



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101861333 A

(43) 申请公布日 2010. 10. 13

(21) 申请号 200880116227. 5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008. 11. 14

C07K 14/605 (2006. 01)

C07K 14/62 (2006. 01)

(30) 优先权数据

07120880. 5 2007. 11. 16 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 05. 14

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2008/065601 2008. 11. 14

(87) PCT申请的公布数据

W02009/063072 EN 2009. 05. 22

(71) 申请人 诺沃 - 诺迪斯克有限公司

地址 丹麦鲍斯韦

(72) 发明人 A · 普卢姆 D · B · 斯蒂恩斯加尔德

J · K · 汤姆森 M · 施莱因

A · S · K · 马库森 C · 波尔森

(74) 专利代理机构 中国专利代理 (香港) 有限公

司 72001

代理人 王伦伟 林毅斌

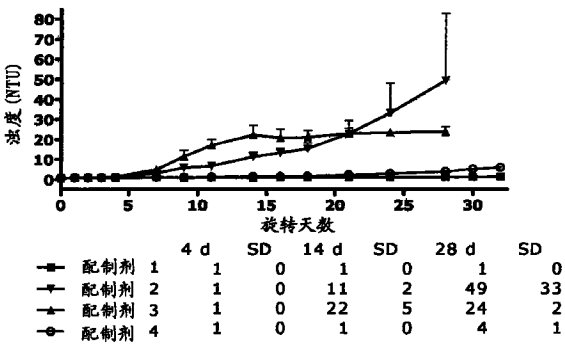
权利要求书 1 页 说明书 29 页 附图 6 页

(54) 发明名称

包含 GLP-1 肽或毒蜥外泌肽-4 和基础胰岛素肽的药物组合物

(57) 摘要

用于胃肠外给药的药物组合物, 其包括基础胰岛素肽和促胰岛素 GLP-1 肽, 并且包含至少 6 个锌原子 /6 个胰岛素分子。



1. 用于胃肠外给药的可溶性药物组合物,其包括促胰岛素 GLP-1 化合物、基础胰岛素肽、可药用添加剂和锌,其中锌含量为至少 5 个或至少 6 个 Zn 离子 /6 个胰岛素分子。

2. 根据权利要求 1 所述的药物组合物,其中锌含量为 5-16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

3. 根据权利要求 1 所述的药物组合物,其中锌含量为 6-16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

4. 根据前述权利要求中任意一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物的 pH 为大约 pH7.4 到大约 pH8.2。

5. 根据前述权利要求中任意一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物的 pH 为大约 pH7.4 到大约 pH7.7,或者大约 7.7 到大约 8.2。

6. 根据前述权利要求中任意一项所述的药物组合物,其中所述促胰岛素 GLP-1 肽是 GLP-1 (7-37)、GLP-1 (7-37) 类似物、GLP-1 (7-37) 的衍生物、或 GLP-1 (7-37) 类似物的衍生物。

7. 根据权利要求 6 所述的药物组合物,其中所述 GLP-1 (7-37) 类似物的衍生物是 $\text{Arg}^{34}, \text{Lys}^{26}(\text{N}^{\epsilon}-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^{\alpha}\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1 (7-37)}$ 。

8. 根据前述权利要求中任意一项所述的药物组合物,其中所述基础胰岛素肽是酰化胰岛素。

9. 根据权利要求 8 所述的药物组合物,其中所述酰化胰岛素在 B29 位上用亲脂性基团酰化。

10. 根据权利要求 9 所述的药物组合物,其中所述基础胰岛素选自 $\text{N}^{\epsilon\text{B29}}\text{-十四酰基 des(B30) 人胰岛素}$ 、 $\text{N}^{\epsilon\text{B29}}\text{-(N}^{\alpha}\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)-}\gamma\text{-Glu) desB30 人胰岛素}$ 、 $\text{Lys}^{\text{B29}}(\text{N}^{\epsilon}\text{ 石胆酰基}-\gamma\text{-Glu)-des(B30) 人胰岛素}$ 、 $\text{N}^{\epsilon\text{B29}}\text{-}\omega\text{-羧基十五酰基}-\gamma\text{-L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素}$ 和 $\text{N}^{\epsilon\text{B29}}\text{-}\omega\text{-羧基十五酰基}-\gamma\text{-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素}$ 。

11. 根据权利要求 10 所述的药物组合物,其中所述基础胰岛素为 $\text{N}^{\epsilon\text{B29}}\text{-十四酰基 des(B30) 人胰岛素}$ 、 $\text{N}^{\epsilon\text{B29}}(\text{N}^{\alpha}\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)-}\gamma\text{-Glu) desB30 人胰岛素}$ 。

12. 根据前述权利要求中任意一项所述的药物组合物,其中所述基础胰岛素为 $\text{N}^{\epsilon\text{B29}}\text{-(N}^{\alpha}\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)-}\gamma\text{-Glu) desB30 人胰岛素}$,且所述促胰岛素 GLP-1 化合物是 $\text{Arg}^{34}, \text{Lys}^{26}(\text{N}^{\epsilon}-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^{\alpha}\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1 (7-37)}$ 。

13. 根据前述权利要求中任意一项所述的药物组合物,其中所述基础胰岛素的浓度在大约 1.5 到大约 8mg/mL 的范围,且 GLP-1 化合物的浓度在大约 2 到大约 10mg/mL 的范围。

14. 根据前述权利要求中任意一项所述的药物组合物,其中所述基础胰岛素为甘精胰岛素肽或酰胺化甘精胰岛素肽,且所述促胰岛素 GLP-1 化合物是具有至多 8 个附加碱性氨基酸残基的毒蜥外泌肽-4 或其类似物。

15. 根据前述权利要求中任意一项所述的药物组合物,其进一步包括组氨酸。

包含 GLP-1 肽或毒蜥外泌肽 -4 和基础胰岛素肽的药物组合物

发明领域

[0001] 本发明涉及药物组合物的领域。更具体地说,本发明涉及含有两种不同药物活性肽的药物组合物。

背景技术

[0002] 糖尿病是一种葡萄糖利用能力部分或完全丧失的代谢性疾病。自从二十世纪二十年代引进胰岛素以来,在改善糖尿病的治疗上付出了持续不断的努力。由于糖尿病患者要进行几十年的慢性治疗,因而对安全、方便且改善生活质量的胰岛素配制剂存在着大量需求。

[0003] 在糖尿病的治疗中,已经提出和使用了许多不同的胰岛素配制剂,例如普通胰岛素、鱼精蛋白锌胰岛素(表示为 NPH)、胰岛素锌悬浮液(例如 Semilente[®]、Lente[®]和 Ultralente[®])和双相鱼精蛋白锌胰岛素。一些市售的胰岛素配制剂特征在于快速起效,而另一些配制剂则相对较慢起效,但显示了或多或少延长的疗效。快速起效的胰岛素配制剂通常是胰岛素的溶液,而缓慢起效的胰岛素能够是悬浮液,其含有通过单独添加锌盐或通过添加鱼精蛋白或通过添加锌盐和鱼精蛋白二者的组合而沉淀的结晶和/或无定形形式的胰岛素。在过去十年里,已开发了许多人胰岛素类似物。它们被设计用于特定的疗效范围,即速效或长效。

[0004] 预期在糖尿病治疗中非常重要的另一种肽是胰高血糖素样肽 -1 (GLP-1)。人 GLP-1 是来源于前胰高血糖素原 (preproglucagon) 的 37 个氨基酸残基肽,所述前胰高血糖素原尤其在回肠末端、胰腺和大脑的 L 细胞中合成。GLP-1 是在葡萄糖代谢和胃肠道分泌和代谢中具有调节功能的重要胃肠激素。GLP-1 以葡萄糖依赖方式刺激胰岛素分泌,刺激胰岛素生物合成,促进 β 细胞救援,减少胰高血糖素分泌,胃排空和食物摄入。随着全世界 2 型糖尿病人群快速增加,对于给药更简单的更有效的药物存在着更大的需求。包括胰岛素肽和 GLP-1 肽且具有固定的该两种药物的比率的联合配制剂可能是非常有效的治疗剂,并且是当给药于同一患者时需要注射较少量的药物。

[0005] W095/31214 中公开了包括施用胰岛素和 GLP-1 的、需要胰岛素的糖尿病的联合治疗。W003/020201 中公开了 GLP-1 化合物和基础胰岛素的预混配制剂。W02006/051103 中公开了包括 GLP-1、基础胰岛素和表面活性剂的储存稳定的药物组合物。

附图说明

[0006] 图 1 示出了利用加速应力试验来评价的四种药物组合物的物理稳定性。

[0007] 图 2-4 示出了旋转试验的结果。

[0008] 图 5-8 示出了用猪检验的具有胰岛素类似物 $N^{\epsilon}B^{29}-(N^{\alpha}-(HOO(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 人胰岛素和利拉鲁肽 (liraglutide) 的固定联合配制剂的药代动力学 (PK) 性能。

发明内容

[0009] 本发明的一个目的是提供 GLP-1 化合物和基础胰岛素化合物的储存稳定的每日一次的固定组合,与单一活性组分相比,该组合肽具有不变的 PK/PD 性能。

[0010] 更具体地说,本发明涉及包括促胰岛素 GLP-1 化合物和基础胰岛素的固定组合的储存稳定的药物组合物,该组合物含有至少 5 个锌离子 /6 个基础胰岛素分子。

[0011] 在一个实施方案中,该药物组合物含有至少 6 个锌离子 /6 个基础胰岛素分子。

[0012] 在另一个实施方案中,该药物组合物含有至少 7 个锌离子 /6 个基础胰岛素分子。

[0013] 在另一个实施方案中,该药物组合物含有至少 8 个锌离子 /6 个基础胰岛素分子。

[0014] 在又一个实施方案中,该药物组合物含有至少 9、10、11、12、13、14、15 或 16 个锌离子 /6 个基础胰岛素分子。

[0015] 在一个实施方案中,锌含量为 5-16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0016] 在另一个实施方案中,锌含量为 5-15、5-14、5-13、5-12、5-11、5-10、5-9、5-8 或 5-7 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0017] 在又一个实施方案中,锌含量为 6-16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0018] 在又一个实施方案中,锌含量为 6-15、6-14、6-13、6-12、6-11、6-10、6-9 或 6-8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0019] 在另一个实施方案中,锌含量为 7-16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0020] 在又一个实施方案中,锌含量为 7-14、7-15、7-14、7-13、7-12、7-11、7-10 或 7-9 个锌离子 /6 个基础胰岛素分子。

[0021] 在另一个实施方案中,锌含量为 8-16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0022] 在另一个实施方案中,锌含量为 8-15、8-14、8-13、8-12、8-11 或 8-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0023] 该药物配制剂的 pH 在任何以上实施方案中通常是在中性以上,典型地为大约 7 到大约 9。

[0024] 在一个实施方案中,该药物组合物的 pH 为大约 pH7.4 到大约 pH9,大约 pH7.4 到大约 pH8.5,或者大约 pH7.4 到大约 pH8.2。

[0025] 在另一个实施方案中,该药物组合物的 pH 为大约 pH7.5 到大约 pH8.5,大约 pH7.5 到大约 pH8.2,或者大约 7.5 到大约 7.7。

[0026] 在另一个实施方案中,该药物组合物的 pH 为大约 pH7.6 到大约 pH8.2。在又一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 8.2。

[0027] 在另一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 9。

[0028] 在另一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 8.9。

[0029] 在另一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 8.8。

[0030] 在另一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 8.7。

[0031] 在另一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 8.6。

[0032] 在另一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 8.5。

[0033] 在另一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 8.4。

[0034] 在另一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 8.3。

[0035] 在另一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 8.2。

[0036] 在另一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 8.1。

[0037] 在另一个实施方案中,所述 pH 为大约 7.7 到大约 8。

[0038] 促胰岛素 GLP-1 化合物在以上任何实施方案中可以是有效用于 2 型糖尿病治疗的任何 GLP-1 化合物。本文所使用的术语“GLP-1 肽”是指 GLP-1 (7-37)、GLP-1 (7-37) 类似物、GLP-1 (7-37) 衍生物或 GLP-1 (7-37) 类似物的衍生物。GLP-1 的衍生物可以是如在 W098/08871 或 W0 2006/097537 中所公开的酰化 GLP-1 化合物。

[0039] 在一个实施方案中, GLP-1 化合物是酰化 GLP-1 类似物,例如 Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-十六酰基)))-GLP-1 (7-37)、Aib8, Lys26(OEG-OEG-γ-Glu-C18-二酸), Arg34)GLP-1 H(7-37)-OH 或 (N-ε 26-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-羧基-4-(17-羧基-十七酰基氨基)丁酰氨基]乙氧基}乙氧基)乙酰氨基]乙氧基}乙氧基)-乙酰基][Aib8, Arg34]GLP-1-(7-37)。

[0040] 在另一个实施方案中, GLP-1 是毒蜥外泌肽 (exendin)-3、毒蜥外泌肽-4 或毒蜥外泌肽-4 类似物。所述毒蜥外泌肽-4 类似物可以包括加到 C 端或 N 端上的 4-10、4-8 或 4-6 个碱性氨基酸残基。

[0041] 基础胰岛素在以上任何实施方案中可以是已知用于治疗 1 型和 2 型糖尿病的任何基础胰岛素。在一个实施方案中,基础胰岛素是 W095/07931、W0 2005/012347 和 EP2007/054444 中公开的胰岛素及其类似物的 B 链的 B29Lys 中的 ε-氨基被酰化的胰岛素。

[0042] 在另一个实施方案中,基础胰岛素是 p1 移位的基础胰岛素,例如 US 专利 5,656,722 中公开的类型,其中胰岛素分子具有碱性氨基酸残基取代或添加。这种基础胰岛素的一个实例是 GlyA21、ArgB31、ArgB32 人胰岛素 (甘精胰岛素 (insulin glargine))。另一基础胰岛素可以是酰胺化甘精胰岛素,例如 W02008/006496 和 W02008/006497 中公开的化合物。

[0043] 在一个实施方案中,基础胰岛素是 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素。

[0044] 在又一个实施方案中,基础胰岛素是 Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基 (lithocholyl)-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素。

[0045] 在又一个实施方案中,基础胰岛素是 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素或 N^εB29-(N^α-(HOOCC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu)desB30 人胰岛素。

[0046] 在又一个实施方案中,基础胰岛素是 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 (glutaylamide)desB30 人胰岛素或者 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素。

[0047] 在一个实施方案中,该药物组合物包括促胰岛素 GLP-1 化合物和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素、Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素、N^εB29-(N^α-(HOOCC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu)desB30 人胰岛素、N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 (glutaylamide)desB30 人胰岛素和 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素,所述组合物含有至少 5、6、7、8 或 9 个锌原子/6 个胰岛素分子。

[0048] 在又一个实施方案中,该药物组合物包括促胰岛素 GLP-1 化合物和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四

酰基 des(B30) 人胰岛素、 $\text{Lys}^{\text{B29}}(\text{N}^\epsilon \text{ 石胆酰基}-\gamma\text{-Glu})\text{-des(B30) 人胰岛素}$ 、 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-(N}^\alpha\text{-(HOO}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO)-}\gamma\text{-Glu)desB30 人胰岛素}$ 、 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-}\omega\text{-羧基十五酰基}-\gamma\text{-L-谷氨酰胺 (glutaylamide)desB30 人胰岛素}$ 和 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-}\omega\text{-羧基十五酰基}-\gamma\text{-氨基-丁酰基des(B30) 人胰岛素}$ ，所述组合物含有 5-16、5-14、5-12、5-10 或 5-8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0049] 在又一个实施方案中，该药物组合物包括促胰岛素 GLP-1 化合物和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂，所述酰化基础胰岛素选自 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-十四酰基 des(B30) 人胰岛素}$ 、 $\text{Lys}^{\text{B29}}(\text{N}^\epsilon \text{ 石胆酰基}-\gamma\text{-Glu})\text{-des(B30) 人胰岛素}$ 、 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-(N}^\alpha\text{-(HOO}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO)-}\gamma\text{-Glu)desB30 人胰岛素}$ 、 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-}\omega\text{-羧基十五酰基}-\gamma\text{-L-谷氨酰胺 (glutaylamide)desB30 人胰岛素}$ 和 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-}\omega\text{-羧基十五酰基}-\gamma\text{-氨基-丁酰基des(B30) 人胰岛素}$ ，所述组合物含有 6-16、6-14、6-12、6-10 或 6-8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0050] 在又一个实施方案中，该药物组合物包括促胰岛素 GLP-1 化合物和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂，所述酰化基础胰岛素选自 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-十四酰基 des(B30) 人胰岛素}$ 、 $\text{Lys}^{\text{B29}}(\text{N}^\epsilon \text{ 石胆酰基}-\gamma\text{-Glu})\text{-des(B30) 人胰岛素}$ 、 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-(N}^\alpha\text{-(HOO}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO)-}\gamma\text{-Glu)desB30 人胰岛素}$ 、 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-}\omega\text{-羧基十五酰基}-\gamma\text{-L-谷氨酰胺 (glutaylamide)desB30 人胰岛素}$ 和 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-}\omega\text{-羧基十五酰基}-\gamma\text{-氨基-丁酰基des(B30) 人胰岛素}$ ，所述组合物含有 7-16、7-14、7-12 或 7-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0051] 在又一个实施方案中，该药物组合物包括促胰岛素 GLP-1 化合物和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂，所述酰化基础胰岛素选自 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-十四酰基 des(B30) 人胰岛素}$ 、 $\text{Lys}^{\text{B29}}(\text{N}^\epsilon \text{ 石胆酰基}-\gamma\text{-Glu})\text{-des(B30) 人胰岛素}$ 、 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-(N}^\alpha\text{-(HOO}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO)-}\gamma\text{-Glu)desB30 人胰岛素}$ 、 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-}\omega\text{-羧基十五酰基}-\gamma\text{-L-谷氨酰胺 (glutaylamide)desB30 人胰岛素}$ 和 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-}\omega\text{-羧基十五酰基}-\gamma\text{-氨基-丁酰基des(B30) 人胰岛素}$ ，所述组合物含有 8-16、8-14、8-12 或 8-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0052] 在又一个实施方案中，该药物组合物包括促胰岛素 GLP-1 化合物和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂，所述酰化基础胰岛素具有式 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-(N}^\alpha\text{-(HOO}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO)-}\gamma\text{-Glu)desB30 人胰岛素}$ ，所述组合物含有至少 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0053] 在又一个实施方案中，该药物组合物包括促胰岛素 GLP-1 化合物和酰化基础胰岛素 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-(N}^\alpha\text{-(HOO}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO)-}\gamma\text{-Glu)desB30 人胰岛素}$ 的固定组合以及适合的可药用佐剂，该组合物含有 5-16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0054] 在又一个实施方案中，该药物组合物包括促胰岛素 GLP-1 化合物和酰化基础胰岛素 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-(N}^\alpha\text{-(HOO}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO)-}\gamma\text{-Glu)desB30 人胰岛素}$ 的固定组合以及适合的可药用佐剂，该组合物含有 6-16、6-15、6-14、6-13、6-12、6-10 或 6-8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0055] 在又一个实施方案中，该药物组合物包括促胰岛素 GLP-1 化合物和酰化基础胰岛素 $\text{N}^{\epsilon \text{ B29}}\text{-(N}^\alpha\text{-(HOO}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO)-}\gamma\text{-Glu)desB30 人胰岛素}$ 的固定组合以及适合的可药用佐剂，该组合物含有 7-16、7-15、7-14、7-13、7-12、7-11、7-10 或 7-8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0056] 在又一个实施方案中，该药物组合物包括促胰岛素 GLP-1 化合物和酰化基础胰岛

素 N^εB29 (N^α-(H₂COO(CH₂)₁₄)-γ-Glu)desB30 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,该组合物含有 8-16、8-15、8-14、8-13、8-12、8-11、8-10 或 8-9 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0057] 在一个实施方案中,本发明涉及含有促胰岛素 GLP-1 和基础胰岛素 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为至少 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0058] 在另一个实施方案中,本发明涉及含有促胰岛素 GLP-1 和基础胰岛素 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为 5-16、6-16、7-16 或 8-16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0059] 在又一个实施方案中,该药物组合物包括 GLP-1 (7-37) 或其类似物或衍生物和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素、Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素、N^εB29-(N^α-(H₂COO(CH₂)₁₄)-γ-Glu)desB30 人胰岛素、N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素和 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素,所述组合物含有至少 5 或 6 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0060] 在又一个实施方案中,该药物组合物包括 GLP-1 (7-37) 或其类似物或衍生物和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素、Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素、N^εB29-(N^α-(H₂COO(CH₂)₁₄)-γ-Glu)desB30 人胰岛素、N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素和 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素,所述组合物含有 5-16、5-14、5-12、5-10 或 5-8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0061] 在又一个实施方案中,该药物组合物包括 GLP-1 (7-37) 或其类似物或衍生物和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素、Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素、N^εB29-(N^α-(H₂COO(CH₂)₁₄)-γ-Glu)desB30 人胰岛素、N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素和 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素,所述组合物含有 6-16、6-14、6-12 或 6-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0062] 在又一个实施方案中,该药物组合物包括 GLP-1 (7-37) 或其类似物或衍生物和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素、Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素、N^εB29-(N^α-(H₂COO(CH₂)₁₄)-γ-Glu)desB30 人胰岛素、N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素和 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素,所述组合物含有 7-16、7-14、7-12 或 7-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0063] 在又一个实施方案中,该药物组合物包括 GLP-1 (7-37) 或其类似物或衍生物和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素、Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素、N^εB29-(N^α-(H₂COO(CH₂)₁₄)-γ-Glu)desB30 人胰岛素、N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素和 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素,所述组合物含有 8-16、8-12 或 8-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0064] 在一个实施方案中,本发明涉及含有 GLP-1 (7-37) 或其类似物或衍生物和

N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为至少 5、6、7、8、9 或 10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0065] 在一个实施方案中,本发明涉及含有 GLP-1(7-37) 或其类似物或衍生物和 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为 6-16、7-16、8-16、8-14、8-12 或 8-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0066] 在又一个实施方案中,该药物组合物包括 Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-十六酰基))) -GLP-1(7-37) 和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素、Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素、N^εB29(N^α-(H₂CO(CH₂)₁₄)-γ-Glu) desB30 人胰岛素、N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素和 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素,所述组合物含有至少 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0067] 在又一个实施方案中,该药物组合物包括 Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-十六酰基))) -GLP-1(7-37) 和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素、Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素、N^εB29(N^α-(H₂CO(CH₂)₁₄)-γ-Glu) desB30 人胰岛素、N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素和 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素,所述组合物含有 5-16、5-14、5-12 或 5-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0068] 在又一个实施方案中,该药物组合物包括 Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-十六酰基))) -GLP-1(7-37) 和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素、Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素、N^εB29(N^α-(H₂CO(CH₂)₁₄)-γ-Glu) desB30 人胰岛素、N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素和 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素,所述组合物含有 6-16、6-14、6-12 或 6-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0069] 在又一个实施方案中,该药物组合物包括 Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-十六酰基))) -GLP-1(7-37) 和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素、Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素、N^εB29(N^α-(H₂CO(CH₂)₁₄)-γ-Glu) desB30 人胰岛素、N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素和 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素,所述组合物含有 7-16、7-14、7-12 或 7-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0070] 在又一个实施方案中,该药物组合物包括 Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-十六酰基))) -GLP-1(7-37) 和酰化基础胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂,所述酰化基础胰岛素选自 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素、Lys^{B29}(N^ε 石胆酰基-γ-Glu)-des(B30) 人胰岛素、N^εB29(N^α-(H₂CO(CH₂)₁₄)-γ-Glu) desB30 人胰岛素、N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素和 N^εB29-ω-羧基十五酰基-γ-氨基-丁酰基 des(B30) 人胰岛素,所述组合物含有 8-16、8-14、8-12 或 8-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0071] 在又一个实施方案中,本发明涉及含有 Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-十六酰基))) -GLP-1(7-37) 与 N^εB29-(N^α-(H₂CO(CH₂)₁₄)-γ-Glu) desB30 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为至少 5 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0072] 在又一个实施方案中,本发明涉及含有 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^\alpha\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1(7-37)}$ 与 $\text{N}^\epsilon\text{B}^{29}(\text{N}^\alpha\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)}-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为至少 6 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0073] 在又一个实施方案中,本发明涉及含有 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^\alpha\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1(7-37)}$ 与 $\text{N}^\epsilon\text{B}^{29}(\text{N}^\alpha\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)}-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为至少 7 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0074] 在又一个实施方案中,本发明涉及含有 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^\alpha\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1(7-37)}$ 与 $\text{N}^\epsilon\text{B}^{29}(\text{N}^\alpha\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)}-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为至少 8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0075] 在又一个实施方案中,本发明涉及含有 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^\alpha\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1(7-37)}$ 与 $\text{N}^\epsilon\text{B}^{29}(\text{N}^\alpha\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)}-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为至少 9 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0076] 在又一个实施方案中,本发明涉及含有 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^\alpha\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1(7-37)}$ 与 $\text{N}^\epsilon\text{B}^{29}(\text{N}^\alpha\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)}-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为至少 10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0077] 在又一个实施方案中,本发明涉及含有 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^\alpha\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1(7-37)}$ 与 $\text{N}^\epsilon\text{B}^{29}(\text{N}^\alpha\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)}-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为 5-16、5-15、5-14、5-13、5-12、5-11、5-10、5-9 或 5-8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0078] 在又一个实施方案中,本发明涉及含有 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^\alpha\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1(7-37)}$ 与 $\text{N}^\epsilon\text{B}^{29}(\text{N}^\alpha\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)}-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为 6-16、6-15、6-14、6-13、6-12、6-11 或 6-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0079] 在又一个实施方案中,本发明涉及含有 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^\alpha\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1(7-37)}$ 与 $\text{N}^\epsilon\text{B}^{29}(\text{N}^\alpha\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)}-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为 7-16、7-15、7-14、7-13、7-12、7-11、7-10、7-9 或 7-8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0080] 在又一个实施方案中,本发明涉及含有 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^\alpha\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1(7-37)}$ 与 $\text{N}^\epsilon\text{B}^{29}(\text{N}^\alpha\text{-(HOOCC(CH}_2\text{)}_{14}\text{CO)}-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为 8-16、8-15、8-14、8-13、8-12、8-11、8-10 或 8-9 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0081] 在又一个实施方案中,本发明涉及含有甘精胰岛素和毒蜥外泌肽 -4 类似物(例如包括 4-6 个增加的 Lys- 或 Arg- 氨基酸残基的毒蜥外泌肽 -4 类似物)的固定组合以及适合的可药用佐剂的药物组合物,其中锌含量为至少高于 5、6、7 或 8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。在该实施方案中,甘精胰岛素还可以是如在 W02008/006496 和 W02008/006497 中公开的酰胺化甘精胰岛素。

[0082] 在以上任何实施方案中,pH 可以是 7.4、7.5、7.6、7.8、7.9、8、8.1、8.2、8.3、8.4 或 8.5。在另一个实施方案中,pH 为 7.4-8.2 或者 7.5-8。在又一个实施方案中,pH 为 7.6-8。

[0083] 如果 GLP-1 化合物是 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon-(\gamma\text{-Glu}(\text{N}^\alpha\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1(7-37)}$, 则

pH 通常为大约 7.7 到大约 8.2。

[0084] 本发明的再一个方面涉及制备根据以上任何一个实施方案所述的药物组合物的方法,该方法包括将所述基础胰岛素溶解,并将其与防腐剂和等渗改性剂混合,然后添加锌,最终与溶解的促胰岛素肽混合。

[0085] 根据本发明的方法的一个实施方案包括下列步骤:1) 将基础胰岛素溶解在缓冲剂和等渗剂的水溶液中,2) 任选分步骤地添加锌,3) 调节 pH,4) 将该溶液在约 4-5°C 到环境温度之间的温度下储存以及 5) 添加 GLP-1 化合物。

[0086] 在又一个方面,本发明涉及治疗高血糖的方法,所述方法包括将有效量的根据以上任何一个实施方案所述的药物组合物胃肠外给药于需要这种治疗的哺乳动物。

[0087] 在又一个方面,本发明涉及治疗肥胖、 β 细胞缺陷、IGT 或血脂异常的方法,该方法包括将有效量的根据以上任何一个实施方案所述的药物组合物胃肠外给药于需要这种治疗的哺乳动物。

[0088] 本发明的另一个方面涉及储存稳定的药物组合物用于通过胃肠外给药来治疗高血糖的用途,所述药物组合物包括促胰岛素 GLP-1 化合物和基础胰岛素的混合物,且含有至少 6 个锌原子 /6 个胰岛素分子。

[0089] 在另一个方面,本发明涉及减轻体重的方法,所述方法包括给药有效量的包括促胰岛素 GLP-1 化合物和基础胰岛素的混合物的药物组合物,所述药物组合物含有至少 6 个锌原子 /6 个胰岛素分子。

具体实施方式

[0090] 本发明涉及将基础胰岛素和促胰岛素 GLP-1 化合物的固定混合物给药于 2 型糖尿病患者。当 GLP-1 化合物和基础胰岛素组合在单一配制剂中时,与单独给药该两种组分需要两次单独注射相比,患者减少了一次注射,更为重要的是,当同时给药基础胰岛素类似物和 GLP-1 化合物时,预计有许多积极的协同效应。

[0091] 在这种混合物中,单个活性组分,即基础胰岛素和 GLP-1 化合物,应该保持其从单一治疗所获悉的有吸引力的 PK 分布 (profile)。例如,基础胰岛素类似物胰岛素 $N^{\epsilon B29}-(N^a-(H_2OOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)desB30$ 人胰岛素具有适合于每天一次给药的有吸引力的分布。同样, GLP-1 类似物 $Arg^{34}, Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^a-十六酰基)))-GLP-1(7-37)$ 每天一次给药。因此,胰岛素 $N^{\epsilon B29}-(N^a-(H_2OOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)desB30$ 人胰岛素和利拉鲁肽的组合构成了基础胰岛素和 GLP-1 类似物的有吸引力的组合。

[0092] 然而,酰化胰岛素类似物例如 $N^{\epsilon B29}-(N^a-(H_2OOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)desB30$ 人胰岛素与 GLP-1 化合物如 $Arg^{34}, Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^a-十六酰基)))-GLP-1(7-37)$ 的直接混合导致了物理上不太稳定的配制剂和改变的酰化胰岛素的 PK 性能。然而,商品配制剂必须具有高物理稳定性。还有,如果基础胰岛素的 PK 性能改变太多,则可能导致失去其 24 小时覆盖范围。

[0093] 大多数基础胰岛素用锌配制以具有令人满意的 PK 和物理稳定性。例如,已经表明, $N^{\epsilon B29}-(N^a-(H_2OOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)desB30$ 人胰岛素与传统的 2-3 个锌离子 /6 个胰岛素相比能够结合更多的锌。 $N^{\epsilon B29}-(N^a-(H_2OOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)desB30$ 人胰岛素需要另外 2-3 个锌离子 (总共 5-6 个锌离子 /6 个胰岛素分子) 以具有最佳的每日一次分布。

[0094] 我们已经发现, Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon - (\gamma - \text{Glu}(\text{N}^\alpha - \text{十六酰基}))) - \text{GLP-1}(7-37)$ 具有低亲和性的锌结合, 并且 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - (\text{N}^\alpha - (\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}) - \gamma - \text{Glu}) \text{desB30}$ 人胰岛素的物理稳定性和 PK 性能在这两种组分的混合物中均受到上述情况的影响。在 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon - (\gamma - \text{Glu}(\text{N}^\alpha - \text{十六酰基}))) - \text{GLP-1}(7-37)$ 和 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - (\text{N}^\alpha - (\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}) - \gamma - \text{Glu}) \text{desB30}$ 人胰岛素的混合物中, Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon - (\gamma - \text{Glu}(\text{N}^\alpha - \text{十六酰基}))) - \text{GLP-1}(7-37)$ 在与这些附加锌离子结合中和胰岛素 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - (\text{N}^\alpha - (\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}) - \gamma - \text{Glu}) \text{desB30}$ 人胰岛素竞争。

[0095] 我们已经发现, 将另外的锌离子添加到 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - (\text{N}^\alpha - (\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}) - \gamma - \text{Glu}) \text{desB30}$ 人胰岛素和 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon - (\gamma - \text{Glu}(\text{N}^\alpha - \text{十六酰基}))) - \text{GLP-1}(7-37)$ 的混合物中改善了物理稳定性, 且改善了 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - (\text{N}^\alpha - (\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}) - \gamma - \text{Glu}) \text{desB30}$ 人胰岛素的 PK 分布, 趋向于单独的胰岛素 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - (\text{N}^\alpha - (\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}) - \gamma - \text{Glu}) \text{desB30}$ 人胰岛素在 5-6 个锌离子 / 胰岛素分子条件下获得的期望分布。

[0096] 这里所使用的术语“GLP-1 化合物”是指 GLP-1(7-37)、其促胰岛素类似物和促胰岛素衍生物。GLP-1 化合物还包括毒蜥外泌肽化合物例如毒蜥外泌肽-3 和毒蜥外泌肽-4 之类的化合物及其类似物例如 ZP10 或 ZP10A, 其为在分子的 C 末端具有 6 个附加赖氨酸残基的毒蜥外泌肽-4 类似物, 参见 Cristian Thorkildsen 等人, The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 第 307 卷, No. 2(2003), 490-496。

[0097] 本发明的一个实施方案包括根据以上任何实施方案的药物组合物, 其中促胰岛素 GLP-1 肽是酰化毒蜥外泌肽-4 或者酰化毒蜥外泌肽-4 类似物, 例如 $[\text{N} - \epsilon(17 - \text{羧基十七烷酸})_{20} \text{毒蜥外泌肽-4}(1-39) - \text{酰胺}]$ 和 $\text{N} - \epsilon 32 - (17 - \text{羧基} - \text{十七酰基}) [\text{Lys}32] \text{毒蜥外泌肽-4}(1-39) \text{酰胺}$ 。

[0098] 使用简单的系统来描述 GLP-1 的片段和类似物。因此, 例如, $\text{Gly}^8 - \text{GLP-1}(7-37)$ 表示通过用 Gly 取代 8 位的天然存在的氨基酸残基 (Ala) 而形式上由 GLP-1(7-37) 衍生的 GLP-1(7-37) 类似物。类似地, $\text{Lys}^{34}(\text{N}^\epsilon - \text{十四酰基}) - \text{GLP-1}(7-37)$ 表示 GLP-1(7-37), 其中 34 位的 Lys 残基的 ϵ -氨基已进行十四酰基化。PCT 公开 WO 98/08871 和 WO 99/43706 公开了 GLP-1 类似物的稳定衍生物, 其具有亲脂性取代基。GLP-1 类似物的这些稳定衍生物与相应的 GLP-1 类似物相比具有延长的疗效分布。

[0099] 这里对肽或化合物所使用的术语“促胰岛素”是指响应增高的血浆葡萄糖水平而刺激胰岛素分泌的能力。促胰岛素肽和化合物是 GLP-1 受体的激动剂。化合物的促胰岛素性能可以通过本领域已知的体外或体内检验来确定。

[0100] 在本发明的一个实施方案中, GLP-1 在 34 位上具有 Arg 残基。在另一个实施方案中, GLP-1 在 22 位上具有 Glu 残基。在本发明的另一个实施方案中, GLP-1 在 8 位上具有 L- 组氨酸残基。在本发明的另一个实施方案中, GLP-1 在 8 位上具有 Val 残基。在本发明的另一个实施方案中, GLP-1(7-37) 类似物的衍生物是 GLP-1(7-37)-酰胺。

[0101] 在本发明的一个实施方案中, GLP-1(7-37) 类似物选自 GLP-1(7-36) 酰胺, $\text{Arg}^{34} - \text{GLP-1}(7-37)$, $\text{Gly}^8 - \text{GLP-1}(7-36) - \text{酰胺}$, $\text{Gly}^8 - \text{GLP-1}(7-37)$, $\text{Val}^8 - \text{GLP-1}(7-36) - \text{酰胺}$, $\text{Val}^8 - \text{GLP-1}(7-37)$, $\text{Val}^8 \text{Asp}^{22} - \text{GLP-1}(7-36) - \text{酰胺}$, $\text{Val}^8 \text{Asp}^{22} - \text{GLP-1}(7-37)$, $\text{Val}^8 \text{Glu}^{22} - \text{GLP-1}(7-36) - \text{酰胺}$, $\text{Val}^8 \text{Glu}^{22} - \text{GLP-1}(7-37)$, $\text{Val}^8 \text{Lys}^{22} - \text{GLP-1}(7-36) - \text{酰胺}$, $\text{Val}^8 \text{Lys}^{22} - \text{GLP-1}(7-37)$, $\text{Val}^8 \text{Arg}^{22} - \text{GLP-1}(7-36) - \text{酰胺}$, $\text{Val}^8 \text{Arg}^{22} - \text{GLP-1}(7-37)$,

Val⁸His²²-GLP-1(7-36)- 酰胺, Val⁸His²²-GLP-1(7-37), Val⁸Trp¹⁹Glu²²-GLP-1(7-37), Val⁸Glu²²Val²⁵-GLP-1(7-37), Val⁸Tyr¹⁶Glu²²-GLP-1(7-37), Val⁸Trp¹⁶Glu²²-GLP-1(7-37), Val⁸Leu¹⁶Glu²²-GLP-1(7-37), Val⁸Tyr¹⁸Glu²²-GLP-1(7-37), Val⁸Glu²²His³⁷-GLP-1(7-37), Val⁸Glu²²Ile³³-GLP-1(7-37), Val⁸Trp¹⁶Glu²²Val²⁵Ile³³-GLP-1(7-37), Val⁸Trp¹⁶Glu²²Ile³³-GLP-1(7-37), Val⁸Glu²²Val²⁵Ile³³-GLP-1(7-37), Val⁸Trp¹⁶Glu²²Val²⁵-GLP-1(7-37)。

[0102] 在本发明的另一个实施方案中,促胰岛素肽是 GLP-1(7-37) 的衍生物或 GLP-1(7-37) 类似物的衍生物(具有赖氨酸残基,例如一个赖氨酸),其中亲脂性取代基任选经由间隔基连接于所述赖氨酸的 ϵ 氨基。在本发明的一个实施方案中,所述亲脂性取代基具有 8-40 个碳原子,优选 8-24 个碳原子,例如 12-18 个碳原子。在本发明的另一个实施方案中,所述间隔基存在,且选自氨基酸,例如 β -Ala, L-Glu, 氨基丁酰基。在本发明的另一个实施方案中,所述促胰岛素肽是二肽氨基酸酶 IV 保护的 GLP-1 化合物。在本发明的另一个实施方案中,所述促胰岛素肽是血浆稳定的 GLP-1 化合物。在本发明的另一个实施方案中,所述 GLP-1(7-37) 类似物的衍生物是 Arg³⁴, Lys²⁶(N ^{ϵ} -(γ -Glu(N ^{α} -十六酰基))) -GLP-1(7-37)。GLP-1 衍生物的非限制性实例是去氨基-His⁷, Arg²⁶, Lys³⁴(N ^{ϵ} -(γ -Glu(N ^{α} -十六酰基))) -GLP-1(7-37)、去氨基-His⁷, Arg²⁶, Lys³⁴(N ^{ϵ} -辛酰基)-GLP-1(7-37)、Arg^{26,34}, Lys³⁸(N ^{ϵ} -(ω -羧基十五酰基))-GLP-1(7-38)、Arg^{26,34}, Lys³⁶(N ^{ϵ} -(γ -Glu(N ^{α} -十六酰基))) -GLP-1(7-36) 和 Arg³⁴, Lys²⁶(N ^{ϵ} -(γ -Glu(N ^{α} -十六酰基))) -GLP-1(7-37)。GLP-1 衍生物的非限制性实例是去氨基-His⁷, Arg²⁶, Lys³⁴(N ^{ϵ} -(γ -Glu(N ^{α} -十六酰基))) -GLP-1(7-37)、去氨基-His⁷, Arg²⁶, Lys³⁴(N ^{ϵ} -辛酰基)-GLP-1(7-37)、Arg^{26,34}, Lys³⁸(N ^{ϵ} -(ω -羧基十五酰基))-GLP-1(7-38)、Arg^{26,34}, Lys³⁶(N ^{ϵ} -(γ -Glu(N ^{α} -十六酰基))) -GLP-1(7-36) 和 Arg³⁴, Lys²⁶(N ^{ϵ} -(γ -Glu(N ^{α} -十六酰基))) -GLP-1(7-37)。

[0103] 在另一个实施方案中, GLP-1 类似物是 WO 2006/097537 中所公开的类型的一步延长的类似物,例如 Aib8, Lys26(OEG-OEG- γ -Glu-C18-二酸), Arg34]GLP-1(7-37)、N- ϵ ²⁶-(17-羧基十七酰基)-[Aib8, Arg34]GLP-1-(7-37)-肽、N- ϵ ²⁶-(19-羧基十九酰基)-[Aib8, Arg34]GLP-1-(7-37)-肽、N- ϵ ²⁶-(4-{[N-(2-羧乙基)-N-(15-羧基十五酰基)氨基]甲基}苯甲酰基)[Arg34]GLP-1-(7-37)、N- ϵ ²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-羧基十七酰基氨基)-4(S)-羧基丁酰氨基]乙氧基)乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基]乙氧基)[Aib8, Arg34]GLP-1-(7-37) 肽。

[0104] 在一个实施方案中, GLP-1 衍生物是 Aib8, Lys26(OEG-OEG- γ -Glu-C 18-二酸), Arg34]GLP-1(7-37)。它的效力高于 Arg³⁴, Lys²⁶(N ^{ϵ} -(γ -Glu(N ^{α} -十六酰基))) -GLP-1(7-37), 与每周一次定量给药相比, 每日一次所需剂量低, 从而在其与基础胰岛素的联合配制剂中所需的 GLP-1 化合物的浓度更低。

[0105] 该基础胰岛素可以是 WO 95/07931、WO 2005/012347 或 EP2007/054444 中所公开的酰化可溶性胰岛素。

[0106] 酰化基础胰岛素可以选自下列名单:

[0107] N ^{ϵ B29}-十三酰基 des(B30) 人胰岛素,

[0108] N ^{ϵ B29}-十四酰基 des(B30) 人胰岛素,

- [0109] $N^{\epsilon B29}$ - 癸酰基 des(B30) 人胰岛素,
- [0110] $N^{\epsilon B29}$ - 十二酰基 des(B30) 人胰岛素,
- [0111] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -($HOOCH_2$)₁₄CO)- γ -Glu) des(B30) 人胰岛素;
- [0112] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -($HOOCH_2$)₁₅CO)- γ -Glu) des(B30) 人胰岛素;
- [0113] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -($HOOCH_2$)₁₆CO)- γ -Glu) des(B30) 人胰岛素;
- [0114] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -($HOOCH_2$)₁₇CO)- γ -Glu) des(B30) 人胰岛素;
- [0115] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -($HOOCH_2$)₁₈CO)- γ -Glu) des(B30) 人胰岛素;
- [0116] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -($HOOCH_2$)₁₆CO)- γ -Glu- N^{α} -(γ -Glu)) des(B30) 人胰岛素;
- [0117] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -(Asp-OC(CH_2)₁₆CO)- γ -Glu) des(B30) 人胰岛素;
- [0118] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -(Glu-OC(CH_2)₁₄CO)- γ -Glu) des(B30) 人胰岛素;
- [0119] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -(Glu-OC(CH_2)₁₄CO)-) des(B30) 人胰岛素;
- [0120] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -(Asp-OC(CH_2)₁₆CO)-) des(B30) 人胰岛素;
- [0121] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -($HOOCH_2$)₁₆CO)- α -Glu- N^{α} -(β -Asp)) des(B30) 人胰岛素;
- [0122] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -(Gly-OC(CH_2)₁₃CO)- γ -Glu) des(B30) 人胰岛素;
- [0123] $N^{\epsilon B29}$ (N^{α} -(Sar-OC(CH_2)₁₃CO)- γ -Glu) des(B30) 人胰岛素
- [0124] $N^{\epsilon B29}$ - ω -羧基-十五酰基- γ -L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素,
- [0125] $N^{\epsilon B29}$ - ω -羧基-十五酰基- γ -氨基-丁酰基 desB30 人胰岛素,
- [0126] $N^{\epsilon B29}$ - ω -羧基-十四酰基- γ -L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素,
- [0127] $N^{\epsilon B29}$ - ω -羧基-十三酰基- γ -L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素,
- [0128] $N^{\epsilon B29}$ - ω -羧基-十五酰基- β -丙氨酰基 desB30 人胰岛素,
- [0129] $N^{\epsilon B29}$ - ω -羧基-十五酰基- γ -L-天冬酰胺 desB30 人胰岛素,
- [0130] $N^{\epsilon B29}$ - ω -羧基-十五酰基- ϵ -氨基己酰基 desB30 人胰岛素,
- [0131] $N^{\epsilon B29}$ - ω -羧基-十五酰基- δ -氨基戊酰基 desB30 人胰岛素,
- [0132] $N^{\epsilon B29}$ -10-(4-羧基苯氧基)-癸酰基- γ -L-谷氨酰胺 desB30 人胰岛素,
- [0133] $N^{\epsilon B29}$ -4-[11-(4-羧基苯基)十一酰基氨基]丁酰基 desB30 人胰岛素,
- [0134] $N^{\epsilon B29}$ -(3-(3-{4-[3-(7-羧基庚酰氨基)丙氧基]丁氧基}丙基氨基甲酰基)-丙酰基- γ -谷氨酰胺) desB30 人胰岛素,
- [0135] $N^{\epsilon B29}$ - ω -羧基-十三酰基- γ -氨基-丁酰基 desB30 人胰岛素,
- [0136] $N^{\epsilon B29}$ - ω -羧基-十一酰基- γ -氨基-丁酰基 desB30 人胰岛素,
- [0137] $N^{\epsilon B29}$ - ω -羧基-十四酰基- γ -氨基-丁酰基 desB30 人胰岛素,
- [0138] $N^{\epsilon B29}$ -{4-[10-(4-羧基-苯氧基)-癸酰氨基]-丁酰基} desB30 胰岛素,
- [0139] $N^{\epsilon B29}$ -{4-[(14-羧基-十四酰氨基)-甲基]-苯甲酰基} desB30 胰岛素,
- [0140] $N^{\epsilon B29}$ -[16-(4-羧基-苯氧基)-十六酰基] desB30 胰岛素,
- [0141] $N^{\epsilon B29}$ -{4-[(15-羧基十五酰氨基)苯甲酰基]-desB30 人胰岛素以及
- [0142] $N^{\epsilon B29}$ -{4-[(15-羧基-十五酰氨基)-甲基]-苯甲酰基}-desB30 胰岛素。
- [0143] 根据本发明的药物组合物中的GLP-1化合物的浓度可以是大约1到25mg/mL, 大约2到大约15mg/mL, 大约2到大约10mg/mL, 大约2到大约8mg/mL 或大约2到大约6mg/mL。
- [0144] 基础胰岛素的浓度将是大约1到大约25, 大约1.5到大约15, 大约1.5到大约到12; 大约1.5到8; 大约2到大约15, 大约2到大约10, 大约2到大约8; 2到大约7; 以及大

约 3 到 6mg/mL。

[0145] 在一个实施方案中,基础胰岛素的浓度是 2mg/mL。

[0146] 在另一个实施方案中,基础胰岛素的浓度是 4mg/mL。

[0147] 在另一个实施方案中,基础胰岛素的浓度是 8mg/mL。

[0148] 在本发明的一个实施方案中,Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-十六酰基))) -GLP-1(7-37) 的浓度是大约 2mg/mL 到大约 10mg/mL,且基础胰岛素的浓度为大约 3mg/mL 到大约 5mg/mL。

[0149] 在本发明的另一个实施方案中,Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-十六酰基))) -GLP-1(7-37) 的浓度是大约 2mg/mL 到大约 10mg/mL,且基础胰岛素的浓度为大约 7mg/mL 到大约 9mg/mL。

[0150] 当混合该联合配制剂时,添加每一种组分的顺序是重要的。作为第一步,将水、缓冲剂(如果不是磷酸盐缓冲剂)、等渗改性剂混合。然后,添加适当量的基础胰岛素类似物原料溶液,并且轻轻地混合。此后,添加防腐剂如苯酚,并且将该混合物轻轻混合大约 15-60 分钟。作为下一步,以对应于 3 个锌离子/6 胰岛素分子的浓度的量添加一部分的锌。然后将该混合物轻轻混合至少 5 分钟。作为下一步,添加剩余量的锌离子以达到所需浓度。然后,如果 pH 是在所需 pH 范围之外,则调节 pH。然后,添加适量的 GLP-1 化合物原料溶液,以达到所需的终浓度,并且调节 pH 至所需的值。

[0151] 在制备药物组合物的方法的一个实施方案中,在将锌加入到混合物中之前,添加防腐剂。因此,在一个实施方案中,添加各组分的顺序是:1) 基础胰岛素,2) 防腐剂,3) 锌和 4) GLP-1 化合物。在一个实施方案中,以数个步骤添加锌,例如多达 3-4 个步骤。

[0152] 物理稳定性通过硫黄素(Thioflavin)T 纤维性颤动检验和胰岛素笔芯注射剂(Penfill) 的旋转试验来评价。

[0153] GLP-1 化合物的锌结合使用 1D H-NMR 来研究。

[0154] 在有无 GLP-1 化合物的情况下并且在增加的锌浓度的存在下的胰岛素的自缔合平衡使用带有荧光检测的尺寸排阻色谱法来研究(用于鉴定色谱图中的 GLP-1 化合物)。

[0155] 联合配制剂的 PK 性能使用标准外观猪模型来评价。

[0156] 除了活性组分以外,本发明的药物组合物还含有通常的可药用佐剂,例如等渗剂、缓冲剂、防腐剂和稳定剂。

[0157] 可药用防腐剂是选自苯酚、邻甲酚、间甲酚、对甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、2-苯氧基乙醇、对羟基苯甲酸丁酯、2-苯基乙醇、苄醇、氯丁醇、和硫柳汞、溴硝醇(bronopol)、苯甲酸、咪脲(imidurea)、氯己啶、脱氢醋酸钠、氯甲酚、对羟基苯甲酸乙酯、苄索氯铵、氯苯甘醚(3-对氯苯氧基丙-1,2-二醇)或它们的混合物。

[0158] 在一个实施方案中,该防腐剂是苯酚和间甲酚的混合物。在另一个实施方案中,该防腐剂是苯酚。在药物组合物中使用防腐剂是技术人员所公知的。为了方便起见,请参考 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第 19 版, 1995。

[0159] 根据本发明的配制剂一般包括等渗剂,例如甘露醇、山梨醇、甘油、丙二醇或它们的混合物。在一个实施方案中,等渗剂不是盐。药物组合物中使用等渗剂是技术人员所公知的。为了方便起见,请参考 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第 19 版, 1995。

[0160] 根据本发明的药物组合物还可以包括缓冲剂。该缓冲剂可以选自两性离子缓冲剂、甘氨酸-甘氨酸、TRIS、N-二(羟乙基)甘氨酸(bicine)、HEPES、MOBS、MOPS、TES和它们的混合物。其他适合的缓冲剂是乙酸钠、碳酸钠、柠檬酸盐、组氨酸、甘氨酸、赖氨酸、精氨酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸钠和三(羟甲基)-氨基甲烷、三(羟甲基)甲基甘氨酸(tricine)、苹果酸、琥珀酸盐、马来酸、富马酸、酒石酸、天冬氨酸或它们的混合物。

[0161] 根据本发明的药物配制剂优选不含有锌结合性缓冲剂例如磷酸盐缓冲剂。

[0162] 该组合物还可以包括锌螯合化合物,它可以用作配制剂中的游离锌离子的锌缓冲剂。这能够导致增加的锌浓度,其中利拉鲁肽双七聚体(diheptamer)形成较少。这种锌螯合化合物可以包括(但不限于)组氨酸、咪唑、柠檬酸盐或它们的衍生物。

[0163] 在一个实施方案中,锌螯合剂是组氨酸。

[0164] 在另一个实施方案中,锌螯合剂是咪唑。

[0165] 这种锌螯合剂的添加优选低于 10mM,更优选低于 5mM,更优选低于 2mM,更优选低于 1mM,更优选低于 0.5mM。

[0166] 本文所使用的术语“储存稳定的药物组合物”是指稳定至少达监管机构对于治疗性蛋白所要求的时间的药物组合物。优选地,储存稳定的药物组合物在 5℃ 稳定至少一年。稳定性包括化学稳定性以及物理稳定性。

[0167] 这里所使用的术语“基础胰岛素”是指在标准糖尿病模型中具有超过 8 小时的定时作用(time-action)。优选地,基础胰岛素具有至少 9 小时的定时作用。优选地,基础胰岛素具有至少 10 小时的定时作用。优选地,基础的膳食相关的胰岛素具有 9-15 小时的定时作用。优选地,膳食相关的胰岛素的定时作用类似于市售的 NPH 胰岛素和 N^εB29-十四酰基 des(B30) 人胰岛素的药物组合物中所发现的定时作用。

[0168] 这里所使用的术语“有效量”是指与不治疗相比,足以使对患者的治疗有效的剂量。

[0169] 这里所使用的术语“可药用”是指适合于正常药物应用,即没有产生对患者不利的事件等。

[0170] 这里所使用的术语“缓冲剂”是指组合物中的化学化合物,其减小了能够由于化学反应而发生的、组合物的 pH 随时间而改变的趋势。缓冲剂包括化学品,例如磷酸钠、TRIS、甘氨酸和柠檬酸钠。

[0171] 这里所使用的术语“防腐剂”是指添加到药物组合物中以防止或延缓微生物活动(生长和代谢)的化合物。

[0172] 所使用的术语“等渗剂”是指用于改变药物组合物的渗透压,使得该渗透压接近人体血浆渗透压的药物组合物中的化学化合物。等渗剂包括 NaCl、甘油、甘露醇等。

[0173] 这里所使用的术语“稳定剂”是指添加到含肽的药物组合物中以便稳定所述肽(即增加这种组合物的保存期限和/或使用时间)的化学品。药物配制剂中使用的稳定剂的实例是 L-甘氨酸、L-组氨酸、精氨酸、聚乙二醇和羧甲基纤维素。

[0174] 这里所使用的术语“胰岛素肽”是指人胰岛素或具有胰岛素活性的胰岛素类似物或衍生物的肽。

[0175] 这里所使用的术语“人胰岛素”是指其结构和性能公知的人体激素。人胰岛素具有通过半胱氨酸残基之间的二硫桥连接的两条多肽链,即 A 链和 B 链。A 链是 21 个氨基酸

肽, B 链是 30 个氨基酸肽, 该两条链通过三个二硫桥来连接: 一个是在 A 链的 6 位和 11 位的半胱氨酸之间, 第二个是在 A 链的 7 位的半胱氨酸和 B 链的 7 位的半胱氨酸之间, 而第三个是在 A 链的 20 位的半胱氨酸和 B 链的 19 位的半胱氨酸之间。

[0176] 这里对于肽所使用的术语“类似物”是指经修饰的肽, 其中所述肽的一个或多个氨基酸残基已经被其他氨基酸残基取代和 / 或其中一个或多个氨基酸残基已经从所述肽上被删除和 / 或其中一个或多个氨基酸残基已经从所述肽上被删除和 / 或其中一个或多个氨基酸残基已经添加到所述肽中。氨基酸残基的这种添加或删除可以在肽的 N 端和 / 或肽的 C 端发生。

[0177] 胰岛素类似物与人胰岛素相比一般具有不超过大约 7 个突变, 更通常不超过 5 个突变, 还更通常至多 3 个突变。

[0178] 多年来, 已经公开了胰岛素 A 链和 B 链的相当大量的修饰。因此, B 链的 28 位可以由天然 Pro 残基改变为 Asp、Lys 或 Ile, 且 B29 位的 Lys 也可以改变为 Pro。

[0179] 还有, A21 位的 Asn 可以改变为 Ala, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Met, Ser, Thr, Trp, Tyr 或 Val, 尤其改变为 Gly、Ala、Ser 或 Thr, 特别是改变为 Gly。此外, B3 位的 Asn 可以改变为 Lys 或 Asp。胰岛素类似物的其他实例是 des (B30) 人胰岛素, 其中 B1 和 B2 中的一个或二者已经被删除的胰岛素类似物; 其中 A 链和 / 或 B 链具有 N 端延长的胰岛素类似物以及其中 A 链和 / 或 B 链具有 C 端延长的胰岛素类似物。还有, A18 位的天然氨基酸残基可以改变为 Gln 残基, 或者 B26-B30 位中的一个或多个氨基酸残基可以被删除。

[0180] 这里关于母肽所使用的术语“衍生物”是指化学修饰的母体蛋白或其类似物, 其中至少一个取代基不存在于母体蛋白或其类似物中, 即已经共价键修饰的母体蛋白。典型的修饰是酰胺、碳水化合物、烷基、酰基、酯、PEG 化等。人胰岛素的衍生物的实例是苏氨酸甲酯^{B30} 人胰岛素和 N^ε-B29-十四酰基 des (B30) 人胰岛素。

[0181] 这里所使用的术语“等电点”是指 pH 值, 该处大分子如肽的总净电荷为 0。肽中可以存在若干带电荷的基团, 并且在等电点时, 所有这些电荷的总和为 0。在高于等电点的 pH, 肽的总净电荷将为负, 而在低于等电点的 pH 值时, 肽的总净电荷将为正。

[0182] 这里对于药物组合物中的肽的浓度所使用的术语“大约”表示正或负 10%。因此, 浓度“大约 5mg/mL 胰岛素”表示 4.5mg/mL 胰岛素到 5.5mg/mL 胰岛素的浓度。

[0183] 本发明包括以下实施方案:

[0184] 实施方案 1: 用于胃肠外给药的可溶性药物组合物, 其包括促胰岛素 GLP-1 化合物、基础胰岛素肽、可药用添加剂和锌, 其中锌含量为至少 5 个 Zn 离子 / 6 个胰岛素分子。

[0185] 实施方案 2: 根据实施方案 1 的用于胃肠外给药的可溶性药物组合物, 其包括促胰岛素 GLP-1 化合物、基础胰岛素肽、可药用添加剂和锌, 其中锌含量为至少 6 个锌离子 / 6 个胰岛素分子。

[0186] 实施方案 3: 根据实施方案 1 的药物组合物, 其中锌含量为 5-16 个锌离子 / 6 个胰岛素分子。

[0187] 实施方案 4: 根据实施方案 1 的药物组合物, 其中锌含量为 5-15 个锌离子 / 6 个胰岛素分子。

[0188] 实施方案 5: 根据实施方案 1 所述的药物组合物, 其中锌含量为 5-14 个锌离子 / 6 个胰岛素分子。

[0189] 实施方案 6 :根据实施方案 1 所述的药物组合物,其中锌含量为 5-13 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0190] 实施方案 7 :根据实施方案 1 所述的药物组合物,其中锌含量为 5-12 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0191] 实施方案 8 :根据实施方案 1 所述的药物组合物,其中锌含量为 5-11 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0192] 实施方案 9 :根据实施方案 1 所述的药物组合物,其中锌含量为 5-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0193] 实施方案 10 :根据实施方案 1 所述的药物组合物,其中锌含量为 5-9 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0194] 实施方案 11 :根据实施方案 1 所述的药物组合物,其中锌含量为 5-8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0195] 实施方案 12 :根据实施方案 1 所述的药物组合物,其中锌含量为 5-7 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0196] 实施方案 13 :根据实施方案 2 所述的药物组合物,其中锌含量为 6-16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0197] 实施方案 14 :根据实施方案 2 所述的药物组合物,其中锌含量为 6-15 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0198] 实施方案 15 :根据实施方案 2 所述的药物组合物,其中锌含量为 6-14 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0199] 实施方案 16 :根据实施方案 2 所述的药物组合物,其中锌含量为 6-13 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0200] 实施方案 17 :根据实施方案 2 所述的药物组合物,其中锌含量为 6-12 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0201] 实施方案 18 :根据实施方案 2 所述的药物组合物,其中锌含量为 6-11 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0202] 实施方案 19 :根据实施方案 2 所述的药物组合物,其中锌含量为 6-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0203] 实施方案 20 :根据实施方案 2 所述的药物组合物,其中锌含量为 6-9 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0204] 实施方案 21 :根据实施方案 2 所述的药物组合物,其中锌含量为 6-8 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0205] 实施方案 22 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 7-16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0206] 实施方案 23 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 7-15 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0207] 实施方案 24 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 7-14 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0208] 实施方案 25 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 7-13 个

锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0209] 实施方案 26 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 7-12 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0210] 实施方案 27 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 7-11 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0211] 实施方案 28 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 7-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0212] 实施方案 29 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 7-9 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0213] 实施方案 30 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 8-16 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0214] 实施方案 31 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 8-15 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0215] 实施方案 32 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 8-14 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0216] 实施方案 33 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 8-13 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0217] 实施方案 34 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 8-12 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0218] 实施方案 35 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 8-11 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0219] 实施方案 36 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中锌含量为 8-10 个锌离子 /6 个胰岛素分子。

[0220] 实施方案 37 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中所述药物组合物的 pH 为大约 pH7.4 到大约 pH9。

[0221] 实施方案 38 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中所述药物组合物的 pH 为大约 pH7.4 到大约 pH8.2。

[0222] 实施方案 39 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中所述药物组合物的 pH 为大约 pH7.4 到大约 pH7.7。

[0223] 实施方案 40 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中所述药物组合物的 pH 为大约 pH7.6 到大约 pH8.2。

[0224] 实施方案 41 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中所述药物组合物的 pH 为大约 pH7.7 到大约 pH8.2。

[0225] 实施方案 42 :根据前述 V 实施方案中任意一项的药物组合物,其中所述药物组合物的 pH 为大约 pH8.0 到大约 pH9。

[0226] 实施方案 43 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中所述促胰岛素 GLP-1 肽是 GLP-1 (7-37)、GLP-1 (7-37) 类似物、GLP-1 (7-37) 的衍生物、或 GLP-1 (7-37) 类似物的衍生物。

[0227] 实施方案 44 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中所述

GLP-1 (7-37) 的衍生物包括赖氨酸残基。

[0228] 实施方案 45 :根据实施方案 44 的药物组合物,其中所述 GLP-1 (7-37) 类似物的衍生物是 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon - (\gamma - \text{Glu}(\text{N}^\alpha - \text{十六酰基}))) - \text{GLP-1 (7-37)}$ 。

[0229] 实施方案 46 :根据实施方案 44 的药物组合物,其中所述 GLP-1 (7-37) 类似物的衍生物是 Aib⁸, $\text{Lys}^{26}(\text{OEG-OEG-}\gamma - \text{Glu-C18-二酸})$, Arg^{34} GLP-1 (7-37)。

[0230] 实施方案 47 :根据实施方案 44 的药物组合物,其中所述 GLP-1 (7-37) 类似物的衍生物是 [去氨基 His⁷, Arg^{34}]GLP-1-(7-37)、[Aib⁸, Glu²², Arg^{26} , Arg^{34} , Lys^{37}]GLP-1-(7-37) 酰胺。

[0231] 实施方案 48 :根据前述实施方案 1-42 中任意一项的药物组合物,其中促胰岛素 GLP-1 肽是毒蜥外泌肽 -4 或其类似物。

[0232] 实施方案 49 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中基础胰岛素肽是酰化胰岛素。

[0233] 实施方案 50 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中酰化胰岛素在 B29 位上用亲脂性基团酰化。

[0234] 实施方案 51 :根据实施方案 50 的药物组合物,其中亲脂性基团具有 8-40、8-24 或 12-18 个碳原子。

[0235] 实施方案 52 :根据实施方案 50 的药物组合物,其中所述基础胰岛素选自 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29}$ -十四酰基 des(B30) 人胰岛素、 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - (\text{N}^\alpha - (\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}) - \gamma - \text{Glu}) \text{desB30}$ 人胰岛素、 $\text{Lys}^{\text{B}^{29}}(\text{N}^\epsilon \text{石胆酰基} - \gamma - \text{Glu}) - \text{des(B30)}$ 人胰岛素、 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - \omega - \text{羧基十五酰基} - \gamma - \text{L-谷氨酰胺 desB30}$ 人胰岛素和 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - \omega - \text{羧基十五酰基} - \gamma - \text{氨基-丁酰基 des(B30)}$ 人胰岛素。

[0236] 实施方案 53 :根据实施方案 50 的药物组合物,其中所述基础胰岛素为 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29}$ -十四酰基 des(B30) 人胰岛素、 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - (\text{N}^\alpha - (\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}) - \gamma - \text{Glu}) \text{desB30}$ 人胰岛素。

[0237] 实施方案 54 :根据实施方案 50 的药物组合物,其中所述基础胰岛素为 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - (\text{N}^\alpha - (\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}) - \gamma - \text{Glu}) \text{desB30}$ 人胰岛素。

[0238] 实施方案 55 :根据实施方案 50 的药物组合物,其中所述基础胰岛素为 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - \omega - \text{羧基十五酰基} - \gamma - \text{L-谷氨酰胺 desB30}$ 人胰岛素或 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - \omega - \text{羧基十五酰基} - \gamma - \text{氨基-丁酰基 des(B30)}$ 人胰岛素。

[0239] 实施方案 56 :根据前述实施方案 1-42 中任意一项的药物组合物,其中所述基础胰岛素为 $\text{N}^\epsilon \text{B}^{29} - (\text{N}^\alpha - (\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}) - \gamma - \text{Glu}) \text{desB30}$ 人胰岛素,而促胰岛素 GLP-1 化合物是 Arg^{34} , $\text{Lys}^{26}(\text{N}^\epsilon - (\gamma - \text{Glu}(\text{N}^\alpha - \text{十六酰基}))) - \text{GLP-1 (7-37)}$ 。

[0240] 实施方案 57 :根据前述实施方案中任意一项的药物组合物,其中基础胰岛素的浓度在大约 1.5 到大约 8mg/mL 的范围,而 GLP-1 化合物的浓度是在大约 2 到大约 10mg/mL 的范围。

[0241] 实施方案 58 :根据实施方案 1-36 的药物配制剂,其中所述基础胰岛素是甘精胰岛素,且所述促胰岛素 GLP-1 化合物 ZP10。根据实施方案 57 的实施方案,其中 pH 是大约 4。

[0242] 实施方案 59 :根据实施方案 58 的药物配制剂,其中锌含量为 4-5 个锌离子 /6 分子甘精胰岛素。

[0243] 实施例

[0244] 实施例 1

[0245] 如下所示制备由胰岛素类似物 $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素和 GLP-1 类似物 $\text{Arg}^{34}, \text{Lys}^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma\text{-Glu}(N^{\alpha}\text{-十六酰基})))\text{-GLP-1}(7\text{-}37)$, 利拉鲁肽组成的固定组合的典型配制剂。制备胰岛素类似物和 GLP-1 类似物在水中的适当原料溶液。两种原料溶液的肽浓度一般为大约 10mM, 胰岛素类似物的 pH 调节至大约 pH7.7, 而利拉鲁肽原料溶液的 pH 调节至大约 8.2。这些 pH 调节使用最高浓度为 1.0N 的 NaOH 或 HClO_4 溶液进行。

[0246] 将以下赋型剂按下列顺序与适当的原料水溶液混合: 1) 水 2) 甘油 (等渗调节剂) 3) 胰岛素类似物 4) 苯酚。苯酚在锌之前添加是关键的; 否则形成了凝胶。在 15 分钟之后, 按三个部分添加乙酸锌: 首先, 对应于 3 个锌 / 6 个胰岛素类似物分子的浓度的锌量; 第二, 对应于 3 个锌 / 6 个胰岛素类似物分子的锌量; 第三, 任何另外的锌。在每一次添加之后, 将该溶液平衡 5 分钟。测定 pH, 如上所述调节至 pH8.2。将该溶液在 4°C 平衡大约 48 小时, 然后添加适量的利拉鲁肽原料溶液。最后, 测定 pH, 且如果需要, 调节至 pH8.2。在该工序之后, 制备了如表 1 所述的配制剂。

[0247] 表 1

[0248]

化合物	原料浓度 (mM)	终浓度 (mM)	添加体积 (ml)	混合顺序
胰岛素类似物	8.64	0.60	0.972	3
乙酸锌	9.54	0.80 ¹⁾	1.174 ²⁾	5 ²⁾
苯酚	500	50	1.4	4
甘油	200	16	1.12	2
利拉鲁肽	9.95	1.6	1.6	6 ³⁾
水	n. a.	n. a.	7.083	1

[0249]

[0250] ¹⁾ 对应于 8 个 Zn^{2+} / 6 个胰岛素类似物分子

[0251] ²⁾ 按三个部分添加: 0.441ml, 0.440ml, 0.293ml, 在各次之间和最后一次添加之后具有 5 分钟

[0252] ³⁾ 将该溶液在 4°C 平衡大约 48 小时, 然后添加利拉鲁肽。

[0253] 实施例 2

[0254] 胰岛素类似物 $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的延长机制已经被描述为取决于在超过 3 个锌离子 / 6 个胰岛素类似物分子的存在下的自缔合的形成。因此, 如果胰岛素类似物 $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的配制剂含有显著部分的单体形式的类似物, 则预计该配制剂显示出不希望的快速起效的组分。而且, 高胰岛素类似物单体含量能够影响该配制剂的物理稳定性。与胰岛素类似物 $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素的固定组合中 GLP-1 类似物利拉鲁肽

的存在可能扰乱胰岛素类似物朝向具有同时形成的利拉鲁肽锌结合的络合物的单体状态的自缔合平衡。已经证明,利拉鲁肽在配制剂相关条件下形成了七聚体自组装物,且在等摩尔浓度的锌离子的存在下,形成了锌结合的利拉鲁肽双七聚体(diheptamer)。

[0255] 含有胰岛素类似物 $N^{\epsilon B29}-(N^A-(HOOCH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu$ desB30 人胰岛素和利拉鲁肽二者的配制剂通过利用荧光检测的尺寸排阻色谱法(SEC)方法来分析。SEC 方法使用 Superose 12 10/300GL 柱,注射 $50 \mu l$ 样品,且流率为 $0.8 ml/min$ 。使用包括和不包括苯酚的两种方法以及溶剂 $140 mM NaCl$ 、 $10 mM Tris/HCl$ 、 $pH 7.7$ 、 $\pm 2 mM$ 苯酚。检测通过在 $276 nm$ 具有吸收的一个通道(测量总肽量)和利用利拉鲁肽特异性荧光检测(在 $310 nm$ 激发,在 $380 nm$ 发射)的另一通道来进行。

[0256] 在某些条件下,具体定量由于实验条件而不可能完成。这里,单体形式的胰岛素类似物的量相对于肽总量来定量。

[0257] 如实施例 1 中所述制备配制剂。制备具有对应于 6、8、10 和 12 锌离子/6 个胰岛素类似物分子的锌含量的各自分别具有 $0.3 mM$ 和 $0.6 mM$ 胰岛素类似物的四种配制剂。这八种配制剂在 $4^\circ C$ 和 $37^\circ C$ 储存。

[0258] 所有配制剂含有 0.3 或 $0.6 mM$ 胰岛素类似物、乙酸锌、 $1.6 mM$ 利拉鲁肽、 $50 mM$ 苯酚、 $174 mM$ 甘油, $pH 8.2$ 。

[0259] 储存的配制剂在储存 0、2、4 和 8 周之后同时用使用苯酚的 SEC 和不使用苯酚的 SEC 来分析。表 2 和表 3 示出了单体形式的胰岛素类似物的量。阴影面积表示不能进行确切定量的条件。因此,还进行了相对于总肽含量的胰岛素类似物单体的定量。这在表 4 和表 5 中示出。

[0260] 表 2

使用苯酚的 SEC		% Ins 单体			
		0.3 mM Ins		0.6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 ins	0W	25,1	25,1	7,9	7,9
	2W	59,7	55,1	19,4	17,8
	4W				
8 Zn/6 ins	0W	16,1	16,1	2,8	
	2W	49,0	42,6	10,3	
	4W				
10 Zn/6 ins	0W	7,9	7,9	1,5	
	2W	36,8	32,2	2,2	
	4W				
12 Zn/6 ins	0W	6,0	6,0		
	2W	24,3	23,8		
	4W				

[0262] 表 3

[0263]

不使用苯酚的 SEC		% Ins 单体			
		0.3 mM Ins		0.6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 ins	0W	66,4	66,4	27,9	27,9
	2W	86,3	80,9	29,8	33,6
	4W				
8 Zn/6 ins	0W	51,9	51,9	7,0	
	2W	72,8	68,5	16,1	
	4W				
10 Zn/6 ins	0W	28,3	28,3	2,0	
	2W	56,7	55,1	3,1	
	4W				
12 Zn/6 ins	0W	14,5	14,5		
	2W	35,0	39,9		
	4W				

[0264] 表 4

[0265]

使用苯酚的 SEC		总肽的 % Ins 单体			
		0.3 mM Ins		0.6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 Ins	0W	3,8	3,8	2,0	2,0
	2W	8,2	7,0	4,8	4,2
	4W	12,4	5,4	4,7	2,9
	8W	7,8	5,5	4,5	3,4
8 Zn/6 Ins	0W	2,2	2,2	0,8	0,8
	2W	7,0	5,6	2,6	2,5
	4W	6,8	4,2	2,3	1,8
	8W	6,5	4,3	2,8	1,9
10 Zn/6 Ins	0W	1,1	1,1	0,4	0,4
	2W	5,2	4,3	0,6	0,8
	4W	4,9	2,9	0,4	0,6
	8W	5,0	3,5	0,8	1,1
12 Zn/6 Ins	0W	0,9	0,9	0,8	0,8
	2W	3,6	3,3	0,5	0,7
	4W	3,2	2,3	0,2	0,4
	8W	4,2	2,9	0,4	0,5

[0266] 表 5

[0267]

不使用苯酚的 SEC		总肽的% Ins 单体			
		0.3 mM Ins		0.6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 Ins	0W	16,3	16,3	7,5	7,5
	2W	16,6	12,1	8,3	8,8
	4W	10,1	8,8	6,3	5,5
	8W	13,1	10,8	9,1	8,1
8 Zn/6 Ins	0W	8,4	8,4	2,0	2,0
	2W	11,3	10,1	4,3	5,0
	4W	8,3	7,4	2,9	3,0
	8W	11,1	9,1	4,9	4,9
10 Zn/6 Ins	0W	4,5	4,5	0,5	0,5
	2W	8,5	8,3	0,8	1,3
	4W	6,3	5,6	0,4	0,8
	8W	8,7	7,3	1,3	2,4
12 Zn/6 Ins	0W	2,3	2,3	0,7	0,7
	2W	5,6	6,1	0,8	1,1
	4W	4,3	4,1	0,2	0,5
	8W	6,9	7,0	0,6	1,4

[0268] 锌结合性的利拉鲁肽双七聚体的量容易使用荧光检测来测量。表 6 和表 7 示出了分析样本的测量量。

[0269] 表 6

[0270]

使用苯酚的 SEC		总利拉鲁肽的% 双七聚体			
		0.3 mM Ins		0.6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 Ins	0W	0	0	0	0
	2W	0	0	0	0
	4W	0	0	0	0
	8W	0	0	0	0
8 Zn/6 Ins	0W	0	0	0	0
	2W	0	0	0	0,3
	4W	0	0	0	0,4
	8W	0	0	0	0,4
10 Zn/6 Ins	0W	0	0	0	0
	2W	0	0	0	1,2
	4W	0	0	0	1,5
	8W	0	0	0,1	2,1
12 Zn/6 Ins	0W	0	0	0,4	0,4
	2W	0	0	0,6	15,4
	4W	0	0	0,4	15,2
	8W	0	0,1	0,8	15,6

[0271] 表 7

[0272]

不使用苯酚的 SEC		% 利拉鲁肽双七聚体			
		0.3 mM Ins		0.6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 Ins	0W	0	0	0	0
	2W	0	0	0	0
	4W	0	0	0	0
	8W	0	0	0	0,1
8 Zn/6 Ins	0W	0	0	0	0
	2W	0	0	0	0,3
	4W	0	0	0	0,2
	8W	0	0	0	0,4
10 Zn/6 Ins	0W	0	0	0	0,1
	2W	0	0	0	1,3
	4W	0	0	0	1,1
	8W	0	0	0	2,4
12 Zn/6 Ins	0W	0	0	0,3	0,3
	2W	0	0	0,5	16,7
	4W	0	0	0,3	13,5
	8W	0	0,1	0,8	17,7

[0273] 实施例 3

[0274] 按照实施例 1 中的程序,制备具有表 8 所示的组成的四种配制剂。在配制剂 3 中,甘氨酸甘氨酸缓冲剂与水一起添加。在配制剂 4 中,在添加乙酸锌之后,添加磷酸盐缓冲剂。这样做是为了使磷酸锌沉淀最少化。所使用的胰岛素类似物是 $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{HOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素。

[0275] 四种药物组合物的物理稳定性通过加速的应力试验来评价。应力试验作为旋转试验来进行。将 50 μL 空气加入到每一配制剂的 5 个管(玻璃管形瓶)的每一个中。将所述管以 30 转/分钟的频率每日旋转 4 小时。每日地或根据需要地检查所述管。配制剂的浊度通过比浊法测量(nephelometric measurement)来表征,并且用“比浊法浊度单位”(NTU)规定。蛋白的物理不稳定性以高浊度测量值为特征。

[0276] 该旋转试验在表 1 中示出。结果显示,具有胰岛素类似物和利拉鲁肽组合并且在 pH7.7 配制的配制剂(配制剂 3)稳定性低于在 pH7.4 单独配制的胰岛素类似物(配制剂 1),并且对于进一步开发来说可能具有不能接受的稳定性。配制剂 4 也含有胰岛素类似物和利拉鲁肽的组合,但在 pH8.2 配制。该配制剂的物理稳定性仅仅稍低于单独的胰岛素类似物。因此,该比较说明了没有任何优化的胰岛素类似物与利拉鲁肽的组合导致了不稳定的配制剂。然而,将 pH 增加到 8.2 获得了比得上单独的胰岛素类似物的明显改进的物理稳定性。

[0277] 表 8

[0278]

	配制剂 1	配制剂 2	配制剂 3	配制剂 4
胰岛素类似物 (mM)	0.6	n. a.	0.6	0.6
乙酸锌 (mM)	0.6	n. a.	0.6	0.6

	配制剂 1	配制剂 2	配制剂 3	配制剂 4
利拉鲁肽 (mM)	n. a.	1.6	1.6	1.6
苯酚 (mM)	16	58	40	40
间甲酚 (mM)	16	n. a.	n. a.	n. a.
甘油 (mM)	174	174	174	174
NaCl (mM)	10	n. a.	10	10
磷酸盐 (mM)	n. a.	8	n. a.	8
甘氨酸甘氨酸 (mM)	n. a.	n. a.	8	n. a.
pH	7.4	7.7	7.7	8.2

[0279] 实施例 4

[0280] 在如实施例 3 所述进行的另一旋转试验中, 测试同时含有胰岛素类似物 $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素和利拉鲁肽的四种组合配制剂以及单独具有胰岛素类似物和利拉鲁肽的两种参照物。

[0281] 如实施例 1 所述制备配制剂, 它们的组成在表 9 中示出。

[0282] 表 9

[0283]

	配制剂 1	配制剂 2	配制剂 3	配制剂 4	配制剂 5	配制剂 6
胰岛素类似物 (mM)	0.6	n. a.	0.6	0.6	0.6	0.3
乙酸锌 (mM)	0.6 (= 6 $\text{Zn}^{2+}/6\text{ins}$)	n. a.	0.8 (= 8 $\text{Zn}^{2+}/6\text{ins}$)	1.0 (= 10 $\text{Zn}^{2+}/6\text{ins}$)	1.2 (= 12 $\text{Zn}^{2+}/6\text{ins}$)	0.5 (= 10 $\text{Zn}^{2+}/6\text{ins}$)
利拉鲁肽 (mM)	n. a.	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6
苯酚 (mM)	16	58	50	50	50	50
间甲酚 (mM)	16	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
甘油 (mM)	174	174	174	174	174	174
NaCl (mM)	10	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
磷酸盐 (mM)	n. a.	8	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
pH	7.4	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2

[0284] 旋转试验的结果在图 2-4 中示出。

[0285] 配制剂 3 含有 8 个锌 /6 个胰岛素类似物分子, 并且稳定性比得上单独具有胰岛素类似物 (具有 6 个锌 /6 个胰岛素类似物分子) 和利拉鲁肽的两种参照物。配制剂 6 仅仅含有 0.3mM 胰岛素类似物, 但需要 10 个锌 /6 胰岛素类似物分子, 以便表现与参照物类似的稳定性。这表明, 需要比胰岛素类似物的量更高的锌含量, 以便获得与具有 6 个锌离子 /6 胰岛素类似物分子相同的稳定性。

[0286] 实施例 5

[0287] 具有胰岛素类似物 $N^{\epsilon}B^{29}-(N^{\alpha}-(HOOCH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)desB30$ 人胰岛素和利拉鲁肽的固定组合配制剂的药代动力学 (PK) 性能用猪进行检查。在注射之后多达 72 小时的期间, 通过标准检验技术来测量两种肽在血流中的出现。然而, 为了清楚起见, 对于胰岛素类似物仅仅示出了前 24 小时。结果作为六次重复的平均值在图 5 和图 6 中示出, 同时示出了平均值的标准误差。三种组合配制剂以及两种参照物如实施例 1 中所述制备。它们的组成在表 10 中示出。胰岛素类似物的 PK 存在量曲线 (PK appearance curve) 在图 5 中示出, 利拉鲁肽的 PK 存在量曲线在图 6 中示出。

[0288] 表 10

[0289]

	配制剂 1	配制剂 2	配制剂 3	配制剂 4	配制剂 5
胰岛素类似物 (mM)	0.6	n. a.	0.6	0.6	0.6
乙酸锌 (mM)	0.6 (= 6 Zn ²⁺ /6ins)	n. a.	0.8 (= 8 Zn ²⁺ /6ins)	1.0 (= 10 Zn ²⁺ /6ins)	1.2 (= 12 Zn ²⁺ /6ins)
利拉鲁肽 (mM)	n. a.	1.6	1.6	1.6	1.6
苯酚 (mM)	50	50	50	50	50
甘油 (mM)	174	174	174	174	174
pH	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2

[0290] 胰岛素类似物在该组合中的存在由于以下几个原因而是关键的 : 快速起效组分将产生出乎意料的疗效的早期出现。增加的生物利用率也导致了更大的血液葡萄糖降低效果, 并随后需要对剂量进行调节。有趣的是, 得出了以下结论 : 与单独的胰岛素类似物 (配制剂 1) 的曲线相比, 组合配制剂 3 (配制为具有 8 个锌 /6 个胰岛素类似物分子) 表现了非常类似的胰岛素存在量曲线。因此, 当与单独的胰岛素类似物比较时, 具有 8 个锌 /6 个胰岛素类似物分子的组合配制剂表现了非常类似的胰岛素 PK 性能。所有组合配制剂表现了非常类似的利拉鲁肽存在量曲线 (配制剂 3-5)。

[0291] 实施例 6

[0292] 具有不同比率的胰岛素类似物 $N^{\epsilon}\text{-B29}-(N^{\alpha}-(\text{HOO}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-Glu})\text{desB30}$ 人胰岛素和利拉鲁肽的其他固定组合配制剂的药代动力学 (PK) 性能同样用猪检查。该比率能够将相对于利拉鲁肽更大量的胰岛素类似物在单次注射中输送至患者。将等剂量的胰岛素给药于具有胰岛素类似物参照物 (配制剂 1) 和组合 (配制剂 3-5) 的猪。在注射之后多达 72 小时的期间, 两种肽在血流中的存在量通过标准检验技术来测量。然而, 为了清楚起见, 仅仅分别示出了前 6 小时和 24 小时。结果作为六次重复的平均值在图 7 和图 8 中示出, 同时示出了平均值的标准误差。三种组合配制剂以及两种参照物如实施例 1 中所述制备。它们的组成在表 11 中示出。胰岛素类似物的 PK 存在量曲线 (PK appearance curve) 在图 7 中示出, 利拉鲁肽的 PK 存在量曲线在图 8 中示出。

[0293] 表 11

[0294]

	配制剂 1	配制剂 2	配制剂 3	配制剂 4	配制剂 5
胰岛素类似物 (mM)	0.6	n. a.	1.2	1.2	1.2
乙酸锌 (mM)	0.6 (= 6 $\text{Zn}^{2+}/6\text{ins}$)	n. a.	1.2 (= 6 $\text{Zn}^{2+}/6\text{ins}$)	1.4 (= 7 $\text{Zn}^{2+}/6\text{ins}$)	1.6 (= 8 $\text{Zn}^{2+}/6\text{ins}$)
利拉鲁肽 (mM)	n. a.	1.6	1.6	1.6	1.6
苯酚 (mM)	50	50	50	50	50
甘油 (mM)	214	214	214	214	214
pH	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2

[0295] 与胰岛素类似物参照物 (配制剂 1) 相比, 具有 6 个 $\text{Zn}^{2+}/6$ 个胰岛素分子的组合 (配制剂 3) 表现了比参照物的主峰更早出现的次要的肩峰。将锌含量增加至 7 个 $\text{Zn}^{2+}/6$ 个胰岛素分子 (配制剂 4), 导致胰岛素类似物存在量曲线更类似于胰岛素参照物 (配制剂 1) 的曲线。将锌含量进一步增加到 8 个 $\text{Zn}^{2+}/6$ 个胰岛素分子 (配制剂 5) 没有获得任何进一步的改进。在三种组合 (配制剂 3-5) 和单独的利拉鲁肽 (配制剂 2) 的利拉鲁肽 PK 存在量曲线之间没有发现统计学显著性差异。这表明, 用于 1.2mM 胰岛素类似物 -1.6mM 利拉鲁肽组合的 7 个 $\text{Zn}^{2+}/6$ 个胰岛素分子的锌含量是优选的, 以便组合中的胰岛素类似物获得与单独的类似物相似的 PK 存在量曲线。

[0296] 实施例 7

[0297] 调查研究 pH 对与利拉鲁肽组合的胰岛素类似物 $N^{\epsilon}B29-(N^{\alpha}-(HOOCH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu$ desB30 人胰岛素单体的含量的影响。如实施例 1 所述制备三种配制剂,但调节至 pH8.2、pH7.7 和 pH7.4。所有三种配制剂的组成为:0.6mM 胰岛素类似物、0.8mM 乙酸锌 (8 个锌 /6 个胰岛素类似物分子)、1.6mM 利拉鲁肽、50mM 苯酚、214mM 甘油。在制备之后,将配制剂在 4°C 储存若干周,然后在时间点 0 周进行第一次测量。此后,将配制剂在 5°C 和 37°C 储存,在另外储存 2 和 4 周之后在该两种温度进行分析。配制剂使用实施例 2 中所述的 SEC 方法来分析。使用具有苯酚和没有苯酚的两种方式。

[0298] 通过具有苯酚和没有苯酚的 SEC 分析所测量的与总胰岛素类似物相比的胰岛素类似物单体的相对含量分别在表 12 和表 13 中示出。在两种 SEC 方法和两种温度下,降低 pH 导致在各测量时间点的更低的胰岛素类似物单体含量。这表明,pH 是控制和调节与利拉鲁肽组合的胰岛素单体含量的重要因素。更低的胰岛素单体含量能够通过使用低于 pH8.2 的 pH 如 pH7.7 来获得。

[0299] 表 12

使用苯酚的 SEC	% 单体 Ins		
	0W	2W	4W
pH 8.2 (4°C)	12.4	8.1	8.8
pH 7.7 (4°C)	2.5	2.8	2.8
pH 7.4 (4°C)	1.1	1.2	1.1
pH 8.2 (37°C)	12.4	8.2	7.8
pH 7.7 (37°C)	2.5	3.1	2.3
pH 7.4 (37°C)	1.1	1.5	1.1

[0301] 表 13

不使用苯酚的 SEC	% 单体 Ins		
	0W	2W	4W
pH 8.2 (4°C)	12.5	13.7	13.6
pH 7.7 (4°C)	1.7	3.5	4.3
pH 7.4 (4°C)	0.7	1.3	1.6
pH 8.2 (37°C)	12.5	15.2	17.6
pH 7.7 (37°C)	1.7	4.1	4.6
pH 7.4 (37°C)	0.7	1.9	2.0

[0303] 以类似方式还测量了利拉鲁肽双七聚体含量,分别通过使用苯酚和不使用苯酚的 SEC 方法获得的这些结果在表 14 和表 15 中示出。

[0304] 表 14

使用苯酚的 SEC	% 利拉鲁肽双七聚体		
	0W	2W	4W
pH 8.2 (4°C)	0.0	0.1	0.1
pH 7.7 (4°C)	0.1	0.1	0.1
pH 7.4 (4°C)	0.8	0.4	0.4
pH 8.2 (37°C)	0.0	0.4	0.6
pH 7.7 (37°C)	0.1	4.6	6.1
pH 7.4 (37°C)	0.8	18.0	21.6

[0306] 表 15

[0307]

不使用苯酚的 SEC	%利拉鲁肽双七聚体		
	0W	2W	4W
pH 8.2 (4°C)	0.0	0.0	0.0
pH 7.7 (4°C)	0.1	0.1	0.1
pH 7.4 (4°C)	0.9	0.4	0.3
pH 8.2 (37°C)	0.0	0.3	0.5
pH 7.7 (37°C)	0.1	4.4	5.2
pH 7.4 (37°C)	0.9	16.6	19.0

[0308] 实施例 8

[0309] 实施例 7 中所述的研究还包括含有低浓度组氨酸的胰岛素类似物 $N^{\epsilon}B^{29}-(N^a-(HOOCH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu$ desB30 人胰岛素-利拉鲁肽组合配制剂。该氨基酸目的是在增加的锌含量的存在下用作锌缓冲剂。配制剂 1 由 0.6mM 胰岛素类似物、0.8mM 乙酸锌 (8 个锌/6 个胰岛素类似物分子)、1.6mM 利拉鲁肽、50mM 苯酚和 214mM 甘油组成,其中 pH 调节至 pH8.2。配制剂 2 由 0.6mM 胰岛素类似物、1.0mM 乙酸锌 (10 个锌/6 个胰岛素类似物分子)、1.6mM 利拉鲁肽、50mM 苯酚、214mM 甘油和 0.5mM 组氨酸组成, pH 调节至 pH8.2。两种配制剂基本上如实施例 1 所述制备,组氨酸在利拉鲁肽之后作为最终的赋型剂添加。配制剂如实施例 2 和实施例 7 中所述那样分析。

[0310] 通过具有苯酚和没有苯酚的 SEC 分析所测量的与总胰岛素类似物相比的胰岛素类似物单体的相对含量分别在表 16 和表 17 中示出。与具有仅仅 8 个锌/6 个胰岛素分子的配制剂 1 相比,具有 10 个锌/6 个胰岛素分子和 0.5mM 组氨酸的配制剂 2 在两种温度下都含有较少的随时间的胰岛素单体。

[0311] 表 16

[0312]

使用苯酚的 SEC	% Ins 单体		
	0W	2W	4W
配制剂 1 (4°C)	12.4	8.1	8.8
配制剂 2 (4°C)	3.2	3.0	3.1
配制剂 1 (37°C)	12.4	8.2	7.8
配制剂 2 (37°C)	3.2	3.7	3.4

[0313] 表 17

[0314]

不使用苯酚的 SEC	% Ins 单体		
	0W	2W	4W
配制剂 1 (4°C)	12.5	13.7	13.6
配制剂 2 (4°C)	2.4	4.0	4.5
配制剂 1 (37°C)	12.5	15.2	17.6
配制剂 2 (37°C)	2.4	5.1	6.3

[0315] 以类似方式还测量了利拉鲁肽双七聚体含量,分别通过使用苯酚和不使用苯酚的 SEC 方法获得的这些结果在表 18 和表 19 中示出。

[0316] 表 18

[0317]

使用苯酚的 SEC	% 利拉鲁肽双七聚体		
	0W	2W	4W
配制剂 1(4℃)	0.0	0.1	0.1
配制剂 2(4℃)	0.1	0.2	0.2
配制剂 1(37℃)	0.0	0.4	0.6
配制剂 2(37℃)	0.1	1.9	3.6

[0318] 表 19

[0319]

不使用苯酚的 SEC	% 利拉鲁肽双七聚体		
	0W	2W	4W
配制剂 1(4℃)	0.0	0.0	0.0
配制剂 2(4℃)	0.1	0.1	0.1
配制剂 1(37℃)	0.0	0.3	0.5
配制剂 2(37℃)	0.1	1.8	3.0

[0320] 实施例 9

[0321] 实施例 7 中所述的研究还包括胰岛素类似物 $N^{\epsilon B29}-(N^a-(HOO(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 人胰岛素-利拉鲁肽组合,其由 0.3mM 胰岛素类似物、0.8mM 乙酸锌(16 个锌/6 个胰岛素类似物分子)、1.6mM 利拉鲁肽、50mM 苯酚和 214mM 甘油组成,调节至 pH8.2。

[0322] 通过具有苯酚和没有苯酚的 SEC 分析所测量的与总胰岛素类似物相比的胰岛素类似物单体的相对含量(如实施例 2 所述)分别在表 20 和表 21 中示出。

[0323] 表 20

使用苯酚的 SEC	% 单体胰岛素		
	0W	2W	4W
4℃	7.9	7.0	6.8
37℃	7.9	6.2	5.9

[0324]

[0325] 表 21

不使用苯酚的 SEC	% 单体胰岛素		
	0W	2W	4W
4℃	7.1	8.3	8.6
37℃	7.1	8.6	10.0

[0326]

[0327] 以类似方式还测量了利拉鲁肽双七聚体含量,分别通过使用苯酚和不使用苯酚的 SEC 方法获得的这些结果在表 22 和表 23 中示出。

[0328] 表 22

使用苯酚的 SEC	% 利拉鲁肽双七聚体		
	0W	2W	4W
4℃	0.1	0.1	0.1
37℃	0.1	1.8	2.7

[0329]

[0330] 表 23

[0331]

不使用苯酚的 SEC	% 利拉鲁肽双七聚体		
	0W	2W	4W
4°C	0.1	0.1	0.1
37°C	0.1	1.9	2.5

[0332] 实施例 10

[0333] 制备结合了甘精胰岛素和毒蜥外泌肽 -4 类似物 ZP10 (亦称 AVE0010) 的配制剂。ZP10 毒蜥外泌肽 -4 类似物在 Thorkildsen 等人, (2003), JPET 307:490-496 中有描述, 并且具有系统命名 [des-Pro38] 毒蜥外泌肽 4-(1-39)yl-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-NH₂。通过在水中稀释由适当的原料溶液制备下列组合物: 配制剂 1 由 0.6mM 甘精胰岛素、0.46mM 乙酸锌 (4.6 个锌 /6 个甘精胰岛素) 和 60 μM ZP10 组成。配制剂 2 由 0.6mM 甘精胰岛素、0.6mM 乙酸锌 (6 个锌 /6 个甘精胰岛素) 和 60 μM ZP10 组成。两种配制剂使用 HCl 和 NaOH 调节至大约 pH 4.0, 并且在环境温度储存 3 天。在储存之后, 两种配制剂都仍然为大约 pH 4.0。两种配制剂在制备之后和在环境温度储存之后保持为透明溶液。

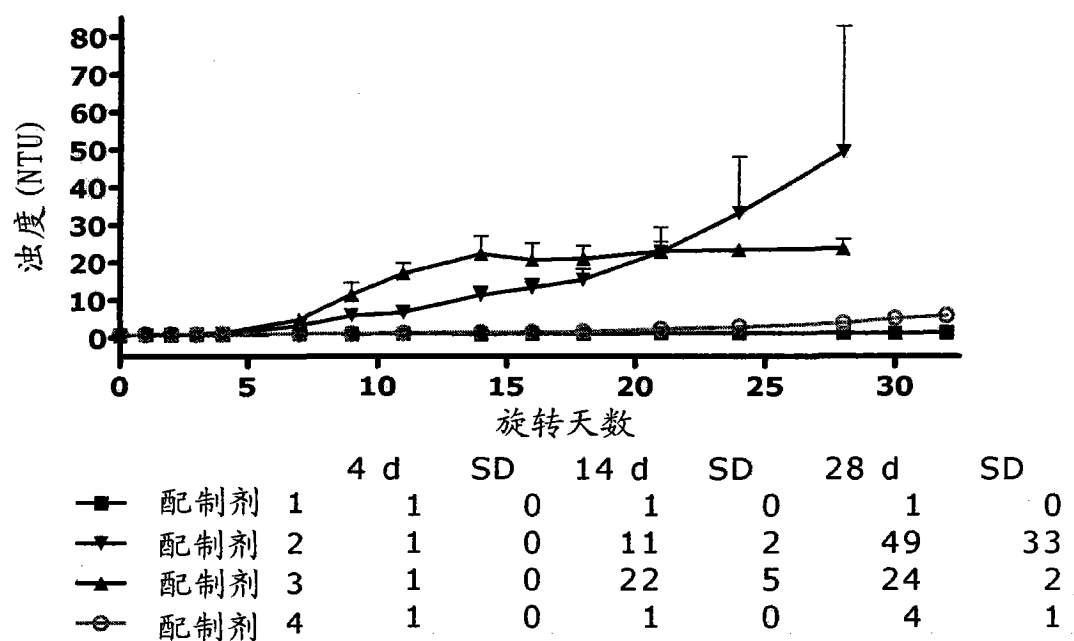


图 1

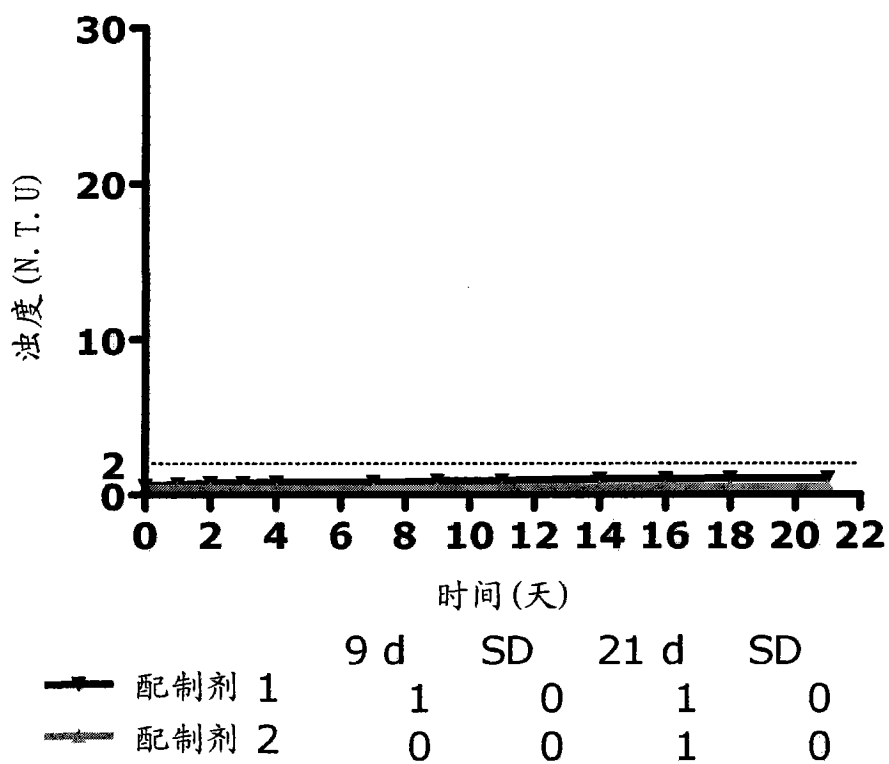
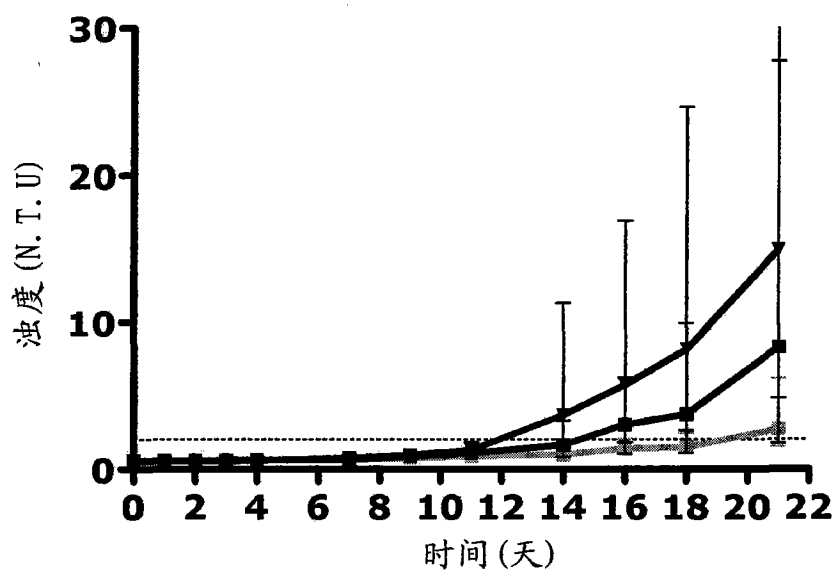
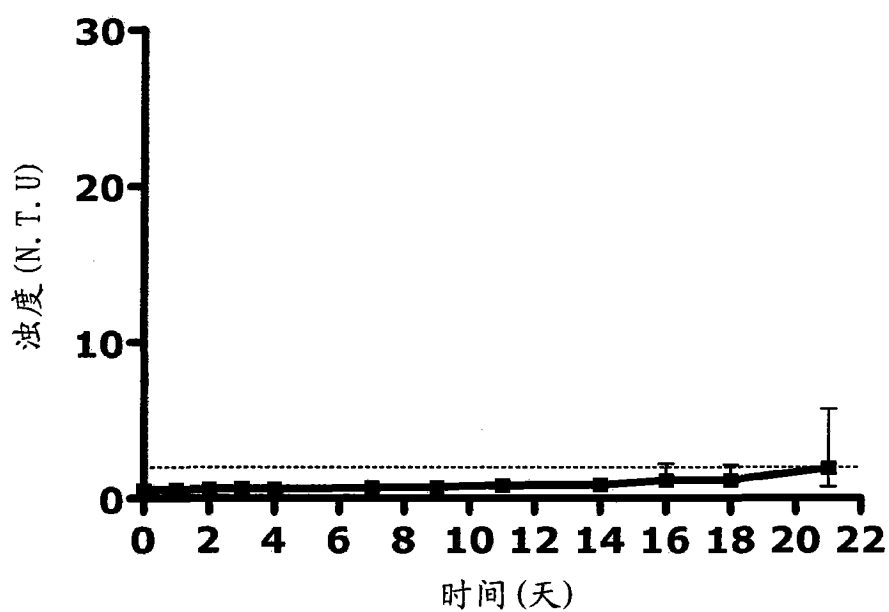


图 2



	9 d	SD	21 d	SD
配制剂 3	1	0	3	2
配制剂 4	1	0	8	11
配制剂 5	1	0	15	14

图 3



	9 d	SD	21 d	SD
配制剂 6	1	0	2	2

图 4

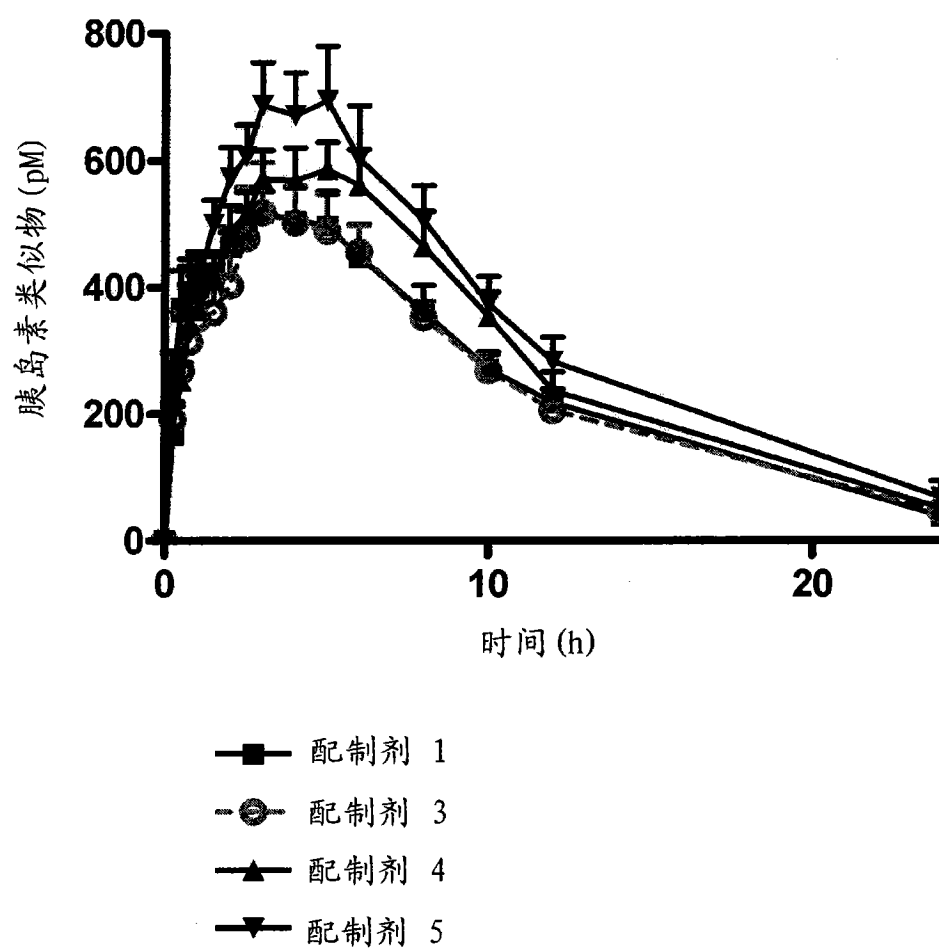


图 5

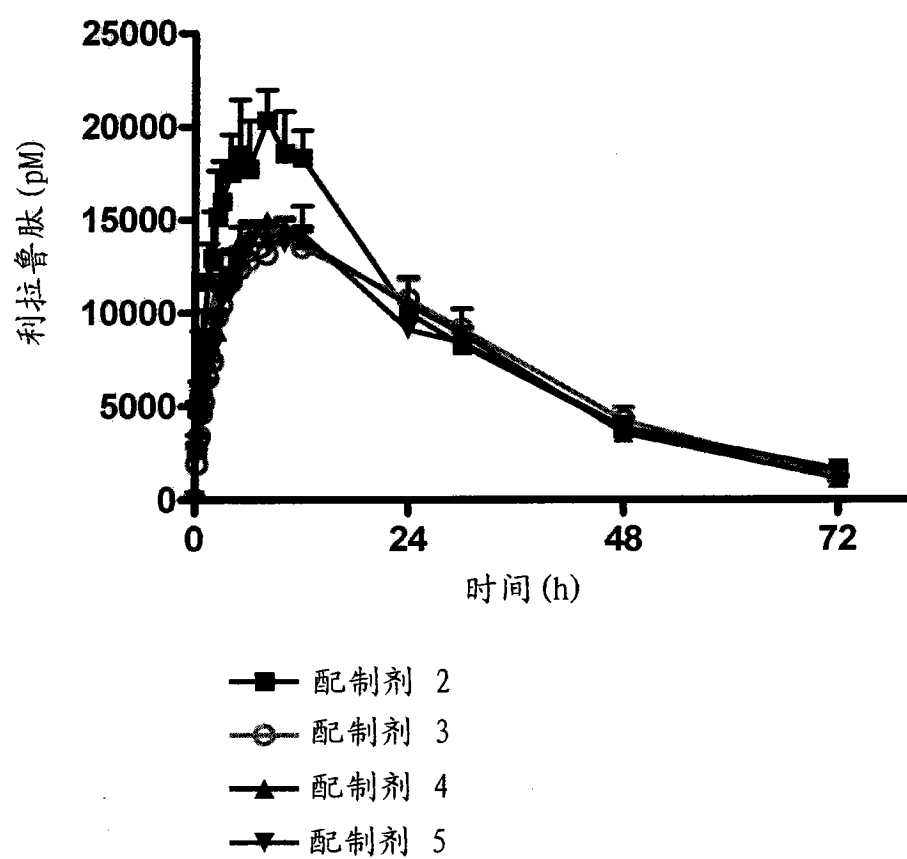


图 6

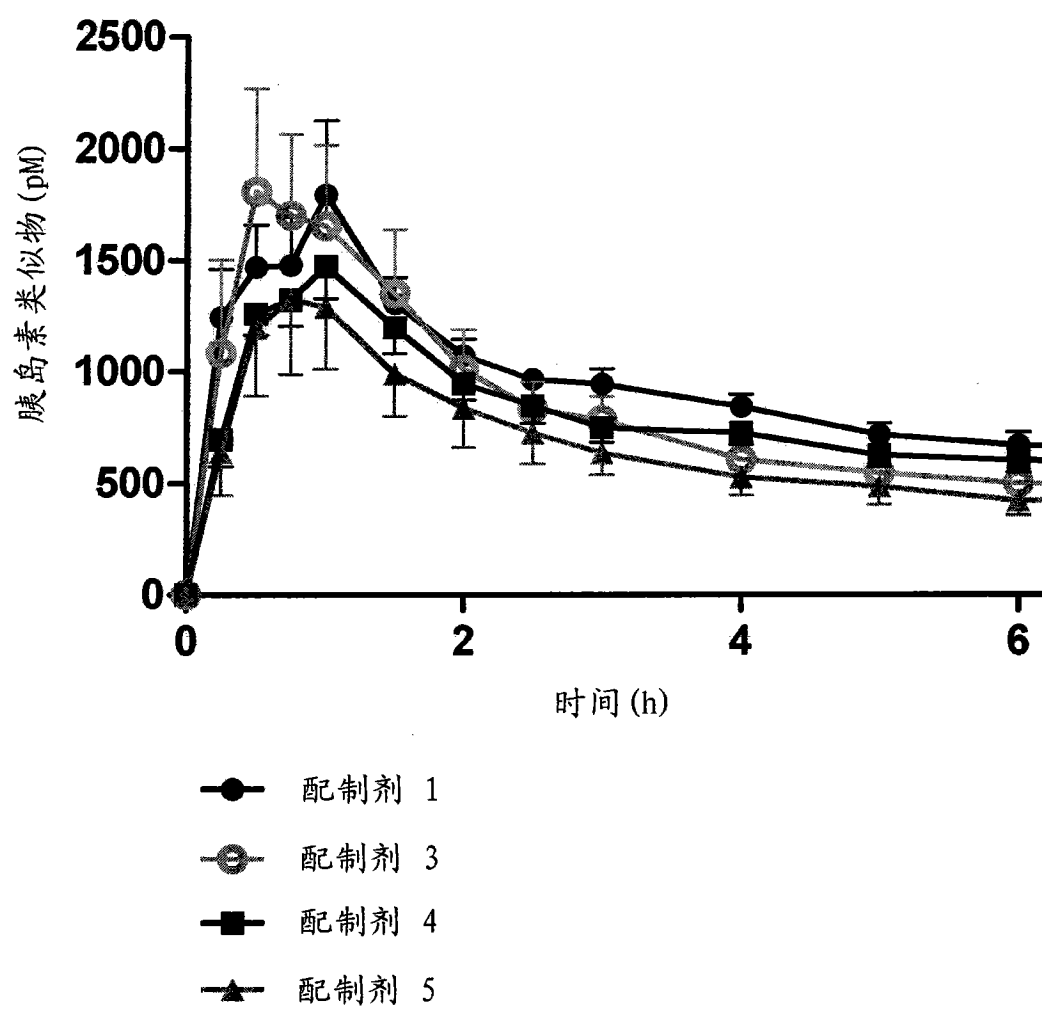


图 7

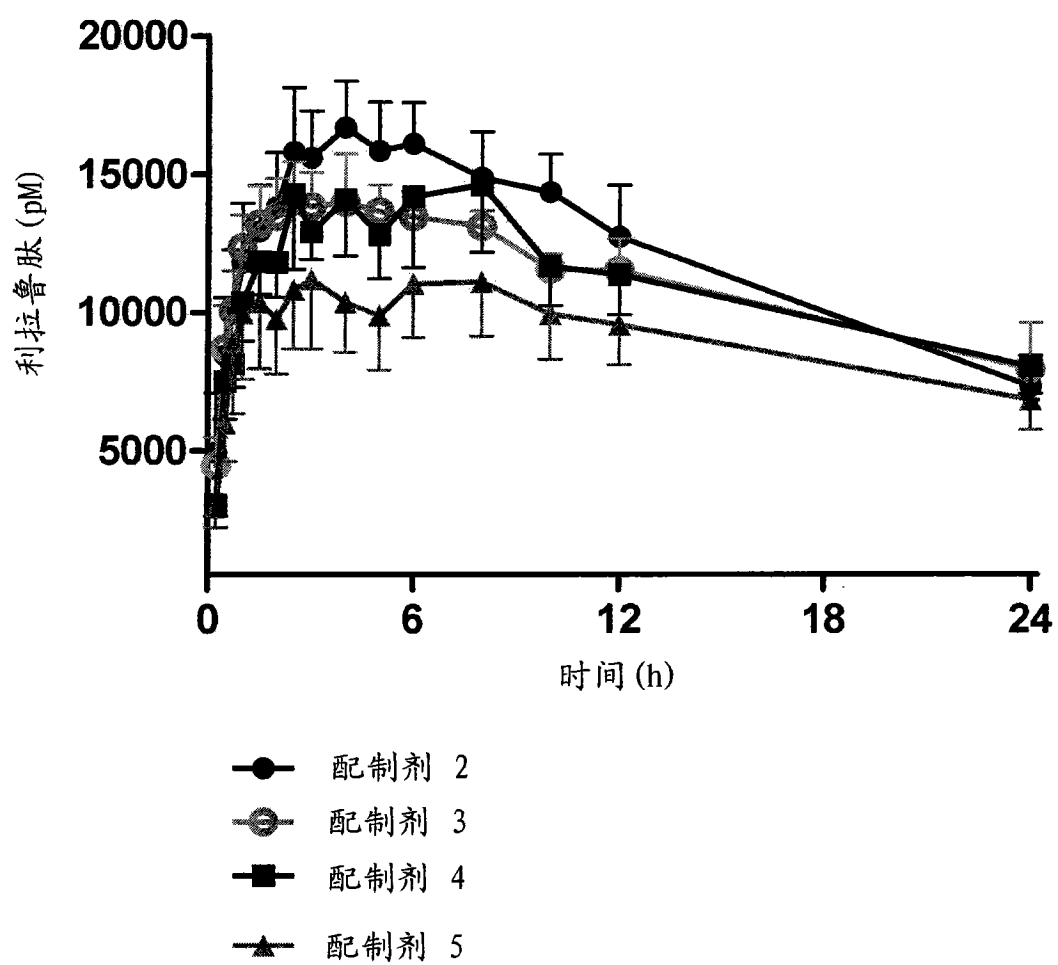


图 8