組み合わせを使用できるかどうかを決定するか、またはその特定の組み合わせでそのような相分離が起こらないようにする本発明による溶媒変性剤の同一性および濃度の決定に注意を向ける。あるいは、処方者は、代わりに、最初に抗菌能力を提供するために必要な防腐剤の同一性および濃度を決定し、次に十分な安定化効果を提供するために必要な界面活性剤の同一性および濃度を決定し、次にそれらの賦形剤が組み合わされたときに相分離が起こったかどうかを観察することができる。前のシナリオと同様に、相分離が起こらなかった場合、界面活性剤と防腐剤の組み合わせはその濃度閾値を下回っており、溶媒変性剤は必要ない。しかしながら、相分離が起こり、そのような相分離を回避する代替の防腐剤＋界面活性剤の組み合わせを特定できない場合、処方者は、本発明による溶媒変性剤の同一性および濃度の決定に注意を向ける。

【００３１】

特定の実施形態において、本発明の製剤は、ｐＨを制御するための１つまたは複数の緩衝液を含み、使用される任意の緩衝液（複数可）の同一性および濃度は、特定の場合において、所与の界面活性剤＋保存剤系の濃度閾値および／またはそのシステムの相分離を回避するために必要な溶媒変性剤を決定することに関連し得る。「緩衝剤」は、その酸塩基共役体成分の作用によってｐＨの変化に抵抗する物質である。ある特定の実施形態において、本発明の製剤は、約４．０～約８．０、好ましくは約５．５～約７．５、より好ましくは約６．０～約７．０のｐＨを有する。特定の好ましい実施形態において、本発明の製剤は、約６．５のｐＨを有する。特定の好ましい実施形態において、本発明の製剤は、約７のｐＨを有する。本発明の組成物のｐＨを所望の範囲内に制御するのに好適な緩衝剤として、リン酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、またはそれらの酸、アルギニン、ＴＲＩＳ、およびヒスチジン緩衝液、ならびにそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。「ＴＲＩＳ」は、２－アミノ－２－ヒドロキシメチル－１，３，－プロパンジオール、およびその任意の薬理学的に許容される塩を指す。遊離塩基および塩酸塩形態（即ち、ＴＲＩＳ－ＨＣｌ）は、２つの一般的なＴＲＩＳの形態である。ＴＲＩＳは、当該技術分野では、トリメチロールアミノメタン、トロメタミン、およびトリス（ヒドロキシメチル）アミノメタンとしても知られる。本発明の組成物中に好ましい緩衝剤は、クエン酸塩またはクエン酸、およびリン酸塩である。濃度閾値および／または溶媒変性剤の決定に対する任意の緩衝液の潜在的な関連性を考慮して、処方者は、前の段落に記載されるように使用される界面活性剤および／または防腐剤の同一性および濃度を決定する前に、必要な緩衝液を決定することを望む場合がある。

【００３２】

上記の説明は、処方者が製剤に含まれる界面活性剤、防腐剤および溶媒変性剤の同一性および濃度を決定できる方法に関係するが、これらの同一性および濃度が決定された後、製剤が最終的にどのように組み立てられるかには必ずしも関係しない。どの成分をどの順序で添加するかという操作の順序には多少のばらつきがあってもよいが、溶媒変性剤は通常、フェノール防腐剤と界面活性剤の両方の全濃度が添加される前、すなわち相分離が起こる前に添加される。特定の好ましい実施形態において、溶媒変性剤は、製剤に添加される最初の成分であり、続いてフェノール防腐剤、続いてタンパク質またはペプチド、続いて界面活性剤が添加される。

【００３３】

上記の成分に加えて、本発明の製剤は、他の賦形剤を含み得る。例えば、特定のタンパク質またはペプチドベースの医薬品は、酸化または微量金属に対する感受性のために、追

加の安定剤を必要とする場合がある。そのような安定剤には、それぞれ、メチオニン等の抗酸化剤、またはＥＤＴＡ等のキレート剤が含まれる。

【００３４】

タンパク質およびペプチドは、胃腸管におけるタンパク質分解に対する感受性および不十分な吸収のために、経口バイオアベイラビリティが低く、そのため、ほとんどのタンパク質およびペプチドは非経口的に投与される。本発明の製剤は非経口投与用であり、静脈内（ＩＶ）注射、皮下（ＳＣ）注射、筋肉内（ＩＭ）注射、または腹腔内（ＩＰ）注射による投与を含み得る。好ましい実施形態において、本発明の製剤は、ＳＣ注射用に設計されている。本発明の製剤は複数回使用の投与に適しているため、それらは通常、バイアルまたはカートリッジ等の容器閉鎖システムで提供され、そこから複数の用量を取り出して投与することができる。本発明の製剤は、例えば、バイアル内に提供することができ、そこから、患者に投与するための複数の用量を注射器によって引き出すことができる。本発明の製剤はまた、ペンデバイスに使用するためのカートリッジで提供され得、そこから複数の用量が投与され得る。本発明の製剤はまた、複数の用量を送達することができる自動注射器または注入ポンプで使用するためのカートリッジ等の容器閉鎖物で提供され得る。

【００３５】

本発明の追加の実施形態を以下に説明する。

以下を含む水性組成物：タンパク質またはペプチド、非イオン性界面活性剤、フェノール防腐剤、および溶媒変性剤。

【００３６】

組成物が無菌である上記の実施形態の組成物。

【００３７】

非イオン性界面活性剤およびフェノール防腐剤が、溶媒変性剤の非存在下でそれらの濃度閾値を超える濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。

【００３８】

溶媒変性剤が、溶液が透明なままであることを保証するのに十分な濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。

【００３９】

溶液が少なくとも１５分間透明なままである、上記の実施形態の組成物。溶液が少なくとも２４時間透明なままである、先行する実施形態の組成物。溶液が少なくとも１週間透明なままである、先行する実施形態の組成物。溶液が少なくとも１ヶ月間透明なままである、先行する実施形態の組成物。溶液が少なくとも６ヶ月間透明なままである、先行する実施形態の組成物。溶液が少なくとも１年間透明なままである、先行する実施形態の組成物。

【００４０】

溶液が貯蔵寿命を通して透明なままである、上記の実施形態のいずれかの組成物。

【００４１】

溶媒変性剤が、非イオン性界面活性剤とフェノール防腐剤との相互作用による相分離を防止するのに十分な濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。

【００４２】

タンパク質またはペプチドが約０．１～約１００ｍｇ／ｍＬの範囲の濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。

【００４３】

タンパク質またはペプチドが約０．５～約５０ｍｇ／ｍＬの範囲の濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。

【００４４】

タンパク質またはペプチドが約１～約１０ｍｇ／ｍＬの範囲の濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。

【００４５】

タンパク質またはペプチドが、ＧＬＰ－１受容体アゴニスト、インスリン、ＧＩＰ受容

体アゴニスト、グルカゴン受容体アゴニスト、ＰＹＹ、ＧＤＦ、アミリン受容体アゴニスト、カルシトニン受容体アゴニストおよびインターロイキンからなる群から選択される、上記の実施形態のいずれかの組成物。タンパク質またはペプチドがＦｃ融合タンパク質である、先行する実施形態の組成物。

【００４６】

タンパク質またはペプチドがデュラグルチドである、上記の実施形態のいずれかの組成物。デュラグルチドの濃度が約１．５～約９ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。デュラグルチドの濃度が、１．５、３．０、６．０および９．０ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される、先行する実施形態の組成物。

【００４７】

非イオン性界面活性剤がポリソルベート型界の面活性剤である、上記の実施形態のいずれかの組成物。非イオン性界面活性剤が、ＰＳ２０、ＰＳ８０、ポロキサマー１８８およびポロキサマー４０７からなる群から選択される、先行する実施形態の組成物。非イオン性界面活性剤がＰＳ２０またはＰＳ８０のいずれかである、先行する実施形態の組成物。

【００４８】

非イオン性界面活性剤がＰＳ８０である上記の実施形態のいずれかの組成物。ＰＳ８０の濃度が約０．０１ｍｇ／ｍＬ～約１ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。ＰＳ８０の濃度が約０．０５ｍｇ／ｍＬ～約０．５ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。ＰＳ８０の濃度が約０．１ｍｇ／ｍＬ～約０．４ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。ＰＳ８０の濃度が約０．２ｍｇ／ｍＬ～約０．３ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。ポリソルベート８０の濃度が０．２ｍｇ／ｍＬまたは０．２５ｍｇ／ｍＬのいずれかである、先行する実施形態の組成物。

【００４９】

非イオン性界面活性剤がＰＳ２０である、上記の実施形態のいずれかの組成物。ＰＳ２０の濃度がそのＣＭＣの約２倍よりも大きい、先行する実施形態の組成物。ポリソルベート２０の濃度が約０．０１ｍｇ／ｍＬ～約１ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。ＰＳ２０の濃度が約０．０５ｍｇ／ｍＬ～約０．５ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。ＰＳ２０の濃度が約０．１ｍｇ／ｍＬ～約０．４ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。

【００５０】

非イオン性界面活性剤がポロキサマー１８８である、上記の実施形態のいずれかの組成物。ポロキサマー１８８の濃度が約０．０１～約２ｍｇ／ｍＬの範囲である、先行する実施形態の組成物。ポロキサマー１８８の濃度が約０．５～約１．５ｍｇ／ｍＬの範囲である、先行する実施形態の組成物。

【００５１】

フェノール防腐剤が、規制および薬局方の抗菌防腐剤の要件を満たすのに十分な濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。

【００５２】

フェノール防腐剤が、フェノール、ｍ－クレゾール、ベンジルアルコールおよびフェノキシエタノールからなる群から選択される、上記の実施形態のいずれかの組成物。フェノール防腐剤がベンジルアルコールである、先行する実施形態の組成物。ベンジルアルコールが約１０ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、先行する実施形態の組成物。

【００５３】

特定の実施形態において、フェノール防腐剤はフェノキシエタノールである。フェノキシエタノールが約１０～約１５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、先行する実施形態の組成物。

【００５４】

フェノール防腐剤が、フェノールおよびｍ－クレゾールならびにそれらの混合物からなる群から選択される、上記の実施形態のいずれかの組成物。

【００５５】

フェノール防腐剤がフェノールである、上記の実施形態のいずれかの組成物。フェノールの濃度が約１～約１０ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。フェノールの濃度が約３～約６ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。フェノールの濃度が少なくとも約３ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。フェノール防腐剤が、３、３．５、４、４．５または５ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される濃度のフェノールである、先行する実施形態の組成物。フェノールの濃度が約５ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。

【００５６】

フェノール防腐剤がｍ－クレゾールである、上記の実施形態のいずれかの組成物。フェノール防腐剤がｍ－クレゾールであり、約０．１～約１０ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。フェノール防腐剤がｍ－クレゾールであり、約２～約６ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、先行する実施形態の組成物。フェノール防腐剤がｍ－クレゾールであり、約３．５～約５．５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、先行する実施形態の組成物。

【００５７】

フェノール防腐剤がフェノールとｍ－クレゾールの混合物である、上記の実施形態のいずれかの組成物。フェノール防腐剤がフェノールとｍ－クレゾールの混合物であり、フェノールが約１～約５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在し、ｍ－クレゾールが約０．１～約３．５ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、先行する実施形態の組成物。フェノール防腐剤がフェノールとｍ－クレゾールの混合物であり、フェノールが約１．５～約２ｍｇ／ｍＬの濃度で存在し、ｍ－クレゾールが１．５８ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、先行する実施形態の組成物。

【００５８】

フェノール防腐剤がフェノールとｍ－クレゾールの混合物であり、フェノールが約３．５～約４ｍｇ／ｍＬの濃度で存在し、ｍ－クレゾールが約０．３２ｍｇ／ｍＬ～約０．６３ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。フェノールの濃度が約３．５ｍｇ／ｍＬであり、ｍ－クレゾールの濃度が約０．３２ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。

【００５９】

溶媒変性剤が、ＰＰＧ、ＮＭＰ、ＰＥＧ４００およびグリセロールからなる群から選択される、上記の実施形態のいずれかの組成物。

【００６０】

溶媒変性剤がグリセロールである、上記の実施形態のいずれかの組成物。溶媒変性剤がグリセロールであり、約１０～約１００ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。グリセロールの濃度が約２０～約８０ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。グリセロールの濃度が、約２０、約２５または約８０ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される、先行する実施形態の組成物。グリセロールの濃度が約２０ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。

【００６１】

溶媒変性剤がＰＰＧである、上記の実施形態のいずれかの組成物。溶媒変性剤がＰＰＧであり、約１０～約１００ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。ＰＰＧの濃度が約１５～約６０ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。ＰＰＧの濃度が、約１５、約２０または約６０ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される、先行する実施形態の組成物。ＰＰＧの濃度が約１５ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。

【００６２】

溶媒変性剤がＮＭＰである、上記の実施形態のいずれかの組成物。溶媒変性剤がＮＭＰであり、約１０ｍｇ／ｍＬ～約１００ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。ＮＭＰの濃度が約２０～約９０ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。ＮＭＰの濃度が約２７～約８０ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。

ＮＭＰの濃度が、約２７、約５４、および約８０ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される、先行する実施形態の組成物。

【００６３】

溶媒変性剤がＰＥＧ４００である、上記の実施形態のいずれかの組成物。溶媒変性剤がＰＥＧ４００であり、約５～約１５０ｍｇ／ｍＬの濃度で存在する、上記の実施形態のいずれかの組成物。ＰＥＧ４００の濃度が約４０～約１２０ｍｇ／ｍＬである、先行する実施形態の組成物。ＰＥＧ４００の濃度が、約４０、約８０、約１１０および約１２０ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される、先行する実施形態の組成物。

【００６４】

組成物が等張化剤をさらに含む、上記の実施形態のいずれかの組成物。等張化剤が、ＮａＣｌおよびマンニトールからなる群から選択される、先行する実施形態の組成物。

【００６５】

組成物が緩衝液をさらに含む、上記の実施形態のいずれかの組成物。緩衝液が、リン酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、またはそれらの酸、アルギニン、ＴＲＩＳ、およびヒスチジンからなる群から選択される、先行する実施形態の組成物。緩衝液がリン酸塩である、先行する実施形態の組成物。リン酸塩の濃度が約１０ｍＭである、先行する実施形態の組成物。

組成物がクエン酸塩である緩衝液をさらに含む、上記の実施形態のいずれかの組成物。クエン酸塩の濃度が約１０ｍＭである、先行する実施形態の組成物。

【００６６】

組成物のｐＨが約４～約８である、上記の実施形態のいずれかの組成物。組成物のｐＨが約５．５～約７．５である、先行する実施形態の組成物。組成物のｐＨが約６．０～７．０である、先行する実施形態の組成物。組成物のｐＨが約６．５または約７である、先行する実施形態の組成物。

【００６７】

組成物が追加の安定剤をさらに含む、上記の実施形態のいずれかの組成物。追加の安定剤が抗酸化剤またはキレート剤である、先行する実施形態の組成物。抗酸化剤がメチオニンであり、キレート剤がＥＤＴＡである、先行する実施形態の組成物。

【００６８】

非経口投与に適した水性組成物は、デュラグルチド、ＰＳ８０、ＰＰＧおよびグリセロールからなる群から選択される溶媒変性剤、ならびにフェノール、ｍ－クレゾールおよびそれらの混合物からなる群から選択されるフェノール防腐剤を含む。デュラグルチド濃度が、１．５、３、６または９ｍｇ／ｍＬからなる群から選択される、先行する実施形態の組成物。ＰＳ８０の濃度が０．２または０．２５ｍｇ／ｍＬのいずれかである、先行する実施形態の組成物。溶媒変性剤が１５ｍｇ／ｍＬのＰＰＧまたは２０ｍｇ／ｍＬのグリセロールのいずれかである、先行する実施形態の組成物。フェノール防腐剤が４ｍｇ／ｍＬフェノール、または３．５ｍｇ／ｍＬフェノールと０．３２ｍｇ／ｍＬｍ－クレゾールの組み合わせのいずれかである、先行する実施形態の組成物。緩衝液をさらに含む、先行する実施形態の組成物。緩衝液がクエン酸塩である、先行する実施形態の組成物。クエン酸塩の濃度が１０ｍＭである、先行する実施形態の組成物。組成物のｐＨが約６．５である、先行する実施形態の組成物。

【００６９】

上記の組成物のいずれかを含む、容器閉鎖システム。容器閉鎖システムがバイアルまたはカートリッジである、先の実施形態の容器閉鎖システム。

【００７０】

上記の組成物のいずれかを含む、複数用量ペンデバイス。

【００７１】

上記の組成物のいずれかを含む複数用量自動注射器。

【００７２】

上記の組成物のいずれかを含む注入ポンプ。

【００７３】
緩衝液を調製または入手し、次に溶媒変性剤を添加し、次にフェノール防腐剤を添加し、次にタンパク質またはペプチドベースのＡＰＩを添加し、次に界面活性剤を添加することを含む、上記の組成物のいずれかを調製する方法。
【００７４】
非イオン性界面活性剤およびフェノール防腐剤をそれらの濃度閾値を超えて含み、組成物が透明なままであることを保証するのに十分な濃度の溶媒変性剤を組成物中に含むことを含む、非経口投与に適した水性組成物を調製する方法。
【００７５】
組成物が上記の組成物のいずれかを含む、上記の実施形態の方法。
【００７６】
本発明の実施形態は、以下の実施例にさらに記載されるが、これは限定として解釈されるべきではない。
【図面の簡単な説明】
【００７７】
【図１】さまざまな濃度のｍ－クレゾールとＰＳ８０を含む組成物の濁度を示す。
【図２】さまざまな濃度のポリソルベート８０を含む製剤の濁度を示す。
【図３】さまざまな濃度のポリソルベート８０を含む製剤の濁度を示す。
【図４】さまざまな濃度のポリソルベート８０を含む製剤の濁度を示す。
【図５】さまざまな濃度のポリソルベート８０を含む製剤の濁度を示す。
【図６】さまざまな濃度のポリソルベート８０を含む製剤の濁度を示す。
【図７】さまざまな濃度のポリソルベート８０を含む製剤の濁度を示す。
【図８】さまざまな濃度のポリソルベート８０を含む製剤の濁度を示す。
【実施例】
【００７８】
０．２ｍｇ／ｍＬのＰＳ８０を含む組成物の濃度閾値
ＴＲＵＬＩＣＩＴＹ（登録商標）の商品名で販売されているデュラグルチドの市販製剤には、安定剤として０．２ｍｇ／ｍＬのＰＳ８０が含まれる。フェノール防腐剤の添加効果を調べるために、ｐＨ６．５の１０ｍＭクエン酸緩衝液に０．２ｍｇ／ｍＬのＰＳ８０を含むプラセボ溶液を調製し、この溶液の試料に十分な量のｍ－クレゾールまたはフェノールを添加することにより被験物質を調製し、０．２ｍｇ／ｍＬと、３．１５ｍｇ／ｍＬのｍ－クレゾールまたは５ｍｇ／ｍＬのフェノールのいずれかとを含む製剤を得る。プラセボおよび被験物質を目視検査する。プラセボ溶液は透明かつ無色であるのに対し、被験物質はそれぞれ急速に混濁したまたは乳白色の外観となる。したがって、２つの防腐剤含有溶液のそれぞれの濃度閾値を超えたことになる。
【００７９】
ｍ－クレゾールおよびＰＳ２０を含む組成物の濃度閾値
ＰＳ２０とｍ－クレゾールの組み合わせの濃度閾値を決定するために試験が行われ、これらは、ＬＡＮＴＵＳ（登録商標）の商品名で販売されているインスリングラルギンと、ＡＰＩＤＲＡ（登録商標）の商品名で販売されているインスリングルリジンである市販製剤に使われる非イオン性界面活性剤およびフェノール防腐剤であり、０．０２ｍｇ／ｍＬおよび０．０１ｍｇ／ｍＬの濃度のＰＳ２０と、２．７および３．１５ｍｇ／ｍＬの濃度のｍ－クレゾールをそれぞれ含む。プラセボ溶液は、３．１５ｍｇ／ｍＬのｍ－クレゾールと、そのＣＭＣの１／４から１０倍までの範囲のさまざまな濃度のＰＳ２０を含むｐＨ７の１０ｍＭリン酸緩衝液中で調製される。バイアルは目視検査によって分析する。結果を以下の表１に提供する。

【表１】

表１．

PS20 濃度(mg/mL)	外観
1/4xCMC(0.02mg/mL)	消失
1/2xCMC(0.04mg/mL)	消失
1xCMC(0.08mg/mL)	消失
2xCMC(0.16mg/mL)	消失
5xCMC(0.40mg/mL)	混濁
7xCMC(0.56mg/mL)	混濁
10xCMC(0.8mg/mL)	混濁

【００８０】

結果は、ポリソルベート２０がそのＣＭＣの約２倍以下の濃度で含まれている場合、これらの組成物では相分離は起こらなかったが、ＣＭＣの約５倍以上の濃度では起こることを示している。したがって、ＣＭＣの５倍以上の濃度の３．１５ｍｇ／ｍＬのｍ－クレゾールとポリソルベート２０の組み合わせは、ｍ－クレゾールとポリソルベート２０の濃度閾値を上回っているのに対し、ＣＭＣの２倍以下の濃度の３．１５ｍｇ／ｍＬのｍ－クレゾールとポリソルベート２０の組み合わせは（例えば、ＬＡＮＴＵＳおよびＡＰＩＤＲＡで使用される０．０２および０．０１ｍｇ／ｍＬ）は、ｍ－クレゾールとポリソルベート２０の濃度閾値を下回っている。

【００８１】

さまざまな濃度のｍ－クレゾールとＰＳ８０を含む組成物の濁度

相分離の発生に対するｍ－クレゾールとＰＳ８０の両方の濃度の関連性を評価するための試験を行う。ｐＨを６．５に調整したものを含む１０ｍＭクエン酸緩衝液のバッチを調製し、被験物質の製剤用の対照および緩衝液マトリックスとして使用する。Ｍ－クレゾールを緩衝液マトリックスの一部に添加して、１．５８ｍｇ／ｍＬ、２．７０ｍｇ／ｍＬ、または３．１５ｍｇ／ｍＬの濃度のｍ－クレゾールを含む溶液を調製する。ポリソルベート８０を測定し、クエン酸緩衝液の別々の部分に溶解して、１つは１０ｍｇ／ｍＬのポリソルベート８０を有し、もう１つは４０ｍｇ／ｍＬのポリソルベートを有する２つのストック溶液を調製する。界面活性剤のストック溶液を、以下の表２に示す量で、さまざまな量のフェノール防腐剤含有溶液に徐々に添加して、幅広い濃度のポリソルベート８０を含む製剤を生成する。

【表２】

ポリソルベート 80(mg/mL)	添加量(μL)
10	20
	50
40	50
	100

表２．

【００８２】

得られた製剤の濁度は、ＨＡＣＨ濁度計（モデル：２１００ＡＮ、タグ番号：Ｋ３４９

９２４）を使用して測定する。機器は、使用前に濁度標準を使用して校正する。ガラス管の微細な欠陥を隠すために、シリコーンオイルの薄いコーティングを試験管の外面に塗布する。濁度測定には約７ｍＬの溶液を使用する。結果を図１に提供する。図１に示すように、濁りの発生と大きさは、ｍ－クレゾールとＰＳ８０の両方の濃度に依存する。

【００８３】

さまざまな濃度の溶媒変性剤、一般的に使用される等張化剤、防腐剤および界面活性剤の影響。

タンパク質およびペプチドベースの製剤に等張化剤として一般的に使用されるさまざまな濃度の溶媒変性剤および他の賦形剤を含めることが、溶液状態の防腐剤と界面活性剤の相溶性に及ぼす影響を評価するための試験を行う。

【００８４】

ある試験では、ｐＨを６．５に調整した１０ｍＭリン酸緩衝液のバッチを、緩衝液マトリックスとして使用した。続いて、３．１５ｍｇ／ｍＬのｍ－クレゾールと、溶媒変性剤または一般的に使用される等張化剤のいずれかを含む緩衝液を、表３に示すように調製する。

【表３】

成分	濃度(50mg/mL)
マンニトール	50.0
塩化ナトリウム	8.8
PPG	20.9
グリセロール	25.3
NMP	27.2
PEG400	110.0

表３．

【００８５】

ポリソルベート８０を測定し、リン酸緩衝液に溶解して、１つは１０ｍｇ／ｍＬのポリソルベート８０を有し、もう１つは４０ｍｇ／ｍＬのポリソルベートを有する２つのストック溶液を調製し、上記の表２に示す量で、さまざまな量の上記の表３に記載の溶媒変性剤または等張化剤含有製剤に徐々に添加して、幅広い濃度のポリソルベート８０をそれぞれ含む製剤を生成する。得られた製剤の濁度を上記のように測定する。

【００８６】

結果を図２に提供する。図２に示すように、マンニトールおよびＮａＣｌを添加すると、対照と比較して、それぞれ濁度データの左方向へのシフトをもたらし、この試験では、それらを含めることにより所与のＰＳ８０濃度でより多くの濁りの発生がもたらされることが示唆される一方で、ＰＰＧ、グリセロールおよびＮＭＰを添加すると、対照と比較して、それぞれ濁度データの右方向へのシフトをもたらし、ＰＥＧ４００が濁りの発生を防ぎ、この試験では、それらを含めることにより所与のＰＳ８０濃度で濁りの発生が低減されたことが示唆される。

【００８７】

別の一連の試験では、２．７２３ｍｇ／ｍＬのクエン酸と０．１４２２のクエン酸ナトリウムを含み、ｐＨを６．５に調整した１０ｍＭクエン酸緩衝液の１０Ｌバッチを調製し、緩衝液マトリックスとして使用する。続いて、表４に要約されているように、ｍ－クレゾールとさまざまな賦形剤を含む緩衝液を調製する。クエン酸、クエン酸ナトリウム二水和物、ポリソルベート８０、ｍ－クレゾール、液化フェノール、マンニトール、および塩化ナトリウムは、Ｅｌｉ Ｌｉｌｌｙ（Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，Ｉｎｄｉａｎａ）から入手する。グリセロール、プロピレングリコール、Ｎ－メチル－２－ピロリドン（ＮＭＰ）、およびポリエチレングリコール４００（ＰＥＧ４００）は、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ（Ｍｉｌｗａｕｋｅｅ，Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ）から入手する。

【表４】

ID	成分	濃度 (mg/mL)	説明
1	m-クレゾール	3.15	対照
2	m-クレゾール	3.15	マンニトール-L
	マンニトール	23	
3	m-クレゾール	3.15	マンニトール-M
	マンニトール	46	
4	m-クレゾール	3.15	マンニトール-H
	マンニトール	92	
5	m-クレゾール	3.15	NaCl-L
	塩化ナトリウム	4.4	
6	m-クレゾール	3.15	NaCl-M
	塩化ナトリウム	8.8	
7	m-クレゾール	3.15	NaCl-H
	塩化ナトリウム	17.6	
8	m-クレゾール	3.15	グリセロール-L
	グリセロール	20	
9	m-クレゾール	3.15	グリセロール-H
	グリセロール	80	
10	m-クレゾール	3.15	プロピレングリコール-L
	プロピレングリコール	15	
11	m-クレゾール	3.15	プロピレングリコール-H
	プロピレングリコール	60	
12	m-クレゾール	3.15	NMP-L
	N-メチル-2-ピロリドン	27	
13	m-クレゾール	3.15	NMP-M
	N-メチル-2-ピロリドン	54	
14	m-クレゾール	3.15	NMP-H
	N-メチル-2-ピロリドン	81	
15	m-クレゾール	3.15	PEG400-L
	ポリエチレングリコール 400	40	
16	m-クレゾール	3.15	PEG400-M
	ポリエチレングリコール 400	80	
17	m-クレゾール	3.15	PEG400-H
	ポリエチレングリコール 400	120	
18	m-クレゾール	1.58	マンニトール-H
	マンニトール	88	
19	m-クレゾール	1.58	NaCl-H
	塩化ナトリウム	17.6	
20	フェノール	5	マンニトール-M
	マンニトール	46	
21	フェノール	5	NaCl-M
	塩化ナトリウム	8.8	

表４．クエン酸緩衝液とプラセボ溶液の組成

【００８８】

ポリソルベート８０を測定し、リン酸緩衝液に溶解して、１つは１０ｍｇ／ｍＬのポリソルベート８０を有し、もう１つは４０ｍｇ／ｍＬのポリソルベートを有する２つのストック溶液を調製し、上記の表２に示す量で、さまざまな量の上記の表４に記載の溶媒変性剤または等張化剤含有製剤に徐々に添加して、幅広い濃度のポリソルベート８０をそれぞれ含む製剤を生成する。得られた製剤の濁度を上記のように測定する。結果を図３～図８に提供する。

【００８９】

界面活性剤と防腐剤の両方の濃度の寄与、およびマンニトールとＮａＣｌの有害な影響

を図３および図４に見ることができる。図３および図４に見られるように、１．５８ｍｇ／ｍＬのｍ－クレゾールを含む製剤は、マンニトールまたはＮａＣｌの存在下を含め、調べたいずれのＰＳ８０濃度でも濁らない。したがって、この試験で調べた１．５８ｍｇ／ｍＬのｍ－クレゾールを含むいずれの組成物でも濃度閾値には達しなかった。しかしながら、ｍ－クレゾールの濃度を３．１５ｍｇ／ｍＬに上昇させると、ポリソルベート８０の濃度が上昇するにつれて濁りの発生が見られる。最後に、マンニトールまたはＮａＣｌのいずれかの存在は、用量依存的様式で濁りの発生を悪化させる。

【００９０】

特定の界面活性剤および防腐剤の濃度での濁りの発生に対するグリセロールとＰＰＧの影響は図５に見ることができる。図５に示すように、ＰＰＧを含めると、用量依存的様式で濁りの発生が低減する。一方、グリセロールは、対照と比較して濁度データの左方向へのシフトをもたらし、この試験で調べた組成物の濁度を低減しなかったことが示唆される。

【００９１】

ＮＭＰの影響は図６に見ることができる。図６に示すように、ＮＭＰは用量依存的様式で濁りの発生を低減する。

【００９２】

特定のＰＳ８０およびｍ－クレゾール濃度で濃度閾値に達した時点でのＰＥＧ４００の影響は図７に見ることができる。図７に示すように、ＰＥＧ４００は用量依存的様式で濁りの発生を低減する。

【００９３】

最後に、マンニトールまたはＮａＣｌのいずれかの存在下での、ＰＳ８０とｍ－クレゾールまたはフェノールの組み合わせの濃度閾値の比較を図８に見ることができる。図８に示すように、両方の防腐剤が濁りの発生を引き起こしたが、フェノールは調べた全ての濃度でｍ－クレゾールよりもＰＳ８０との相溶性が高く、マンニトールはＮａＣｌよりも有害な影響を及ぼす。

【００９４】

要約すると、これらの試験のデータは、濃度閾値が組成物中の界面活性剤および防腐剤の同一性および濃度に固有であり、そのような組成物で濁りを生じさせる相分離の発生は、溶媒変性剤を含めることにより用量依存的な様式で低減されるか、または特定の一般に使用される等張化剤を含めることにより用量依存的な様式で悪化するかのいずれかであり得ることを示している。

【００９５】

さまざまな分子量のモデルタンパク質を含む組成物中の濃度閾値および溶媒変性剤の効果

組成物中に濁りを発生させる界面活性剤と防腐剤との相互作用、および溶媒変性剤を含めることによってその現象を低減する能力が、組成物中のタンパク質の同一性に依存しないことを確認するための試験を行う。この試験に含めるために特定されたタンパク質は、以下の表５に示すように、幅広い分子量を含むように選択される。

【表５】

タンパク質	分子量(kDa)
サイログロブリン	670
チトクロムｃ	12.4
Ｃリゾチーム	14.3
β-ラクトグロブリン	18.4
ウシ血清アルブミン	67

表５．

【００９６】
リン酸一ナトリウム一水和物、リン酸水素二ナトリウム七水和物、ＰＳ８０、およびｍ－クレゾールは、Ｅｌｉ Ｌｉｌｌｙ（Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，Ｉｎｄｉａｎａ）から入手する。Ｎ－メチル－２－ピロリドン（ＮＭＰ）、チトクロムＣ、リゾチーム、β－ラクトグロブリン、およびサイログロブリンは、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ（Ｍｉｌｗａｕｋｅｅ，Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ）から入手する。ウシ血清アルブミンはＡｋｒｏｎから入手する。全ての材料はそのまま使用する。

【００９７】
０．７８２１ｍｇ／ｍＬのリン酸水素二ナトリウムと０．６２ｍｇ／ｍＬのリン酸一ナトリウムを水中で組み合わせ、ｐＨを７．０に調整することにより１０ｍＭリン酸緩衝液の２Ｌバッチを調製し、試験の緩衝液マトリックスとして使用する。続いて、ＰＳ８０、ｍ－クレゾールおよび／またはＮＭＰを含むタンパク質製剤を調製し、目視検査する。組成と結果の詳細を以下の表６に提供する。

【表６】

タンパク質(mg/mL)	ポリソルベート80(mg/mL)	m-クレゾール(mg/mL)	NMP(mg/mL)	外観
チトクロムC、5mg/mL	0.2	0	0	消失
	0.2	3.15	0	混濁
	0.2	3.15	81	消失
リゾチーム、10mg/mL	0.2	0	0	消失
	0.2	3.15	0	混濁
	0.2	3.15	81	消失
β-ラクトグロブリン、10mg/mL	0.2	0	0	消失
	0.2	3.15	0	混濁
	0.2	3.15	81	消失
ウシ血清アルブミン、または5mg/mL	0.2	0	0	消失
	0.2	3.15	0	混濁
	0.2	3.15	81	消失
ウシ血清アルブミン、10mg/mL	0.2	0	0	消失
	0.2	3.15	0	混濁
	0.2	3.15	81	消失
チログロブリン5mg/mL	0.2	0	0	消失
	0.2	3.15	0	混濁
	0.2	3.15	81	消失

表６．

【００９８】
表６のデータは、複数の濃度のＢＳＡを含む検査した全てのタンパク質について、溶媒変性剤の非存在下での０．２ｍｇ／ｍＬのポリソルベート８０と３．１５ｍｇ／ｍＬのｍ－クレゾールの組み合わせが相分離を引き起こし、混濁した外観をもたらす一方で、８１ｍｇ／ｍＬのＮＭＰを含めると、そのような相分離の発生が防止されることを示している。

【００９９】
デュラグルチドの保存製剤に関する安定性試験
試験は、本発明に従って溶媒変性剤で調製されたデュラグルチドの保存製剤の安定性を調べるように設計されている。現在入手可能なＴＲＵＬＩＣＩＴＹ（登録商標）（デュラグルチド）の市販製剤は、１０ｍＭクエン酸緩衝液（ｐＨ６．５）中に３ｍｇ／ｍＬのデュラグルチド、０．２ｍｇ／ｍＬのＰＳ８０、および４６．４ｍｇ／ｍＬのマンニトールが含まれている。上記のように、フェノール防腐剤の添加によってこの製剤を保存するた

めの以前の努力は、ＰＳ８０とフェノール防腐剤との非相溶性のために相分離をもたらした。しかしながら、本明細書に記載の溶媒変性剤を使用することにより、十分な抗菌効果を達成するのに十分な防腐剤と、安定性の目的に必要な０．２ｍｇ／ｍＬのＰＳ８０とを含めることができるが、非溶媒変性剤含有製剤で観察された相分離を伴わない、改善された製剤が開発された。それらの製剤の組成を以下の表７に示す。

【表７】

ID	緩衝液	デュラグルチド	PS80	等張化剤	防腐剤
A	10mMクエン酸緩衝液、pH=6.5	3mg/mL	0.2mg/mL	プロピレングリコール、15mg/mL	フェノール、4mg/mL
B				プロピレングリコール、15mg/mL	m-クレゾール、0.32mg/mLおよびフェノール、3.5mg/mL
C				グリセロール、20mg/mL	フェノール、4mg/mL
D				グリセロール、20mg/mL	m-クレゾール、0.32mg/mLおよびフェノール、3.5mg/mL

表７．

【０１００】

試験は、これらの組成物中のデュラグルチドの安定性を調べるように設計されている。５ｍＭ、ｐＨ＝６．５のクエン酸緩衝液を調製し、そのまま使用する。適切な量のクエン酸緩衝液を５００ｍＬメスフラスコに移す。次に、計算された量の防腐剤と溶媒変性剤を同じフラスコに加え、混合して溶解させ、均一な溶液を確保する。メスシリンダーを使用して、３８．５ｍＬのデュラグルチド原薬を測定し、メスフラスコに移す。溶液が均一になるまで混合する。同時に、１００ｍｇ／ｍＬのポリソルベート８０のストック溶液を調製する。約１０００ｍｇのポリソルベートをガラスビーカーに移し、１０ｍＬの緩衝液に溶解する。トランスファーピペットを使用して、１ｍＬのポリソルベート８０ストック溶液をメスフラスコに移す。次に、液体メニスカスが５００ｍＬのマークに達するまで、適切な量の緩衝液を添加する。溶液をさらに混合して均一性を確保し、０．２２μｍフィルターで濾過する。濾過した医薬品を３ｍＬカートリッジに充填する。カートリッジ内の溶液は透明であることが視覚的に確認され、界面活性剤と防腐剤との相互作用による相分離が起こらなかったことが示唆される。

【０１０１】

さらに、充填したカートリッジを、安定性試験のために５℃で保存する。５℃の保存温度は、デュラグルチド医薬品の推奨保管温度である２～８℃を代表するものである。事前に指定された時点で、試料を保存場所から取り出し、透明で微粒子を含まないことを視覚的に確認し、以下に記載するさまざまな方法で試験する。

【０１０２】

ＨＩＡＣ。ＨＩＡＣ試験は、目に見えない微粒子含有量を測定するために使用され、ＵＳＰ＜７８７＞（治療用タンパク質注射における目に見えない微粒子）および＜７８８＞（注射における微粒子）に記載されている試験試料に対して実行される。これらは、欧州薬局方２．９．１９および日本の薬局方６．０７と調和している。各時点で、０．５ｍＬの溶液の５つのアリコートが３ｍＬのカートリッジから取り出されてプールされるため、測定結果（複数可）は平均５つの試料を反映している。結果を以下の表８に提供する。

【表８】

試料	時点(月)	微粒子(部/mL)							
		2μm		5μm		10μm		25μm	
		値	標準偏差。	値	標準偏差。	値	標準偏差。	値	標準偏差。
A	0	2960	87	1620	76	602	25	14	5
	0.5	4135	92	1941	110	702	18	15	5
	1	818	76	314	33	105	18	3	3
	2	2717	60	1146	39	366	6	22	6
	3	2560	61	761	56	139	13	11	3
	6	2720	79	1132	51	406	48	18	6
	12	3830	56	1688	32	415	25	7	5
B	0	6910	30	3239	90	1149	76	14	5
	0.5	2288	109	740	48	204	18	5	3
	1	6753	124	3456	94	1200	16	14	3
	2	3402	49	1442	26	356	27	18	8
	3	4487	26	1640	55	433	15	13	2
	6	1847	4	518	54	98	0	9	4
	12	7182	331	2883	347	552	183	18	16
C	0	1648	53	781	27	312	29	25	7
	0.5	6269	169	2671	116	423	37	2	2
	1	4927	29	1574	49	225	66	1	2
	2	6215	40	2600	21	831	35	40	9
	3	3870	83	1710	44	332	10	4	2
	6	5619	69	2347	10	517	4	3	4
	12	6586	363	2944	357	741	116	20	8
	1	5465	641	2331	123	773	44	23	10
D	0	2421	167	1076	61	334	20	7	4
	0.5	14595	46	4539	33	842	98	13	6
	1	7640	191	3490	97	710	36	1	1
	2	1624	16	555	32	185	14	9	7
	3	6388	96	3284	121	1078	68	22	4
	6	1259	18	399	1	113	10	10	0
	12	3636	210	1467	197	397	90	31	7

表８．ＨＩＡＣの結果。

【０１０３】

ＵＳＰ＜７８８＞（注射液中の微粒子）に準拠するには、デュラグルチド等の治療用タンパク質注射剤を含む非経口製品が、コンテナ当たり１０μｍ以上の６０００個以下の微粒子、および２５μｍ以上の６００個以下の微粒子を有する必要がある。表８に示すように、調べた全ての試料は、非経口製品のＦＤＡ制限内に十分収まった。

【０１０４】

ＭＦＩ．ＭＦＩ試験は、注射液および非経口溶液中に存在する気泡以外の微粒子を検出するために使用される。この方法は、情報のみを目的とした安定性を示す特性評価方法であり、フローイメージング技術を使用して、サイズ、濃度、および形態に関して肉眼では見ることができない粒子を列挙および分類する目的で行われる。試料を保存場所から取り出し、１２ヶ月後に検査する。結果を以下の表９に提供する。０．８５を超えるアスペクト比（ＡＲ）を有する５μｍ以上の微粒子は、形状が非常に円形であり、タンパク質の粒子とは対照的に、ストッパーからのシリコーンである可能性がある。

【表９】

ID	微粒子(部/mL)			CF
	≧2μm	≧5μm	≧5μm&>0.85AR	
A	11592	2590	1937	0.75
B	10158	1839	1427	0.78
C	8525	1667	1517	0.91
D	7028	1233	925	0.75

表９．略語：ＡＲ－アスペクト比；ＣＦ－循環分数。

【０１０５】
表９のデータは、過去のデュラグルチド医薬品のデータに匹敵する。
【０１０６】
ＳＥＣ。サイズ排除（ＳＥＣ）ＨＰＬＣ法を使用して、デュラグルチドの単量体純度を測定する。この方法により、凝集体および断片化された種を無傷の単量体タンパク質から分離する。
【０１０７】
デュラグルチド医薬品の単量体純度は、サイズ排除ＨＰＬＣで測定する。この方法では、２００オングストロームのポアサイズのシリカゲルカラムでのアイソクラティック分離を２１４ｎｍでのＵＶ検出と合わせて使用するが、これは、医薬品のペプチド骨格の最大吸光度に近いため、応答係数の補正は必要ない。この方法により、高分子量の形態（総凝集体）を単量体のデュラグルチドから分離する。この方法は、特異的であり、かつ安定性を示すことが実証されており、高分子量の形態をデュラグルチド単量体から分離する。単量体および凝集体は、総面積に対するピーク面積パーセントとして報告される。データを表１０に提供する。
【表１０】

ID	時間(月)							時間(月)						
	単量体(%)							総凝集体(%)						
	0	0.5	1	2	3	6	12	0	0.5	1	2	3	6	12
A	99.2	99.0	98.3	98.6	98.1	98.2	98.6	0.8	1.0	1.2	1.2	1.3	1.6	1.4
B	98.7	98.7	98.4	98.5	98.2	98.0	98.2	1.3	1.3	1.6	1.5	1.8	2.0	1.8
C	99.1	99.0	98.3	98.6	97.8	98.0	98.1	0.9	1.0	1.2	1.2	1.5	1.8	1.9
D	99.0	98.9	98.3	98.5	97.8	97.9	97.9	1.0	1.1	1.3	1.3	1.5	1.9	2.1

表１０．

【０１０８】
表１０のデータは、デュラグルチド医薬品の許容範囲内である。
【０１０９】
ＲＰ－ＨＰＬＣ。この方法は、デュラグルチド医薬品の純度および関連物質／不純物を決定するために設計されている。グリコシル化、Ｎ末端切断、リンカー切断、およびＦｃ領域の酸化から生じる関連不純物は、逆相グラジエントＨＰＬＣを２１４ｎｍでのＵＶ検出と併せて使用して未修飾のデュラグルチドから分離するが、これは、医薬品のペプチド骨格の最大吸光度に近いため、応答係数の補正は必要ない。この方法は、特異的であり、かつ安定性を示すことが実証されており、分解生成物を主要ピークから分離する。

【表１１】

ID	主要ピーク(%)							リンカー切断(%)						
	時間(月)							時間(月)						
	0	0.5	1	2	3	6	12	0	0.5	1	2	3	6	12
A	89.3	88.8	89.2	89.7	87.8	87.6	85.3	0.5	0.6	0.6	-*	0.8	1.0	1.5
B	90.2	89.5	89.8	88.5	88.5	88.5	86.9	0.1	-*	0.1	0.7	0.1	0.1	0.2
C	89.4	88.9	89.0	89.4	87.6	87.2	85.0	0.5	0.6	0.6	-*	0.8	1.0	1.5
D	89.1	88.9	89.0	88.1	87.5	87.1	84.4	0.5	0.6	0.6	0.7	0.8	1.0	1.5

表１１．ＲＰ－ＨＰＬＣの結果。＊分析エラーのため、データは利用不可能。

【０１１０】

表１１のデータは、デュラグルチドの許容範囲内である。

【０１１１】

制限消化。制限消化法は、デュラグルチド医薬品中のＧＬＰ－１アナログへの修飾を決定するために設計されている。医薬品試料をトリプシンによる穏やかな消化条件に曝露し、ＧＬＰ－１アナログとリンカーを分子のＦｃ部分から遊離させる。ＧＬＰ－１アナログは３つの小さなペプチドに消化される。この方法では、逆相グラジエントＨＰＬＣ分離２１４ｎｍでのＵＶ検出と併せて使用するが、これは、医薬品のペプチド骨格の最大吸光度に近いため、応答係数の補正は必要ない。この方法により、Ｎ末端切断、Ｎ末端修飾（Ｄｅｓ　Ｈ／ＨＧ、ピルビル化）、２５位のトリプトファンの酸化および２８位のリジンのヒドロキシル化に起因する関連不純物を、未修飾のデュラグルチドペプチドから分離する。この方法は、特異的であり、かつ安定性を示すことが実証されており、関連物質と不純物をそれぞれの未修飾ペプチドから分離する。結果を表１２に提供する。

【表１２】

ID	des H/HG(%)							総ハイドロックス/酸化(%)						
	時間(月)							時間(月)						
	0	0.5	1	2	3	6	12	0	0.5	1	2	3	6	12
A	2.7	2.3	2.7	2.7	2.5	2.4	2.7	4.4	4.1	3.9	4.1	4.1	4.2	4.3
B	2.7	2.4	2.7	2.6	2.4	2.4	2.6	4.3	4.2	3.8	4.1	4.0	4.2	4.4
C	2.8	2.4	2.7	2.7	2.5	2.5	2.4	4.3	4.1	3.9	4.0	4.0	4.2	4.5
D	2.7	2.4	2.7	2.7	2.5	2.5	2.6	4.3	4.1	3.8	4.0	4.0	4.2	4.3

表１２．制限消化の結果。略語ｄｅｓ　Ｈ／ＨＧ：Ｎ末端切断、Ｎ末端修飾、ハイドロックス／酸化：２５位のトリプトファンの酸化および２８位のリジンのヒドロキシル化。

【０１１２】

表１１のデータは、デュラグルチドの許容範囲内である。

【０１１３】

ＣＥ－ＳＤＳ　ＮＲ．キャピラリー電気泳動ドデシル硫酸ナトリウムを用いた非還元（ＣＥ－ＳＤＳ　ＮＲ）試験は、デュラグルチド医薬品の純度を決定するために使用される。デュラグルチド分子は変性され、分子変異体は、コーティングされていないキャピラリーに動電学的にロードされた独自のゲルマトリックスを介してサイズによって分離される。キャピラリーに電流を印加すると分離が起こり、２１４ｎｍのＵＶで分子変異体が検出されるが、これは、医薬品のペプチド骨格の最大吸光度に近いため、応答係数の補正は必要ない。この方法により、高分子量および単鎖の形態を単量体のデュラグルチドから分離する。この方法は、特異的であり、かつ安定性を示すことが実証されており、凝集体と単鎖の形態をデュラグルチド単量体から分離する。

【０１１４】

【表１３】

ID	GLP-Fc 主要ピーク(%)						
	時間(月)						
	0	0.5	1	2	3	6	12
A	97.1	97.2	96.7	96.6	96.6	96.5	95.8
B	96.7	96.8	96.3	96.5	96.2	96.1	95.5
C	97.1	97.0	96.7	96.7	96.6	96.2	95.6
D	97.1	97.0	96.6	96.6	96.6	96.2	95.2

表１３.

【０１１５】

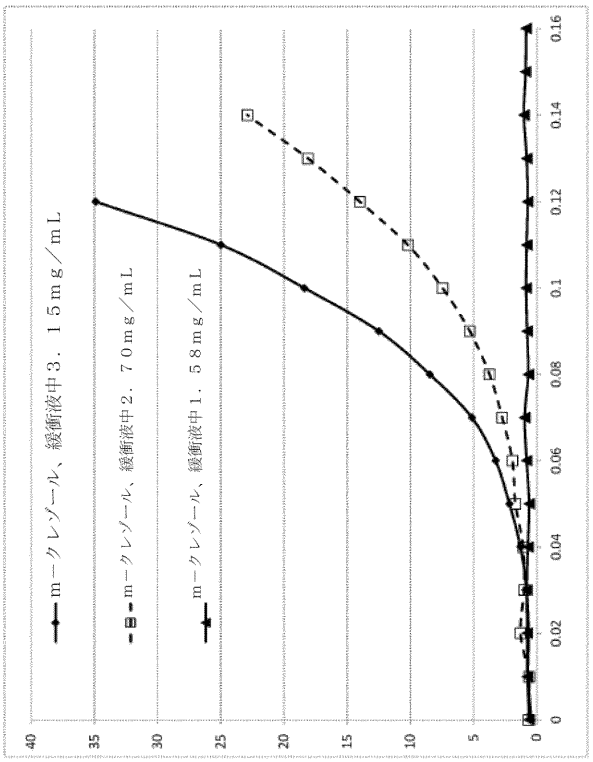
表１３のデータは、デュラグルチド医薬品の許容範囲内である。

【０１１６】

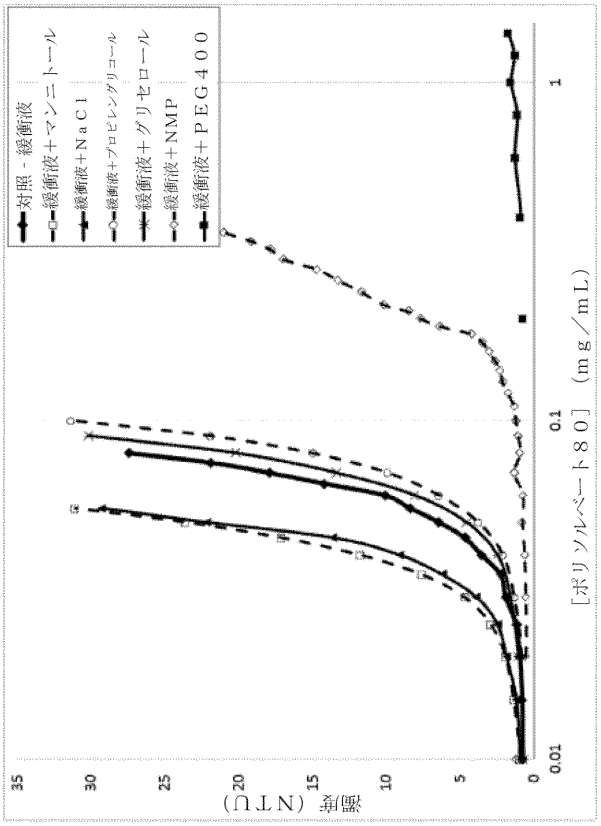
要約すると、上記の研究は、現在利用可能なＴＲＵＬＩＣＩＴＹの市販製剤で十分な安定性を提供するために使用されるのと同じＰＳ８０含有量を含むデュラグルチドの保存製剤は、溶媒変性剤の使用によって防腐剤と界面活性剤との相互作用による相分離なしで調製することができ、そのような製剤中のタンパク質が十分に安定なままであるという結論を支持するものである。

【図面】

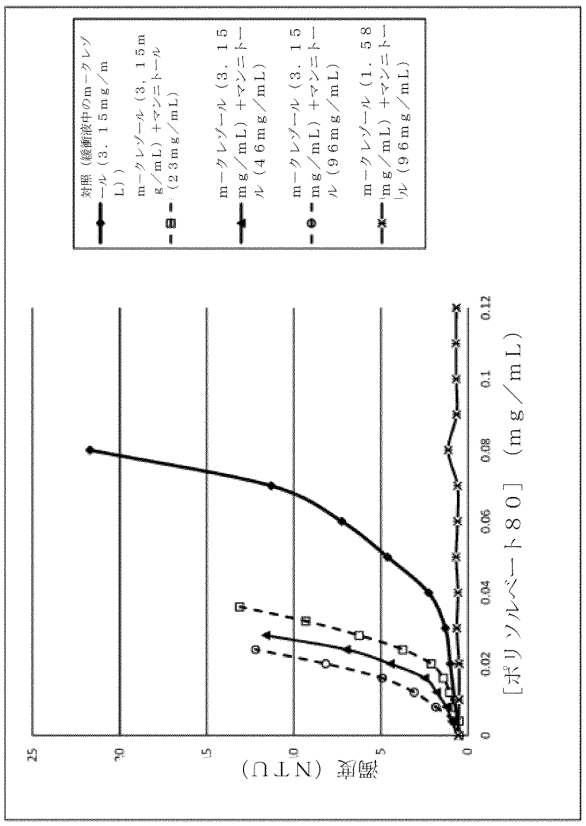
【図１】



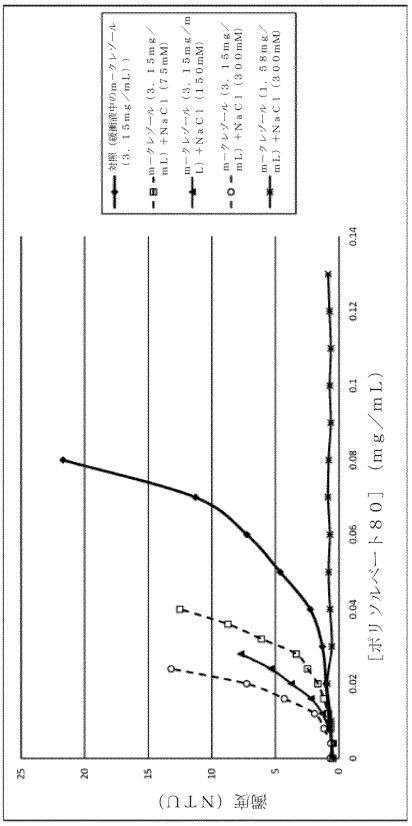
【図２】



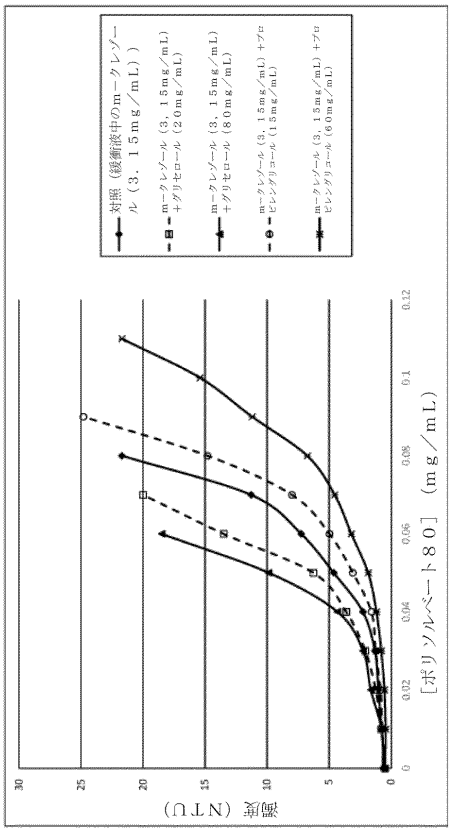
【図３】


濁度（ＮＴＵ）
［ポリソルベート８０］（ｍｇ／ｍＬ）
対照（緩衝液中のｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ））
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋マンニトール（２３ｍｇ／ｍＬ）
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋マンニトール（４６ｍｇ／ｍＬ）
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋マンニトール（９６ｍｇ／ｍＬ）
ｍ－クレゾール（１．５８ｍｇ／ｍＬ）＋マンニトール（９６ｍｇ／ｍＬ）

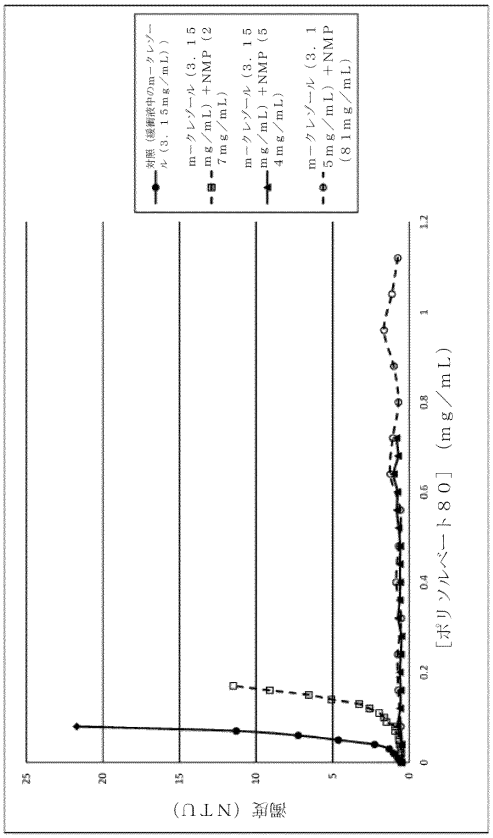
【図４】


濁度（ＮＴＵ）
［ポリソルベート８０］（ｍｇ／ｍＬ）
対照（緩衝液中のｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ））
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋ＮａＣｌ（７５ｍＭ）
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋ＮａＣｌ（１５０ｍＭ）
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋ＮａＣｌ（３００ｍＭ）
ｍ－クレゾール（１．５８ｍｇ／ｍＬ）＋ＮａＣｌ（３００ｍＭ）

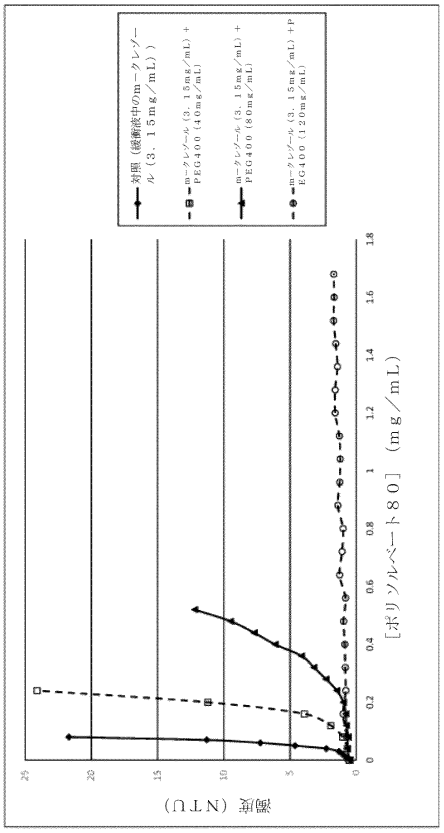
【図５】


濁度（ＮＴＵ）
［ポリソルベート８０］（ｍｇ／ｍＬ）
対照（緩衝液中のｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ））
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋グリセロール（２０ｍｇ／ｍＬ）
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋グリセロール（８０ｍｇ／ｍＬ）
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋プロピレングリコール（１５ｍｇ／ｍＬ）
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋プロピレングリコール（６０ｍｇ／ｍＬ）

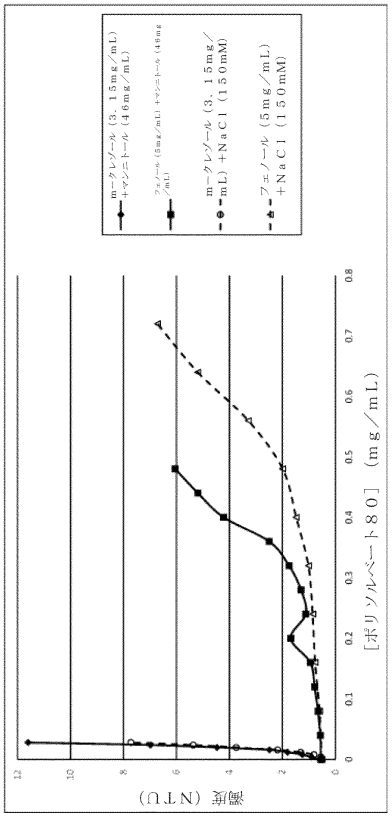
【図６】


濁度（ＮＴＵ）
［ポリソルベート８０］（ｍｇ／ｍＬ）
対照（緩衝液中のｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ））
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋ＮＭＰ（２７ｍｇ／ｍＬ）
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋ＮＭＰ（５４ｍｇ／ｍＬ）
ｍ－クレゾール（３．１５ｍｇ／ｍＬ）＋ＮＭＰ（８１ｍｇ／ｍＬ）

【図７】



【図８】



【配列表】
2023123742000001.app

【外国語明細書】
2023123742000023.pdf

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		
A61K	*47/18*	*(2017.01)*	A61K	47/18	
A61K	*47/04*	*(2006.01)*	A61K	47/04	
A61K	*47/12*	*(2006.01)*	A61K	47/12	
A61K	*38/47*	*(2006.01)*	A61K	38/47	
A61K	*38/17*	*(2006.01)*	A61K	38/17	
A61K	*38/38*	*(2006.01)*	A61K	38/38	
A61K	*9/08*	*(2006.01)*	A61K	9/08	
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61P	43/00	111
C07K	*14/605*	*(2006.01)*	C07K	14/605	

ライ・リリー・アンド・カンパニー内
(72)発明者 チャン，カン カンイー
アメリカ合衆国４６２０６－６２８８インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス６２８８、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内