



УКРАЇНА

(19) **UA**
(51) МПК(11) **129439**(13) **C2**

A61K 9/08 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61K 47/02 (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	a 2022 03796	(72) Винахідник(и):	Вілладсен Йєспер Скодборг (DK), Готтшалк Бьовінг Тіна Елізабет (DK)
(22) Дата подання заявки:	16.03.2021	(73) Володілець (володільці):	ЗІЛЕНД ФАРМА А/С, Sydmarken 11, DK-2860 Søborg, Denmark (DK)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності:	24.04.2025	(74) Представник:	Кістерський Тимофій Арсенійович, реєстр. №457
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	20163408.6	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2019/008033 A1, 10.01.2019 WO 2014016300 A1, 30.01.2014 WO 2019110838 A1, 13.06.2019
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	16.03.2020		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	EP		
(41) Публікація відомостей про заявку:	15.03.2023, Бюл.№ 11		
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію:	23.04.2025, Бюл.№ 17		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/EP2021/056651, 16.03.2021		

(54) РІДКИЙ СКЛАД АНАЛОГА ГЛЮКАГОНУ**(57) Реферат:**

Винахід стосується стабільного рідкого водного фармацевтичного складу, що містить аналог глюкагону, який являє собою: Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH, або його фармацевтично прийнятну сіль;

причому склад містить:

- (a) аналог глюкагону, що є присутнім у концентрації від 0,5 до 10 мг/мл;
(b) ТРИС, ACES або MES, що є присутніми як буфер, у концентрації від 25 до 75 мМ, і/або цитрат, ацетат або сукцинат, що є присутніми як буфер, у концентрації від 1 до 30 мМ;
(c) хлорид натрію, що є присутнім як модифікатор тоничності й у концентрації від 50 до 600 мМ; і
(d) рН від 5,6 до 7,0.

UA 129439 C2

Область техніки

Даний винахід відноситься до складів аналогів глюкагону й їх медичного застосування, наприклад, при лікуванні гіпоглікемії. Зокрема, даний винахід відноситься до стабільних рідких водних складів аналогів глюкагону.

5 Рівень техніки

Препроглюкагон людини являє собою поліпептид-попередник з 158 амінокислот, який диференційно процесується в тканинах з утворенням ряду структурно родинних пептидів, що походять від проглюкагону, включаючи глюкагон (Glu), глюкагоноподібний пептид-1 (GLP-1), глюкагоноподібний пептид-2 (GLP-2) й оксинтомодулін (ОХМ). Зазначені молекули беруть

10 участь у широкому спектрі фізіологічних функцій, включаючи гомеостаз глюкози, секрецію інсуліну, спорожнювання шлунка та ріст кишечника, а також регуляцію споживання їжі.

Нативний глюкагон являє собою пептид із 29 амінокислот, який відповідає амінокислотам у положеннях з 53 по 81 препроглюкагону. Глюкагон допомагає підтримувати рівень глюкози в крові шляхом зв'язування з рецепторами глюкагону на гепатоцитах, викликаючи вивільнення

15 печінкою глюкози, запасеної у формі глікогену, за допомогою глікогенолізу. В міру виснаження цих запасів глюкагон також стимулює синтез печінкою додаткової глюкози за допомогою глюконеогенезу. Ця глюкоза вивільняється в кровоток, перешкоджаючи розвитку гіпоглікемії. Це призвело до розробки терапевтичних складів глюкагону або аналогів глюкагону, які призначені для застосування в "рятувальних" ситуаціях для полегшення гострої гіпоглікемії в суб'єктів з

20 цукровим діабетом, наприклад, для лікування суб'єктів, які одержали надмірно високу дозу інсуліну. Однак через відносно низьку фізичну та хімічну стабільність нативного глюкагону як такого більшість продуктів глюкагону, які у даний час доступні комерційно, забезпечені у вигляді ліофілізованих твердих препаратів, які необхідно відновити у відповідному рідкому середовищі безпосередньо перед використанням. Оскільки у суб'єктів з гіпоглікемією можуть спостерігатися

25 симптоми запаморочення та/або сплутаності свідомості, або у деяких випадках вони можуть навіть знепритомніти або можуть бути у напівнепритомному стані, це означає, що вони можуть бути не в змозі здійснити або завершити необхідне первинне відновлення в рідині та наступну ін'єкцію розглянутого складу глюкагону. В результаті цього можливо, що відновлення та ін'єкція повинні бути виконані іншою людиною, яка не має досвіду поводження з продуктом протягом

30 обмеженого часу, доступного до надмірної агрегації глюкагону.

Як наслідок, у даній області були початі зусилля для одержання складів аналогів глюкагону, які, на додаток до наявності задовільно високої активності відносно рецептора глюкагону, є досить розчинними (зокрема, при фізіологічному рН, тоді як нативний глюкагон по суті не розчинний при нейтральному рН) і фізично та хімічно стабільними у рідких складах, які можуть

35 бути негайно використані без необхідності відновлення. Ці аналоги (i) можуть бути переважно забезпечені у формі готового до застосування рідкого фармацевтичного складу, адаптованого для негайної ін'єкції, та (ii) можуть зберігатися (у тому числі переноситися суб'єктом, що розглядається, або пацієнтом в умовах навколишнього середовища) протягом досить тривалого періоду часу перед використанням.

40 У WO 2011/117417 (Novo Nordisk A/S) розкриті модифіковані пептиди глюкагону, що включають мутацію у положенні амінокислоти 25 глюкагону 1-29, які стійкі до агрегації у водних розчинах.

У WO 2016/133863 (Eli Lilly and Company) описані порошкові композиції глюкагону для назального введення, які включають циклодекстрин і фосфоліпідну поверхнево-активну

45 речовину у фазі, що характеризується мезопіком РПД.

WO 2019/110838 (Adocia) відноситься до сполук глюкагону, карбоксилатних наповнювачів, що несуть співполіамінокислоти, і гідрофобних радикалів.

У WO 2008/084237 (Aregor Limited) описані водні білкові композиції, в яких використовують заміщаючий буфер, який має рКа, що перевищує щонайменше на одну одиницю рН, при якому

50 білок стабілізований.

У WO 2014/016300 (Zealand Pharma A/S) описані аналоги глюкагону, що підходять для застосування у рідких складах, причому зазначені аналоги мають поліпшену розчинність та/або стабільність у порівнянні з нативним глюкагоном людини. Один із аналогів глюкагону, описаний у WO 2014/016300, називається дазиглюкагоном і проходить клінічні дослідження як готовий до

55 застосування лікування важкої гіпоглікемії для лікування діабету 1 типу та для лікування вродженого гіперінсулінізму. Фармакокінетичні та фармакодинамічні характеристики дазиглюкагону та порівняння з GlucaGen® розкриті у Hövelmann et al, Diabetes Care, 2017 (<https://doi.org/10.2337/dc17-1402>).

У WO 2017/053822 (Xeris Pharmaceuticals, Inc.) розкриті рідкі складі нативного пептиду

60 глюкагону, в яких як системи апротонного полярного розчинника використовують

диметилсульфоксид (ДМСО). Для поліпшення солюбілізації також можуть бути додані стабілізуючі іонізацію допоміжні речовини. У WO 2014/124151 (Xeris Pharmaceuticals, Inc.) розкриті рідкі складі пептиду глюкагону в ДМСО, які додатково включають кріопротектор, такий як трегалоза, для захисту складів від циклів заморожування-відтаювання. Однак використання ДМСО в системі розчинників для цих складів має декілька істотних недоліків, оскільки це робить в'язкість складів відносно високою, що утрудняє ін'єкцію та призводить до небажаних побічних ефектів, таких як шкірні реакції, сухість шкіри, головний біль, запаморочення, сонливість, нудота, блювота, діарея, запор, проблеми з диханням, проблеми із зором, проблеми з кров'ю й алергійні реакції. ДМСО також викликає часниковий смак, запах подиху та тіла. Крім того, ДМСО розчиняє пластмаси та каучук, що може бути недоліком при виконанні введення за допомогою пристрою для доставки, наприклад, шприца-ручки, шприца або насосної системи. У деяких випадках ДМСО використовують у комбінації з 15-20 % співрозчинника, такого як пропіленгліколь або етанол, щоб уникнути відносно високої температури замерзання складів, що містять 80-100 % ДМСО. Однак, якщо у складах з використанням ДМСО та співрозчинників міститься більше 5 % води, це знижує хімічну стабільність глюкагону в складі.

Таким чином, у даній області техніки все ще існує проблема, що стосується поліпшення складу аналогів глюкагону, зокрема, забезпечення стабільних рідких складів, які здатні зберігатися протягом тривалого часу без надмірних рівнів фізичного та хімічного розкладання (деградації) активної мономерної форми пептиду, й які долають деякі недоліки, пов'язані з існуючими складами глюкагону або аналогами глюкагону.

Короткий опис винаходу

В цілому, даний винахід заснований на дослідженнях, описаних у прикладах, у яких вивчені й ідентифіковані допоміжні речовини, що підходять для застосування у рідких водних складах аналогів глюкагону, придатних для довгочасного зберігання у вигляді рідин, й які підходять для застосування в одноклизових (SD) або багатоклизових (MD) складах.

У цих дослідженнях автори даного винаходу виявили, що буферний агент, який використовується у складах аналогів глюкагону, здійснює важливий ефект на стабільність водних складів, що містять аналоги глюкагону, зокрема, дазиглюкагон. Експерименти, розкриті у даній заявці, показують, що буфери ТРИС, Біс-ТРИС, ACES і MES й/або ацетатний, цитратний або сукцинатний буфери забезпечують хімічну стабільність складів аналогів глюкагону при слабкокислому або нейтральному рН, про що свідчить детектування та кількісне визначення продуктів деградації. Порівняльний аналіз профілів деградації показує, що ці буфери забезпечують підвищену стабільність у порівнянні з іншими тестованими буферними системами, такими як гістидин або фосфат, навіть якщо склади мали той самий рН, тобто стабільність, що забезпечується буферами, щонайменше частково не залежить від їх рН-модуючих властивостей. Важливо відзначити, що в аспектах даного винаходу, в яких склади додатково містять консервант, такий як мета-крезол, зазначені склади мають довгочасну стабільність у рідкій формі й, отже, придатні для багаторазового дозування. Це дозволяє забезпечити склади аналогів глюкагону у вигляді пристрою для доставки лікарського засобу й, зокрема, одноклизових або багатоклизових пристроїв для доставки, таких як попередньо заповнений шприц, пристрій для ін'єкцій, шприц-ручка, автоін'єктор з дозою, що коригується, одноразовий автоін'єктор, ін'єктор з можливістю носіння або інфузійний насос, забезпечуючи за допомогою цього пацієнтам готовий до застосування склад у більше простому, більше безпечному та більше зручному для пацієнта пристрої.

Відповідно, згідно з першим аспектом даного винаходу запропонований стабільний рідкий водний фармацевтичний склад, що містить аналог глюкагону, який являє собою:

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

або його фармацевтично прийнятну сіль та/або похідну; причому зазначений склад містить:

(a) аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятну сіль та/або похідну, що є присутніми у концентрації від приблизно 0,5 мг/мл до приблизно 10 мг/мл;

(b) ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES, що є присутнім як буфер, у концентрації від приблизно 25 мМ до приблизно 75 мМ;

(c) хлорид натрію, що є присутнім як модифікатор тоничності; й у концентрації від приблизно 50 мМ до приблизно 600 мМ; і

(d) рН від приблизно 5,6 до приблизно 7,0.

Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропонований стабільний рідкий водний фармацевтичний склад, що містить аналог глюкагону, який являє собою:

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

або його фармацевтично прийнятну сіль та/або похідну; причому зазначений склад містить:

(a) аналог глюкагону, що є присутнім у концентрації від приблизно 0,5 мг/мл до приблизно

10 мг/мл;

(b) ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES, що є присутнім як буфер, у концентрації від приблизно 25 мМ до приблизно 75 мМ, і/або цитрат, ацетат або сукцинат, що присутній як буфер, у концентрації від приблизно 1 мМ до приблизно 30 мМ;

5 (c) хлорид натрію, що є присутнім як модифікатор тоничності й у концентрації від приблизно 50 мМ до приблизно 600 мМ; і

(d) рН від приблизно 5,6 до приблизно 7,0.

10 Згідно з деякими варіантами реалізації складу, що містить аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятну сіль та/або похідну, зазначений склад містить аналог глюкагону, його фармацевтично прийнятну сіль або його похідну, що є присутнім у концентрації від приблизно 0,1 мг/мл до приблизно 1,0 мг/мл, наприклад, приблизно 0,1 мг/мл, приблизно 0,2 мг/мл, приблизно 0,3 мг/мл, приблизно 0,4 мг/мл, приблизно 0,5 мг/мл, приблизно 0,6 мг/мл, приблизно 0,7 мг/мл, приблизно 0,8 мг/мл, приблизно 0,9 мг/мл або приблизно 1,0 мг/мл.

15 Згідно з деякими аспектами автори даного винаходу виявили, що буфери ТРИС, Біс- ТРИС, ACES або MES здатні безпосередньо хімічно стабілізувати аналог глюкагону незалежно від рН складу, що забезпечується буфером. Факт безпосереднього поліпшення хімічної стабілізації може бути визначений відносно стабільності аналога глюкагону у відповідному складі у фосфатному буфері та/або гістидиновому буфері в тих же тестових умовах.

20 Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропоновані способи одержання стабільних рідких водних фармацевтичних композицій згідно з даним винаходом.

Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропонований пристрій для доставки, який містить стабільний рідкий водний склад, що містить аналог глюкагону згідно з даним винаходом. Як приклад, пристрій для доставки включає попередньо заповнений шприц, пристрій для ін'єкцій, шприц-ручку, автоін'єктор з дозою, що коригується, одноразовий автоін'єктор, ін'єктор з
25 можливістю носіння або інфузійний насос.

Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропонований промисловий виріб або набір, які містять контейнер, що вміщає стабільну рідку водну фармацевтичну композицію згідно з даним винаходом.

30 Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропонований стабільний рідкий водний склад аналога глюкагону згідно з даним винаходом для застосування в терапії.

Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропонований стабільний рідкий водний склад аналога глюкагону згідно з даним винаходом для застосування при лікуванні захворювання або стану, вибраного з гіпоглікемії (включаючи, але не обмежуючись перерахованими, важку гіпоглікемію, гостру гіпоглікемію та хронічну гіпоглікемію), діабету 2
35 типу, порушення толерантності до глюкози, діабету 1 типу, ожиріння, ішемічної хвороби серця, атеросклерозу, гіпертензії, дисліпідемії, стеатозу печінки, отруєння β- блокаторами, інсуліномії або хвороби фон Гірке. Зокрема, склад можна застосовувати для лікування форм гіпоглікемії, наприклад, коли гіпоглікемія вибрана з групи, що складається з діабетичної гіпоглікемії, гострої гіпоглікемії, індукованої інсуліном, гіперінсулінімічної гіпоглікемії, недіабетичної гіпоглікемії, реактивної гіпоглікемії, гіпоглікемії натще, гіпоглікемії, індукованої лікарськими засобами,
40 вродженої гіперінсулінімічної гіпоглікемії, гіпоглікемії, індукованої алкоголем, гіпоглікемії, індукованої шлунковим шунтуванням (включаючи, але не обмежуючись цим, постпрандіальну гіпоглікемію після шунтування шлунка за Ру), постбаріатричної гіпоглікемії або гіпоглікемії, що виникає під час вагітності, причому зазначений спосіб включає введення пацієнту, що має
45 потребу в лікуванні, терапевтично ефективної кількості стабільного рідкого водного складу аналога глюкагону згідно з даним винаходом.

Згідно з деякими варіантами реалізації важка гіпоглікемія характеризується дуже низьким рівнем цукру в крові. Згідно з деякими варіантами реалізації лікування гострої гіпоглікемії включає лікування гострого епізоду важкої гіпоглікемії, включаючи, але не обмежуючись цим,
50 епізод важкої гіпоглікемії, що характеризується дуже низьким рівнем цукру в крові. Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропонований спосіб лікування пацієнта, що має захворювання або стан, вибраний з гіпоглікемії (включаючи, але не обмежуючись перерахованими, важку гіпоглікемію, гостру гіпоглікемію та хронічну гіпоглікемію), діабету 2 типу, порушення толерантності до глюкози, діабету 1 типу, ожиріння, ішемічної хвороби серця, атеросклерозу, гіпертензії, дисліпідемії, стеатозу печінки, отруєння β-блокаторами, інсуліномії або хвороби фон Гірке. Зокрема, склад можна застосовувати для лікування форм гіпоглікемії, наприклад, коли гіпоглікемія вибрана з групи, що складається з: діабетичної гіпоглікемії, гострої гіпоглікемії, індукованої інсуліном, гіперінсулінімічної гіпоглікемії, недіабетичної гіпоглікемії, реактивної гіпоглікемії, гіпоглікемії натще, гіпоглікемії, індукованої лікарськими засобами,
55 вродженої гіперінсулінімічної гіпоглікемії, гіпоглікемії, індукованої алкоголем, гіпоглікемії,
60

індукованої шлунковим шунтуванням (включаючи, але не обмежуючись цим, постпрандіальну гіпоглікемію після шунтування шлунка за Ру), постбаріатричної гіпоглікемії або гіпоглікемії, що виникає під час вагітності, причому зазначений спосіб включає введення пацієнту, що має потребу в лікуванні, терапевтично ефективної кількості стабільного рідкого водного складу аналога глюкагону згідно з даним винаходом.

Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропоноване застосування стабільного рідкого водного складу аналога глюкагону згідно з даним винаходом у виготовленні лікарського засобу для лікування захворювання або стану, вибраного гіпоглікемії (включаючи, але не обмежуючись перерахованими, важку гіпоглікемію, гостру гіпоглікемію та хронічну гіпоглікемію), діабету 2 типу, порушення толерантності до глюкози, діабету 1 типу, ожиріння, ішемічної хвороби серця, атеросклерозу, гіпертензії, дисліпідемії, стеатозу печінки, отруєння β-блокаторами, інсуліноми або хвороби фон Гірке. Зокрема, склад можна застосовувати для лікування форм гіпоглікемії, наприклад, коли гіпоглікемія вибрана з групи, що складається з: діабетичної гіпоглікемії, гострої гіпоглікемії, індукованої інсуліном, гіперінсулінімічної гіпоглікемії, недіабетичної гіпоглікемії, реактивної гіпоглікемії, гіпоглікемії натще, гіпоглікемії, індукованої лікарськими засобами, вродженої гіперінсулінімічної гіпоглікемії, гіпоглікемії, індукованої алкоголем, гіпоглікемії, індукованої шлунковим шунтуванням (включаючи, але не обмежуючись цим, постпрандіальну гіпоглікемію після шунтування шлунка за Ру), постбаріатричної гіпоглікемії або гіпоглікемії, що виникає під час вагітності, причому зазначений спосіб включає введення пацієнту, що має потребу в лікуванні, терапевтично ефективної кількості стабільного рідкого водного складу аналога глюкагону згідно з даним винаходом.

Згідно з деякими варіантами реалізації пацієнт, що одержує лікування із застосуванням складу відповідно до даного винаходу, не перебуває в стані голоду, не має недостатності надниркових залоз і/або не має хронічної гіпоглікемії. Згідно з деякими варіантами реалізації пацієнт, що одержує лікування із застосуванням складу відповідно до даного винаходу, не відчуває зниження рівня печінкового глікогену. Згідно з деякими варіантами реалізації пацієнт, що одержує лікування із застосуванням складу відповідно до даного винаходу, не має пухлини в його або її наднирковій залозі, включаючи феохромоцитому, але не обмежуючись цим. Згідно з деякими варіантами реалізації пацієнт, що одержує лікування із застосуванням складу відповідно до даного винаходу, не має пухлини в його або її підшлунковій залозі, включаючи інсуліному, але не обмежуючись цим.

Згідно з деякими варіантами реалізації вік пацієнта, що одержує лікування із застосуванням складу відповідно до даного винаходу, становить шість років або більше.

Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропонований спосіб одержання стабільного рідкого водного фармацевтичного складу, що містить аналог глюкагону, який являє собою:

Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

або його фармацевтично прийнятну сіль та/або похідну;

причому зазначений спосіб включає включення до складу (а) аналога глюкагону або його фармацевтично прийнятної солі та/або похідної, що є присутнім у концентрації від приблизно 0,5 мг/мл до приблизно 10 мг/мл; (b) ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES, що є присутнім як буфер, у концентрації від приблизно 25 мМ до приблизно 75 мМ; (c) хлориду натрію, що є присутнім як модифікатор тоничності; й у концентрації від приблизно 50 мМ до приблизно 600 мМ; (d) рН від приблизно 5,6 до приблизно 7,0; і необов'язково (e) мета-крезолу у концентрації від приблизно 1,0 мг/мл до приблизно 5,0 мг/мл з одержанням стабільного рідкого водного фармацевтичного складу. Згідно з переважними варіантами реалізації спосіб забезпечує стабільний рідкий водний фармацевтичний склад, який здатен стабільно зберігатися при 2-8°C протягом щонайменше 6 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 18 місяців або щонайменше 24 місяців.

Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропонований спосіб одержання стабільного рідкого водного фармацевтичного складу, що містить аналог глюкагону, який являє собою:

Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

або його фармацевтично прийнятну сіль та/або похідну;

причому зазначений спосіб включає включення до складу (а) аналога глюкагону або його фармацевтично прийнятної солі та/або похідної, що є присутнім у концентрації від приблизно 0,5 мг/мл до приблизно 10 мг/мл; (b) ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES, що є присутнім як буфер, у концентрації від приблизно 25 мМ до приблизно 75 мМ; (c) хлориду натрію, що є присутнім як модифікатор тоничності; й у концентрації від приблизно 50 мМ до приблизно 600 мМ; (d) рН від приблизно 5,6 до приблизно 7,0; і необов'язково (e) мета-крезолу у концентрації від приблизно 1,0 мг/мл до приблизно 5,0 мг/мл з одержанням стабільного рідкого водного фармацевтичного

складу. Згідно з переважними варіантами реалізації спосіб забезпечує стабільний рідкий водний фармацевтичний склад, який здатен стабільно зберігатися при 2-8°C протягом щонайменше 6 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 18 місяців або щонайменше 24 місяців.

Згідно з деякими варіантами реалізації аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятна сіль та/або його похідна є присутньою у концентрації від приблизно 0,1 мг/мл до приблизно 1,0 мг/мл, наприклад, приблизно 0,1 мг/мл, приблизно 0,2 мг/мл, приблизно 0,3 мг/мл, приблизно 0,4 мг/мл, приблизно 0,5 мг/мл, приблизно 0,6 мг/мл, приблизно 0,7 мг/мл, приблизно 0,8 мг/мл, приблизно 0,9 мг/мл або приблизно 1,0 мг/мл.

Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропоноване застосування стабільного рідкого водного фармацевтичного складу, що містить аналог глюкагону, який являє собою:

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

або його фармацевтично прийнятну сіль та/або похідну;

для забезпечення рідкого водного фармацевтичного складу, який є стабільним протягом 24 місяців при зберіганні при 2-8°C, причому зазначений склад містить:

(a) аналог глюкагону, що є присутнім у концентрації від приблизно 0,5 мг/мл до приблизно 10 мг/мл;

(b) ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES, що є присутнім як буфер, у концентрації від приблизно 25 мМ до приблизно 75 мМ;

(c) хлорид натрію, що є присутнім як модифікатор тоничності; й у концентрації від приблизно 50 мМ до приблизно 600 мМ;

(d) рН від приблизно 5,6 до приблизно 7,0; і необов'язково

(e) мета-крезол у концентрації від приблизно 1,0 мг/мл до приблизно 5,0 мг/мл з одержанням стабільного рідкого водного фармацевтичного складу.

Згідно з деякими варіантами реалізації аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятна сіль та/або похідна є присутнім у концентрації від приблизно 0,1 мг/мл до приблизно 1,0 мг/мл, наприклад, приблизно 0,1 мг/мл, приблизно 0,2 мг/мл, приблизно 0,3 мг/мл, приблизно 0,4 мг/мл, приблизно 0,5 мг/мл, приблизно 0,6 мг/мл, приблизно 0,7 мг/мл, приблизно 0,8 мг/мл, приблизно 0,9 мг/мл або приблизно 1,0 мг/мл.

Згідно з додатковими аспектами даній винахід відноситься до рідкого водного фармацевтичного складу, що містить аналог глюкагону, який по суті складається або складається з аналога глюкагону й інших компонентів складу, визначених у даній заявці. Додаткові аспекти та варіанти реалізації даного винаходу будуть зрозумілі фахівцям у даній області техніки з урахуванням даного розкриття.

У даній заявці "і/або" слід розглядати як конкретний опис кожної з двох зазначених ознак або компонентів, включаючи інший або без нього. Наприклад, "А і/або В" слід розглядати як конкретний опис кожного з (i) А, (ii) В і (iii) А і В, як якщо кожний з них був зазначений у даній заявці окремо.

Якщо контекст не потребує іншого, описи та визначення ознак, викладених вище, не обмежуються яким-небудь конкретним аспектом або варіантом реалізації даного винаходу та рівною мірою застосовні до всіх аспектів і варіантів реалізації, які описані.

Докладний опис винаходу

Визначення

Якщо не зазначено інше, наступні визначення запропоновані для конкретних термінів, які використовуються у наведеному вище письмовому описі.

У всьому описі та формулі винаходу для природних амінокислот використовують звичайні однобуквені та трибуквені коди. Всі амінокислотні залишки у пептидах згідно з даним винаходом переважно мають L-конфігурацію, однак амінокислоти з D-конфігурацією також можуть бути присутніми. Aib означає α-аміноізомасляну кислоту.

Аналоги глюкагону

Термін "нативний глюкагон" відноситься до нативного глюкагону людини, що має послідовність H-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-OH (SEQ ID NO: 1).

Переважні сполуки, що застосовуються у складах згідно з даним винаходом, мають щонайменше активність агоністів глюкагону. Це можна оцінити в аналізах in vitro, наприклад, як описано у WO 2014/016300, в якому продукування клітинного циклічного АМФ (цАМФ) використовується для моніторингу активності рецептора глюкагону людини у присутності аналогів глюкагону.

Серед послідовностей, розкритих у даній заявці, є послідовності, що включають фрагмент "Hy-" на амінокінці (N-кінці) послідовності та фрагмент "-OH" на карбоксикінці (C-кінці) послідовності. У таких випадках й якщо не зазначено інше, фрагмент "Hy-" на N-кінці

розглянутої послідовності вказує на атом водню, у той час як фрагмент "-ОН" на С-кінці послідовності вказує на гідроксигрупу.

Аналоги глюкагону, що присутні у складах згідно з даним винаходом, мають одну або більше замінів, делецій, інверсій або додавань амінокислот у порівнянні з нативним глюкагоном. Це визначення також включає синонімічні терміни "міметики глюкагону" й/або "агоністи глюкагону". Крім того, аналоги згідно з даним винаходом можуть додатково мати хімічну модифікацію однієї або більше з їх бічних груп амінокислот, α - атомів вуглецю, кінцевої аміногрупи або кінцевої карбоксильної групи. Хімічна модифікація включає, але не обмежується ними, додавання хімічних фрагментів, створення нових зв'язків і видалення хімічних фрагментів. Модифікації у бічних групах амінокислот включають, але не обмежуються зазначеними, ацилювання ϵ -аміногруп лізину, N-алкілювання аргініну, гістидину або лізину, алкілювання карбоксильних груп глутамінової кислоти або аспарагінової кислоти та дезамідування глутаміну або аспарагіну. Модифікації кінцевої аміногрупи включають, але не обмежуються ними, дезамінування, N-нижчий алкіл, N-ди-нижчий алкіл і N-ацильні модифікації. Модифікації кінцевої карбоксильної групи включають, але не обмежуються ними, амідування, такі модифікації як нижчий алкіламід, діалкіламід і складний ефір нижчого алкілу. Переважно у даній заявці нижчий алкіл являє собою C₁-C₄ алкіл. Крім того, одна або більше бічних груп, або кінцевих груп, можуть бути захищені за допомогою захисних груп, відомих звичайному фахівцю з хімії пептидів. α -Вуглець амінокислоти може бути моно- або диметильованим.

Згідно з деякими аспектами у рідких складах згідно з даним винаходом застосовують аналог глюкагону, представлений формулою:

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH (SEQ ID NO: 2), сполука 1 або її фармацевтично прийнятну сіль або похідну;

У трибуквеному амінокислотному коді цей аналог глюкагону (дазиглюкагон) представлений формулою:

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

Сполука 1 (SEQ ID NO: 2) демонструє агоністичну активність *in vitro* відносно рецептора глюкагону людини зі значеннями EK50 0,0095 нМ і 0,030 нМ, відповідно, як повідомляється у WO 2014/016300.

Слід розуміти, що пептиди (лікарські субстанції) згідно з даним винаходом також можуть бути забезпечені у вигляді солі або іншої похідної. Солі включають фармацевтично прийнятні солі, як описано у визначеннях.

Інші похідні аналогів глюкагону згідно з даним винаходом включають координаційні комплекси з іонами металів, такими як Mn²⁺ і Zn²⁺, складні ефіри, такі як гідролізовані в умовах *in vivo* складні ефіри, вільні кислоти або основи, гідрати, проліки або ліпіди. Складні ефіри можуть утворюватися між гідроксильними або карбоксильними групами, що є присутніми в сполучці, та підходящою карбоксильною кислотою або спиртовим реактивним партнером, використовуючи методики, добре відомі в даній області техніки. Похідні у вигляді проліків сполук можуть бути перетворені в одну з вихідних сполук в умовах *in vivo* або в умовах *in vitro*. Як правило, у пролікарській формі сполуки щонайменше один вид біологічної активності сполуки буде знижений та може бути активований шляхом перетворення проліків з вивільненням сполуки або її метаболіту. Приклади проліків включають застосування захисних груп, які можуть бути видалені в умовах *in situ* з вивільненням активної сполуки або можуть служити для інгібування кліренсу лікарського засобу в умовах *in vivo*.

Аналоги глюкагону, застосовувані у складах згідно з даним винаходом, можуть бути синтезовані з використанням методик твердофазного пептидного синтезу, добре відомих у даній області техніки. Як приклад, це може бути здійснено на синтезаторі пептидів CEM Liberty з використанням смоли Tentagel S PHB-Thr (tBu) (1,13 г, 0,24 ммоль/г), COMU як сполучного реагенту, ДМФА як розчинника та Fmoc-хімії, як описано вище. У послідовності використовували псевдопроліни Fmoc-Phe-Thr (Ψ Me, Me pro)-OH (у положенні 6/7) і Fmoc-Glu-Ser (Ψ , Me, Me pro)-OH (у положенні 15/16). Після синтезу аналог глюкагону може бути відщиплений від смоли, й очищення виконували на колонці Gemini-NX (5 см, C18, 10 мікрон) з потоком 35 мл/хв суміші буфера А (0,1 % водний розчин ТФО) та буфера В (водний розчин, що містить 0,1 % ТФО і 90 % MeCN). Об'єднані фракції можуть бути ліофілізовані та повторно розчинені у воді перед подальшим очищенням. Чистоту продукту можна визначити за допомогою аналітичної ВЕРХ, а моноізотопну масу можна визначити за допомогою MS.

Склади аналогів глюкагону

Як описано у даній заявці, стабільний рідкий водний фармацевтичний склад відповідно до даного винаходу містить аналог глюкагону, буфер, модифікатор тоничності та виготовлений

таким чином, щоб мати рН, який фізіологічно сумісний з введенням пацієнту. Згідно з деякими варіантами реалізації складу згідно з даним винаходом додатково містять консервант, наприклад, який дозволяє одержувати багатодозові складу. У наведених нижче прикладах автори даного винаходу визначили, що вибір буфера, який використовується для виготовлення композицій згідно з даним винаходом, впливає на їх довгочасну стабільність та що багато зазвичай використовуваних буферів, включаючи фосфатний буфер, гістидиновий буфер, малеїнову кислоту та воду Milli-Q (MQW), не забезпечували достатньої стабільності у рідкому водному складі, наприклад, для зберігання протягом 13, 26 або 52 тижнів при 25 °C. Однак інші типи буфера, зокрема, буфери ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES, могли бути використані для виготовлення стабільних рідких водних складів аналогів глюкагону. В експериментах, описаних у даній заявці, також виявлено, що стабільність, яка забезпечується цими буферами, була здатна безпосередньо хімічно стабілізувати аналог глюкагону, тобто таким чином, який не залежав від рН складу, що забезпечується буфером. Цей ефект може бути визначений щодо фосфатного буфера та/або гістидинового буфера в тих же тестових умовах.

ТРИС-буфер відноситься до (трис(гідроксиметил)амінометану або 2-аміно-2-(гідроксиметил)пропан-1,3-діолу) за номенклатурою IUPAC.

Біс-ТРИС-буфер відноситься до (Біс-ТРИС метану або 2-[біс(2-гідроксіетил)аміно]-2-(гідроксиметил)пропан-1,3-діолу) за номенклатурою IUPAC.

ACES-буфер відноситься до (N-(2-ацетамідо)-2-аміноетансульфонової кислоти або 2-(карбамоїлметиламіно)етансульфонової кислоти) за номенклатурою IUPAC.

MES-буфер відноситься до (2-(N-морфоліно)етансульфонової кислоти або 2-морфолін-4-ілетансульфонової кислоти за номенклатурою IUPAC.

Інші буфери, які можуть бути використані як альтернативи або на додаток до цих буферів, включають цитрат, ацетат або сукцинат, наприклад, у вигляді цитрату натрію, ацетату натрію або сукцинату натрію. Переважно ці буфери є присутніми у концентрації від приблизно 1 мМ до приблизно 30 мМ, більше переважно від приблизно 10 мМ до приблизно 30 мМ і більше переважно у концентрації приблизно 15 мМ. Фактична використовувана концентрація може враховувати, чи використовуються буфери окремо або у комбінації.

Експериментальна робота, яка призвела до даного винаходу, показує, що у стабільних складах аналогів глюкагону можна уникнути включення полярного апротонного розчинника до рідкого складу, наприклад, використання диметилсульфоксиду (ДМСО), який використовується у WO 2017/053822 і WO 2014/124151, з недоліками, які він надає використовуваним складам. Відповідно, переважно складу згідно з даним винаходом по суті не включають апротонний полярний розчинник, і більше переважно складу по суті не включають диметилсульфоксид (ДМСО). Згідно з конкретними переважними варіантами реалізації вода являє собою єдиний розчинник, що використовується для одержання рідкого водного складу.

Робота, яка описана у даній заявці, також показує, що всупереч досвіду, що стосується складів, заснованих на використанні ДМСО, необов'язково у комбінації з співрозчинниками, можна одержувати складу, в яких є присутньою вода, без істотного впливу на хімічну або фізичну стабільність аналогів глюкагону в складах. Особливо корисними варіантами реалізації рідких фармацевтичних складів згідно з даним винаходом є водні складу, тобто складу, що містять воду. Такі складу можуть бути у формі водного розчину або водної суспензії. Переважними варіантами реалізації водних фармацевтичних складів згідно з даним винаходом є водні розчини. У контексті даного винаходу термін "водний склад" зазвичай буде відноситися до складу, що містить щонайменше 50 % за масою (50 % мас./мас.) води як розчинника, більше переважно щонайменше 75 % (мас./мас.) води, більше переважно щонайменше 80 % (мас./мас.) води, більше переважно щонайменше 85 % (мас./мас.) води, більше переважно щонайменше 90 % (мас./мас.) води, найбільше переважно щонайменше 95 % (мас./мас.) води. Аналогічним чином, термін "водний розчин" зазвичай буде відноситися до розчину, що містить щонайменше 50 % (мас./мас.) води, і термін "водна суспензія" буде відноситися до суспензії, що містить щонайменше 50 % мас./мас. води. Згідно з певними варіантами реалізації водні складу згідно з даним винаходом по суті не включають апротонні полярні розчинники, такі як диметилсульфоксид (ДМСО). "По суті" у даному сенсі означає, що водні складу включають менше 5 % за об'ємом (об./об.) апротонного розчинника, більше переважно менше 2 % за об'ємом (об./об.) апротонного розчинника та ще більше переважно менше 1 % за об'ємом (об./об.) апротонного розчинника. Вода є єдиним розчинником, що використовується для одержання рідких водних складів відповідно до певних варіантів реалізації даного винаходу.

Згідно з деякими аспектами даного винаходу стабільні рідкі водні складу аналога глюкагону, його фармацевтично прийнятної солі та/або похідної містять:

(а) аналог глюкагону, що є присутнім у концентрації від приблизно 0,5 мг/мл до приблизно

10 мг/мл;

(b) ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES, що є присутнім як буфер, у концентрації від приблизно 25 мМ до приблизно 75 мМ;

(c) хлорид натрію, що є присутнім як модифікатор тоничності; й у концентрації від приблизно 50 мМ до приблизно 600 мМ; і

(d) рН від приблизно 5,6 до приблизно 7,0.

Згідно з деякими варіантами реалізації складу, що містить аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятну сіль та/або похідну, зазначений склад містить аналог глюкагону, його фармацевтично прийнятну сіль або його похідну, що є присутньою у концентрації від приблизно 0,1 мг/мл до приблизно 1,0 мг/мл, наприклад, приблизно 0,1 мг/мл, приблизно 0,2 мг/мл, приблизно 0,3 мг/мл, приблизно 0,4 мг/мл, приблизно 0,5 мг/мл, приблизно 0,6 мг/мл, приблизно 0,7 мг/мл, приблизно 0,8 мг/мл, приблизно 0,9 мг/мл або приблизно 1,0 мг/мл.

Термін "фармацевтично прийнятний носій" включає будь-який зі стандартних фармацевтичних носіїв або розчинників, таких як ті, які використовують у композиціях або складах, що підходять для перорального, легеневого, ректального, назального, місцевого, підшкірного, внутрішньом'язового, внутрішньовенного, внутрішньочеревинного, внутрішньошкірного, трансдермального або вагінального введення. Фармацевтично прийнятні носії для терапевтичного застосування добре відомі у фармацевтичній області й описані, наприклад, у Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). У рідких складах як носії часто застосовують незабуферені або забуферені водні розчини. Наприклад, можна використовувати стерильний сольовий розчин або фосфатно-сольовий буферний розчин (ФСБ) при слабокислому, слаболужному або фізіологічному рН. Відповідні рН-забуферуючі агенти включають трис(гідроксиметил)амінометан (ТРИС), 2-[біс(2-гідроксіетил)аміно]-2-(гідроксиметил)пропан-1,3-діол (Біс-ТРИС), 2-(карбамоїлметиламіно)етансульфонову кислоту (ACES), малеїнову кислоту, 2-морфолін-4-ілетансульфонову кислоту (MES), а також їх суміші. Термін додатково охоплює будь-які агенти, перераховані у Фармакопеї США для застосування у тварин або людини.

Термін "фармацевтично прийнятна сіль" у контексті даного винаходу відноситься до солі, що не є шкідливою для пацієнта або суб'єкта, що підлягає лікуванню з її використанням. Такі солі зазвичай являють собою кислотно-адитивні солі або основні солі. Кислотно-адитивні солі включають солі неорганічних кислот і солі органічних кислот. Необмежуючі приклади підходящих кислотно-адитивних солей включають гідрохлоридні солі, фосфатні солі, форміатні солі, ацетатні солі, трифторацетатні солі та цитратні солі. Приклади основних солей включають солі, в яких катіон вибраний з іонів лужних металів, таких як натрій та калій, іонів лужноземельних металів, таких як кальцій, а також заміщених іонів амонію, наприклад, типу $NR(R')_3^+$, де R і R' незалежно означають необов'язково заміщений C_{1-6} алкіл, необов'язково заміщений C_{2-6} алкеніл, необов'язково заміщений арил або необов'язково заміщений гетероарил. Інші приклади фармацевтично прийнятних солей описані у Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th edition. Ed. Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mack Publishing Company, Easton, PA, U.S.A., 1985 і більше пізніх виданнях, а також в Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology.

Термін "лікування" (а також "здійснювати лікування" й інші його граматичні варіанти), що використовується у контексті даного винаходу, відноситься до підходу до одержання сприятливих або цільових клінічних результатів. Для цілей даного винаходу сприятливі або цільові клінічні результати включають, але не обмежуються перерахованими, полегшення симптомів, зменшення ступеня захворювання, стабілізацію (тобто відсутність погіршення) хворобливого стану, відстрочку або вповільнення прогресування захворювання, зменшення інтенсивності або тимчасове полегшення хворобливого стану та ремісію (часткову або повну), будь то такі, що детектуються або не детектуються.

"Лікування" також може відноситися до збільшення тривалості виживаності у порівнянні з очікуваною виживаністю під час відсутності лікування. "Лікування" являє собою втручання, що виконується з наміром запобігти розвитку порушення або змінити його патологію. Відповідно, "лікування" відноситься як до терапевтичного лікування, так і до профілактичних або запобіжних заходів. При використанні в контексті профілактичних або запобіжних заходів фармацевтичний склад не обов'язково повинен повністю запобігати розвитку захворювання або порушення. Індивідууми, що потребують лікування, включають індивідуумів, що вже страждають порушенням, а також індивідуумів, у яких необхідно запобігти розвитку порушення. "Лікування" також означає інгібування або зниження росту патології або симптомів (наприклад, збільшення маси тіла або гіпоглікемії) у порівнянні з відсутністю лікування та необов'язково означає повне припинення розглянутого стану.

"Стабільний" склад являє собою склад, у якому пептид по суті зберігає свою фізичну стабільність та/або хімічну стабільність, та/або біологічну активність при зберіганні. Переважно склад по суті зберігає свою фізичну та хімічну стабільність, а також свою біологічну активність при зберіганні. Період зберігання зазвичай вибраний на підставі передбаченого строку придатності складу. Склади згідно з даним винаходом забезпечені у вигляді стабільних рідких складів, наприклад, стабільних рідких водних складів. У даній області техніки доступні різні аналітичні методики вимірювання стабільності білка, які розглядаються у Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) і Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90 (1993), наприклад. Згідно з даним винаходом "стабільні" складу включають складу, в яких щонайменше 80 %, більше переважно щонайменше 85 %, більше переважно щонайменше 90 %, більше переважно щонайменше 95 %, більше переважно щонайменше 96 %, більше переважно щонайменше 97 %, більше переважно щонайменше 98 % і найбільше переважно щонайменше 99 % аналога глюкагону не розкладається у складі після його зберігання при 2-8 °C протягом 18 місяців. Також можна протестувати стабільність в умовах прискореного дослідження зберігання, в яких зазвичай використовують підвищену температуру зберігання, щоб оцінити стабільність протягом скорочених періодів часу. Наприклад, для оцінки стабільності протягом 13, 26, 39 або 52 тижнів можна використовувати зберігання при 25 °C, що іноді називається умовами прискореного дослідження. Як порівняння, використання інших буферів, таких як фосфатний буфер або гістидиновий буфер, призводить до рівнів стабільності, які зазвичай становлять менше 80 % після зберігання протягом відповідного періоду.

Стабільність може бути виміряна при вибраній температурі протягом вибраного періоду часу, наприклад, використовуючи підвищену температуру, щоб зменшити період тестування складу. Звичайне зберігання при температурі від 2 до 8 °C означає зберігання в нормальних умовах охолодження. Згідно з певними варіантами реалізації склад є стабільним за таких умов протягом щонайменше 6 місяців, більше переважно щонайменше 12 місяців, більше переважно щонайменше 18 місяців, більше переважно щонайменше 24 місяців. Стабільність можна оцінити якісно та/або кількісно множиною різних способів, включаючи оцінку утворення агрегатів (наприклад, з використанням ексклюзійної хроматографії, розсіювання УФ-світла, динамічного розсіювання світла, кругового дихроїзму, шляхом вимірювання мутності та/або шляхом візуального огляду); шляхом оцінки гетерогенності заряду з використанням катіонообмінної хроматографії, візуалізуючого капілярного ізоелектричного фокусування (icIEF) або капілярного зонного електрофорезу; аналіз амінокінцевої або карбоксикінцевої послідовності; мас-спектрометричний аналіз; аналіз методом електрофорезу в ДСН-ПААГ (SDS-PAGE) для порівняння відновленого й інтактного антитіла; аналіз пептидної карти (наприклад, триптичний або LYS-C); оцінку біологічної активності або антигензв'язуючої функції антитіла; і т.д. Нестабільність може включати будь-яке одне або більше з: агрегації, дезамідування (наприклад, дезамідування Asn), окиснення (наприклад, окиснення Met), ізомеризації (наприклад, ізомеризації Asp), розщеплення зв'язків (clipping)/гідролізу/фрагментації (наприклад, фрагментації шарнірної області), утворення сукциніміду, неспареного(их) цистеїну(ів), N-кінцевого подовження, C-кінцевого процесингу, відмінностей у глікозилюванні, утворення адукту та т.д.

Пептид "зберігає свою фізичну стабільність" у фармацевтичному складі, якщо він не показує ознаки (або показує дуже незначну ознаку) агрегації, преципітації та/або денатурації, наприклад, при візуальному огляді кольору та/або прозорості або при вимірюванні за допомогою розсіювання УФ-світла, динамічного розсіювання світла, кругового дихроїзму або ексклюзійної хроматографії, і вважається, що він все ще зберігає свою біологічну активність.

Пептид "зберігає свою хімічну стабільність" у фармацевтичному складі, якщо хімічна стабільність у конкретний момент часу така, що вважається, що пептид все ще зберігає свою біологічну активність, як визначено нижче. Хімічну стабільність можна оцінити шляхом детектування та кількісного визначення хімічно змінених форм пептиду. Хімічна зміна може включати ізомеризацію, окиснення, модифікацію розміру (наприклад, розщеплення зв'язків), які можна оцінити за допомогою ВЕРХ або ексклюзійної хроматографії, SDS-PAGE і/або мас-спектрометрії, наприклад. Інші типи хімічної зміни включають зміну заряду (наприклад, що відбувається в результаті дезамідування), яке можна оцінити за допомогою ВЕРХ або іонообмінної хроматографії, або icIEF, наприклад. Як розкрито у даній заявці, стабільні рідкі водні складу аналога глюкагону або його фармацевтично прийнятної солі або похідної згідно з даним винаходом зазвичай містять:

(а) аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятну сіль, або його похідну, що є присутньою у концентрації від приблизно 0,5 мг/мл до приблизно 10 мг/мл;

(b) ТРИС, Біс-Трис, ACES або MES, що є присутнім як буфер, у концентрації від приблизно 25 мМ до приблизно 75 мМ;

(c) хлорид натрію, що є присутнім як модифікатор тоничності; й у концентрації від приблизно 50 мМ до приблизно 200 мМ; і

5 (d) рН від приблизно 5,6 до приблизно 7,0.

Згідно з деякими варіантами реалізації складу, що містить аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятну сіль та/або похідну, зазначений склад містить аналог глюкагону, його фармацевтично прийнятну сіль або його похідну, що є присутньою у концентрації від приблизно 0,1 мг/мл до приблизно 1,0 мг/мл, наприклад, приблизно 0,1 мг/мл, приблизно 0,2 мг/мл, 10 приблизно 0,3 мг/мл, приблизно 0,4 мг/мл, приблизно 0,5 мг/мл, приблизно 0,6 мг/мл, приблизно 0,7 мг/мл, приблизно 0,8 мг/мл, приблизно 0,9 мг/мл або приблизно 1,0 мг/мл.

Як приклад, згідно з деякими варіантами реалізації аналог глюкагону є присутнім у концентрації приблизно 1,0 мг/мл або приблизно 4,0 мг/мл.

15 Переважно у стабільних рідких водних складах згідно з даним винаходом ТРИС, Біс-Трис або ACES є присутнім як буфер у концентрації приблизно 50 мМ.

Переважно у стабільних рідких водних складах згідно з даним винаходом хлорид натрію присутній як модифікатор тоничності у концентрації від приблизно 50 мМ до приблизно 600 мМ, у концентрації від приблизно 50 мМ до приблизно 500 мМ, у концентрації від приблизно 150 мМ до приблизно 200 мМ або у концентрації від приблизно 60 мМ до приблизно 120 мМ.

20 Переважно у стабільних рідких водних складах згідно з даним винаходом зазначений склад має рН від приблизно 5,8 до 6,7 або рН від приблизно 6,0 до 7,0 і більше переважно рН приблизно 6,0 або приблизно 6,5. Згідно з деякими варіантами реалізації, описаними у даній заявці, однодозовий (SD) склад має рН приблизно 6,5, у той час як склади, призначені для багатодозового застосування, мають рН приблизно 6,0 або рН приблизно 6,5.

25 Переважно у стабільних рідких водних складах згідно з даним винаходом зазначений склад не включає стабілізуючу іонізацію допоміжну речовину, вибрану з соляної кислоти, азотної кислоти, сірчаної кислоти або їх комбінації.

Переважно у стабільних рідких водних складах згідно з даним винаходом зазначений склад являє собою готовий до застосування склад.

30 Переважно у стабільних рідких водних складах згідно з даним винаходом зазначений склад є стабільним при 2-8 °C протягом щонайменше 6 місяців, щонайменше 12 місяців, щонайменше 18 місяців або щонайменше 24 місяців. Переважно у стабільних рідких водних складах згідно з даним винаходом аналог глюкагону в складі зберігає щонайменше приблизно 90 % своєї біологічної активності після 18 місяців зберігання при 2-8 °C. Хоча зберігання при температурі 2-8 °C відображає зберігання в умовах охолодження від виробництва до кінцевого використання, 35 рідкі склади згідно з даним винаходом переважно мають довгочасну стабільність при зберіганні в умовах навколишнього середовища, наприклад, протягом часу між продажем кінцевому споживачу та введенням. Переважно стабільні рідкі водні склади згідно з даним винаходом є стерильними.

40 Переважно у стабільних рідких водних складах згідно з даним винаходом зазначений склад вводять суб'єкту шляхом ін'єкції, наприклад, шляхом підшкірної ін'єкції.

Переважно у стабільних рідких водних складах згідно з даним винаходом буфер являє собою ТРИС або Біс-ТРИС.

Згідно з деякими аспектами стабільні рідкі водні склади згідно з даним винаходом можуть додатково містити консервант. Переважно консервант являє собою мета-крезол, необов'язково у концентрації від приблизно 1,0 мг/мл до приблизно 5,0 мг/мл.

Відповідно до одного аспекту даного винаходу запропонований стабільний рідкий водний склад, у якому аналог глюкагону є присутнім у концентрації від приблизно 0,75 мг/мл до приблизно 1,25 мг/мл, ТРИС є присутнім у концентрації від приблизно 40 мМ до приблизно 60 мМ, хлорид натрію присутній як модифікатор тоничності у концентрації від приблизно 150 мМ до приблизно 200 мМ, і зазначений склад має рН від приблизно 6,0 до приблизно 7,0. У цьому 50 аспекті переважно стабільний рідкий водний склад містить аналог глюкагону, що є присутнім у концентрації приблизно 1,0 мг/мл, ТРИС є присутнім у концентрації приблизно 50 мМ, хлорид натрію є присутнім як модифікатор тоничності у концентрації приблизно 175 мМ, і зазначений склад має рН приблизно 6,5. Цей склад зазвичай передбачений у вигляді однодозового складу.

Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропонований стабільний рідкий водний склад, у якому аналог глюкагону є присутнім у концентрації від приблизно 3,0 до 5,0 мг/мл, ТРИС є присутнім у концентрації від приблизно 40 мМ до приблизно 60 мМ, хлорид натрію є присутнім як модифікатор тоничності у концентрації від приблизно 60 мМ до приблизно 120 мМ, 60 мета-крезол є присутнім як консервант у концентрації від приблизно 3,0 мг/мл до приблизно

4,0 мг/мл, і зазначений склад має рН від приблизно 6,0 до приблизно 7,0. Згідно з цим аспектом переважно аналог глюкагону є присутнім у концентрації приблизно 4 мг/мл, ТРИС є присутнім у концентрації приблизно 50 мМ, хлорид натрію присутній як модифікатор тоничності у концентрації приблизно 90 мМ, мета-крезол є присутнім як консервант у концентрації від приблизно 3,0 до приблизно 4,0 мг/мл, і зазначений склад має рН приблизно 6,5. У цьому аспекті склад зазвичай передбачений у вигляді багатодозового складу і, отже, включає консервант. Приклад багатодозового складу має рН приблизно 6,5, 4,0 мг/мл дазиглюкагону, ТРИС є присутнім у концентрації приблизно 50 мМ ТРИС, хлорид натрію є присутнім як модифікатор тоничності у концентрації приблизно 90 мМ і мета-крезол є присутнім як консервант у концентрації приблизно 3,15 мг/мл.

Згідно з додатковим аспектом даного винаходу запропонований стабільний рідкий водний склад, у якому аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятна сіль та/або похідна є присутньою у концентрації від приблизно 3,0 до 5,0 мг/мл, ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES є присутнім як буфер у концентрації від приблизно 25 мМ до приблизно 75 мМ, і/або цитрат, ацетат або сукцинат є присутнім як буфер у концентрації від приблизно 1 мМ до приблизно 30 мМ, хлорид натрію є присутнім як модифікатор тоничності у концентрації від приблизно 50 мМ до приблизно 150 мМ, мета-крезол є присутнім як консервант у концентрації від приблизно 3,0 мг/мл до приблизно 4,0 мг/мл, і зазначений склад має рН від приблизно 6,0 до 7,0. У цьому аспекті переважно аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятна сіль та/або похідна є присутньою у концентрації приблизно 4 мг/мл, буфер ТРИС, Біс-ТРИС, ACES, MES є присутнім у концентрації приблизно 50 мМ, або цитратний, ацетатний та/або сукцинатний буфер є присутнім у концентрації приблизно 15 мМ, хлорид натрію є присутнім як модифікатор тоничності у концентрації приблизно 90 мМ, мета-крезол є присутнім як консервант у концентрації від приблизно 3,0 до приблизно 4,0 мг/мл, і зазначений склад має рН приблизно 6,5.

Термін "стабілізований склад", що застосовується у даній заявці, відноситься до складу, що має підвищену фізичну стабільність, підвищену хімічну стабільність або підвищену фізичну та хімічну стабільність.

Термін "фізична стабільність" у контексті даної заявки відноситься до вимірювання тенденції пептиду (наприклад, сполуки згідно з даним винаходом) до утворення розчинних або нерозчинних агрегатів пептиду в результаті впливу на пептид стресів і/або взаємодії з границями фаз і поверхнями, які є дестабілізуючими, такими як гідрофобні поверхні та границі фаз. Фізичну стабільність водних пептидних складів можна оцінити за допомогою візуального огляду та/або вимірювань мутності після впливу на склад, внесений у підходящі контейнери (наприклад, картриджі або флакони), механічного/фізичного стресу (наприклад, перемішування) при різних температурах протягом різних періодів часу. Склад може бути класифікований як фізично нестабільний відносно агрегації пептидів, коли в ньому спостерігається візуальна мутність. Як альтернатива, мутність складу може бути оцінена за допомогою простих вимірювань мутності, добре відомих фахівцю.

Фізичну стабільність водного пептидного складу також можна оцінити з використанням агента, який функціонує як спектроскопічний зонд конформаційного статусу пептиду. Зонд переважно являє собою малу молекулу, яка переважно зв'язується з ненативним конформером пептиду. Одним із прикладів такого низькомолекулярного спектроскопічного зонда є тіофлавін Т, який являє собою флуоресцентний барвник, що широко використовується для детектування амілоїдних фібрил. У присутності фібрил і, можливо, інших пептидних конфігурацій тіофлавін Т набуває новий максимум збудження при приблизно 450 нм і посилене випускання при приблизно 482 нм при зв'язуванні з фібрилярною формою пептиду. Незв'язаний тіофлавін Т є по суті нефлуоресцентним при розглянутих довжинах хвиль.

Термін "хімічна стабільність" у контексті даної заявки відноситься до стабільності пептиду у відношенні ковалентних/хіральних хімічних змін у пептидній структурі, які призводять до утворення хімічних продуктів деградації з потенційно більше низькою біологічною активністю та/або потенційно підвищеною імуногенністю у порівнянні з нативною пептидною структурою. Можуть утворюватися різні хімічні продукти деградації, залежно від типу та конкретної природи нативного пептиду та середовища, впливу якого зазнає пептид. На практиці в цілому не можна повністю уникнути усунення хімічної деградації у пептидних складах, й утворення зростаючих кількостей продуктів хімічної деградації часто спостерігається під час зберігання та застосування таких складів, як добре відомо фахівцю в даній області техніки. Багато пептидів піддані процесу деградації, при якому амідна група бічного ланцюга в глутамінільних або аспарагінільних залишках гідролізується з утворенням вільної карбонової кислоти. Інші шляхи деградації включають утворення високомолекулярних продуктів трансформації, при якій дві або

більше молекул пептиду ковалентно зв'язуються одна з одною за допомогою трансамідування та/або дисульфідних взаємодій, що призводить до утворення ковалентно зв'язаних олігомерних і полімерних продуктів деградації (див., наприклад, *Stability of Protein Pharmaceuticals*, Ahern. T.J. and Manning M.C., Plenum Press, New York 1992). Крім того, гідроліз пептидного кістяка, що

5 призводить до пептидних фрагментів, добре відомий. Окиснення (наприклад, залишків метіоніну) є ще однією формою хімічної деградації пептидів. Хімічна стабільність пептидного складу може бути оцінена шляхом вимірювання кількості продуктів хімічної деградації в різні моменти часу після впливу різних умов навколишнього середовища (наприклад, утворення продуктів деградації часто може бути прискорене підвищенням температури). Кількість кожного

10 окремого продукту деградації може бути визначене шляхом розділення продуктів деградації для створення "профілю деградації". Розділення зазвичай проводять на основі молекулярного розміру та/або заряду з використанням різних хроматографічних методик (наприклад, EX-BEPX і/або ЗФ-BEPX). Олігомери можуть являти собою ковалентні олігомери або нековалентні олігомери. Ковалентний олігомер являє собою дві або більше молекул, які зв'язані за

15 допомогою ковалентного хімічного зв'язку, і зв'язок зазвичай є необоротним. Напроти, у нековалентних олігомерах одна або більше молекул зв'язані одна з одною за допомогою взаємодії, яка не є ковалентним хімічним зв'язком, наприклад, іонної взаємодії, гідрофобної взаємодії та т.д. Хоча у деяких випадках це може бути оборотним, зазвичай взаємодії настільки сильні, що вони практично необоротні та, як й у випадку з ковалентними олігомерами,

20 призводять до того, що активна лікарська речовина не є фармацевтично доступною.

Хімічна нестабільність глюкагону як такого при низькому рН в основному обумовлена ізомеризацією та розщепленням залишків аспарагінової кислоти, дезамідуванням залишків глутаміну й окисненням метіоніну. В цілому, дезамідування Asn і Gln відбувається при високому рН, зі значними швидкостями при фізіологічному рН приблизно рН 7,4, за рахунок циклічної

25 проміжної сполуки з імідним кільцем, яке може відкриватися з утворенням L-Asp і L-ізоAsp або L-Glu і L-ізоGlu, відповідно. Циклічна проміжна сполука з імідним кільцем також може призводити до утворення невеликих кількостей відповідних D-ізомерів, що вказує на повільну рацемізацію циклічного імідру.

При значеннях рН нижче фізіологічного рН швидкість дезамідування Asn і Gln знижується, але швидкість утворення циклічного імідру з Asp і Glu, й, отже, ізомеризації, збільшується зі зменшенням рН. Утворення циклічного імідру є найбільшим між рН 4 і рН 6. Утворення циклічної імідної проміжної сполуки також може призвести до розщеплення пептидної послідовності.

Як зазначено вище, "стабілізований склад" може, таким чином, відноситися до складу з підвищеною фізичною стабільністю або підвищеною хімічною стабільністю, або підвищеною

35 фізичною та хімічною стабільністю. Зазвичай склад повинен бути стабільним під час використання та зберігання (відповідно до рекомендованих умов використання та зберігання) щонайменше до досягнення зазначеного строку придатності.

Згідно з певними варіантами реалізації рідких фармацевтичних складів згідно з даним винаходом склад є стабільним протягом щонайменше 2 тижнів застосування та щонайменше 6

40 місяців зберігання. Згідно з додатковими варіантами реалізації склад є стабільним протягом щонайменше 2 тижнів застосування та щонайменше одного року зберігання. Згідно з додатковими варіантами реалізації склад є стабільним протягом щонайменше 2 тижнів застосування та щонайменше двох років зберігання. Згідно з іншими варіантами реалізації склад є стабільним протягом щонайменше 4 тижнів застосування та щонайменше двох років

45 зберігання або навіть щонайменше 4 тижнів застосування та більше 3 років зберігання. Особливо підходящі варіанти реалізації таких фармацевтичних складів згідно з даним винаходом стабільні протягом щонайменше 6 тижнів застосування та щонайменше 3 років зберігання. У зв'язку з цим термін "застосування" для цілей даного пункту відноситься до витягування фармацевтичного складу зі зберігання з метою застосування складу в

50 терапевтичних цілях, що піддає його впливу різних умов навколишнього середовища (умов світла, темряви, температури, перемішування та т.д.), у той час як термін "зберігання" для цілей даного пункту відноситься до зберігання в умовах без перемішування у холодильнику або морозильній камері при температурі, що не перевищує приблизно 5 °C. Кваліфікований працівник зрозуміє типовий діапазон умов застосування та зберігання, яким можуть піддаватися

55 ці фармацевтичні склади.

Як описано у даній заявці, стабільні рідкі водні склади аналогів глюкагону згідно з даним винаходом включають буфер для забезпечення рН і модифікатор тоничності. Згідно з звичайною фармацевтичною практикою склади згідно з даним винаходом стерильні та/або не містять відновлюючого агента. Рідкі склади згідно з даним винаходом являють собою рідкі водні склади.

60 Термін "буфер" у контексті даної заявки означає фармацевтично прийнятний агент, який

стабілізує рН фармацевтичного складу. Підходящі буфери добре відомі в даній області техніки та можуть бути знайдені в літературі. Згідно з переважними варіантами реалізації буфер вибраний з групи, що складається з ТРИС-буфера, Біс-ТРИС-буфера, ACES-буфера або MES-буфера та/або цитратного, ацетатного або сукцинатного буферів, оскільки ці буфери

5 забезпечують стабільні склади, в яких аналоги глюкозону розчинялися та не ставали в'язкими, мутними або не осаджували пептидний лікарський засіб. Згідно з переважними варіантами реалізації буфер являє собою ТРИС або Біс-ТРИС. Зазвичай буфер буде присутній у концентрації від приблизно 25 мМ до приблизно 75 мМ. Згідно з певними варіантами реалізації буфер буде присутній у концентрації приблизно 50 мМ. Згідно з певними варіантами реалізації

10 буфер ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES забезпечує безпосередню хімічну стабілізацію аналога глюкозону незалежно від рН складу. Згідно з іншими варіантами реалізації буфер ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES забезпечує поліпшену безпосередню хімічну стабілізацію, як визначено у порівнянні з фосфатним буфером і/або гістидиновим буфером в тих же тестових умовах. Згідно з іншими варіантами реалізації, зокрема, тими, які відносяться до багатодозових складів, у яких

15 є присутнім консервант, такий як мета-крезол, буфери також включають застосування цитрату, ацетату або сукцинату у концентрації від приблизно 1 мМ до приблизно 30 мМ. Згідно з деякими варіантами реалізації склад забезпечує поліпшену хімічну стабілізацію у порівнянні зі складом, у якому буфер ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES замінений фосфатним буфером і/або гістидиновим буфером тієї ж концентрації та рН, згідно з оцінкою в тих же тестових умовах.

20 Наприклад, склад може мати профіль деградації після 52 тижнів зберігання при 25 °С, після яких склад містить одне або більше з менше 5 % Pyro-Glu 4-29, менше 7 % окиснення Trp/Tyr, менше 4 % кінуреніну, менше 5 % F-4-29 + F5-29 і/або менше 2 % F3.29 після зберігання протягом 52 тижнів при 25 °С, при цьому всі відсоткові значення визначають за допомогою ВЕРХ.

25 Термін "модифікатор тонічності" у контексті даної заявки означає фармацевтично прийнятні агенти для контролю тонічності, які використовуються для модулювання тонічності складу. Склади згідно з даним винаходом переважно є ізоосмотичними, тобто вони мають осмотичний тиск, який по суті аналогічний такому сироватки крові людини. Модифікатор тонічності, що використовується у складах, переважно являє собою хлорид натрію. Концентрація

30 модифікатора тонічності буде залежати від концентрації інших компонентів складу, зокрема, якщо передбачено, що склад повинен бути ізоосмотичним. Як правило, хлорид натрію буде застосовуватися як модифікатор тонічності у концентрації від приблизно 50 мМ до 600 мМ. Згідно з певними варіантами реалізації концентрація хлориду натрію, що є присутнім як модифікатор тонічності у складах згідно з даним винаходом, може становити від приблизно

35 10 мМ до приблизно 150 мМ, наприклад, від приблизно 20 мМ до приблизно 130 мМ, від приблизно 50 мМ до приблизно 125 мМ, від приблизно 75 мМ до приблизно 120 мМ, від приблизно 90 мМ до приблизно 115 мМ або приблизно 110 мМ. Згідно з певними варіантами реалізації концентрація хлориду натрію, що є присутнім як модифікатор тонічності у складах згідно з даним винаходом, може становити від приблизно 150 мМ до приблизно 200 мМ,

40 необов'язково приблизно 175 мМ. Згідно з переважним варіантом реалізації хлорид натрію може бути присутнім як модифікатор тонічності у складах, що містять консервант, у концентраціях від приблизно 50 мМ до приблизно 150 мМ і найбільше переважно у концентрації приблизно 90 мМ або приблизно 75 мМ, або приблизно 125 мМ.

Зазвичай компоненти та кількості рідких складів згідно з даним винаходом вибрані так, щоб

45 забезпечити склад з рН приблизно 5,6 або рН від приблизно 6,0 до приблизно 7,0. Згідно з переважним варіантом реалізації склади можуть мати рН від приблизно 6,2 до приблизно 6,8. Більше переважно склади можуть мати рН від приблизно 6,3 до приблизно 6,7. Більше переважно склади можуть мати рН від приблизно 6,4 до приблизно 6,6. Як альтернатива або додатково, склади можуть мати рН приблизно 6,5 як для односторових, так і для багатодозових

50 складів.

Згідно з певними варіантами реалізації склади згідно з даним винаходом додатково містять консервант. Згідно з переважними варіантами реалізації консервант являє собою мета-крезол, що є присутнім у концентрації від приблизно 1,0 мг/мл до приблизно 5,0 мг/мл, більше переважно від приблизно 2,0 мг/мл до приблизно 4,0 мг/мл і найбільше переважно у

55 концентрації від приблизно 3,0 мг/мл до приблизно 4,0 мг/мл. Кількість консерванту залежить від необхідності мати можливість ефективно знищувати ряд типів бактерій, якщо це потрібно для схвалення регуляторними органами.

Склади згідно з даним винаходом мають профіль деградації, визначений за допомогою хроматографічного розділення (наприклад, за допомогою ексклюзійної хроматографії (EX) та/або хроматографії зі зверненою фазою (RPC)). Зокрема, додатковий висновок

60

експериментів, описаних у даній заявці, полягає у тому, що профіль продуктів деградації буферів, які дозволили одержати стабільні склади відповідно до даного винаходу, був дуже подібним після зберігання протягом 52 тижнів при 25 °С, у той час як профілі продуктів деградації буферів, які не дозволили одержати стабільні склади, відрізнялися. У таблиці нижче

5 % продуктів деградації вимірювали з використанням ВЕРХ.

Pyro-Glu(4-29) являє собою продукт, у якому азот Gln кістяка у положенні 4 реагує з амідом бічного ланцюга й утворює внутрішнє лактамне кільце. Наступний гідроліз амідного зв'язку між Ser у положенні 3 і лактамізованим фрагментом Glu призводить до продукту деградації, в якому перші три амінокислоти були відщеплені, і на N-кінці присутній фрагмент піро-Glu. Окиснення Tgr/Tgp призводить до включення гідроксильної групи в ароматичні кільця Tgr і Tgp. Кінуренін є добре відомим продуктом окиснення залишків Tgp. Додавання бурштинової кислоти відноситься до додавання дазиглюкагону до подвійного зв'язку в малеїновій кислоті буфера. FX¹-X² являє собою фрагмент, що містить амінокислоти від X¹ до X².

Буфер	Основний продукт деградації та порівняння з ТРИС, Біс-ТРИС і MES	Шлях деградації
Фосфат	ВУ 1,35, Pyro-Glu(4-29): 7,5 % у порівнянні з 0,4 %	Гідроліз
Гістидин	ОВУ 0,22, окиснення Tgr/Tgp, +16 Да, 9,9 % у порівнянні з 0,3 % ОВУ 0,75, кінуренін, +4 Да: 4,7 % у порівнянні з 0,2 %	Окиснення
Малеїнова кислота	ОВУ 1,02, додавання бурштинової кислоти, +116 Да: 12,5 % у порівнянні з 0,0 % ОВУ 1,23, F-4-29+F5-29: 6,3 % у порівнянні з 0,6 % ОВУ 1,13, F-3,29:2,6 % у порівнянні з 0,2 %	Додавання бурштинової кислоти (додавання до подвійного зв'язку в малеїновій кислоті) Гідроліз

Таким чином, ТРИС, Біс-ТРИС, MES і ACES захищають дазиглюкагон від гідролізу й окиснення у порівнянні з фосфатом, гістидином і малеїною кислотою, і між ТРИС, Біс- ТРИС, MES і дазиглюкагоном немає значимих реакцій. Невелика кількість (0,9 % через 52 тижні при 25 °С) дазиглюкагону, конденсованого з ACES (+165 Да), утворюється протягом 52 тижнів.

Відповідно, у деяких аспектах склади згідно з даним винаходом будуть мати менше 5 % Pyro-Glu 4-29 після зберігання протягом 52 тижнів при 25 °С, як визначено за допомогою ВЕРХ, більше переважно менше 4 %, більше переважно менше 3 %, більше переважно менше 2 %, більше переважно менше 1 % і найбільше переважно менше 0,5 %.

Відповідно, у деяких випадках склади згідно з даним винаходом будуть мати менше 7 % окиснення Tgr/Tgp після зберігання протягом 52 тижнів при 25 °С, як визначено за допомогою ВЕРХ, більше переважно менше 5 %, більше переважно менше 4 %, більше переважно менше 3 %, більше переважно менше 2 %, більше переважно менше 1 % і найбільше переважно менше 0,5 %.

Відповідно, у деяких випадках склади згідно з даним винаходом будуть мати менше 4 % кінуреніну після зберігання протягом 52 тижнів при 25 °С, як визначено за допомогою ВЕРХ; більше переважно менше 3 %, більше переважно менше 2 %, більше переважно менше 1 % і найбільше переважно менше 0,5 %.

Відповідно, у деяких випадках склади згідно з даним винаходом будуть мати менше 5 % F-4-29 + F5-29 після зберігання протягом 52 тижнів при 25 °С, як визначено за допомогою ВЕРХ, більше переважно менше 4 %, більше переважно менше 3 %, більше переважно менше 2 %, більше переважно менше 1 % і найбільше переважно менше 0,5 %.

Відповідно, у деяких випадках склади згідно з даним винаходом будуть мати менше 2 % F3.29 після зберігання протягом 52 тижнів при 25 °С, як визначено за допомогою ВЕРХ, більше переважно менше 1 % і найбільше переважно менше 0,5 %.

Згідно з одним аспектом стабільний рідкий водний склад містить аналог глюкагону у концентрації від приблизно 0,75 мг/мл до приблизно 1,25 мг/мл, ТРИС у концентрації від приблизно 40 мМ до приблизно 60 мМ, хлорид натрію як модифікатор тоничності у концентрації від приблизно 150 мМ до приблизно 200 мМ і зазначений склад має рН від приблизно 6,2 до приблизно 6,8.

Згідно з іншим аспектом стабільний рідкий водний склад містить аналог глюкагону у концентрації від приблизно 3,0 до 5,0 мг/мл, ТРИС у концентрації від приблизно 40 мМ до

приблизно 60 мМ, хлорид натрію як модифікатор тоничності у концентрації від приблизно 60 мМ до приблизно 120 мМ, мета-крезол як консервант у концентрації від приблизно 3,0 мг/мл до приблизно 4,0 мг/мл, і зазначений склад має рН приблизно 6,0.

Згідно з певними варіантами реалізації стабільний рідкий склад аналогів глюкагону являє собою готовий до застосування склад. Термін "готовий до застосування" у контексті даної заявки відноситься до складу, який не потребує відновлення або розведення призначеною кількістю розріджувача, наприклад, водою для ін'єкцій або іншим підходящим розріджувачем, перед використанням за допомогою передбаченого шляху введення.

Медичні показання

Фармацевтичні склади аналога глюкагону згідно з даним винаходом можна застосовувати при лікуванні або запобіганні різних станів або порушень. Необов'язково склади можна застосовувати у комбінації з одним або більше додатковими терапевтично активними речовинами. Таким чином, відповідні варіанти терапевтичного застосування включають: лікування або запобігання гіпоглікемії (включаючи, але не обмежуючись перерахованими, гостру гіпоглікемію, хронічну гіпоглікемію або важку гіпоглікемію), діабету 2 типу (включаючи прогресування захворювання при діабеті 2 типу), порушення толерантності до глюкози, діабету 1 типу, ожиріння (включаючи захворювання або стани, пов'язані з надлишковою вагою або ожирінням), ішемічної хвороби серця, атеросклерозу, гіпертензії, дисліпідемії, стеатозу печінки, отруєння β-блокаторами, інсуліноми та хвороби фон Гірке; запобігання виникненню надлишкової маси тіла у суб'єкта; зниження маси тіла; зниження споживання їжі; збільшення витрат енергії; відстрочку прогресування від порушення толерантності до глюкози (IGT) до діабету 2 типу; відстрочку прогресування від діабету 2 типу до діабету, що потребує інсуліну; регуляцію апетиту або індукцію насичення (включаючи лікування булімії та лікування компульсивного переїдання); і запобігання повторного збільшення маси тіла після успішної втрати маси тіла. Як загальний принцип, фармацевтичні склади згідно з даним винаходом можна застосовувати для контролю рівнів глюкози в крові.

Форми гіпоглікемії, які можна лікувати або запобігати відповідно до даного винаходу, являють собою діабетичну гіпоглікемію, гостру гіпоглікемію, індуковану інсуліном, гіперінсулінімічну гіпоглікемію, важку гіпоглікемію, недіабетичну гіпоглікемію, реактивну гіпоглікемію, гіпоглікемію натще, гіпоглікемію, індуковану лікарськими засобами, вроджену гіперінсулінімічну гіпоглікемію, гіпоглікемію, індуковану алкоголем, гіпоглікемію, індуковану шлунковим шунтуванням (включаючи, але не обмежуючись цим, постпрандіальну гіпоглікемію після шунтування шлунка за Ру), постбіатричну гіпоглікемію або гіпоглікемію, що виникає під час вагітності.

Згідно з додатковим варіантом реалізації рідкий склад, що містить аналог глюкагону згідно з даним винаходом, міститься у пристрої для доставки. Згідно з деякими варіантами реалізації пристрій для доставки являє собою попередньо заповнений шприц, пристрій для ін'єкцій, шприц-ручку, автоін'єктор з дозою, що коригується, одноразовий автоін'єктор, ін'єктор з можливістю носіння або інфузійний насос.

Склади згідно з даним винаходом можна вводити у різних лікарських формах, наприклад, у вигляді розчинів, суспензій або емульсій, й їх можна застосовувати у складі систем для доставки лікарських засобів з контрольованим, уповільненим, пролонгованим, затриманим або повільним вивільненням. Більше конкретно, але не винятково, фармацевтичні склади згідно з даним винаходом можна застосовувати у комбінації з парентеральними системами з контрольованим вивільненням і вповільненим вивільненням, добре відомим фахівцям у даній області техніки. У зв'язку з цим можна зробити загальне посилання на Handbook of Pharmaceutical Controlled Release (Wise, D.L., ed., Marcel Dekker, New York, 2000) і Drugs and the Pharmaceutical Sciences vol. 99: Protein Formulation and Delivery (Macnally, E.J., ed., Marcel Dekker, New York, 2000).

Парентеральне введення (рідкого фармацевтичного складу згідно з даним винаходом) може бути виконане, наприклад, шляхом підшкірної, внутрішньом'язової, внутрішньочеревинної або внутрішньовенної ін'єкції з використанням шприца, такого як шприц-ручка та/або попередньо заповнений шприц. Парентеральне введення (рідкого фармацевтичного складу згідно з даним винаходом) може бути виконане, наприклад, шляхом підшкірної, внутрішньом'язової, внутрішньочеревинної або внутрішньовенної ін'єкції з використанням автоін'єктора, такого як автоін'єктор, що містить шприц. Автоін'єктор може бути одноразовим або багаторазовим і може забезпечувати (і/або може бути виконаний з можливістю забезпечення) одну або більше доз рідкого фармацевтичного складу. Згідно з деякими варіантами реалізації парентеральне введення виконують шляхом ін'єкції складу згідно з даним винаходом у нижню частину живота, сідниці, стегно або верхню частину руки (включаючи, але не обмежуючись цим, зовнішню

частину верхньої частини руки) пацієнта. Як альтернатива, парентеральне введення може бути здійснене з використанням інфузійного насоса, наприклад, у вигляді пристрою або системи, які несе суб'єкт або пацієнт й які містять резервуар, що містить рідкий склад згідно з даним винаходом, й інфузійного насоса для доставки/введення складу суб'єкту або пацієнту, або у вигляді відповідного мініатюрного пристрою, що підходить для імплантації в організм суб'єкта або пацієнта.

У деяких випадках пацієнта можна лікувати шляхом введення зазначеному пацієнту одноразової дози складу або шляхом введення зазначеному пацієнту багаторазових доз. У деяких випадках пацієнту можна ввести першу дозу складу, а потім увести другу дозу складу. У деяких випадках пацієнту можна ввести першу дозу складу та згодом увести другу дозу складу та згодом увести одну або більше додаткових доз складу (наприклад, третю дозу та, можливо, четверту або додаткову дозу).

Приклади

Наступні приклади наведені для ілюстрації переважних аспектів даного винаходу та не призначені для обмеження обсягу даного винаходу.

Приклад 1

Матеріали та методи

Синтез дазиглюкагону

Дазиглюкагон був синтезований компанією Bachem AG. Склади дазиглюкагону готували й аналізували в компанії Zealand Pharma, A/S, Данія. Як альтернатива, аналоги глюкагону можуть бути синтезовані, як описано у WO 2014/016300 (Zealand Pharma A/S), зміст якого повністю включений за допомогою посилання.

Експерименти з хімічної стабільності

Дазиглюкагон розчиняли у воді MilliQ для досягнення вихідної концентрації 25 мг/мл. Склади готували шляхом аліквотування вихідного розчину пептиду (937 мкл) у пробірки з наступним додаванням вихідного розчину буферного компонента, а потім додаванням води MilliQ до 90 % від об'єму. Вимірювали pH і за необхідності коректували перед додаванням води MilliQ з одержанням кінцевого об'єму. Потім усі склади фільтрували з використанням високопоточного фільтра Minisart з розміром пор 0,2 мкм. Профільтрований розчин барботували азотом й аліквотували у флакони по 1,0 мл у кожному флаконі. Флакони обтискали та поміщали у камери для дослідження стабільності.

Склади тестували в умовах прискореного дослідження при 5 °C і 25 °C і тестували через 0, 9, 13, 26, 34, 39 і 52 тижня. Чистоту складів визначали за допомогою ВЕРХ, а профіль продуктів деградації визначали за допомогою аналізу методом РХ-МС.

Композиція однодозових (SD) складів згідно з даним винаходом представлена у Таблиці 1 і Таблиці 5. Всі склади містять дазиглюкагон у мг/мл і були виготовлені при pH 6,5. У складах 1-3 вивчали ефект зміни кількості хлориду натрію у складах, у той час як у складах 4-10 вивчали ефект буфера, використаного для одержання складів. Склад 11 являє собою контрольний склад у воді Milli-Q, і склад 12 розроблений у вигляді багатодозового складу, включеного у це дослідження з метою порівняння з однодозовими складами. Композиція складу 12 (MD склад) являє собою pH 6,5, 4,0 мг/мл аналога глюкагону, 50 mM ТРИС, 90 mM NaCl і 3,15 мг/мл мета-крезолу.

Композиція багатодозових складів згідно з даним винаходом представлена у Таблицях 2-4 і 6. Всі склади включають мета-крезол і 4 мг/мл дазиглюкагону та були виготовлені при pH 6,0 або pH 6,5. У Таблицях 2a, 3a і 4a представлені результати аналізів методом ВЕРХ. У Таблицях 2b, 3b і 4b представлені результати аналізів методом ЕХ.

У складах у Таблиці 2 вивчали ефект використання різних буферів (ТРИС, Біс-ТРИС, MES, цитрат натрію, ацетат натрію та сукцинат натрію) на стабільність складів при pH 6,0 і pH 6,5 і двох концентрацій хлориду натрію (90 mM і 125 mM) як модифікатора ізотонічності.

Склади у Таблиці 3, Таблиці 4 і Таблиці 6 подібні зі складами, викладеними у Таблиці 2, і в них вивчали ефект застосування комбінацій буферів на стабільність складів при pH 6,0 і pH 6,5 і при одній концентрації хлориду натрію (75 mM) як модифікатора ізотонічності.

ВЕРХ

Чистоту зразків дазиглюкагону визначали за допомогою ВЕРХ. Зразки аналізували на системі для ВЕРХ Dionex Ultimate 3000. Як аналітичне програмне забезпечення використовували Chromeleon. Дазиглюкагон відокремлювали від продуктів деградації за допомогою колонки Kinetex C8 (150 мм x 4,6 мм, 2,6 мкм). Рухомі фази складалася з А: 0,45 % ТФО (об./об.) у воді MilliQ (MQW) і В: 0,45 % ТФО (об./об.) у MeCN/MQW (90:10). Градієнт становив від 35 до 38 % В протягом 40 хвилин при потоці 0,5 мл/хв. Температуру печі колонки встановлювали на 30 °C, довжину хвилі детектора встановлювали на 220 нм і впорскували

2 мкл.

EX

Експерименти за допомогою ексклюзійної хроматографії (EX) проводили на системі для ВЕРХ Dionex Ultimate 3000 (Thermo Fisher), використовуючи ізократичне елювання зі швидкістю потоку 0,5 мл/хв для аналізу складів на наявність олігомерів. Рухома фаза складалася з 0,1 % ТФО, 45 % ацетонітрилу в MQW. Для детектування використовували довжину хвилі 215 нм. Впорскувана кількість складала 2 мкг пептиду. Колонка, яка була використана для аналізу методом EX, являла собою TSKgel SuperSW2000 (TOSOH Corporation), 4 мкм, 30 × 4,6 мм, а температура колонки становила 25 °С. Час аналізу склав 12 хвилин.

Результати

Після 52 тижнів зберігання в умовах прискореного дослідження при 25 °С одержали наступні результати для % чистоти дазиглюкагону, що залишився у складах.

Дослідження стабільності показали, що всі буфери ТРИС, Біс-ТРИС, ACES і MES забезпечували прийнятні рівні стабільності після зберігання протягом 52 тижнів при 25 °С, при цьому 80 % або більше дазиглюкагону залишалися інтактними, незважаючи на стресові умови прискореного дослідження, використані для експериментів, у порівнянні з іншими буферами та контролями (вода Milli-Q), з урахуванням зберігання в умовах прискореного дослідження, використаних в експериментах.

Для багатодозових складів включення мета-крезолу, ТРИС, Біс-ТРИС, ACES або MES, а також цитратного, ацетатного або сукцинатного буфера забезпечувало склади з гарними рівнями стабільності, згідно з оцінкою за допомогою ВЕРХ і EX.

Таблиця 5

Склад №:	Композиція	Час, тижні при 25 °С, прискорене дослідження зберігання, % дазиглюкагону, що залишився		
		0	13	52
1	ТРИС, 175 мМ NaCl	100	96	83
2	ТРИС, 500 мМ NaCl	100	95	84
3	ТРИС, 90 мМ NaCl	100	96	83
4	ТРИС, 0 мМ NaCl	100	95	84
5	Фосфат	100	93	76
6	Гістидин	100	90	69
7	Біс-ТРИС	100	95	81
8	ACES	100	96	83
9	Малеїнова кислота	100	91	57
10	MES	100	90	85
11	MQW, pH 6,5	100	74	н.в.
12	Багатодозовий прототип	100	н.в.	83

Таблиця 5b

Склад №:	Композиція	Час, тижні при 25 °С, прискорене дослідження зберігання, % олігомерів		
		0	13	52
1	ТРИС, 175 мМ NaCl	0,13	0,31	0,61
2	ТРИС, 500 мМ NaCl	0,13	0,36	0,74
3	ТРИС, 90 мМ NaCl	0,17	0,3	0,57
4	ТРИС, 0 мМ NaCl	0,14	0,24	0,51
5	Фосфат	0,15	0,59	0,73
6	Гістидин	0,12	0,42	0,84
7	Біс-ТРИС	0,12	0,53	2,81
8	ACES	0,16	0,19	0,46
9	Малеїнова кислота	0,16	0,55	4,75
10	MES	0,14	0,43	0,74
11	MQW, pH 6,5	0,05	0,26	0,26
12	Багатодозовий прототип	0,19	н.в.	1,4

Спостереження є несподіваними, враховуючи проблеми, про які повідомлялося у попередньому рівні техніки відносно стабілізації складів глюкозону, що включають воду. Результати також є несподіваними, оскільки у той час як ТРИС і Біс-ТРИС мають однакові хімічні структури, структури ACES і MES відрізняються.

Експерименти також показали, що буфери, які зазвичай використовують у рідких пептидних складах, а саме фосфат, гістидин і малеїнова кислота, не забезпечували склади, які були би здатні до довгочасного зберігання (75 %, 68 % і 57 %) дазиглюкозону, що залишається інтактним, відповідно.

Експерименти додатково демонструють, що можна включати підходящі кількості NaCl як модифікатор тоничності, не впливаючи на стабільність, що забезпечується чотирма буферами.

Дані показують подібну тенденцію втрати дазиглюкозону між односторовими (SD) складами (0,31 % на тиждень, склад 1) і багаторазовими (MS) складами (0,32 % у тиждень, склад 12).

Експерименти також демонструють можливість включення консерванту (мета-крезолу) у склади при збереженні стабільності при зберіганні, що дозволяє розробляти багаторазові склади та склади для застосування у комбінації з пристроями для доставки.

Приклад 2 - Дазиглюкозон зменшує постпрандіальну гіпоглікемію після шунтування шлунка за Ру

Постпрандіальна гіпоглікемія є частим і виснажливим ускладненням після шунтування шлунка за Ру (RYGB), й ефективного лікування не існує. У дослідженні з перевірки концепції ми вивчали ефект дазиглюкозону, нового стабільного аналога глюкозону, на постпрандіальну гіпоглікемію після RYGB. Основна мета даного дослідження полягала у вивченні ефектів двох доз дазиглюкозону на максимальне зниження постпрандіальної концентрації глюкози у плазмі (ПГ) і час, проведений в умовах гіпоглікемії (<3,9 ммоль/л), у пацієнтів після RYGB-операції з підтвердженою постпрандіальною гіпоглікемією.

Матеріал і методи

Десять індивідуумів після RYGB-операції (два суб'єкти чоловічої статі, вісім суб'єктів жіночої статі; ІМТ 34,6 (21,8-39,0) кг/м²; вік 46 (29–67) років; HbA_{1c} 32 (29-42) ммоль/моль; час після операції 9,3 (6-11,5) років; втрата маси тіла після операції 53,9 (25,1-92,0 кг)) з підтвердженою симптоматичною постпрандіальною гіпоглікемією (ПГ <3,5 ммоль/л, підтверджена 6-денним безперервним моніторингом глюкози), завершили подвійне сліпе, рандомізоване, перехресне дослідження, що включає три окремі дні лікування, кожний з яких включав тестування стандартизованої рідкої змішаної їжі (25 кДж на кг маси тіла; 50 Е% вуглеводів, 35 Е% жиру та 15 Е% білка). Підшкірну ін'єкцію плацебо, 80 або 200 мкг дазиглюкозону (D₈₀ мкг і D₂₀₀ мкг) вводили після постпрандіального піка ПГ приблизно за 10 хвилин до тимчасової точки, коли ПГ повернеться до рівнів натще, прогнозованої з використанням специфічної для суб'єкта моделі лінійної регресії. Вибір зразків крові й оцінку гіпоглікемічних симптомів за Единбургською шкалою симптомів гіпоглікемії виконували з фіксованими часовими інтервалами. Дані аналізували з використанням лінійних змішаних моделей та моделі коректувань Тьюкі для множинних порівнянь.

Результати

У порівнянні з плацебо лікування як D₈₀ мкг, так і D₂₀₀ мкг значно підвищувало максимальне зниження ПГ (плацебо: 3,0±0,2 ммоль/л; D₈₀ мкг: 3,9±0,3 ммоль/л; D₂₀₀ мкг: 4,5±0,2 ммоль/л; p=0,002 і p=0,0002) і прирощення AUC ПГ (iAUC_{70-240 хв}) після введення лікарського засобу (плацебо: 752±19 хв×ммоль/л; D₈₀ мкг: 917±22 хв×ммоль/л; D₂₀₀ мкг: 992±28 хв×ммоль/л; p<0,0001 і p<0,0001). Крім того, обидві дози зменшували час, проведений в умовах гіпоглікемії, у порівнянні з плацебо (<3,9 ммоль/л) (плацебо: 62,0±8 хв; D₈₀ мкг: 27,5±12 хв; D₂₀₀ мкг: 14,0±9 хв; p=0,05 і p=0,003). П'ять учасників відчували гіпоглікемію 2 рівня (<3,1 ммоль/л) після введення плацебо, у той час як жоден із учасників не відчував цього після введення D₂₀₀ мкг (час, проведений в умовах гіпоглікемії 2 рівня (n=5): плацебо: 31,0±5 хв; D₈₀ мкг: 7±5 хв; D₂₀₀ мкг: 0,0±0 хв; p>0,05 і p=0,01). Були відсутні значимі зміни гіпоглікемічних симптомів між трьома днями дослідження.

Висновок

Введення однократної дози дазиглюкозону ефективно зменшує постпрандіальну гіпоглікемію й являє собою перспективний новий терапевтичний варіант для лікування постпрандіальної гіпоглікемії після RYGB.

Список літератури:

Всі посилання, згадані у даній заявці, повністю включені за допомогою посилання.

WO 2014/016300 (Zealand Pharma A/S)

Hövelmann et al, Diabetes Care, 2017 (<https://doi.org/10.2337/dc17-1402>).

WO 2017/053822 (Xeris Pharmaceuticals, Inc.)

WO 2014/124151 (Xeris Pharmaceuticals, Inc.)
 WO 2016/133863 (Eli Lilly and Company)
 WO 2019/110838 (Adocia)
 WO 2008/084237 (Arecor Limited)

5

Таблиця 1

Склад #	Концентрація пептиду [мг/мл]	pH	Допоміжна речовина А	Допоміжна речовина В	Допоміжна речовина С	Допоміжна речовина D	Допоміжна речовина E	Допоміжна речовина F	Допоміжна речовина G	Допоміжна речовина H
			ТРИС	Фосфат	Гістидин	БІС-ТРИС	ACES	Малеїнова кислота	MES	NaCl
			[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]
1	1	6,5	50							175
2	1	6,5	50							500
3	1	6,5	50							90
4	1	6,5	50							
5	1	6,5		50						
6	1	6,5			50					
7	1	6,5				50				
8	1	6,5					50			
9	1	6,5						50		
10	1	6,5							50	
11	1	6,5								

Склад 12 (MD склад) являє собою pH 6,5, 4,0 мг/мл дазиглюкагону, 50 мМ ТРИС, 90 мМ NaCl і 3,15 мг/мл мета-крезолу.

Таблиця 2

Склад #	Концентрація пептиду [мг/мл]	pH	Допоміжна речовина А	Допоміжна речовина В	Допоміжна речовина С	Допоміжна речовина D	Допоміжна речовина E	Допоміжна речовина F	Допоміжна речовина G	Допоміжна речовина H
			Трис	Біс-Трис	MES	Цитрат Na	Ацетат Na	Сукцинат Na	м-крезол	NaCl
			[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мг/мл]	[мМ]
1	4	6,5	50						3,15	90
2	4	6,0	50						3,15	90
3	4	6,5		50					3,15	90
4	4	6,0		50					3,15	90
5	4	6,5			50				3,15	90
6	4	6,0			50				3,15	90
7	4	6,5				15			3,15	125
8	4	6,0				15			3,15	125
9	4	6,5					15		3,15	125
10	4	6,0					15		3,15	125
11	4	6,5						15	3,15	125
12	4	6,0						15	3,15	125

10

Таблиця 2а

Склад №:	Аналіз методом ВЕРХ	Час, тижні при 5 °С, % дазиглюкагону, що залишився		
		0	26	52
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5 (референсний склад)	100	99,75	98,29
2	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0 (референсний склад, pH 6,0)	100	99,54	98,54
3	Біс-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,30	97,64
4	Біс-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
5	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,43	98,40
6	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
7	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,64	98,07
8	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*

Таблиця 2а

	Аналіз методом ВЕРХ	Час, тижні при 5 °С, % дазиглюкагону, що залишився		
Склад №:	Композиція	0	26	52
9	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	99,11	97,15
10	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	*	*
11	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	99,56	98,61
12	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	*	*

*Осадження при 5 °С

Таблиця 2b

	Аналіз методом ЕХ	Час, тижні при 5 °С, % олігомерів		
Склад №:	Композиція	0	26	52
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	0,16	0,25	0,26
2	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	0,16	0,25	0,27
3	Біс-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	0,16	0,37	0,52
4	Біс-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	0,15	*	*
5	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	0,15	0,27	0,26
6	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	0,15	*	*
7	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	0,15	0,19	0,17
8	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	0,14	*	*
9	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	0,15	0,24	0,24
10	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	0,15	*	*
11	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	0,15	0,28	0,33
12	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	0,15	*	*

*Осадження при 5 °С

Таблиця 2с

	Аналіз методом ВЕРХ	Час, тижні при 25 °С, прискорене дослідження зберігання, % дазиглюкагону, що залишився		
Склад №:	Композиція	0	13	26
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5 (контрольний склад)	100	95,39	91,35
2	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0 (контрольний склад, рН 6,0)	100	96,11	92,17
3	Біс-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	94,54	89,19
4	Біс-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	95,46	91,47
5	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	95,98	92,10
6	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	96,11	92,46
7	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	95,42	91,89
8	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	95,66	91,56
9	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	94,89	90,15
10	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	95,91	91,81
11	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	95,51	91,42
12	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	96,22	92,18

Таблиця 2d

Склад №:	Аналіз методом EX	Час, тижні при 25 °С, прискорене дослідження зберігання, % олігомерів		
		0	13	26
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,16	0,40	0,62
2	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,16	0,41	0,59
3	Біс-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,16	1,16	2,98
4	Біс-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,77	1,52
5	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,42	0,64
6	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,45	0,68
7	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,26	0,35
8	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	0,26	0,35
9	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,38	0,64
10	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,50	0,76
11	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,52	0,86
12	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,56	1,02

Таблиця 3

Склад #	Концентрація пептиду [мг/мл]	pH	Допоміжна речовина А	Допоміжна речовина В	Допоміжна речовина D	Допоміжна речовина Е	Допоміжна речовина F	Допоміжна речовина G	Допоміжна речовина H
			Трис	Біс-Трис	Цитрат Na	Ацетат Na	Сукцинат Na	м-крезол	NaCl
			[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мг/мл]	[мМ]
1	4	6,5	50		15			3,15	75
2	4	6,0	50		15			3,15	75
3	4	6,5	50			15		3,15	75
4	4	6,0	50			15		3,15	75
5	4	6,5	50				15	3,15	75
6	4	6,0	50				15	3,15	75
7	4	6,5		50	15			3,15	75
8	4	6,0		50	15			3,15	75
9	4	6,5		50		15		3,15	75
10	4	6,0		50		15		3,15	75
11	4	6,5		50			15	3,15	75
12	4	6,0		50			15	3,15	75

Таблиця 3a

Склад №:	Аналіз методом ВЕРХ	Час, тижні при 5 °С, % дазиглюкагону, що залишився		
		0	26	52
1	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,17	98,43
2	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
3	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,06	98,38
4	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
5	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,17	98,13
6	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
7	Біс-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,06	98,09
8	Біс-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
9	Біс-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,15	97,55
10	Біс-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
11	Біс-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,03	98,03
12	Біс-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*

*Осадження при 5 °С

Таблиця 3b

Склад №:	Аналіз методом EX	Час, тижні при 5 °С, % олігомерів		
		0	26	52
1	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,18	0,16
2	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	*	*
3	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,25	0,27
4	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	*	*
5	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,25	0,25
6	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	*	*
7	Біс-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,32	0,35
8	Біс-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	*	*
9	Біс-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,35	0,51
10	Біс-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	*	*
11	Біс-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,37	0,55
12	Біс-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,16	*	*

*Осадження при 5 °С

Таблиця 3с

Склад №:	Аналіз методом ВЕРХ	Час, тижні при 25 °С, прискорене дослідження зберігання, % дазиглюкагону, що залишився		
		0	13	26
1	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,22	90,56
2	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,36	90,07
3	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,55	91,03
4	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,81	91,42
5	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,05	91,20
6	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,59	90,96
7	Біс-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,14	90,43
8	Біс-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,05	90,31
9	Біс-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	93,86	н.в.
10	Біс-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,24	н.в.
11	Біс-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	93,97	н.в.
12	Біс-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,00	н.в.

Таблиця 3d

Склад №:	Аналіз методом EX	Час, тижні при 25 °С, прискорене дослідження зберігання, % олігомерів		
		0	13	26
1	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,23	0,32
2	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,25	0,34
3	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,38	0,60
4	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	0,29	0,47
5	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,39	0,62
6	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	0,27	0,38
7	Біс-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,73	1,83
8	Біс-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	0,57	1,10
9	Біс-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	1,40	3,75
10	Біс-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,83	1,64
11	Біс-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	1,50	4,50
12	Біс-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,16	0,89	1,85

Таблиця 4

Склад #	Концентрація пептиду [мг/мл]	pH	Допоміжна речовина А	Допоміжна речовина В	Допоміжна речовина С	Допоміжна речовина D	Допоміжна речовина E	Допоміжна речовина F
			MES	Цитрат Na	Ацетат Na	Сукцинат Na	м-крезол	NaCl
			[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]
1	4	6,5	50	15			3,15	75
2	4	6,0	50	15			3,15	75
3	4	6,5	50		15		3,15	75
4	4	6,0	50		15		3,15	75
5	4	6,5	50			15	3,15	75
6	4	6,0	50			15	3,15	75

Таблиця 4а

	Аналіз методом ВЕРХ	Час, тижні при 5 °С, % дазиглюкагону, що залишився		
Склад №:	Композиція	0	26	52
1	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,86	99,44
2	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
3	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,65	99,65
4	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
5	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,72	99,60
6	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*

*Осадження при 5 °С

Таблиця 4б

	Аналіз методом EX	Час, тижні при 5°С, % олігомерів		
Склад №:	Композиція	0	26	52
1	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,19	0,24
2	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	*	*
3	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,22	0,25
4	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,08	*	*
5	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,23	0,26
6	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,13	*	*

*Осадження при 5 °С

- 5 DLS і поглинання були прийнятними для всіх складів, що містять ацетат, у порівнянні з контрольними складами.

Таблиця 4с

	Аналіз методом ВЕРХ	Час, тижні при 25 °С, прискорене дослідження зберігання, % дазиглюкагону, що залишився		
Склад №:	Композиція	0	13	26
1	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,90	92,18
2	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,62	91,20
3	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,92	92,36
4	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,78	92,55
5	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	96,10	92,39
6	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,85	92,22

Таблиця 4d

	Аналіз методом EX	Час, тижні при 25 °С, прискорене дослідження зберігання, % олігомерів		
Склад №:	Композиція	0	13	26
1	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,28	0,36
2	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	0,29	0,38
3	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,38	0,59
4	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,08	0,38	0,62
5	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,40	0,60
6	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,13	0,44	0,68

Таблиця 6

Склад #	Концентрація пептиду	pH	Допоміжна речовина А	Допоміжна речовина В	Допоміжна речовина С	Допоміжна речовина D	Допоміжна речовина Е
	[мг/мл]		Трис	Фосфат	Гістидин	NaCl	м-крезол
			[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мг/мл]
1	4	6,5	50			90	3,15
2	4	6,5		50		90	3,15
3	4	6,5			25	90	3,15
4	4	6,5	50	50		90	3,15
5	4	6,5	50		25	90	3,15
6	4	6,5		50	25	90	3,15

Таблиця 6a

	Аналіз методом ВЕРХ	Час, дні при 40 °С, прискорене дослідження зберігання, % дазиглюкагону, що залишився			
Склад №:	Композиція	0	7	14	18
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5 (референсний склад)	100	97,4	95,8	95,0
2	Фосфат 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	96,6	94,4	92,9
3	Гістидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	97,5	94,1	92,7
4	Трис 50 мМ, фосфат 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	97,5	94,5	92,6
5	Трис 50 мМ, гістидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	97,5	94,1	92,7
6	Фосфат 50 мМ, гістидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	97,6	94,2	92,2

Таблиця 6b

	Аналіз методом EX	Час, дні при 40 °С, прискорене дослідження зберігання, % олігомерів			
Склад №:	Композиція	0	7	14	18
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5 (референсний склад)	0,11	0,30	0,38	0,43
2	Фосфат 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,12	0,24	0,30	0,31
3	Гістидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,1	0,44	0,85	0,93
4	Трис 50 мМ, фосфат 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,12	0,21	0,27	0,29
5	Трис 50 мМ, гістидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,11	0,35	0,75	0,85
6	Фосфат 50 мМ, гістидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,1	0,18	0,28	0,29

Перелік послідовностей

<110> ВІЛЕНД ФАРМА А/С
 <120> РІДКІ СКЛАДИ АНАЛОГІВ ГЛЮКАГОНУ
 <130> 007371412
 <140> 20163408.6
 <141> 2020-03-16
 <160> 1
 <170> PatentIn, версія 3.5
 <210> 1
 <211> 29
 <212> ВІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучна послідовність
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa = Aib
 <400> 1
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa
 1 5 10 15
 Ala Arg Ala Glu Glu Phe Val Lys Trp Leu Glu Ser Thr
 20 25

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Стабільний рідкий водний фармацевтичний склад, що містить аналог глюкагону, який являє собою:
 Ну-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH,
 або його фармацевтично прийнятну сіль;
 причому склад містить:
- 10 (а) аналог глюкагону, що є присутнім у концентрації від 0,5 до 10 мг/мл;
 (b) ТРИС, ACES або MES, що є присутніми як буфер у концентрації від 25 до 75 мМ, і/або цитрат, ацетат або сукцинат, що є присутніми як буфер у концентрації від 1 до 30 мМ;
 (c) хлорид натрію, що є присутнім як модифікатор тоничності та в концентрації від 50 до 600 мМ;
 і
- 15 (d) рН від 5,6 до 7,0.
2. Стабільний рідкий водний склад за п. 1, який **відрізняється** тим, що буфер ТРИС, ACES або MES безпосередньо хімічно стабілізує аналог глюкагону, незалежно від рН складу, що забезпечується буфером.
3. Стабільний рідкий водний склад за п. 1 або 2, який **відрізняється** тим, що склад:
- 20 i) забезпечує поліпшену хімічну стабілізацію у порівнянні зі складом, у якому буфер ТРИС, ACES або MES замінений фосфатним буфером і/або гістидиновим буфером тієї ж концентрації та рН, згідно з оцінкою в тих же тестових умовах;
 ii) має профіль деградації після 52 тижнів зберігання при 25 °С, після яких склад містить одне або більше з: менше 5 % Pyro-Glu 4-29, менше 7 % окиснення Trp/Tyr, менше 4 % кінуреніну,

- менше 5 % F-4-29+F5-29 і/або менше 2 % F3-29, після зберігання протягом 52 тижнів при 25 °С, причому всі відсоткові значення визначені за допомогою ВЕРХ;
- iii) має профіль деградації, в якому аналог глюкагону не містить додавання бурштинової кислоти на додаток до малеїнової кислоти;
- 5 iv) по суті, не включає апротонного полярного розчинника; і/або
v) по суті, не включає диметилсульфоксиду (ДМСО).
4. Стабільний рідкий водний склад за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що вода являє собою єдиний розчинник, який використовують для одержання рідкого водного складу.
- 10 5. Стабільний рідкий водний склад за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що:
- i) аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятна сіль є присутніми у концентраціях 0,5, 0,6, 0,7, 1,0 або 4,0 мг/мл;
- ii) буфер ТРИС, ACES або MES є присутнім як буфер у концентрації 50 мМ;
- 15 iii) хлорид натрію є присутнім як модифікатор тоничності у концентрації від 150 до 200 мМ або у концентрації від 50 до 150 мМ; і/або
iv) склад має рН від 5,8 до 6,7.
6. Стабільний рідкий водний склад за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що склад має рН 6,5.
- 20 7. Стабільний рідкий водний склад за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що склад:
- i) не включає стабілізуючої іонізації допоміжної речовини, вибраної з соляної кислоти, азотної кислоти, сірчаної кислоти або їх комбінації;
- ii) являє собою готовий до застосування склад;
- 25 iii) є стабільним при 2-8 °С протягом щонайменше 6, щонайменше 12, щонайменше 18 або щонайменше 24 місяці;
- iv) є стерильним і/або не містить відновлюючого агента;
- v) приготовлений для введення суб'єкту шляхом ін'єкції.
8. Стабільний рідкий водний склад за п. 7, який **відрізняється** тим, що аналог глюкагону в складі зберігає щонайменше 90 % своєї біологічної активності після 18 місяців зберігання при 2-8 °С.
9. Стабільний рідкий водний склад за п. 7, який **відрізняється** тим, що ін'єкція являє собою підшкірну ін'єкцію.
- 30 10. Стабільний рідкий водний склад за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що буфер являє собою ТРИС.
- 35 11. Стабільний рідкий водний склад за будь-яким із попередніх пунктів, який додатково містить консервант.
12. Стабільний рідкий водний склад за п. 11, який **відрізняється** тим, що консервант являє собою мета-крезол у концентрації від 1,0 до 5,0 мг/мл.
- 40 13. Стабільний рідкий водний склад за будь-яким із пп. 1-7, який **відрізняється** тим, що аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятна сіль є присутніми у концентрації від 0,75 до 1,25 мг/мл, зазначений буфер ТРИС, ACES або MES є присутнім у концентрації від 40 до 60 мМ, хлорид натрію є присутнім як модифікатор тоничності у концентрації від 150 до 200 мМ і склад має рН від 6,0 до 6,8.
- 45 14. Стабільний рідкий водний склад за п. 13, який **відрізняється** тим, що аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятна сіль є присутніми у концентрації 1,0 мг/мл, ТРИС є присутнім у концентрації 50 мМ, хлорид натрію є присутнім як модифікатор тоничності у концентрації 175 мМ і склад має рН 6,5.
15. Стабільний рідкий водний склад за будь-яким із пп. 1-12, який **відрізняється** тим, що:
- 50 а) аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятна сіль є присутніми у концентрації від 3,0 до 5,0 мг/мл, буфер ТРИС, ACES або MES є присутнім у концентрації від 40 до 60 мМ, хлорид натрію є присутнім як модифікатор тоничності у концентрації від 50 до 150 мМ, мета-крезол є присутнім як консервант у концентрації від 3,0 до 4,0 мг/мл і склад має рН від 6,0 до 7,0; або
б) аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятна сіль є присутніми у концентрації від 3,0 до 5,0 мг/мл, ТРИС, ACES або MES є присутніми як буфер у концентрації від 25 до 75 мМ, і/або
55 цитрат, ацетат або сукцинат є присутніми як буфер у концентрації від 1 до 30 мМ, хлорид натрію є присутнім як модифікатор тоничності у концентрації від 50 до 150 мМ, мета-крезол є присутнім як консервант у концентрації від 3,0 до 4,0 мг/мл і склад має рН від 6,0 до 7,0.
16. Стабільний рідкий водний склад за п. 15, який **відрізняється** тим, що аналог глюкагону або
60 його фармацевтично прийнятна сіль є присутніми у концентрації 4 мг/мл, ТРИС є присутнім у

концентрації 50 мМ, хлорид натрію є присутнім як модифікатор тонічності у концентрації 90 мМ, мета-крезол є присутнім як консервант у концентрації від 3,0 до 4,0 мг/мл і склад має рН 6,5.

17. Стабільний рідкий водний склад за п. 15, який **відрізняється** тим, що аналог глюкагону або його фармацевтично прийнятна сіль є присутніми у концентрації 4 мг/мл, буфер ТРИС, ACES, MES є присутнім у концентрації 50 мМ, або цитратний, ацетатний та/або сукцинатний буфери є присутніми у концентрації 15 мМ, хлорид натрію є присутнім як модифікатор тонічності у концентрації 90 мМ, мета-крезол є присутнім як консервант у концентрації від 3,0 до 4,0 мг/мл і склад має рН 6,5.

18. Стабільний рідкий водний склад за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що буфер додатково містить цитрат, ацетат або сукцинат.

19. Стабільний рідкий водний склад за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що цитрат, ацетат або сукцинат є присутніми у складі у концентрації від 10 до 30 мМ.

20. Пристрій для доставки, що містить рідкий склад за будь-яким із попередніх пунктів, причому пристрій для доставки являє собою попередньо заповнений шприц, пристрій для ін'єкцій, шприц-ручку, автоін'єктор з дозою, що коригується, одноразовий автоін'єктор, ін'єктор з можливістю носіння або інфузійний насос.

21. Стабільний рідкий водний склад аналога глюкагону за будь-яким із попередніх пунктів для застосування при лікуванні захворювання або стану, вибраного з гіпоглікемії, діабету 2 типу, порушення толерантності до глюкози, діабету 1 типу, ожиріння, ішемічної хвороби серця, атеросклерозу, гіпертензії, дисліпідемії, стеатозу печінки, отруєння β-блокаторами, інсуліноми або хвороби фон Гірке.

22. Стабільний рідкий водний склад аналога глюкагону для застосування при лікуванні захворювання або стану за п. 21, який **відрізняється** тим, що захворювання або стан являє собою гіпоглікемію.

23. Стабільний рідкий водний склад аналога глюкагону для застосування при лікуванні захворювання або стану за п. 22, який **відрізняється** тим, що гіпоглікемія вибрана з групи, що складається з: діабетичної гіпоглікемії, гострої гіпоглікемії, індукованої інсуліном, тяжкої гіпоглікемії, гострої гіпоглікемії, хронічної гіпоглікемії, недіабетичної гіпоглікемії, реактивної гіпоглікемії, гіпоглікемії натще, гіпоглікемії, індукованої лікарськими засобами, гіпоглікемії, індукованої алкоголем, гіпоглікемії, індукованої шунтуванням шлунка або гіпоглікемії, що виникає під час вагітності.

24. Стабільний рідкий водний склад аналога глюкагону для застосування при лікуванні захворювання або стану за п. 23, який **відрізняється** тим, що гіпоглікемія, індукована шунтуванням шлунка, являє собою постпрандіальну гіпоглікемію після шунтування шлунка за Ру.

25. Стабільний рідкий водний склад аналога глюкагону для застосування при лікуванні захворювання або стану за будь-яким із пп. 21 або 22, який **відрізняється** тим, що аналог глюкагону застосовують для лікування пацієнта, який є людиною.

26. Спосіб одержання стабільного рідкого водного фармацевтичного складу, що містить аналог глюкагону, який являє собою:

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH,

або його фармацевтично прийнятну сіль;

причому спосіб включає складання (а) аналога глюкагону або його фармацевтично прийнятної солі, присутніх у концентрації від 0,5 до 10 мг/мл; (b) ТРИС, ACES або MES, що є присутніми як буфер у концентрації від 25 до 75 мМ, і/або цитрату, ацетату або сукцинату, що є присутніми як буфер у концентрації від 1 до 30 мМ; (c) хлориду натрію, що є присутнім як модифікатор тонічності та в концентрації від 50 до 600 мМ; (d) рН від 6,0 до 7,0; і (e) мета-крезолу у концентрації від 1,0 до 5,0 мг/мл, з одержанням стабільного рідкого водного фармацевтичного складу.