



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110636832 A

(43)申请公布日 2019.12.31

(21)申请号 201880029092.2

(22)申请日 2018.05.03

(30)优先权数据

1707187.9 2017.05.05 GB

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.11.01

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2018/051178 2018.05.03

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/203060 EN 2018.11.08

(71)申请人 艾瑞克有限公司

地址 英国萨弗伦沃尔登

(72)发明人 J·耶热克 D·格林 S·豪威尔

L·扎克热夫斯基

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 张朔 黄革生

(51)Int.Cl.

A61K 9/00(2006.01)

A61K 38/28(2006.01)

A61K 9/08(2006.01)

A61K 31/455(2006.01)

权利要求书2页 说明书22页

序列表2页

(54)发明名称

新制剂

(57)摘要

本发明特别涉及含水液体药物制剂,其包含:(i)胰岛素化合物;(ii)锌离子;(iii)烟酸化合物;(iv)非离子表面活性剂;和(v)盐,所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐。还提供了相关的方法、用途和药物组合物。

1. 含水液体药物制剂, 包含: (i) 胰岛素化合物; (ii) 锌离子; (iii) 烟酸化合物; (iv) 非离子表面活性剂; 和 (v) 盐, 所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐。
2. 根据权利要求1的制剂, 其中胰岛素化合物是赖脯胰岛素。
3. 根据权利要求1的制剂, 其中胰岛素化合物是门冬胰岛素。
4. 根据权利要求1的制剂, 其中胰岛素化合物是赖谷胰岛素。
5. 根据权利要求1的制剂, 其中胰岛素化合物是重组人胰岛素。
6. 根据权利要求1-5任一项的制剂, 其中胰岛素化合物以浓度10-1000U/ml存在。
7. 根据权利要求1-6任一项的制剂, 其中烟酸化合物是烟酰胺。
8. 根据权利要求1-6任一项的制剂, 其中烟酸化合物是烟酸或其盐。
9. 根据权利要求1-8任一项的制剂, 其中烟酸化合物以10-150mM的浓度存在。
10. 根据权利要求1-9任一项的制剂, 其中非离子表面剂是烷基糖苷。
11. 根据权利要求10的制剂, 其中烷基糖苷是十二烷基麦芽糖苷。
12. 根据权利要求1-9任一项的制剂, 其中非离子表面活性剂是聚山梨酯表面活性剂。
13. 根据权利要求12的制剂, 其中聚山梨酯表面活性剂是聚山梨酯20或聚山梨酯80。
14. 根据权利要求1-9任一项的制剂, 其中非离子表面活性剂是聚乙二醇的烷基醚。
15. 根据权利要求14的制剂, 其中聚乙二醇的烷基醚选自聚乙二醇 (2) 十二烷基醚、聚乙二醇 (2) 油基醚和聚乙二醇 (2) 十六烷基醚。
16. 根据权利要求1-9任一项的制剂, 其中非离子表面活性剂是聚乙二醇和聚丙二醇的嵌段共聚物。
17. 根据权利要求16的制剂, 其中聚乙二醇和聚丙二醇的嵌段共聚物是泊洛沙姆188、泊洛沙姆407、泊洛沙姆171或泊洛沙姆185。
18. 根据权利要求1-9任一项的制剂, 其中非离子表面活性剂是聚乙二醇的烷基苯基醚。
19. 根据权利要求18的制剂, 其中聚乙二醇的烷基苯基醚是4-(1,1,3,3-四甲基丁基) 苯基-聚乙二醇。
20. 根据权利要求1-19任一项的制剂, 其中表面活性剂以1-1000 μ g/ml的浓度存在。
21. 根据权利要求20任一项的制剂, 其中表面活性剂以10-100 μ g/ml的浓度存在。
22. 根据权利要求1-21任一项的制剂, 其中选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐的盐是单价或二价阴离子的钠盐。
23. 根据权利要求1-22任一项的制剂, 其中阴离子是单价阴离子。
24. 根据权利要求1-23任一项的制剂, 其中阴离子是无机阴离子。
25. 根据权利要求1-23任一项的制剂, 其中阴离子是有机阴离子。
26. 根据权利要求24的制剂, 其中阴离子是氯离子。
27. 根据权利要求25的制剂, 其中阴离子是乙酸根。
28. 根据权利要求1-27任一项的制剂, 其中选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐的盐在制剂中以30-200mM的浓度存在。
29. 根据权利要求1-28任一项的制剂, 其中基于制剂中胰岛素化合物的重量计, 锌离子以浓度0.05%或更高重量的锌存在于制剂中。
30. 根据权利要求29的制剂, 其中基于制剂中胰岛素化合物的重量计, 锌离子以浓度

0.5-1%重量的锌存在于制剂中。

31. 根据权利要求1-30任一项的制剂, 包含不带电荷的张力调节剂。

32. 根据权利要求31的制剂, 其中不带电荷的张力调节剂选自海藻糖、甘露醇、甘油和1,2-丙二醇。

33. 根据权利要求32的制剂, 其中不带电荷的张力调节剂是甘油。

34. 根据权利要求1-33任一项的制剂, 其中制剂是等渗的。

35. 根据权利要求1-34任一项的制剂, 其中pH范围为5.5至9.0。

36. 根据权利要求1-35任一项的制剂, 包含防腐剂。

37. 根据权利要求36的制剂, 其中防腐剂选自苯酚、间甲酚、氯甲酚、苯甲醇、尼泊金丙酯、尼泊金甲酯、苯扎氯铵和苄索氯铵。

38. 根据权利要求1-37任一项的制剂, 包含选自在25℃对锌离子结合而言的logK为4.5或更高的物质的锌结合物质。

39. 根据权利要求1-37任一项的制剂, 所述制剂基本上不含选自在25℃对锌离子结合而言的logK为4.5或更高的物质的锌结合物质。

40. 根据权利要求1-39任一项的制剂, 用于治疗罹患糖尿病的对象。

41. 治疗糖尿病的方法, 该方法包括向需要其的对象施用有效量的权利要求1至39任一项的制剂。

42. 容器, 含有一个剂量或多个剂量的权利要求1至39任一项的制剂。

43. 用于单次或多次使用的注射装置, 包含含有一个剂量或多个剂量的权利要求1至39任一项的制剂的容器以及注射针。

44. 医疗装置, 其包括包含多个剂量的权利要求1至39任一项的制剂的储器和适于自动或遥控操作、以便在自动或遥控操作时将一个或多个剂量的制剂施用于机体的泵。

45. 适于用含水介质重构的干固体药物组合物, 其包含: (i) 胰岛素化合物; (ii) 锌离子; (iii) 烟酸化合物; (iv) 非离子表面活性剂; 和 (v) 盐, 所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐。

46. 制备权利要求1至39任一项的制剂的方法, 该方法包括将权利要求44的干固体药物组合物溶于含水介质中。

47. 改善含水液体药物制剂的储存稳定性的方法, 所述制剂包含: (i) 胰岛素化合物; (ii) 锌离子; (iii) 烟酸化合物; 和 (iv) 盐, 所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐, 该方法包括向制剂中添加非离子表面活性剂。

48. 非离子表面活性剂用于改善含水液体药物制剂的储存稳定性的用途, 所述制剂包含: (i) 胰岛素化合物; (ii) 锌离子; (iii) 烟酸化合物; 和 (iv) 盐, 所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐。

49. 改善含水液体药物制剂的储存稳定性的方法, 所述制剂包含: (i) 胰岛素化合物; (ii) 锌离子; 和 (iii) 烟酸化合物; 该方法包括向制剂中加入非离子表面活性剂和选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐的盐。

50. 非离子表面活性剂和选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐的盐用于改善含水液体药物制剂的储存稳定性的用途, 所述制剂包含: (i) 胰岛素化合物; (ii) 锌离子; 和 (iii) 烟酸化合物。

新制剂

发明领域

[0001] 本发明特别涉及胰岛素和胰岛素类似物的速效含水液体制剂。这类制剂适于治疗患有糖尿病、尤其是1型糖尿病的对象。

[0002] 发明背景

[0003] 糖尿病是一种与血糖水平控制较差(导致低血糖或高血糖)有关的代谢紊乱。未治疗的糖尿病可导致严重的微血管和大血管并发症,包括冠状动脉疾病、外周动脉疾病、中风、糖尿病性肾病、神经病和视网膜病。两种主要类型的糖尿病为(i) 1型糖尿病,其由于胰腺不产生胰岛素导致,常见治疗是胰岛素替代疗法,和(ii) 2型糖尿病,其中患者的胰岛素生成不足或具有胰岛素抗性,其治疗包括胰岛素增敏剂(例如二甲双胍或吡格列酮)、传统的胰岛素促分泌素(例如磺酰脲)、减少肾脏中葡萄糖吸收从而促进葡萄糖排泄的SGLT2抑制剂(例如达格列净(dapagliflozin)、卡格列净(canagliflozin)和恩格列净(empagliflozin))、刺激从胰腺 β -细胞释放胰岛素的GLP-1激动剂(例如艾塞那肽(exenatide)和度拉糖肽(dulaglutide))和抑制导致胰岛素分泌增加的GLP-1分解的DPP-IV抑制剂(例如西他列汀(sitagliptin)或维格列汀(vildagliptin))。患有2型糖尿病的患者可能最终需要胰岛素替代疗法。

[0004] 对于需要胰岛素替代疗法的患者,有一系列可能的治疗选择。最近,重组人胰岛素的使用已经被具有改良性质如比正常胰岛素的作用时间更长或作用更快的胰岛素类似物的使用所超越。因此,用于患者的常规方案涉及在进餐时间前后接受补充有速效胰岛素的长效基础胰岛素。

[0005] 胰岛素是由经由二硫键桥连接的两条链(A链和B链,长度分别为21和30个氨基酸)形成的肽激素。胰岛素在中性pH下通常以六聚体的形式存在,各个六聚体含有三个通过锌离子结合到一起的二聚体。已知胰岛素上的组氨酸残基参与与锌离子的相互作用。胰岛素以六聚体的形式储存在体内,但是其单体形式是活性形式。传统上,也在存在锌离子的情况下以六聚体形式配制了胰岛素的治疗组合物。典型地,每个胰岛素六聚体存在大约三个锌阳离子。已经认识到六聚体形式在注射部位的吸收比单体和二聚体形式慢得多。因此,如果将六聚体形式去稳定化,使得在注射之后皮下空间中被锌结合的六聚体更快地解离成二聚体和单体,则可以获得胰岛素更快地开始起效。铭记此原则,已经遗传学工程化合成了三种胰岛素类似物。第一种是其中B链的第28和29个残基(分别为Pro和Lys)被颠倒的赖脯胰岛素(**Humalog[®]**),第二种是其中将B链的第28个残基(通常是Pro)用Asp替代的门冬胰岛素(**NovoLog[®]**),第三种是其中将B链的第3个残基(通常是Asn)用Lys替代并且B链的第29个残基(通常是Lys)用Glu替代的赖谷胰岛素(**Apidra[®]**)。

[0006] 虽然现有的速效胰岛素类似物可以得到更快的开始起效,但是已经认识到通过从胰岛素中完全去除锌阳离子可以获得甚至更快的起效(“超速效”)胰岛素。不幸的是,六聚体解离的后果通常是严重损害胰岛素就物理稳定性(例如对聚集的稳定性)和化学稳定性(例如对脱酰胺的稳定性)两者而言的稳定性。例如,已知快速起效的单体胰岛素或胰岛素

类似物聚集并很快变得物理学上不稳定,这是因为经由胰岛素单体形成了不溶性聚集物。本领域已经描述了很多解决该方法:

[0007] US5,866,538 (Norup) 描述了具有优良化学稳定性的胰岛素制剂,其含有人胰岛素或其类似物或衍生物、甘油和/或甘露醇和5mM至100mM卤化物(例如NaCl)。

[0008] US7,205,276 (Boderke) 解决了与制备胰岛素和胰岛素衍生物及类似物的不含锌的制剂有关的稳定性问题,并记载了含水液体制剂,其含有至少一种胰岛素衍生物、至少一种表面活性剂、任选的至少一种防腐剂和任选的等渗剂、缓冲剂和赋形剂中的至少一种,其中所述制剂是稳定的,不含锌或含有基于制剂的胰岛素含量计小于0.4% (例如小于0.2%) 重量的锌。优选的表面活性剂显示是聚山梨酯20 (聚氧乙烯 (20) 山梨坦单月桂酸酯)。

[0009] US2008/0194461 (Maggio) 描述了肽和多肽、包括胰岛素的制剂,其含有烷基糖苷,据说该组分降低聚集和免疫原性。

[0010] W02012/006283 (Pohl) 描述了含有胰岛素和锌螯合剂如乙二胺四乙酸 (EDTA) 的制剂。据说通过调节EDTA的类型和量可以改变胰岛素的吸收特性。EDTA钙是优选的EDTA形式,因为据说其与注射部位的疼痛降低相关并且不容易从机体除去钙。优选的制剂还含有柠檬酸盐,据说其进一步增强吸收和改善该制剂的化学稳定性。

[0011] US2010/0227795 (Steiner) 描述了含有胰岛素、解离剂如柠檬酸或柠檬酸钠和锌螯合剂如EDTA的组合物,其中所述制剂具有生理学pH并且是澄清的水溶液。据说该制剂具有改善的稳定性并且快速开始起效。

[0012] W02015/120457 (Wilson) 描述了稳定化的超速效胰岛素制剂,包含胰岛素与锌螯合剂如EDTA、溶出/稳定剂如柠檬酸、镁盐、锌化合物和任选的其它赋形剂的组合。

[0013] 还已经记载了通过使用特定的加速添加剂来加速胰岛素的吸收和作用的其它方法:

[0014] W091/09617 (**Jørgensen**) 报道了烟酰胺或烟酸或其盐增加肠胃外施用的含水制剂的胰岛素吸收速度。

[0015] W02010/149772 (Olsen) 描述了包含胰岛素、烟酸化合物和精氨酸的制剂。据说精氨酸的存在改善了所述制剂的化学稳定性。

[0016] W02015/171484 (Christe) 描述了速效胰岛素制剂,其中由于存在曲前列尼 (treprostinil),胰岛素的开始起效和/或吸收更快。

[0017] US2013/0231281 (Soula) 描述了含水溶液组合物,其包含胰岛素或胰岛素类似物和至少一种平均聚合度为3至13并且多分散指数高于1.0的低聚糖,所述低聚糖具有部分取代的羧基官能团,未取代的羧基官能团能成盐。据说该制剂快速起效。

[0018] 如果能获得超快速起效的胰岛素类似物或制剂,从而更紧密地匹配生理学胰岛素的活性,这将是令人期望的。本领域仍然还需要提供另外的和优选是改善的胰岛素和胰岛素类似物的制剂,它们是速效且稳定的。

[0019] 发明简述

[0020] 根据本发明,提供了含水液体药物制剂,其包含: (i) 胰岛素化合物; (ii) 锌离子; (iii) 烟酸化合物; (iv) 非离子表面活性剂; 和 (v) 盐,所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐 (“本发明的制剂”)。

[0021] 本发明的制剂提供了具有良好物理和化学稳定性的速效或超速效形式的胰岛素。

[0022] 本发明的制剂可以用于治疗患有糖尿病、特别是1型糖尿病的对象,尤其是用于在进餐时间施用。

[0023] 序列表说明

[0024] SEQ ID NO:1:人胰岛素的A链

[0025] SEQ ID NO:2:人胰岛素的B链

[0026] SEQ ID NO:3:赖脯胰岛素的B链

[0027] SEQ ID NO:4:门冬胰岛素的B链

[0028] SEQ ID NO:5:赖谷胰岛素的B链

[0029] 发明详述

[0030] 如本文所用的“胰岛素化合物”指胰岛素和胰岛素类似物。

[0031] 如本文所用的“胰岛素”指具有如SEQ ID NOs.1和2中给出的A链和B链并且如在天然分子中那样含有二硫桥和通过二硫桥连接的天然人胰岛素(Cys A6-Cys A11、Cys B7至Cys A7和Cys-B19-Cys A20)。胰岛素适宜地是重组胰岛素。

[0032] “胰岛素类似物”指作为胰岛素受体激动剂并且具有修饰的氨基酸序列、例如在A或B链(尤其是B链)的序列中含有1或2个氨基酸变化的胰岛素类似物。可期望地,这类氨基酸修饰意欲降低分子对锌的亲和力,因此提高了起效速率。示例性的胰岛素类似物包括更快起效的类似物,例如赖脯胰岛素、门冬胰岛素和赖谷胰岛素。胰岛素的这些形式具有人胰岛素A链,但是具有不同的B链——参见SEQ ID NOs.3-5。其它更快起效的类似物描述在EP0214826、EP0375437和EP0678522中,这些文献的内容通过引用整体引入本文。因此,可期望地,胰岛素类似物具有与胰岛素相同的或优选更高的起效速率。胰岛素或胰岛素类似物的起效速率可以在糖尿病猪药物动力学/药效动力学模型中测定(参见实施例,通用方法)。

[0033] 在一个实施方案中,胰岛素化合物为重组人胰岛素。在另一个实施方案中,其为赖脯胰岛素。在另一个实施方案中,其为门冬胰岛素。在另一个实施方案中,其为赖谷胰岛素。

[0034] 术语“烟酸化合物”指烟酸及其盐以及它们的衍生物、包括酯和酰胺如烟酰胺。示例性的烟酸盐包括钠盐、钾盐、钙盐和镁盐。

[0035] 如本文所用的术语“含水药物制剂”指适用于治疗用途的制剂,其中含水组分为水或包含水,优选蒸馏水、去离子水、注射用水、无菌注射用水或抑菌注射用水。本发明的含水药物制剂是其中所有组分都溶解在水中的溶液制剂。

[0036] 术语“单价或二价阴离子”指具有一个或多个可电离基团的阴离子,其能够在制剂中脱质子化、从而阴离子带-1或-2价电荷,并且该阴离子不含有任何能够在制剂中带正电荷的原子或基团。因此,该术语的范围排除了所有的两性离子和所有的氨基酸。从该术语范围特别排除的其它阴离子包括三价阴离子,例如硝酸根、柠檬酸根和磷酸根。

[0037] 制剂中胰岛素化合物的浓度将通常为10-1000U/ml,例如50-500U/ml,如50-200U/ml。一种示例性的制剂含有浓度为100U/ml(约3.6mg/ml)的胰岛素化合物。另一个感兴趣的范围是500-1000U/ml、例如800-1000U/ml,另一种示例性制剂含有浓度为1000U/ml(约36mg/ml)的胰岛素化合物。

[0038] 本发明的制剂含有锌离子,即 Zn^{2+} 离子。锌离子的来源通常是水溶性锌盐,例如 $ZnCl_2$ 、 ZnO 、 $ZnSO_4$ 、 $Zn(NO_3)_2$ 或 Zn (乙酸根) $_2$,最适宜地是 $ZnCl_2$ 或 ZnO 。

[0039] 基于制剂中胰岛素化合物的重量计,制剂中锌离子的浓度通常将为0.05%或更

高、例如0.1%或更高、例如0.2%或更高、0.3%或更高或0.4%或更高重量的锌。因此，基于制剂中胰岛素化合物的重量计，制剂中锌离子的浓度可以为0.5%或更高重量的锌，例如基于制剂中胰岛素化合物的重量计0.5-1%、例如0.5-0.75%、例如0.5-0.6%重量的锌。为了计算的目的，排除锌的抗衡离子的重量。

[0040] 在制剂、例如含有100U/ml胰岛素化合物的制剂中，锌离子的浓度通常将大于0.015mM，例如大于0.03mM，例如大于0.06mM，大于0.09mM或大于0.12mM。因此，制剂中锌离子的浓度可以是大于0.15mM，例如0.15-0.60mM，例如0.20-0.45mM，例如0.25-0.35mM。

[0041] 在制剂、例如含有1000U/ml胰岛素化合物的制剂中，锌离子的浓度通常将大于0.15mM，例如大于0.3mM，例如大于0.6mM、大于0.9mM或大于1.2mM。因此，制剂中锌离子的浓度可以为大于1.5mM，例如1.5-6.0mM，例如2.0-4.5mM，例如2.5-3.5mM。

[0042] 本发明的制剂包含烟酸化合物，预期烟酸化合物增加本发明的制剂中的胰岛素化合物的起效速度。在优选的实施方案中，烟酸化合物是烟酰胺。或者，其为烟酸或烟酸盐如钠盐。适宜地，烟酸化合物的浓度为10-150mM，优选20-100mM，例如50-100mM，例如约80mM。

[0043] 本发明的制剂含有非离子表面活性剂。

[0044] 非离子表面活性剂的适宜类别是烷基糖苷，尤其是十二烷基麦芽糖苷。其它烷基糖苷包括十二烷基葡萄糖苷、辛基葡萄糖苷、辛基麦芽糖苷、癸基葡萄糖苷、癸基麦芽糖苷、十三烷基葡萄糖苷、十三烷基麦芽糖苷、十四烷基葡萄糖苷、十四烷基麦芽糖苷、十六烷基葡萄糖苷、十六烷基麦芽糖苷、蔗糖单辛酸酯、蔗糖单癸酸酯、蔗糖单十二酸酯、蔗糖单十三酸酯、蔗糖单十四酸酯和蔗糖单十六酸酯。

[0045] 非离子表面活性剂的另一个适宜类别是聚山梨酯(乙氧基化山梨坦的脂肪酸酯)，例如聚山梨酯80或聚山梨酯20。聚山梨酯80是由油酸和聚氧乙烯(20)山梨坦形成的单酯，其中数字20指分子中氧乙烯基团的数目。聚山梨酯80已知有一系列商品名，包括特别是吐温80，还有Alkest TW 80。聚山梨酯20是由月桂酸和聚氧乙烯(20)山梨坦形成的单酯，其中数字20指分子中氧乙烯基团的数目。聚山梨酯20已知有一系列商品名，包括特别是吐温20，还有Alkest TW 20。其它适宜的聚山梨酯包括聚山梨酯40和聚山梨酯60。

[0046] 非离子表面活性剂的另一个适宜类别是聚乙二醇和聚丙二醇的嵌段共聚物，还已知为泊洛沙姆，尤其是泊洛沙姆188、泊洛沙姆407、泊洛沙姆171和泊洛沙姆185。泊洛沙姆还以商标名Pluronic或Koliphors已知。例如，泊洛沙姆188作为Pluronic F-68出售。

[0047] 非离子表面活性剂的另一个适宜类别是聚乙二醇的烷基醚，尤其是已知商标名Brij的那些，例如选自聚乙二醇(2)十六烷基醚(Brij 52)、聚乙二醇(2)油基醚(Brij 93)和聚乙二醇(2)十二烷基醚(Brij L4)。其它适宜的Brij表面活性剂包括聚乙二醇(4)月桂基醚(Brij 30)、聚乙二醇(10)月桂基醚(Brij 35)、聚乙二醇(20)十六烷基醚(Brij 58)和聚乙二醇(10)硬脂基醚(Brij 78)。

[0048] 非离子表面活性剂的另一个适宜类别是聚乙二醇的烷基苯基醚，尤其是4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯基-聚乙二醇，还已知为商标名Triton X-100。

[0049] 特别适宜的是分子量低于1000g/mole、尤其是低于600g/mole的非离子表面活性剂，例如4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯基-聚乙二醇(Triton X-100) (647g/mole)、十二烷基麦芽糖苷(511g/mole)、辛基葡萄糖苷(292g/mole)、聚乙二醇(2)十二烷基醚(Brij L4) (362g/mole)、聚乙二醇(2)油基醚(Brij 93) (357g/mole)和聚乙二醇(2)十六烷基醚(Brij

52) (330g/mole)。

[0050] 制剂中非离子表面活性剂的浓度将通常为1-1000 μ g/ml、例如5-500 μ g/ml、例如10-200 μ g/ml、例如10-100 μ g/ml、尤其是约50 μ g/ml。

[0051] 本发明的制剂包含盐,所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐。适宜的第1族金属包括钠和钾,尤其是钠。阴离子优选是单价阴离子。阴离子可以是无机或有机的,但是优选是无机的。无机阴离子的实例包括卤素离子如氯或溴离子(优选氯离子)和硫酸根离子。有机阴离子的实例包括由单价或二价羧酸、尤其是一元羧酸衍生的离子(例如乙酸根和苯甲酸根)和二元羧酸衍生的离子(例如琥珀酸根、马来酸根和苹果酸根)。优选的有机阴离子是乙酸根。示例性的盐包括氯化钠、氯化钾和乙酸钠。优选的盐是氯化钠。

[0052] 选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐的盐可以适宜地以30-200mM、例如50-200mM、例如50-120mM、例如65-75mM、例如约70mM的浓度存在于制剂中。

[0053] 适宜地,本发明的含水制剂的pH范围为5.5-9.0,尤其是6.5-8.0,例如7.0-7.5。为了使注射疼痛最轻,pH优选接近于生理pH(约pH7.4)。另一个感兴趣的pH范围为7.6-8.0,例如约7.8。

[0054] 任选地,本发明的制剂包含缓冲剂以稳定制剂的pH,也可以对其进行选择以增强蛋白质稳定性。在一个实施方案中,选择pKa接近于制剂pH的缓冲剂;例如,当制剂的pH范围为5.0-7.0时,适宜地采用组氨酸作为缓冲剂。这类缓冲剂的应用浓度可以为0.5-20mM,例如2-5mM。作为另一个实例,当制剂的pH范围为6.1-8.1时,则适宜地采用磷酸盐作为缓冲剂。这类缓冲剂的应用浓度可以为0.5-20mM,例如2-5mM。另一个可能的缓冲剂是柠檬酸盐。供选地,在另一个实施方案中,本发明的制剂如W02008/084237(其全部内容通过引用并入本文)中所述那样进行了进一步稳定,W02008/084237记载了包含蛋白质和一种或多种添加剂的制剂,特征在于所述体系基本上不含常规缓冲剂,即具有可离子化基团的化合物,其pKa在制剂的预期储存温度范围如25 $^{\circ}$ C时处于制剂pH的1个单位内。在该实施方案中,制剂的pH被设定为这样的值:在该值处,制剂具有就pH而言的最大可测量稳定性;所述一种或多种添加剂(替代缓冲剂)能够与胰岛素化合物交换质子并且其pKa值在该制剂的预期储存温度范围时比制剂的pH高或低至少1个单位。这些添加剂可以具有可离子化基团,其pKa在制剂的预期储存温度(例如25 $^{\circ}$ C)时为含水制剂的pH的1至5个pH单位之间、优选1至3个pH单位之间、最优选1.5至2.5个pH单位。这类添加剂通常可以以0.5-10mM、例如2-5mM的浓度应用。

[0055] 本发明的含水制剂涵盖宽范围的摩尔渗透压浓度,包括低渗、等渗和高渗制剂。优选地,本发明的制剂是基本上等渗的。适宜地,根据施用途(例如经注射)对制剂的摩尔渗透压浓度进行选择以使疼痛最轻。优选的制剂具有在约200至约500mOsm/L范围的摩尔渗透压浓度。优选地,摩尔渗透压浓度为约250至约350mOsm/L范围。更优选地,摩尔渗透压浓度为约300mOsm/L。

[0056] 盐的存在将调节制剂的张力,尽管如此,制剂的张力可以用不带电荷的张力调节剂进一步进行调节。不带电荷的张力调节剂的实例包含糖、糖醇和其它多元醇,例如海藻糖、蔗糖、甘露醇、甘油、1,2-丙二醇、棉子糖、乳糖、右旋糖、山梨醇或拉克替醇(尤其是海藻糖、甘露醇、甘油或1,2-丙二醇,特别是甘油)。不带电荷的张力调节剂的使用浓度优选为20-200mM,例如50-150mM,例如约80mM。

[0057] 制剂的离子强度可以根据下式计算： $I = 0.5 \times \sum_{x=1}^n c_x z_x^2$ 其中 c_x 为离子 x 的摩尔浓度

(mol L⁻¹)， z_x 为离子 x 的电荷的绝对值，求和覆盖了制剂中存在的所有离子 (n)。对于计算目的，应当忽略胰岛素化合物本身的贡献。对于两性离子，电荷的绝对值是排除了极性的总电荷，例如对于甘氨酸而言，可能的离子具有 0、1 或 2 个绝对电荷，对于门冬氨酸而言，可能的离子具有 0、1、2 或 3 个绝对电荷。

[0058] 通常，制剂的离子强度适宜地为约 30mM 直至约 500mM 范围。

[0059] 当胰岛素化合物为赖脯胰岛素时，因为离子强度较高的制剂的稳定性比离子强度较低的制剂的稳定性差，所以将制剂的离子强度适宜地保持在最小水平。适宜地，考虑制剂中除锌结合物质和胰岛素化合物之外的离子，离子强度为小于 60mM，例如小于 50mM，例如小于 40mM，例如 30-40mM。

[0060] 当胰岛素化合物为浓度为 >500U/ml (例如 1000U/ml) 的门冬胰岛素时，因为离子强度较高的制剂的稳定性比离子强度较低的制剂的稳定性差，所以将制剂的离子强度适宜地保持在最小水平。适宜地，考虑制剂中除锌结合物质和胰岛素化合物之外的离子，离子强度为小于 60mM，例如小于 50mM，例如小于 40mM，例如 30-40mM。

[0061] 当胰岛素化合物为浓度为 500U/ml 或更低 (例如 100U/ml) 的门冬胰岛素时，制剂的离子强度可以是高的。适宜地，考虑制剂中除锌结合物质和胰岛素化合物之外的离子，离子强度为高于 50mM，例如高于 100mM，例如 50-500mM 或 100-500mM 或 100-300mM，例如约 150mM。

[0062] 本发明的制剂可以任选地包含防腐剂，优选苯酚、间甲酚、氯甲酚、苯甲醇、尼泊金丙酯、尼泊金甲酯、苯扎氯铵或苄索氯铵。

[0063] 本发明的制剂可以任选地包含其它有益组分，包括稳定剂。

[0064] 在第一个实施方案中，本发明的制剂包含锌结合物质。锌结合物质应当能够络合锌离子，并且将选自如在 25℃ 所测定对锌离子结合而言的金属结合稳定性常数 $\log K$ 为 4.5 或更高 (例如 4.5-12.3 或 4.5-10) 的物质。可以使用国家标准和技术协会 (National Institute of Standards and Technology) 参考数据库 46 (Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes) 中所列的金属结合稳定性常数。该数据库典型地列出了在 25℃ 测定的 $\log K$ 常数。因此，任选地包括在本发明的制剂中的锌结合物质的适宜性可以基于如在 25℃ 测定和如数据库所引用的对锌离子结合而言的金属结合稳定性常数 $\log K$ 来测定。示例性的任选被包括在内的对锌离子结合而言的 $\log K$ 为 4.5 或更高的锌结合物质包括多齿有机阴离子。示例性的任选被包括在内的对锌离子结合而言的 $\log K$ 为 4.5 或更高的锌结合物质包括对锌离子结合而言的 $\log K$ 为 4.5-10 的那些，包括柠檬酸根 ($\log K = 4.93$)，其可以例如作为柠檬酸钠使用。进一步的实例包括焦磷酸根 ($\log K = 8.71$)、门冬氨酸根 ($\log K = 5.87$)、谷氨酸根 ($\log K = 4.62$)、半胱氨酸 ($\log K = 9.11$)、胱氨酸 ($\log K = 6.67$) 和谷胱甘肽 ($\log K = 7.98$)。其它可能的锌结合物质包括可以贡献孤对电子或电子密度用于与锌离子的相互作用的物质、例如多齿胺、包括乙二胺 ($\log K = 5.69$)、二亚乙基三胺 (DETA, $\log K = 8.88$) 和可以贡献孤对电子的芳族或杂芳族物质、尤其是包含咪唑部分的那些、例如组氨酸 ($\log K = 6.51$)。示例性的对锌离子结合而言的 $\log K$ 为 4.5 或更高的锌结合物质包括对锌离子结合而言的 $\log K$ 大于 10 的那些，例如三亚乙基四胺 (TETA, $\log K = 11.95$) 和乙二胺四乙酸 (EDTA, $\log K = 14.5$)。适宜地，锌结合物质具有 4.5-12.3、例如 4.5-10 的对锌离子结

合而言的logK,例如柠檬酸根。

[0065] 对柠檬酸根、焦磷酸根、谷氨酸根、乙二胺四乙酸根等的称谓指相应的酸如柠檬酸、焦磷酸、谷氨酸、乙二胺四乙酸等的离子化形式。

[0066] 具有酸形式(例如柠檬酸)的锌离子结合物质可以以酸的盐形式、例如钠盐(例如柠檬酸钠)引入到本发明的含水制剂中。供选地,它们可以以酸的形式引入,随后调节pH至需要的水平。

[0067] 包含选自在25℃对锌离子结合而言的logK为4.5或更高的物质的锌结合物质的制剂在至少1mM、例如至少2mM或至少5mM的浓度例如可以如此做。例如,制剂中锌结合物质的浓度可以通常为1-50mM,更优选5-50mM,例如10-50mM,例如10-30mM,更优选约20mM(例如22mM),尤其是当锌结合物质是柠檬酸根或组氨酸和尤其是对胰岛素化合物100U/ml制剂而言。适宜地,制剂中锌结合物质的浓度为10-50mM、例如30-50mM、例如40-50mM,更优选约44mM,当对胰岛素化合物1000U/ml制剂而言锌结合物质是柠檬酸根或组氨酸时。在一个实施方案中,锌结合物质的浓度为10mM或更高。阴离子锌结合物质可以作为游离酸或盐形式使用,例如与钠离子或钙离子、尤其是钠离子的盐形式。可以使用锌结合物质的混合物,虽然单独锌结合物质是优选的。

[0068] 制剂中锌离子与锌结合物质的摩尔比范围可以为1:1至1000,例如1:1至1:500,例如1:1至1:250,或者1:3至1:500,例如1:3至1:175。

[0069] 例如,锌离子与锌结合物质的适宜摩尔比为1:10-1:500,例如1:20-1:500,例如1:20-1:100或1:40-1:250,例如1:40-1:90或1:60-1:200,例如1:60-1:80,尤其是对于柠檬酸根或组氨酸作为锌结合物质而言。下述范围是特别感兴趣的,尤其是对于柠檬酸根或组氨酸作为锌结合物质而言:1:10-1:500、例如1:10至1:200、例如1:10至1:100、例如1:10-1:50、例如1:10至1:30(尤其对胰岛素化合物1000U/ml制剂而言)或1:50-1:100、例如1:60-1:80(尤其对胰岛素化合物100U/ml制剂而言)。

[0070] 例如,含100U/ml胰岛素化合物的制剂可以含有约0.3mM锌离子(即,约19.7μg/ml的锌离子,即基于制剂中胰岛素化合物的重量计约0.54%重量的锌)和约15-30mM、例如20-30mM的锌结合物质(尤其是柠檬酸根)。

[0071] 例如,含1000U/ml胰岛素化合物的制剂可以含有约3mM锌离子(即,约197μg/ml的锌离子,即基于制剂中胰岛素化合物的重量计约0.54%重量的锌)和约30-60mM、例如40-60mM的锌结合物质(尤其是柠檬酸根)。

[0072] 在供选的实施实施方案中,本发明的制剂不含选自在25℃对锌离子结合而言的logK为4.5或更高的物质的锌结合物质,或含有浓度低于1mM、例如低于0.5mM的选自在25℃对锌离子结合而言的logK为4.5或更高的物质的锌结合物质。例如,制剂不含或基本上不含选自在25℃对锌离子结合而言的logK为4.5或更高的物质的锌结合物质。“基本上不含”在此处指选自在25℃对锌离子结合而言的logK为4.5或更高的物质的锌结合物质的浓度低于0.1mM,例如低于0.05mM或低于0.04mM或低于0.01mM。

[0073] 本发明的制剂可以基本上不含选自在25℃对锌离子结合而言的logK大于10、例如大于12.3的物质的锌结合物质,例如基本上不含EDTA。“基本上不含”在此处指所指锌结合物质的浓度低于0.1mM,例如低于0.05mM或低于0.04mM或低于0.01mM。

[0074] 在本发明的实施实施方案中,制剂不含氨基酸如谷氨酸,并且还不含这些酸的相应的

离子形式。

[0075] 在本发明的一个实施方案中,制剂不含精氨酸。

[0076] 在本发明的一个实施方案中,制剂不含鱼精蛋白和鱼精蛋白盐。

[0077] 在本发明的一个实施方案中,制剂不含镁离子。

[0078] 在本发明的一个实施方案中,制剂不含钙离子。

[0079] 在本发明的一个实施方案中,制剂不含甘露醇。

[0080] 在本发明的一个实施方案中,制剂不含甘油。

[0081] 适宜地,本发明的制剂是足够稳定的,从而当长期储存时,高分子量物质的浓度保持在低水平。如本文所用的术语“高分子量物质”指任意不可逆形成的蛋白质内容物组分,其表观分子量是母体胰岛素化合物的分子量的至少约两倍,如通过适宜的分析方法如尺寸排阻色谱法所检测。即,高分子量物质是母体胰岛素化合物的多聚集合物。该多聚集合物可以包含构象发生很大改变的母体蛋白质分子,或者它们可以是天然或近天然构象的母体蛋白质单元的集合物。可以使用本领域已知的方法进行高分子量物质的测定,包括尺寸排阻色谱法、电泳、分析超速离心、光散射、动态光散射、静态光散射和场流分级法。

[0082] 适宜地,本发明的制剂是足够稳定的,从而它们于30℃储存至少1、2或3个月后保持基本上不含可视颗粒。适宜地,采用2.9.20.European Pharmacopoeia Monograph (颗粒污染:可视颗粒)检测可视颗粒。

[0083] 适宜地,本发明的制剂是足够稳定的,从而当长期储存时,相关物质的浓度保持在低水平。如本文所用的术语“相关物质”指通过母体胰岛素化合物的化学改性形成的任意蛋白质内容物组分,特别是胰岛素的脱酰氨或环二酰亚胺形式。相关物质适宜地通过RP-HPLC检测。

[0084] 在优选的实施方案中,本发明的制剂于30℃储存1、2或3个月后保留至少95%、例如至少96%、例如至少97%、例如至少98%、例如至少99%的母体胰岛素化合物(以总蛋白质的重量计)。胰岛素化合物的百分比(以总蛋白质的重量计)可以通过尺寸排阻色谱法或RP-HPLC测定。

[0085] 在优选的实施方案中,本发明的制剂于30℃储存1、2或3个月后包含不高于4%(以总蛋白质的重量计)、优选不高于2%的高分子量物质。

[0086] 在优选的实施方案中,本发明的制剂于30℃储存1、2或3个月后包含不高于4%(以总蛋白质的重量计)、优选不高于2%、优选不高于1%的胰岛素化合物的A-21脱酰氨形式。

[0087] 在优选的实施方案中,在相同条件(例如30℃)和时间(例如1、2或3个月)的储存之后,本发明的制剂在储存期间呈现的高分子量物质增加比不含非离子表面活性剂、但其它方面相同的制剂低至少10%、优选低至少25%、更优选低至少50%。

[0088] 在优选的实施方案中,在相同条件(例如30℃)和时间(例如1、2或3个月)的储存之后,本发明的制剂在储存期间呈现的相关物质增加比不含非离子表面活性剂、但其它方面相同的制剂低至少10%、优选低至少25%、更优选低至少50%。

[0089] 本发明的制剂的作用速度可以在糖尿病猪药物动力学/药效动力学模型(参见实施例,通用方法)中进行测定。在优选的实施方案中,采用该模型,本发明的制剂显示的 T_{\max} (即,胰岛素浓度达峰时间)应当比不含烟酸化合物、但是其它方面相同的制剂短至少10%、优选短至少20%、更优选短至少30%。在优选的实施方案中,采用该模型,本发明的制剂呈

现在的注射后第一个45分钟内的药效动力学性质的曲线下面积应当比不含烟酸化合物、但是其它方面相同的制剂高至少10%、优选高至少20%、更优选高至少30%。

[0090] 根据本发明的另一方面,提供了用于治疗患有糖尿病的对象的本发明的制剂。还提供了治疗糖尿病的方法,该方法包括向需要其的对象施用有效量的本发明的制剂。

[0091] 本发明的制剂的典型剂量为2-30U,例如5-15U。应当在进食前(即,开始进餐之前)15分钟和进食后(即,进餐结束之后)15分钟之间的时间窗适宜地进行施用。

[0092] 本发明的一个方面是含有一个剂量或多个剂量的本发明制剂的容器,例如由塑料或玻璃制成的容器。所述容器可以例如是被设计成与注射装置一起使用的可置换形式的药筒。

[0093] 本发明的制剂可以被适宜地包装用于注射、尤其是皮下或肌肉注射。皮下注射是优选的。注射可以通过常规注射器或更优选经由适用于糖尿病对象的笔式装置进行。示例性的笔式装置包括**Kwikpen**[®]装置和**Flexpen**[®]装置。

[0094] 本发明的一个方面是注射装置,特别是适用于皮下或肌肉注射的装置,用于单次或多次应用,其包括含有一个剂量或多个剂量的本发明制剂的容器和注射针。在一个实施方案中,所述容器是含有多个剂量的可置换药筒。在一个实施方案中,针是可置换的,例如在每次使用后置换。

[0095] 本发明的另一个方面是医疗装置,其包括包含多个剂量的本发明制剂的储库和适于自动或遥控操作、以便在自动或遥控操作时将一个或多个剂量的本发明制剂施用于机体、例如皮下或肌肉施用于机体的泵。这类装置可以佩戴在体外或植入到体内。

[0096] 本发明的制剂可以通过将成分混合来制备。例如,可以将胰岛素化合物溶于包含其它组分的含水制剂中。供选地,可以将胰岛素化合物溶于强酸(通常是HCl)中,在溶解后用包含其它组分的含水制剂稀释,然后通过添加碱(例如NaOH)将pH调至所需pH。作为该方法的变体,可以在稀释步骤之前进行中和酸溶液的步骤,然后在稀释步骤之后可能不需要调节pH(或者仅需要略微调节)。

[0097] 根据本发明的另一个方面,提供了适于用含水介质重构的干固体药物组合物,其包含:(i)胰岛素化合物;(ii)锌离子;(iii)烟酸化合物;(iv)非离子表面活性剂;和(v)盐,所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐。因此,本发明的制剂可以通过将这类干固体药物组合物溶于含水介质如水或盐水中来制备。这类干固体药物组合物可以通过将本发明的制剂脱水(例如冷冻干燥)来制备。本发明还提供了含有一个剂量或多个剂量的这类干固体药物组合物的容器。

[0098] 本发明的进一步方面包括:

[0099] • 改善含水液体药物制剂的储存稳定性的方法,所述制剂含有:(i)胰岛素化合物,(ii)锌离子,(iii)烟酸化合物,和(iv)盐,所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐;该方法包括向所述制剂中加入非离子表面活性剂;

[0100] • 非离子表面活性剂用于改善含水液体药物制剂的储存稳定性的用途,所述包含:(i)胰岛素化合物,(ii)锌离子,(iii)烟酸化合物,和(iv)盐,所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐;

[0101] • 改善含水液体药物制剂的储存稳定性的方法,所述制剂含有:(i)胰岛素化合物,(ii)锌离子,和(iii)烟酸化合物;该方法包括向所述制剂中加入非离子表面活性剂和

选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐的盐；和

[0102] • 非离子表面活性剂和选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐的盐用于改善含水液体药物制剂的储存稳定性的用途，所述制剂包含：(i) 胰岛素化合物，(ii) 锌离子，和(iii) 烟酸化合物。

[0103] 本发明的制剂还预期具有一种或多种下述有益性质：

[0104] • 当施用于对象时起效速度快，典型地比正常人胰岛素更快；

[0105] • 当储存时具有良好的物理稳定性，尤其是如通过HMWS的量或视觉检测颗粒所测定；

[0106] • 当储存时具有良好的化学稳定性，尤其是如通过相关产物如脱酰胺产物的量所测定。

[0107] 通过如下条款解释了本发明的进一步的方面：

[0108] 条款1. 含水液体药物制剂，包含：(i) 胰岛素化合物；(ii) 锌离子；(iii) 烟酸化合物；(iv) 非离子表面活性剂；和(v) 盐，所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐。

[0109] 条款2. 根据条款1的制剂，其中胰岛素化合物是赖脯胰岛素。

[0110] 条款3. 根据条款1的制剂，其中胰岛素化合物是门冬胰岛素。

[0111] 条款4. 根据条款1的制剂，其中胰岛素化合物是赖谷胰岛素。

[0112] 条款5. 根据条款1的制剂，其中胰岛素化合物是重组人胰岛素。

[0113] 条款6. 根据条款1-5任一项的制剂，其中胰岛素化合物以10-1000U/ml的浓度存在。

[0114] 条款7. 根据条款1-6任一项的制剂，其中烟酸化合物是烟酰胺。

[0115] 条款8. 根据条款1-6任一项的制剂，其中烟酸化合物是烟酸或其盐。

[0116] 条款9. 根据条款1-8任一项的制剂，其中烟酸化合物以10-150mM的浓度存在。

[0117] 条款10. 根据条款1-9任一项的制剂，其中非离子表面剂是烷基糖苷。

[0118] 条款11. 根据条款10的制剂，其中烷基糖苷是十二烷基麦芽糖苷。

[0119] 条款12. 根据条款1-9任一项的制剂，其中非离子表面活性剂是聚山梨酯表面活性剂。

[0120] 条款13. 根据条款12的制剂，其中聚山梨酯表面活性剂是聚山梨酯20或聚山梨酯80。

[0121] 条款14. 根据条款1-9任一项的制剂，其中非离子表面活性剂是聚乙二醇的烷基醚。

[0122] 条款15. 根据条款14的制剂，其中聚乙二醇的烷基醚选自聚乙二醇(2) 十二烷基醚、聚乙二醇(2) 油基醚和聚乙二醇(2) 十六烷基醚。

[0123] 条款16. 根据条款1-9任一项的制剂，其中非离子表面活性剂是聚乙二醇和聚丙二醇的嵌段共聚物。

[0124] 条款17. 根据条款16的制剂，其中聚乙二醇和聚丙二醇的嵌段共聚物是泊洛沙姆188、泊洛沙姆407、泊洛沙姆171或泊洛沙姆185。

[0125] 条款18. 根据条款1-9任一项的制剂，其中非离子表面活性剂是聚乙二醇的烷基苯基醚。

- [0126] 条款19.根据条款18的制剂,其中聚乙二醇的烷基苯基醚是4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯基-聚乙二醇。
- [0127] 条款20.根据条款1-19任一项的制剂,其中表面活性剂以1-1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的浓度存在。
- [0128] 条款21.根据条款20任一项的制剂,其中表面活性剂以10-100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的浓度存在。
- [0129] 条款22.根据条款1-21任一项的制剂,其中选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐的盐是单价或二价阴离子的钠盐。
- [0130] 条款23.根据条款1-22任一项的制剂,其中阴离子是单价阴离子。
- [0131] 条款24.根据条款1-23任一项的制剂,其中阴离子是无机阴离子。
- [0132] 条款25.根据条款1-23任一项的制剂,其中阴离子是有机阴离子。
- [0133] 条款26.根据条款24的制剂,其中阴离子是氯离子。
- [0134] 条款27.根据条款25的制剂,其中阴离子是乙酸根。
- [0135] 条款28.根据条款1-27任一项的制剂,其中选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐的盐在制剂中以30-200mM的浓度存在。条款29.根据条款1-28任一项的制剂,其中基于制剂中胰岛素化合物的重量计,锌离子以浓度0.05%或更高重量的锌存在于制剂中。
- [0136] 条款30.根据条款29的制剂,其中基于制剂中胰岛素化合物的重量计,锌离子以浓度0.5-1%重量的锌存在于制剂中。
- [0137] 条款31.根据条款1-30任一项的制剂,还包含不带电荷的张力调节剂。
- [0138] 条款32.根据条款31的制剂,其中不带电荷的张力调节剂选自海藻糖、甘露醇、甘油和1,2-丙二醇。
- [0139] 条款33.根据条款32的制剂,其中不带电荷的张力调节剂是甘油。
- [0140] 条款34.根据条款1-33任一项的制剂,其中制剂是等渗的。
- [0141] 条款35.根据条款1-34任一项的制剂,其中pH范围为5.5至9.0。
- [0142] 条款36.根据条款1-35任一项的制剂,还包含防腐剂。
- [0143] 条款37.根据条款36的制剂,其中防腐剂选自苯酚、间甲酚、氯甲酚、苯甲醇、尼泊金丙酯、尼泊金甲酯、苯扎氯铵和苄索氯铵。
- [0144] 条款38.根据条款1-37任一项的制剂,还包含选自在25 $^{\circ}\text{C}$ 对锌离子结合而言的 $\log K$ 为4.5或更高的物质的锌结合物质。
- [0145] 条款39.根据条款1-37任一项的制剂,所述制剂基本上不含选自在25 $^{\circ}\text{C}$ 对锌离子结合而言的 $\log K$ 为4.5或更高的物质的锌结合物质。
- [0146] 条款40.根据条款1-39任一项的制剂,用于治疗罹患糖尿病的对象。
- [0147] 条款41.治疗糖尿病的方法,该方法包括向需要其的对象施用有效量的条款1-39任一项的制剂。
- [0148] 条款42.容器,含有一个剂量或多个剂量的条款1-39任一项的制剂。
- [0149] 条款43.用于单次或多次使用的注射装置,包含含有一个剂量或多个剂量的条款1-39任一项的制剂的容器以及注射针。
- [0150] 条款44.医疗装置,其包括包含多个剂量的条款1-39任一项的制剂的储器和适于自动或遥控操作、以便在自动或遥控操作时将一个或多个剂量的制剂施用于机体的泵。

[0151] 条款45.适于用含水介质重构的干固体药物组合物,其包含:(i)胰岛素化合物;(ii)锌离子;(iii)烟酸化合物;(iv)非离子表面活性剂;和(v)盐,所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐。

[0152] 条款46.制备条款1-39任一项的制剂的方法,该方法包括将条款44的干固体药物组合物溶于含水介质中。

[0153] 条款47.改善含水液体药物制剂的储存稳定性的方法,所述组合物包含:(i)胰岛素化合物;(ii)锌离子;(iii)烟酸化合物;和(iv)盐,所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐,该方法包括向制剂中添加非离子表面活性剂。

[0154] 条款48.非离子表面活性剂用于改善含水液体药物制剂的储存稳定性的用途,所述制剂包含:(i)胰岛素化合物;(ii)锌离子;(iii)烟酸化合物;和(iv)盐,所述盐选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐。

[0155] 条款49.改善含水液体药物制剂的储存稳定性的方法,所述制剂包含:(i)胰岛素化合物;(ii)锌离子;和(iii)烟酸化合物;该方法包括向制剂中加入非离子表面活性剂和选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐的盐。

[0156] 条款50.非离子表面活性剂和选自在第1族金属和单价或二价阴离子之间形成的盐的盐用于改善含水液体药物制剂的储存稳定性的用途,所述制剂包含:(i)胰岛素化合物;(ii)锌离子;和(iii)烟酸化合物。

[0157] 缩写

[0158]	EDTA	乙二胺四乙酸
[0159]	EGTA	乙二醇四乙酸
[0160]	DETA	二亚乙基三胺
[0161]	TETA	三亚乙基四胺
[0162]	HPLC	高效液相色谱法
[0163]	HMWS	高分子量物质
[0164]	RP	反相
[0165]	SEC	尺寸排阻色谱法
[0166]	PD	药效动力学

实施例

[0167] 通用方法

[0168] (a) 糖尿病猪药物动力学/药效动力学模型:测定起效速度的方法:

[0169] 使用10只雄性糖尿病Yucatan小型猪。给猪皮下注射受试制剂的样品,在就注射而言的如下时间点(min)取血(1或2ml):-30(或-15)、0、5、10、15、20、30、40、50、60、75、90、105、120、150、180、210和240。对于药效动力学性质,对血清的葡萄糖进行分析(使用市售可获得的血糖仪)。对于药物动力学性质,采用免疫测定法测定血清中的胰岛素浓度。

[0170] (b) 视觉评价

[0171] 采用2.9.20.European Pharmacopoeia Monograph(颗粒污染:可视颗粒)适宜地检测可视颗粒。所需装置由包括下述的观察台组成:

[0172] • 以垂直位置安装的适当尺寸的亚光黑色面板

- [0173] • 挨着所述黑色面板以垂直位置安装的适当尺寸的无眩光白色面板
- [0174] • 可调灯座,装有适宜的、有遮挡的白光源和适宜的光散射器(含两个13W荧光管、每个荧光管长度为525mm的观察照明器是适宜的)。
- [0175] 观察点的光照强度维持在2000lux至3750lux之间。
- [0176] 从容器除去任何粘附的标签,对其外部进行洗涤和干燥。将容器轻轻涡旋或倒置,确保不引入气泡,将其在白色面板前观察约5秒。在黑色面板前重复该操作。记录存在的任何颗粒。
- [0177] 视觉评分分级如下:
- [0178] 视觉评分1:澄清溶液,实际上不含颗粒
- [0179] 视觉评分2:~5个非常小的颗粒
- [0180] 视觉评分3:~10-20个非常小的颗粒
- [0181] 视觉评分4:20-50个颗粒,包括较大颗粒
- [0182] 视觉评分5:>50个颗粒,包括较大颗粒
- [0183] 视觉评分为4和5的样品中的颗粒在正常灯光下的偶然视觉评价时是明显可检测的,而视觉评分为1-3的样品在相同评价时通常显示是澄清溶液。视觉评分为1-3的样品被认为“通过”;视觉评分为4-5的样品被认为“失败”。
- [0184] (c) 尺寸排阻色谱法
- [0185] 采用Waters ACQUITY H-class BioUPLC[®]系统(使用1.7 μ m Ethylene Bridged Hybrid**125Å**孔填充材料,300mm*4.6mm柱)进行胰岛素制剂的超高效尺寸排阻色谱法。将柱子在0.65mg/mL L-精氨酸、20%v/v乙腈、15%v/v冰醋酸流动相中进行平衡,以0.4mL/分钟对10 μ L用0.01M HCl酸化的样品进行分析,使用276nm UV检测。所有分析均在环境温度进行。结果以就总蛋白质含量而言的%高分子量物质(HMWS)表示。
- [0186] (d) 反相色谱法
- [0187] 采用Waters ACQUITY H-class BioUPLC[®]系统(使用1.7 μ m Ethylene Bridged Hybrid颗粒,用C18配体三官能化固定的**130 Å**孔树脂,50mm*2.1mm柱)进行超高效反相色谱法。将胰岛素样品在82%w/v Na₂SO₄、18%v/v乙腈,pH2.3的流动相中结合,用50%w/v Na₂SO₄、50%v/v乙腈梯度流洗脱。将2 μ L样品用0.01M HCl酸化,以0.61mL/分钟进行分析,使用214nm UV检测。所有分析均在40℃进行。
- [0188] 实施例1-实施例制剂
- [0189] 可以制备下述实施例制剂:
- [0190] 实施例A

	胰岛素化合物*	100U/ml
	磷酸钠	2mM
	苯酚	15.9mM
	间甲酚	15.9mM
	锌离子(作为 ZnCl_2)	19.7 $\mu\text{g/ml}$ (0.3mM), 基于制剂中胰岛素化合物的重量计等于 0.55% (w/w)
[0191]	烟酰胺	80mM
	NaCl	70mM
	十二烷基麦芽糖苷	0.1mM
	注射用水	适量
	残余 NaCl	制备期间的酸化和随后中和形成了 2-4mM NaCl
	pH	调节至 7.4
[0192]	实施例B:	
	胰岛素化合物*	100U/ml
	磷酸钠	2mM
	苯酚	15.9mM
	间甲酚	15.9mM
	锌离子(作为 ZnCl_2)	19.7 $\mu\text{g/ml}$ (0.3mM), 基于制剂中胰岛素化合物的重量计等于 0.55% (w/w)
[0193]	烟酰胺	80mM
	NaCl	70mM
	十二烷基麦芽糖苷	0.1mM
	注射用水	适量
	残余 NaCl	制备期间的酸化和随后中和形成了 2-4mM NaCl
	pH	调节至 7.8
[0194]	实施例C:	

	胰岛素化合物*	1000U/ml
	磷酸钠	2mM
	苯酚	15.9mM
	间甲酚	15.9mM
	锌离子(作为 ZnCl_2)	19.7 $\mu\text{g/ml}$ (0.3mM), 基于制剂中胰岛素化合物的重量计等于 0.55% (w/w)
[0195]	烟酰胺	80mM
	NaCl	70mM
	十二烷基麦芽糖苷	0.05mM
	注射用水	适量
	残余 NaCl	制备期间的酸化和随后中和形成了 2-4mM NaCl
	pH	调节至 7.4
[0196]	实施例D:	
	胰岛素化合物*	1000U/ml
	磷酸钠	2mM
	苯酚	15.9mM
	间甲酚	15.9mM
	锌离子(作为 ZnCl_2)	19.7 $\mu\text{g/ml}$ (0.3mM), 基于制剂中胰岛素化合物的重量计等于 0.55% (w/w)
[0197]	烟酰胺	80mM
	NaCl	70mM
	十二烷基麦芽糖苷	0.05mM
	注射用水	适量
	残余 NaCl	制备期间的酸化和随后中和形成了 2-4mM NaCl
	pH	调节至 7.8
[0198]	实施例E:	

	胰岛素化合物*	100U/ml
	磷酸钠	2mM
	苯酚	15.9mM
	间甲酚	15.9mM
	锌离子(作为 ZnCl_2)	19.7 $\mu\text{g/ml}$ (0.3mM), 基于制剂中胰岛素化合物的重量计等于 0.55% (w/w)
[0199]	烟酰胺	80mM
	NaCl	70mM
	聚山梨酯 80	0.05 mg/ml
	注射用水	适量
	残余 NaCl	制备期间的酸化和随后中和形成了 2-4mM NaCl
	pH	调节至 7.4
[0200]	实施例F:	
	胰岛素化合物*	1000U/ml
	磷酸钠	2mM
	苯酚	15.9mM
	间甲酚	15.9mM
	锌离子(作为 ZnCl_2)	19.7 $\mu\text{g/ml}$ (0.3mM), 基于制剂中胰岛素化合物的重量计等于 0.55% (w/w)
[0201]	烟酰胺	80mM
	NaCl	70mM
	聚山梨酯 80	0.05 mg/ml
	注射用水	适量
	残余 NaCl	制备期间的酸化和随后中和形成了 2-4mM NaCl
	pH	调节至 7.4
[0202]	实施例G:	
[0203]	胰岛素化合物*	100U/ml

	磷酸钠	2mM
	苯酚	15.9mM
	间甲酚	15.9mM
	锌离子(作为 ZnCl_2)	19.7 $\mu\text{g/ml}$ (0.3mM), 基于制剂中胰岛素化合物的重量计等于 0.55% (w/w)
[0204]	烟酰胺	80mM
	NaCl	70mM
	聚山梨酯 20	0.05 mg/ml
	注射用水	适量
	残余 NaCl	制备期间的酸化和随后中和形成了 2-4mM NaCl
	pH	调节至 7.4
[0205]	实施例H:	
	胰岛素化合物*	1000U/ml
	磷酸钠	2mM
	苯酚	15.9mM
	间甲酚	15.9mM
	锌离子(作为 ZnCl_2)	19.7 $\mu\text{g/ml}$ (0.3mM), 基于制剂中胰岛素化合物的重量计等于 0.55% (w/w)
[0206]	烟酰胺	80mM
	NaCl	70mM
	聚山梨酯 20	0.05 mg/ml
	注射用水	适量
	残余 NaCl	制备期间的酸化和随后中和形成了 2-4mM NaCl
	pH	调节至 7.4
[0207]	实施例I:	
	胰岛素化合物*	100U/ml
[0208]	磷酸钠	2mM

	苯酚	15.9mM
	间甲酚	15.9mM
	锌离子(作为 ZnCl_2)	19.7 $\mu\text{g/ml}$ (0.3mM), 基于制剂中胰岛素化合物的重量计等于 0.55% (w/w)
	烟酰胺	80mM
[0209]	柠檬酸	22mM
	甘油	70mM
	十二烷基麦芽糖苷	0.1mM
	注射用水	适量
	残余 NaCl	制备期间的酸化和随后中和形成了 2-4mM NaCl
	pH	调节至 7.4

[0210] 实施例A至I:*胰岛素化合物=门冬胰岛素或赖脯胰岛素或赖谷胰岛素或重组人胰岛素

[0211] 上述制剂的制备方法:

[0212] 将胰岛素粉末加入水中,加入HCl直至粉末完全溶解(pH必须<3以实现完全溶解)。加入 ZnCl_2 至所需水平。一旦溶解,将pH调节至约7,用水调节体积以使得胰岛素的浓度为2 \times 所需浓度。然后,将组合物与另外赋形剂的混合物(所有都为2 \times 所需浓度)以1:1 (v/v)混合。

[0213] 实施例2-在烟酰胺和另外赋形剂存在下的门冬胰岛素的稳定性

[0214] 于37 $^{\circ}\text{C}$ 储存后,将目前市售的 **NovoRapid[®]**速效产品制剂(表1中的制剂F1)中的门冬胰岛素的稳定性与多个含烟酰胺的制剂(表1中的制剂F2-F17)中的门冬胰岛素的稳定性进行比较。制剂F2含有精氨酸,并且基于W02010/149772的表1中的制剂K,已经显示其具有超速效药效动力学/药物动力学性质。制剂F2和W02010/149772的制剂K之间的唯一区别是使用磷酸盐缓冲剂代替TRIS以在与目前市售的 **NovoRapid[®]**相比时消除缓冲作用。制剂F3-F17被设计成用于研究(1)盐、(2)多元醇和(3)非离子表面活性剂对门冬胰岛素稳定性的作用。

[0215] 表1:所测试的门冬胰岛素的制剂F1-F17的组成。所有制剂包含门冬胰岛素(100U/ml)、作为 ZnCl_2 的锌离子(0.3mM)、苯酚(16mM)和间甲酚(16mM),调节至pH 7.4。其它组分在表格中列出。

[0216]

	磷酸 钠 (mM)	氯化 钠 (mM)	氯化 钾 (mM)	乙酸 钠 (mM)	精氨酸 (mM)	甘油 (mM)	甘露 醇 (mM)	烟酰胺 (mM)	表面活性剂: 聚山梨 酯 20 (A)或聚山梨酯 80 (B)或十二烷基麦 芽糖苷(C) (mg/ml)
F1	7	10				174			
F2	7	10			30	84		80	
F3	7				30	84		80	
F4	7					84		80	
F5	7					141		80	
F6	7						141	80	
F7	7	140						80	
F8	7	70						80	
F9	7	30				83		80	
F10	7		70					80	
F11	7			70				80	
F12	7					141		80	0.05 (A)
F13	7	70						80	0.05 (A)
F14	7					141		80	0.05 (B)
F15	7	70						80	0.05 (B)
F16	7					141		80	0.05 (C)
F17	7	70						80	0.05 (C)

[0217] 表2显示了制剂F1-F17的视觉评价的结果。出人意料地发现,含精氨酸的制剂F2与制剂F1(即**NovoRapid®**制剂)相比产生了显著更快的颗粒形成速率。制剂F2在于37℃储存1周后达到“失败”限,而制剂F1在相同温度储存3周后才达到该限。还显示,从制剂F2中移除10mM NaCl对颗粒形成速度没有显著影响(F3 vs.F2)。从制剂F3中移除精氨酸使得颗粒形成速度显著降低(F4 vs.F3),并且还发现,在不含精氨酸的制剂中增加甘油的浓度(F5 vs.F4)或将其替换为供选的多元醇甘露醇(F6 vs.F5)对颗粒形成速度仅有最小的影响。使用盐、包括氯化钠(F7-F9)、氯化钾(F10)和乙酸钠(F11)产生了与精氨酸存在下相似的颗粒形成速度。只有包含最低浓度的氯化钠的制剂(F7)在1周时显示产生了“通过”视觉评分,但是在2周时与所有其它包含盐的制剂一起达到“失败”评分5。将表面活性剂加入包含70mM氯化钠(F13、F15和F17)或141mM甘油(F12、F14和F16)的制剂中相当大地降低了颗粒形成速度。在所有情况中,颗粒形成速度比制剂F1(即**NovoRapid®**制剂)更低或与之相当。含十二烷基麦芽糖苷的制剂(F16和F17)给出了最佳的性能。

[0218] 表2:于37℃储存后门冬胰岛素制剂F1-F17的视觉评分。视觉评分1:澄清溶液,实际上不含颗粒;视觉评分2:~5个非常小的颗粒;视觉评分3:~10-20个非常小的颗粒;视觉评分4:20-50个颗粒,包括较大颗粒;视觉评分5:>50个颗粒,包括较大颗粒。

[0219]

	视觉评分 (0 周)	视觉评分 (1 周)	视觉评分 (2 周)	视觉评分 (3 周)	视觉评分 (4 周)
F1	1	2	3	4	5
F2	1	4	5	5	5
F3	1	4	5	5	5
F4	1	3	3	4	4
F5	1	3	4	4	4
F6	1	3	3	4	4
F7	1	4	5	5	5
F8	1	4	5	5	5
F9	1	3	5	5	5
F10	1	4	5	5	5
F11	1	4	5	5	5
F12	1	1	2	3	4
F13	1	2	3	3	5
F14	1	2	3	4	4
F15	1	2	3	3	4
F16	1	1	1	2	2
F17	1	1	1	2	3

[0220] 表3显示了制剂F1-F17中HMWS的形成,表4显示了化学相关物质的形成。与制剂F1 (即 **NovoRapid®** 制剂) 相比,含精氨酸的制剂F2产生了更低的HMWS和化学相关物质的速率。从制剂F3中移除精氨酸导致损害了就HMWS而言和就化学相关物质而言两者的稳定性 (F4 vs. F3)。在不含精氨酸的制剂中增加甘油的浓度 (F5 vs. F4) 或将其替换为供选的多元醇甘露醇 (F6 vs. F5) 对稳定性仅有最小的影响。与不含盐的制剂相比,使用盐、包括氯化钠 (F7-F9)、氯化钾 (F10) 和乙酸钠 (F11) 产生了就HMWS而言和就化学相关物质而言更好的稳定性。盐的有益作用显示是浓度依赖性的 (F7-F9), 在所有情况中其优于制剂F1 (即 **NovoRapid®** 制剂)。将非离子表面活性剂加入包含70mM氯化钠 (F13、F15和F17) 或141mM甘油 (F12、F14和F16) 的制剂中产生了就HMWS而言和就化学相关物质而言仅仅是最小的对稳定性的影响。

[0221] 总之,只有含非离子表面活性剂和盐的制剂产生了在所有方面比市售制剂 **NovoRapid®** 中获得的稳定性显著更好的稳定性。

[0222] 表3:在37°C储存后通过SEC评价门冬胰岛素制剂F1-F17中HMWS的增加 (vs. 起始)

[0223]

	Δ % HMWS (2 周 vs. 起始)	Δ % HMWS (4 周 vs. 起始)
F1	0.39	0.69
F2	0.20	0.37
F3	0.19	0.35
F4	0.55	1.01
F5	0.53	0.96
F6	0.43	0.91
F7	0.21	0.41
F8	0.25	0.52
F9	0.33	0.63
F10	0.25	0.66

[0224]

F11	0.29	0.70
F12	0.60	1.20
F13	0.28	0.58
F14	0.60	1.21
F15	0.30	0.55
F16	0.66	1.23
F17	0.26	0.52

[0225] 表4: 在37℃储存后通过反相色谱法评价门冬胰岛素制剂F1-F17中化学相关物质的增加(vs. 起始)

[0226]

	Δ %化学相关物质 (2 周 vs. 起始)	Δ %化学相关物质 (4 周 vs. 起始)
F1	1.56	3.35
F2	0.98	2.09
F3	1.00	2.14
F4	1.49	3.39
F5	1.52	3.38
F6	1.39	2.99
F7	0.82	1.64
F8	0.98	1.84
F9	1.22	2.59
F10	0.86	1.75
F11	0.97	2.16
F12	1.71	3.37
F13	1.00	1.89
F14	1.6	3.33
F15	1.02	1.80
F16	1.72	3.34
F17	0.95	1.68

[0227] 在整个说明书和下述权利要求书中,除非上下文另作要求,否则词语‘包含’、‘含有’和‘含’将理解为指包括所指整数、步骤、整数集合或步骤集合,但是不排除任何其它整数、步骤、整数集合或步骤集合。

[0228] 如本文的短语如“A和/或B”中使用的术语“和/或”意指包括A和B二者;A或B;A(单独);和B(单独)。同样,在短语如“A、B和/或C”中使用的术语“和/或”意指囊括下述每一种方案:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);和C(单独)。

[0229] 将引用的所有公开物、专利、专利申请、互联网站点和登记号/数据库序列(包括多核苷酸和多肽序列)通过引用整体引入本文用于所有目的,其程度与每份单独的公开物、专利、专利申请、互联网站点或登记号/数据库序列被具体地和独立地指示通过引用而引入相同。

[0230] 序列表

[0231] SEQ ID NO:1:GIVEQCCTSICSLYQLENYCN

[0232] SEQ ID NO:2:FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKT

[0233] SEQ ID NO:3:FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTKPT

[0234] SEQ ID NO:4:FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTDKT

[0235] SEQ ID NO:5:FVKQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPET

序列表

<110> 艾瑞克有限公司

<120> 新制剂

<130> ACR-P2144PCT

<160> 5

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu
1 5 10 15

[0001]

Glu Asn Tyr Cys Asn
20

<210> 2

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr
20 25 30

<210> 3

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 赖脯胰岛素的 B 链

<400> 3

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Lys Pro Thr
20 25 30

<210> 4

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 门冬胰岛素的 B 链

<400> 4

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

[0002]

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Asp Lys Thr
20 25 30

<210> 5

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 赖谷胰岛素的 B 链

<400> 5

Phe Val Lys Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Glu Thr
20 25 30