



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115531523 A

(43) 申请公布日 2022. 12. 30

(21) 申请号 202211268333.3

(22) 申请日 2016.09.25

(30) 优先权数据

62/233,032 2015.09.25 US

15/136,650 2016.04.22 US

(62) 分案原申请数据

201680056000.0 2016.09.25

(71) 申请人 XERIS药物公司

地址 美国得克萨斯州

(72) 发明人 史蒂文·普莱斯特斯基

马丁·多诺万 迈克尔·桑多瓦尔

(74) 专利代理机构 北京柏杉松知识产权代理事

务所(普通合伙) 11413

专利代理师 回振海 王庆艳

(51) Int. Cl.

A61K 38/22 (2006.01)

A61K 38/28 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 47/20 (2006.01)

A61K 47/04 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

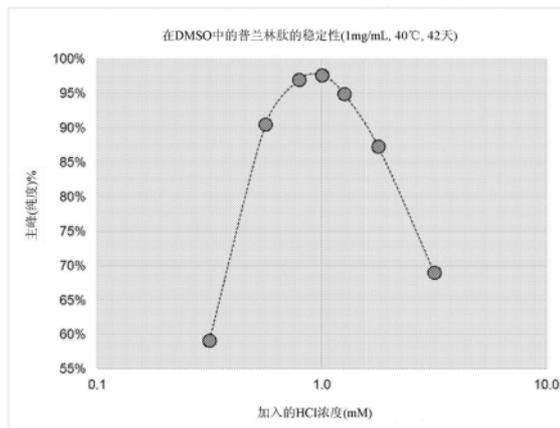
权利要求书1页 说明书26页 附图2页

(54) 发明名称

在非质子极性溶剂中制备稳定的普兰林肽治疗制剂的方法

(57) 摘要

某些实施方案涉及治疗剂的制剂以及制备这种制剂的方法,所述制剂包含至少一种溶解于非质子极性溶剂体系中的治疗剂,所述体系包含至少一种电离稳定赋形剂,所述电离稳定赋形剂的浓度足以赋予所述治疗剂物理和化学稳定性。



1. 一种稳定的制剂,其包含:

(a) 普兰林肽或其盐,其中所述普兰林肽或其盐不是通过在溶解于非质子极性溶剂中之前从缓冲水溶液中干燥而制备的;

(b) 电离稳定赋形剂,其中所述电离稳定赋形剂是无机酸,所述无机酸选自盐酸、硫酸或硝酸,所述电离稳定赋形剂的浓度为0.1mM至小于100mM;和

(c) 非质子极性溶剂,其是二甲基亚砜;

其中(i)所述普兰林肽或其盐直接溶解于所述非质子极性溶剂中,其量为0.1mg/mL至所述普兰林肽或其盐的溶解极限,并且(ii)所述电离稳定赋形剂直接溶解于所述非质子极性溶剂中,其量为使所述普兰林肽或其盐的电离稳定。

2. 根据权利要求1所述的稳定的制剂,其还包含胰岛素肽或其盐,其中所述胰岛素肽或其盐溶解于所述非质子极性溶剂中,其量为0.1mg/mL至所述胰岛素肽或其盐的溶解极限。

3. 根据权利要求2所述的稳定的制剂,其中普兰林肽与胰岛素的比为1:3.5。

4. 根据权利要求1所述的稳定的制剂,其中所述非质子极性溶剂是脱氧的二甲基亚砜。

5. 根据权利要求1所述的稳定的制剂,其中水分含量小于10%w/w。

6. 根据权利要求5所述的稳定的制剂,其中水分含量小于5%w/w。

7. 根据权利要求5所述的稳定的制剂,其中水分含量小于3%w/w。

8. 根据权利要求1所述的稳定的制剂,其还包含小于10%w/v的防腐剂。

9. 根据权利要求8所述的稳定的制剂,其还包含小于5%w/v的防腐剂。

10. 根据权利要求8所述的稳定的制剂,其还包含小于3%w/v的防腐剂。

11. 根据权利要求8所述的稳定的制剂,其中所述防腐剂是苯甲醇。

12. 根据权利要求1所述的稳定的制剂,其还包含小于10%w/v的二糖。

13. 根据权利要求12所述的稳定的制剂,其还包含小于5%w/v的二糖。

14. 根据权利要求12所述的稳定的制剂,其还包含小于3%w/v的二糖。

15. 根据权利要求12所述的稳定的制剂,其中所述二糖是海藻糖。

16. 根据权利要求1所述的稳定的制剂在制备用于治疗在有需要的对象中的糖尿病病症的药物中的用途,其中对所述有需要的对象施用有效量的根据权利要求1所述的稳定的制剂。

17. 根据权利要求16所述的用途,其中通过肠胃外注射来施用所述稳定的制剂。

18. 根据权利要求17所述的用途,其中所述注射是皮内注射。

在非质子极性溶剂中制备稳定的普兰林肽治疗制剂的方法

[0001] 本申请是申请日为2016年9月25日申请号为201680056000.0发明名称为“在非质子极性溶剂中制备稳定的胰高血糖素治疗制剂的方法”的中国专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明一般涉及用于肠胃外施用的治疗制剂。特别地,本发明涉及用非质子极性溶剂来制备稳定的治疗制剂,其通过将治疗剂(活性成分)溶解于非质子极性溶剂体系中制备,而不需要在溶解于非质子极性溶剂体系之前从缓冲水溶液中干燥肽。除了所述活性成分之外,制剂中还可以包含稳定赋形剂,特别是电离稳定赋形剂。

背景技术

[0003] 肽溶于非质子极性溶剂中相对于溶于水溶液中可表现出增强的稳定性和溶解性(参见US2014/0005135和US8,697,644);然而,由于不具有存储稳定性,将一些肽直接溶解于非质子极性溶剂中通常不是一种可行的制备稳定的和治疗性的组合物的方法。一个特别的例子是胰高血糖素,一种用于治疗低血糖症的含有29个氨基酸残基的肽激素。胰高血糖素的等电点约为7.0,并且该分子在中性pH下基本不溶。因此,在分子能够以治疗相关浓度溶解之前,必须将水溶液制备成酸性或碱性。然而,酸性和碱性溶液促进胰高血糖素的降解途径,并且众所周知的是,在稀酸性溶液中胰高血糖素分子具有原纤维化和形成凝胶状聚集体的倾向。因此,由于胰高血糖素分子的不稳定性,目前可用的治疗剂是以冻干粉末的形式出售的,该粉末必须在使用前用稀释剂现重构。相比之下,在非质子极性溶剂如二甲基亚砜(DMSO)中,胰高血糖素分子可以表现出增强的稳定性和溶解性。

[0004] 除了肽和蛋白质之外,相对于水溶液来说,非质子极性溶剂也可以增强治疗性小分子药物的溶解性和稳定性。例如,在中性pH下,小分子药物地西洋在水中表现出极低的溶解度($<2\text{mg/mL}$)。为了提高地西洋的溶解度,将水溶液的pH制备成酸性或碱性,这又增加了地西洋水解和降解的速率。相反,地西洋在非质子极性溶剂二甲基亚砜(DMSO)和N-甲基吡咯烷酮(NMP)中是易溶的,相对于中性水溶液来说,其在DMSO和NMP中的溶解度至少要高一个数量级($>50\text{mg/mL}$)。此外,在不存在制剂赋形剂的情况下,地西洋分子在DMSO和NMP中是稳定的,且在加速储存条件(40°C , $75\%\text{RH}$)下,地西洋在非质子极性溶剂中显示至少6个月的稳定性(参见美国专利号9,125,805)。

[0005] 在现有技术中已经描述了通过将肽直接溶解在非质子极性溶剂中来制备非水性肽制剂。例如,McMullen(英国专利申请2,119,248A,下文称为McMullen'248)描述了通过将胰岛素晶体直接溶解在DMSO中来制备胰岛素溶液。Stevenson等人(美国专利号5,932,547,下文称为Stevenson'547)公开了通过将肽直接溶解于非质子极性溶剂如DMSO或二甲基甲酰胺(DMF)中来制备肽组合物。Stevenson'547描述的组合物是通过将从制造商或供应商处获得的肽粉末直接溶解在非水溶剂中制备而成的溶液,并不包括使用稳定赋形剂添加到制剂,以此来建立可接受的电离特性,从而用于防止治疗分子的物理和/或化学降解。虽然相对于水将治疗分子直接溶解于非质子极性溶剂如DMSO中可以提高治疗分子的溶解度,但是

该分子仍然易受多种物理和化学降解途径的影响。因此,对于许多治疗分子来说,已经发现,将这些治疗分子直接溶解在非质子极性溶剂体系中,并不适合制备这些分子的稳定制剂。作为实例,在治疗相关浓度(例如,5mg/mL或约0.45% (w/w))下,将胰高血糖素粉末直接溶解在DMSO中制备而成的溶液,可以在初始形成澄清的单相组合物,但最终在室温下24小时内将会形成不溶性聚集体。因此,将一些肽直接溶解于非质子极性溶剂中并不是一种用于制备稳定的治疗制剂的可行方法。

[0006] 本发明的制剂也不同于Prestrelski等人(美国专利8,697,644,下文称为Prestrelski'644)所描述的制剂,Prestrelski'644中公开了从缓冲水溶液中干燥活性成分(例如肽),然后将所述肽粉末重构于非质子极性溶剂中,以此制备肽制剂。根据该方法,所述分子从用于干燥的缓冲水溶液中获得电离特性,可以在粉末中保留,并且在非质子极性溶剂体系中溶解后继续保留。肽在干燥状态下保持其来自最后的水溶液电离特性的能力被称为“pH记忆”,所述肽是从该最终的水溶液干燥的。然而,该方法需要在非质子极性溶剂中重构之前进行干燥步骤,如冷冻干燥或喷雾干燥,此时将需要稳定赋形剂来保护分子免于干燥期间遇到的应力(例如热应力,机械应力,界面应力)。此外,由于针对特定的治疗剂,干燥分子所需的操作参数和配方组分必须经常进行优化,而且从实验室规模转移到大规模生产和加工需要进一步的方法开发和优化,因此在产品开发途径中加入干燥步骤,在时间和费用两方面均显著增加了成本。

[0007] 因此,仍然需要一种制剂平台,该制剂平台能够结合非质子极性溶剂体系提供的稳定性和溶解性,但是在生物相容的非质子极性溶剂体系中重构治疗分子之前,去除从水溶液干燥的要求,从而实现产品开发途径的简化和/或加快。

发明内容

[0008] 当将治疗分子溶于非质子极性溶剂体系中时,其通常需要最佳或有益的电离特性以表现出延长的稳定性。本发明涉及一项出人意料的发现,即通过将治疗剂直接溶解于含有特定浓度的至少一种电离稳定赋形剂的非质子极性溶剂体系中,就可以获得治疗分子的最佳或有益的电离特性。本发明的某些实施方案涉及用于制备稳定的制剂的方法,所述稳定的制剂含有至少一种溶解在非质子极性溶剂体系中的治疗分子,该方法不需要在将治疗分子在非质子极性溶剂体系中重构之前将其预先从缓冲水溶液干燥。

[0009] 将治疗剂直接溶解于非质子极性溶剂中或者将治疗剂在非质子极性溶剂中重构之前从水溶液中干燥,会产生潜在的稳定性问题和增加的制造复杂性的问题,对此本发明人已经找到了解决方案。该解决方案在于直接将治疗剂(例如从商业制造商或供应商处获得的粉末)以及有效量的用于构建治疗剂的适当电离的电离稳定赋形剂溶解在非质子极性溶剂体系中。

[0010] 特别是,能在非质子极性溶剂体系中重构之前避免从缓冲水溶液中干燥肽例如通过冷冻干燥,预期在各种产品开发的整个期间都会节省大量的时间和成本。众所周知,干燥方法的发展是一项昂贵且耗时的处理步骤,其通常必须针对每种治疗分子量身定制。此外,由于最初的研究和优化的加工步骤是实验室规模,而在生产期间,使用的是与实验室规模相比大大不同的设备和/或仪器,由此将干燥步骤放大将会变得复杂。因此,如果能够在没有这种干燥步骤的情况下,通过将活性成分直接溶解在非质子极性溶剂体系中来制备稳定

的治疗性肽制剂,将会通过省去昂贵且耗时的处理步骤来促进放大和制造。此外,在干燥过程中,由于治疗剂暴露于多重应力下,会降解所述分子,由此通常需要向制剂中添加稳定赋形剂(例如二糖,如海藻糖和蔗糖),主要用来防止活性剂在干燥过程中降解。通过省去干燥步骤,可以尽可能少地使用额外的稳定赋形剂,特别是通常包括在干燥步骤期间为提供稳定性而包括的那些稳定赋形剂,从而可以使得整个制剂简化。

[0011] 本发明人的另一发现是将治疗剂溶解于非水非质子极性溶剂(例如DMSO)可以制备稳定的溶液,其通过向非水非质子极性溶剂中加入特定量的化合物或化合物组合来实现,所述化合物起到电离稳定赋形剂的作用。不希望受理论束缚,据信电离稳定赋形剂可以作为非质子极性溶剂体系中的质子源(例如,可以将质子捐献给治疗分子的分子),其可以使治疗分子上的离子化基团质子化,从而使得在非质子极性溶剂体系中的治疗分子具有改善的物理和化学上稳定的电离特性。在本发明的一个方面中,公开了一种用于肠胃外注射的稳定制剂。或者,可以经由透皮递送,例如通过局部施用于皮肤。

[0012] 某些实施方案涉及治疗剂的制剂,所述制剂中治疗剂的浓度至少、最多或约为0.1mg/mL、1mg/mL、10mg/mL、50mg/mL或100mg/mL至150mg/mL、200mg/mL、300mg/mL、400mg/mL或500mg/mL或达到治疗剂在非质子极性溶剂体系中的溶解极限,所述非质子极性溶剂体系中包含至少一种浓度为所述治疗剂提供物理和化学稳定性的电离稳定赋形剂。在某些方面,所述治疗剂为肽。在其他方面,所述治疗剂是小分子。该制剂可以包含电离稳定赋形剂,所述电离稳定赋形剂的浓度至少、最多或约为0.01mM、0.1mM、0.5mM、1mM、10mM或50mM至10mM、50mM、75mM、100mM、500mM、1000mM或达到电离稳定赋形剂在非质子极性溶剂体系中的溶解极限。在某些方面,所述电离稳定赋形剂的浓度为0.1mM至100mM。在某些实施方案中,所述电离稳定赋形剂可以是合适的无机酸,例如盐酸。在某些方面,所述电离稳定赋形剂可以是有机酸,例如氨基酸,氨基酸衍生物,或者是氨基酸的盐或氨基酸衍生物的盐(实例包括甘氨酸,三甲基甘氨酸(甜菜碱),甘氨酸盐酸盐和三甲胺甘氨酸(甜菜碱)盐酸盐)。另一方面,所述氨基酸可以是甘氨酸或氨基酸衍生物三甲胺甘氨酸。在某些方面,肽小于150个、100个、75个、50个或25个氨基酸。在其它方面,所述非质子极性溶剂体系包含DMSO。所述非质子极性溶剂可以是脱氧的,例如脱氧的DMSO。在某些实施方案中,可以首先将电离稳定赋形剂加入到非质子极性溶剂体系中,然后加入治疗分子来制备制剂。或者,可以首先将治疗分子溶解于非质子极性溶剂体系中,然后加入电离稳定赋形剂。另一方面,电离稳定赋形剂和治疗分子可以同时溶解于非质子极性溶剂体系中。在某些方面,治疗剂是胰高血糖素或其盐。

[0013] 本发明的其它实施方案涉及稳定配制治疗剂(例如,肽或小分子)的方法,其包括以下步骤:(a) 计算或确定适合的电离稳定赋形剂或需要的质子浓度,以便实现目标治疗剂(例如肽或小分子)在非质子极性溶剂体系中的稳定电离特性;(b) 将至少一种电离稳定赋形剂与非质子极性溶剂体系混合以获得合适的电离环境,以便提供步骤(a)中确定的电离特性;和(c) 将所述目标治疗剂溶解在所述非质子极性溶剂中,所述非质子极性溶剂中具有能够在物理和化学上稳定所述治疗剂的合适环境。在某些非限制性方面,在室温下,治疗剂能够在化学或物理上稳定至少约0.25,0.5,1,2,3,4或5年。在某些方面,治疗剂的溶解以及电离稳定赋形剂向非质子极性溶剂体系中的添加可以以任何顺序或同时进行,因此可以首先混合电离稳定赋形剂,随后溶解治疗剂,或者可以先将治疗剂溶解,然后向溶液中加入电

离稳定赋形剂,或者可以将电离稳定赋形剂和治疗剂同时加入或溶解在非质子极性溶剂体系中。另一方面,组分(例如,治疗剂或电离稳定赋形剂)的全部量不需要在特定点混合;也就是说,一个或多个组分的一部分可以在第一次,第二次或同时进行混合,另一部分可以在另一时间,第一次,第二次或同时进行混合。在某些方面,治疗剂可以为肽,电离稳定赋形剂可以是合适的无机酸,如盐酸,硫酸和/或硝酸。在某些方面,肽小于150,100,75,50或25个氨基酸。加入到溶液中的治疗剂和/或电离稳定赋形剂的浓度可以为0.01,0.1,1,10,100,1000mM或达到其溶解极限,包括其间的所有值和范围。在某些方面,非质子极性溶剂体系是脱氧的。另一方面,非质子极性溶剂体系包含DMSO或脱氧的DMSO、基本上由DMSO或脱氧的DMSO组成或由DMSO或脱氧的DMSO组成。

[0014] 在本发明的另一方面,公开了一种用于治疗或预防病症,疾病,障碍等的方法,其包括向有需要的对象施用有效量的本发明的制剂,以治疗或预防所述病症,疾病,障碍等。在本发明的方法中,可以施用任何合适剂量的治疗剂(例如蛋白质,肽或小分子)。当然,施用的剂量将根据已知因素而变化,例如特定化合物,盐或其组合的药理学特征;对象的年龄,健康或体重;症状的性质和程度;药物和患者的代谢特点,并行治疗的种类;治疗频率;或期望的效果。在某些方面,可以通过施用本文所述的包含有效量的胰高血糖素的制剂来治疗低血糖症。

[0015] 本文所述的稳定制剂可用于任何治疗剂(蛋白质,肽和/或小分子)的肠胃外注射,这些治疗剂在水性环境中具有有限或较差的稳定性或溶解度。在某些方面,本文所述的制剂以可注射制剂的形式提供。所述可注射的制剂可以施用到动物的表皮,真皮或皮下层。在某些方面,制剂是皮内施用的。

[0016] 因此,在一些实施方案中,治疗剂或肽或其盐选自:胰高血糖素,普兰林肽,胰岛素,亮丙瑞林,LHRH激动剂,甲状旁腺激素(PTH),胰淀素,肉毒杆菌毒素,血浆肽,淀粉样肽,肠促胰酶肽,芋螺毒素,胃抑制肽,胰岛素生长因子,生长激素释放因子,抗微生物因子,格拉替雷,胰高血糖素样肽(GLP-1),GLP-1激动剂,艾塞那肽,其类似物和混合物。在一种优选实施方案中,所述肽为胰高血糖素或胰高血糖素类似物或胰高血糖素模拟肽。在另一种实施方案中,所述肽为甲状旁腺激素。在又一种实施方案中,所述肽是亮丙瑞林。在又一种实施方案中,所述肽是格拉替雷。在又一种实施方案中,第一肽是普兰林肽,第二肽是胰岛素。在又一种实施方案中,第一肽是胰高血糖素,第二肽是艾塞那肽。

[0017] 定义

[0018] 在此使用的术语“溶解”是指这样的一种过程,通过该过程,处于气体,固体或液体状态的物质成为溶剂的溶质、溶解成分,从而形成气体、液体或固体在溶剂中的溶液。在某些方面,治疗剂或赋形剂例如电离稳定赋形剂以其溶解极限的量存在或完全溶解。术语“溶解于”是指气体,液体或固体掺入溶剂中以形成溶液。

[0019] 在此使用的术语“赋形剂”是指与药物的活性成分或治疗成分(不是活性成分的成分)一起配制成制剂的天然或合成物质,其包括用于最终剂型的稳定化,膨化或者用于增强活性成分的治疗作用,例如促进药物吸收,降低粘度,增加溶解性,调节张力,缓解注射部位不适,降低凝固点或增加稳定性。赋形剂除了有助于体外稳定性例如防止在保存期内的变性或聚集之外,在生产过程中也可以是有用的,例如通过促进粉末流动性或不粘特性,以有助于相关活性物质的处理。

[0020] 本发明上下文中的“小分子药物”指的是能够为对象带来期望的,有益的和/或药理学作用的生物活性化合物(及其盐)。这些“小分子药物”是有机或无机化合物。因此,本发明上下文中的小分子药物不是聚合化合物。通常,所述小分子药物的分子量小于约1000道尔顿。某些小分子药物“对水分敏感”,因为在水存在下,它们会越来越不稳定。而且,可以与小分子药物一起使用的盐是本领域技术人员已知的,包括无机酸盐,有机酸盐,无机碱盐或有机碱盐。

[0021] 术语“治疗剂”涵盖蛋白质,肽,小分子药物及其药学上可接受的盐。可用的盐是本领域技术人员已知的,包括无机酸盐,有机酸盐,无机碱盐或有机碱盐。可用于本发明的治疗剂是施用于人或动物时影响所希望的、有益的以及常常是药理学效果的那些蛋白质,肽和小分子化合物,无论单独使用还是与其他药物赋形剂或惰性成分一起使用均是如此。

[0022] 术语“肽”和“肽类化合物”是指由酰胺(CONH)或其他键连接在一起的多达约200个氨基酸残基的氨基酸或氨基酸样(肽模拟物)聚合物。在某些方面,肽最高可以达到150,100,80,60,40,20或10个氨基酸。“蛋白质”和“蛋白质化合物”是指通过酰胺键连接在一起的大于200个氨基酸残基的聚合物。在此公开的任何肽或蛋白质化合物的类似物,衍生物,激动剂,拮抗剂和药学上可接受的盐都包括在这些术语中。该术语还包括具有D-氨基酸,在D-构型或L-构型和/或肽模拟物单元中修饰的,衍生的或天然存在的氨基酸作为它们的结构的一部分的肽,蛋白质,肽化合物和蛋白质化合物。

[0023] 当提及肽或蛋白质时,“类似物”和“相似物”指的是修饰的肽或蛋白质,其中肽或蛋白质的一个或更多个氨基酸残基已被其他氨基酸残基取代,或者其中的一个或更多个氨基酸残基已经从肽或蛋白质中删除,或者其中的一个或更多个氨基酸残基已被添加到肽或蛋白质中,或者是这些修饰的任意组合。氨基酸残基的添加,删除或取代可以发生在沿着肽的一级结构的任何点或多个点,包括在所述肽或蛋白质的N端和/或在所述肽或蛋白质的C端。

[0024] 关于母体肽或蛋白质的“衍生物”指的是化学修饰的母体肽或蛋白质或其类似物,其中至少一个取代基不存在于母体肽或蛋白质或其类似物中。一个非限制性实例是已被共价修饰的亲本肽或蛋白质。典型的修饰是酰胺,碳水化合物,烷基,酰基,酯,聚乙二醇化等。

[0025] “单相溶液”指的是治疗剂溶解于溶剂或溶剂体系(例如两种或更多种溶剂的混合物)中制备而成的溶液,其中所述治疗剂完全溶解于溶剂中并且不可见颗粒物质,使得溶液可被描述为是光学澄清的。单相溶液也可以被称为“单相体系”,并且与“两相体系”的区别在于后者由悬浮在流体中的颗粒物质(例如粉末)组成。

[0026] “抑制”或“减少”或这些术语的任何变化包括任何可测量的减少或完全抑制,以实现期望的结果。

[0027] “有效”或“治疗”或“预防”或这些术语的任何变化意味着足以实现期望的,预期的或意图的结果。

[0028] 当涉及治疗剂时,“化学稳定性”是指由化学途径如氧化和/或水解和/或分裂和/或其他化学降解途径所产生的降解产物的百分比是可接受的。具体而言,如果产品在预期存储温度(例如室温)下储存一年,或产品在25°C/60%相对湿度下储存一年,或产品在40°C/75%相对湿度下储存一个月,最好是三个月后,形成不超过约20%的分解产物,则认为制剂是化学稳定的。在一些实施方案中,产品在预期存储温度下长时间储存后,化学稳定的

制剂形成的分解产物小于30%，小于25%，小于20%，小于15%，小于10%，小于5%，小于4%，小于3%，小于2%，或者小于1%。

[0029] 当提及治疗剂时，“物理稳定性”指的是形成的聚集体（例如二聚体，三聚体和更大形式）的百分比是可接受的。具体而言，如果产品在预期存储温度（例如室温）下储存一年；或产品在25℃/60%相对湿度下储存一年；或产品在40℃/75%相对湿度下储存一个月，最好是三个月后，形成不超过约15%的聚集体，则认为该制剂是物理稳定的。在一些实施方案中，产品在预期存储温度下长时间储存后，物理稳定的制剂的聚集体小于15%，小于10%，小于5%，小于4%，小于3%，小于2%或小于1%。

[0030] “稳定的制剂”指的是在室温下储存两个月后至少约65%的治疗剂（例如，肽或其盐）保持化学和物理稳定的制剂。特别优选的制剂是，在这些储存条件下至少约80%，85%，90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%或99%的治疗剂保持化学和物理稳定的那些制剂。特别优选的稳定的制剂在经过杀菌辐射（例如， γ 、 β 或电子束）后不表现出降解。

[0031] 如本文所用，“肠胃外施用”指的是经由不同于消化道的途径向患者施用治疗剂，不经由消化道的任何施用。

[0032] 如本文所用，“肠胃外注射”是指通过在动物例如人的一个或更多个皮肤层或粘膜下或者经由动物例如人的一个或更多个皮肤层或粘膜注射施用治疗剂（例如肽或小分子）。标准的肠胃外注射是对动物例如人的皮下、肌肉内或皮内区域给药。相对于真皮浅层部位，这些深层定位是有针对性的，因为组织更容易扩张，从而适应递送大多数治疗剂所需的注射体积，例如0.1至3.0cc (mL)。

[0033] 术语“皮内”包括施用到表皮，真皮或皮下皮肤层中。

[0034] 在此使用的术语“非质子极性溶剂”是指不含酸性氢且因此不作为氢键供体的极性溶剂。非质子极性溶剂包括但不限于二甲基亚砜 (DMSO)，二甲基甲酰胺 (DMF)，乙酸乙酯，N-甲基吡咯烷酮 (NMP)，二甲基乙酰胺 (DMA) 和碳酸丙二醇酯。

[0035] 在此使用的术语“非质子极性溶剂体系”是指溶剂是单一的非质子极性溶剂（例如纯净的DMSO）或者是两种或更多种非质子极性溶剂的混合物（例如，DMSO和NMP的混合物）的溶液。

[0036] 在此使用的“残余水分”可指经由制造商/供应商制备后的药物粉末中的残余水分。典型的粉末通常具有含量最高达10% (w/w) 的残留水分。当这些粉末溶解在非质子极性溶剂体系中时，粉末中的残留水分被并入制剂中。此外，非质子极性溶剂中也可能含有一定水平的残留水分。例如，新开瓶的USP级的DMSO可能含有最高达0.1% (w/w) 的水分。残余水分不同于“添加的水分”，添加的水分中的水是被有意地添加到制剂中，例如用作共溶剂或降低非质子极性溶剂体系的凝固点。在加入电离稳定赋形剂（例如，通过从储存水溶液中加入无机酸（例如1N HCl））期间，也可能将水分引入到制剂中。制备后即刻形成的制剂中的总水分含量(%w/w, 除非另有说明) 来自于残留水分和添加水分。

[0037] 如本领域普通技术人员所理解的，术语“约”或“近似”或“基本不变”定义为接近于，并且在一个非限制性实施方案中，该术语被定义为在10%以内，优选5%以内，更优选1%以内，最优选0.5%以内。此外，“基本上不含水”是指按重量或体积计，有小于5%，4%，3%，2%，1%或更少的水。

[0038] “药学上可接受的”成分,赋形剂或组分是适合与人类和/或动物一起使用,且没有与合理的效益/风险比相对应的不当副作用(例如毒性,刺激性和过敏反应)的成分。

[0039] “药学上可接受的载体”是指用于将本发明的药物化合物递送至哺乳动物例如人的药学上可接受的溶剂,悬浮剂或载剂。

[0040] 在此使用的“电离稳定赋形剂”是构建和/或维持治疗剂的特定电离状态的赋形剂。在某些方面,所述电离稳定赋形剂可以是或者包括在适当条件下提供至少一个质子或是质子源的分子。根据Bronsted-Lowry的定义,酸是可以将质子捐献给另一个分子的分子,因此可以将接受捐献的质子的分子归类为碱。如在本申请中所使用的,并且如技术人员将理解的那样,术语“质子”是指氢离子,氢阳离子或 H^+ 。氢离子没有电子,并且由通常仅由质子(对于最常见的氢同位素,氕)组成的核构成。具体而言,不管一种分子在非质子极性体系中完全电离,大部分电离,部分电离,大部分不电离,或者完全不电离,只要它可以将质子捐献给治疗剂,均可以被认为是酸或质子源。

[0041] 在此使用的“无机酸”是衍生自一种或更多种无机化合物的酸。因此,无机酸也可以称为“矿物酸”。无机酸可以是一元或多元的(例如二元的,三元的等)。无机酸的实例包括盐酸(HCl),硝酸(HNO_3),硫酸(H_2SO_4)和磷酸(H_3PO_4)。

[0042] 如本文所述,“有机酸”是具有酸性特性的有机化合物(即可以用作质子源)。羧酸如乙酸或柠檬酸是有机酸的一个例子。其他已知的有机酸的例子包括但不限于醇,硫醇,烯醇,酚和磺酸。有机酸可以是一元或多元的(例如二元的,三元的等)。

[0043] “电荷特性”,“电荷状态”,“电离”,“电离状态”和“电离特性”可以互换使用,并且是指由于肽的离子基团的质子化和/或去质子化引起的电离状态。

[0044] 在此使用的“共制剂”是含有溶解于非质子极性溶剂体系中的两种或更多种治疗剂的制剂。所述治疗剂可以属于同一类(例如,包含两种或更多种治疗性肽如胰岛素和普兰林肽的共制剂),或者所述治疗剂可以属于不同种类(例如包含一种或更多种治疗性小分子和一种或更多种治疗性肽分子的共制剂,例如GLP-1和利索茶碱)。

[0045] 在权利要求和/或说明书中,与术语“包括”一起使用的要素前没有数量词时,可以表示“一个(种)”,但是也可指“一个(种)或更多个(种)”,“至少一个(种)”和“一个(种)或多于一个(种)”。

[0046] 词语“包含”,“具有”,“包含”或“含有”都是包括性或开放式的,并且不排除其他的,未列举出的元素或方法步骤。

[0047] 根据以下详细描述,本发明的其他目的,特征和优点将变得明显。然而,应该理解的是,尽管指出了本发明的具体实施方案,但是详细描述和实施例仅以示例的方式给出。另外,可以预期的是,根据该详细描述,对于本领域技术人员来说,在本发明的精神和范围内的改变和修改将会变得明显。

附图说明

[0048] 以下附图作为本发明说明书的一部分并且被包括在说明书中,以进一步说明本发明的某些方面。通过参考这些附图中的一个或多个附图并结合在此给出的对于说明书实施例的详细描述,可以更好地理解本发明。

[0049] 图1(左图)显示当胰高血糖素以5mg/mL直接溶解于DMSO中(如Stevenson所述)时,

在室温下24小时后形成不溶性颗粒。右图显示了胰高血糖素溶解在含有5mM甘氨酸盐酸盐的DMSO中制成的制剂(浓度5mg/m),所述制剂在40℃下储存至少六周后保持澄清。

[0050] 图2显示了当溶于DMSO中时,HCl浓度对普兰林肽稳定性的影响。

具体实施方式

[0051] 当将标准小分子,肽和蛋白质分子制备成水溶液时,所述标准小分子,肽和蛋白质分子可能对多种物理和化学降解途径敏感。对于许多这些治疗分子来说,需水的降解途径(例如水解,外消旋化,脱酰胺化)不能避免,因此这些分子不能被充分稳定。因此,不能将许多治疗剂制备成用于肠胃外注射的稳定溶液,而是将它们制备成粉末,在使用前现重构。

[0052] 为了解决许多治疗分子在水中表现出的物理和/或化学不稳定性,可以将治疗剂溶解在生物相容性非水液体例如非质子极性溶剂中,以此来制备制剂。以上描述了现有技术的实例,特别是Stevenson'547公开了通过将肽粉末直接溶解在非质子极性溶剂中来制备组合物,以及Prestrelski'644公开了从缓冲水溶液中干燥肽粉末,然后将其溶解在DMSO中。

[0053] 使用非质子极性溶剂来制备非水治疗制剂,可以抑制许多常见的降解途径,特别是涉及水的那些降解途径,从而可以显著改善那些可溶性的或溶解的治疗分子的稳定性。然而,现有技术中公开的组合物和方法仍然存在问题。特别是,对于大多数治疗分子来说,将治疗分子直接溶解在非质子极性溶剂中并不是制备其稳定组合物的合适的方法;在Stevenson'547中描述的亮丙瑞林的溶解是一个例外。如前所述,并且正如将在下面的实施例中详述的那样,当将肽激素胰高血糖素以5mg/mL的浓度直接溶解于DMSO中时,在室温下储存一天,会形成不溶性聚集体。对于仅包含胰高血糖素和DMSO的组合物来说,5mg/mL对应于约0.45%(w/w)的肽化合物,表明即使在相对较低的浓度下将治疗分子直接溶解于非质子极性溶剂体系中本身也并不能防止治疗分子的物理聚集和/或凝胶化。此外,将治疗分子直接溶解在非质子极性溶剂体系中,即便治疗分子在非质子极性溶剂体系中可能不会形成不溶性聚集体,但是其仍然倾向于化学降解。

[0054] 不希望受理论束缚,认为当治疗分子在非质子极性溶剂体系中配制时,为了表现出增强的或最佳的稳定性和溶解性,所述治疗性分子可能需要特定的电离特性。电离特性是通过治疗分子的离子化基团的质子化和/或去质子化所获得的电荷状态。例如,包括离子化氨基酸残基(例如精氨酸,赖氨酸)的治疗性肽的质子化将赋予溶液中的分子以总体的正电荷。带正电的肽分子之间的相对长程的静电排斥可以抑制短程疏水相互作用,这些短程疏水相互作用可以导致物理聚集和/或凝胶化。因此,在没有足够质子化(即最佳或有益的电离特性)的情况下,溶解于非质子极性溶剂体系中的治疗分子可能在物理上不稳定,并导致形成可溶性和/或不溶性聚集体。因此,可能有必要含有足够浓度的至少一种赋形剂来充当电离稳定剂,所述至少一种赋形剂能够赋予非质子极性溶剂体系中的活性剂以电离特性,以便改善其物理和/或化学稳定性。正如将在下面的部分中所解释的,且通过几个实例的方式来说明的,必须向溶液中加入的电离稳定赋形剂的适当浓度取决于若干因素,包括但不限于电离稳定赋形剂的化学结构,活性剂的化学结构,活性物质的浓度,所用的溶剂体系,共溶剂的存在,额外的赋形剂或制剂组分的存在以及它们各自的浓度。

[0055] Prestrelski'644公开的组合物和方法被设计为在治疗分子溶解于非质子极性溶

剂体系之前构建最佳的治疗分子电离特性。如Prestrelski'644所公开的,来自供应商/制造商的肽粉末最初溶解在缓冲水溶液中,其中缓冲肽水溶液的pH被设定为使该特定肽具有最佳稳定性和溶解度。然后将肽从缓冲水溶液中干燥(例如通过冷冻干燥或喷雾干燥)成为粉末,使得粉末中肽分子的电离特性可以约等于用作干燥来源的水溶液中的肽分子的电离特性。然后将肽粉末溶解在非质子极性溶剂体系中,肽分子的电离特性可以约等于粉末中肽分子的电离特性。因此,非质子极性溶剂体系中肽分子的电离特性大约等于缓冲水溶液中肽分子的电离特性。

[0056] Prestrelski'644中公开的制剂方法(在'644专利中称为“pH记忆”)可以克服当治疗分子直接溶解于非质子极性溶剂体系时遇到的稳定性问题(即,物理和化学降解)。然而,为了优化所述分子的电离特性并在其溶解于非质子极性溶剂之前赋予pH记忆,需要从缓冲水溶液中干燥治疗分子,该需求对于制剂的开发路径来说,无论在时间还是费用方面,都会产生显著的附加成本。特别地,众所周知干燥过程会对治疗分子施加几种应力,并且必须在水溶液中包含足量的额外的赋形剂(例如,冻干保护剂,例如海藻糖和蔗糖,和/或表面活性剂,如聚山梨醇酯80)以保护治疗分子,由此增加制剂的成本和复杂性。而且,对于给定的治疗分子,干燥过程(例如喷雾干燥,冷冻干燥)通常必须进行优化,无论是实验室规模,即在最初开发阶段的初始研究和开发期间,还是随后在生产规模,即过程被放大并转移到能够生产商业规模批次的仪器和设施中。因此,对于给定治疗分子的干燥过程的最初开发和优化,以及随后的与转用该方法和在生产过程中并入额外的步骤相关的时间和成本可能非常昂贵。因此,需要一种能够提供治疗分子在非质子极性溶剂体系中具有适当电离特性的方法,而不需要从pH设定为为所述分子提供适当电离特性的缓冲水溶液干燥分子。

[0057] 本发明人提供了一种由很多治疗分子呈现出的增强的稳定性和溶解度的溶液,其基于这些治疗分子在非质子极性溶剂中具有合适的或最佳的电离特性而产生,而不必将这些治疗分子从水溶液中干燥获得粉末,然后再在非质子极性溶剂体系中溶解。该溶液在于离子稳定赋形剂直接溶解于非质子极性溶剂中,并且将肽分子或小分子直接溶解于非质子极性溶剂溶液中。不希望受理论束缚,据信通过提供足够量的电离稳定赋形剂,可以实现治疗分子的适当或最佳电离特性,具有相同电荷极性(即带负电荷或带正电荷)的治疗分子之间的静电排斥可能足以防止物理降解(例如,通过导致聚集的分子之间的短程疏水相互作用)。这对于在溶液中表现出聚集趋势的分子尤其重要,特别是随着溶液中分子浓度增加更是如此。此外,通过控制和优化治疗剂的电离程度(即,质子化或去质子化),可以使化学降解最小化,这是因为例如过量的质子化可以通过诸如氧化(例如甲硫氨酸残基的氧化)和碎裂(例如,肽骨架的裂解)的降解反应促进化学不稳定性。因此,对于一些治疗分子,可能存在通过质子化作用获得的最佳或有益的电离特性,从而使得物理和/或化学降解反应最小化。对于治疗性肽而言,使其稳定所需的质子化程度以及溶液中所需的电离稳定赋形剂的量,除了别的因素之外,将取决于肽的一级结构(即氨基酸序列)和溶液中的肽浓度。

[0058] 用作电离稳定赋形剂的每个分子在给定的溶剂体系中会表现出某种给予治疗分子质子的倾向;这种给予质子的倾向可以被称为分子的相对酸性强度。对于固定浓度的质子给予分子(并且为了简单起见,假设该实例中仅有单质子分子)来说,相比较于弱酸,具有较大酸性强度的分子会使治疗分子质子化的程度大得多。因此,为了达到治疗分子的适当或最佳电离特性,给定的质子给予分子(电离稳定赋形剂)所需的浓度会将其酸性强度成

反比。这里讨论了本发明的这些和其他非限制性方面。

[0059] 在某些方面,在制剂制备之前,可以对非质子极性溶剂脱氧。在本发明的上下文中可以使用许多不同的技术来从非质子极性溶剂中脱氧或移除氧(脱气或脱氧)。例如,预期脱氧可以包括但不限于去除由单独的液体,由液体和其他溶质分子(例如胶束,环糊精等),或者由单独的其他溶质分子溶解在液体非质子极性溶剂中的氧。脱氧技术的非限制性实例包括在减压下放置非质子极性溶剂和/或加热液体以降低溶解气体的溶解度,分馏,膜脱气,用惰性气体置换,使用还原剂,冷冻泵-解冻循环或长时间储存在带有气塞的容器中。在一个实施方案中,通过真空脱气对非质子极性溶剂脱氧。在另一个实施方案中,通过使用除氧器对非质子极性溶剂脱氧。在一种例子下,所述除氧器是盘式或级联式除氧器。在另一个例子中,除氧器是喷雾式除氧器。在又一个实施方案中,使用气液分离膜对非质子极性溶剂脱氧。在一种例子下,使用气液分离膜和减压对非质子极性溶剂脱气。在一种实施方案中,利用非氧气体(例如N₂) 鼓泡通过液体,以置换或减少非质子极性溶剂中的氧。在一种例子下,鼓泡通过非质子极性溶剂的气体是氩气,氦气,氮气,惰性气体和/或氢气,优选氮气。在另一个例子中,使用汽提塔将气体在非质子极性溶剂鼓泡通过。在又一种实施方案中,利用一种或更多种还原剂使非质子极性溶剂脱氧。还原剂的非限制性实例包括亚硫酸铵,氢气,活性脱氧金属,铜,锡,镉,伍德金属合金(50%铋,25%铅,12.5%锡和12.5%镉)等。在另一个实施方案中,非质子极性溶剂通过冷冻泵-解冻循环脱气(例如,可以使用至少1,2,3或更多个循环)。在一个例子下,所述冷冻泵-解冻循环包括在液氮下冷冻非质子极性溶剂,施加真空,然后将溶剂在温水中解冻。在一个实施方案中,通过将非质子极性溶剂长期储存在钢,玻璃或木质容器中脱氧。在另一个实施方案中,在脱氧过程中对非质子极性溶剂进行声波处理,超声处理或者搅拌处理。

[0060] 一旦处理或脱氧,所述非质子极性溶剂可具有小于0.1mM的溶解氧,优选小于0.05mM的溶解氧。可使用本领域技术人员已知的方法来确定任何给定的非质子极性溶剂中的溶解氧的量(例如,可使用溶解氧测量仪或探针装置,例如商业上由Vernier(Beaverton, Oregon, USA)提供的溶解氧探针)。

[0061] 在某些方面,本申请中公开的制剂可以在惰性气体气氛下制备和/或密封。常用方法包括对初级容器封闭系统(例如瓶)进行回填,以提供惰性气体(例如氮气,氩气)顶空。也可以在惰性气体环境下对次级容器封闭系统(例如密封箔袋)密封。

[0062] I. 治疗剂

[0063] 本发明上下文中的治疗剂包括肽或蛋白质化合物,小分子药物及其药学上可接受的盐。与存在于未处理的非质子极性溶剂中的治疗剂相比,存在于脱氧非质子极性溶剂中的相同治疗剂的稳定性可以进一步提高。增加的稳定性至少部分归因于治疗剂的氧化降解的减少或非质子极性溶剂的氧化降解的减少或者是两者。对于治疗某些疾病或病症,技术人员知晓哪种治疗剂适用于治疗某些疾病或病症,并且能够在本文所述的制剂中施用有效量的治疗剂用于治疗疾病或病症。

[0064] 可用于本发明的肽和蛋白质(及其盐)的非限制性实例包括但不限于胰高血糖素,普兰林肽,胰岛素,亮丙瑞林,促黄体激素释放激素(LHRH)激动剂,甲状旁腺激素(PTH),胰淀素,血管紧张素(1-7),肉毒杆菌毒素,血浆肽,淀粉样肽,胃抑制肽,胰岛素样生长因子,生长激素释放因子,抗微生物因子,格拉替雷,胰高血糖素样肽-1(GLP-1),GLP-1激动剂,艾

塞那肽,及其类似物,胰淀素类似物(普兰林肽)及其混合物。在一些优选的方面,治疗剂是胰高血糖素,胰岛素和/或普兰林肽。

[0065] 可用于本发明上下文中的小分子药物(及其盐)的非限制性实例包括但不限于肾上腺素,苯二氮卓类,儿茶酚胺类,“曲坦类”,舒马曲坦,诺亚萘醌,化学疗法小分子(例如米托蒽醌),皮质类固醇小分子(例如甲泼尼龙,二丙酸倍氯米松),免疫抑制小分子(例如硫唑嘌呤,克拉屈滨,环磷酰胺一水合物,甲氨蝶呤),抗炎小分子(例如水杨酸,乙酰水杨酸,利索茶碱,二氟尼柳,三水杨酸胆碱镁,水杨酸,贝诺酯,氟灭酸,甲灭酸,甲氯灭酸, triflumic acid, 双氯芬酸,芬氯酸,阿氯芬酸,芬替酸,布洛芬,氯比洛芬,酮洛芬,萘普生,非诺洛芬,芬布芬,舒洛芬,吲哚洛芬,噻洛芬酸,苯噻洛芬,吡咯洛芬,托美丁,佐美酸,克洛皮纳,吲哚美辛,舒林酸,苯基丁氮酮,羟基保泰松,阿扎丙酮,非普拉宗,吡罗昔康,伊索昔康),用于治疗神经障碍的小分子(例如西咪替丁,雷尼替丁,法莫替丁,尼扎替丁,他克林,2linblasti, 美吡酯,卡巴拉汀,赛瑞利,丙咪嗪,氟西汀,奥氮平,舍吲哚,利培酮,2-丙基戊酸钠半夏,加巴喷丁,卡马西平,托吡酯,苯妥英),用于治疗癌症的小分子(例如长春新碱,2linblastin, 紫杉醇,多西他赛,顺铂,伊立替康,托泊替康,吉西他滨,替莫唑胺,伊马替尼,硼替佐米),他汀类药物(例如阿托伐他汀,氨氯地平,罗苏伐他汀,西他列汀,辛伐他汀,氟伐他汀,匹伐他汀,洛伐他汀,普伐他汀,辛伐他汀)和其他紫杉烷衍生物,用于治疗结核病的小分子(例如利福平),小分子抗真菌剂(例如氟康唑),小分子抗焦虑药和小分子抗惊厥药(例如劳拉西泮),小分子抗胆碱药(例如阿托品),小分子 β -激动剂(例如沙丁胺醇硫酸盐),小分子肥大细胞稳定剂和用于治疗变态反应的小分子试剂(例如色甘酸钠),小分子麻醉剂和小分子抗心律失常剂(例如利多卡因),小分子抗生素(例如妥布霉素,环丙沙星),小分子抗偏头痛药(例如舒马曲坦)和小分子抗组胺药(例如苯海拉明)。在优选的实施方案中,所述小分子是肾上腺素。

[0066] 在疾病的预防,诊断,减轻,治疗或治愈中,可以皮内地施用本发明的治疗剂进行用药。可以用于本发明的制剂配制和用于本发明的递送系统的蛋白质和蛋白质化合物的实例包括具有生物活性或可以用于治疗疾病或其他病理状况的那些蛋白质。

[0067] 上述肽,蛋白质和小分子药物中的每一种都是众所周知的,并且可以从多种制造商和来源购得。此外,剂型中的肽,蛋白质或小分子药物的量可以根据目前可接受的量,对象/患者的需要(例如,年龄,健康,体重,症状的性质和发展)等而变化。

[0068] 由制造商或商业来源提供的治疗剂通常以粉末形式提供,以便溶解于本文所述的制剂中。可以使用许多已知的技术来形成用于溶解的粉末剂。

[0069] 可以将任何合适剂量的一种或更多种肽配制在本发明的稳定制剂中。通常,肽(或者在包含两种或更多种肽的实施方案中,指的是每种肽)以约0.5mg/mL至约100mg/mL的量存在于制剂中。在一些实施方案中,肽以约10mg/mL至约60mg/mL的量存在于制剂中。在其他实施方案中,肽以约20mg/mL至约50mg/mL的量存在于制剂中。在其他实施方案中,肽以约5mg/mL至约15mg/mL的量存在于制剂中。在其他实施方案中,肽以约0.5mg/mL至约2mg/mL的量存在于制剂中。在其他实施方案中,肽以约1mg/mL至约50mg/mL的量存在于制剂中。同样,对于技术人员来说显而易见的是,肽的剂量可以根据使用的肽和待治疗的疾病,障碍或病症而变化。

[0070] 在一些实施方案中,本发明的制剂还包含抗氧化剂。在其他实施方案中,制剂还包

含螯合剂。在其他实施方案中,本发明的制剂还包含防腐剂。

[0071] II. 制剂

[0072] 本发明的制剂包括存在于非质子极性溶剂体系中的治疗剂,所述非质子极性溶剂体系含有至少一种电离稳定赋形剂。所述治疗剂可以溶解(例如完全或部分溶解)或悬浮(完全或部分)在非质子极性溶剂体系中。此外,制剂可以被构造成单相溶液,膏剂或浆液,凝胶,乳液或悬浮液。

[0073] 在一些实施方案中,治疗剂存在于“纯”即不含共溶剂的非质子极性溶剂中。在其它实施方案中,治疗剂存在于是两种或更多种非质子极性溶剂的混合物的溶剂体系(即,非质子极性溶剂体系)中。一个例子是75/25(%v/v)的DMSO和NMP的混合物。然而,在一些实施方案中,可以使用共溶剂,一种或多种非质子极性溶剂与共溶剂混合。共溶剂的非限制性实例包括水,乙醇,丙二醇(PG),甘油及其混合物。在某些方面,可以特别排除或者限制水作为共溶剂,即共溶剂是非水共溶剂。制剂中的共溶剂的量可以为约0.5%(w/v)至约50%(w/v),例如约1%,约5%,约10%,约15%,约20%,约25%,约30%,约35%或约40%(w/v)。在一些实施方案中,制剂中的共溶剂的量为约10%(w/v)至约50%(w/v),约10%(w/v)至约40%(w/v),约10%(w/v)至约30%(w/v),约10%(w/v)至约25%(w/v),约15%(w/v)至约50%(w/v),约15%(w/v)至约40%(w/v),约15%(w/v)至约30%(w/v)或约15%(w/v)至约25%(w/v)。

[0074] 另外,除了电离稳定赋形剂之外,本发明的制剂还可以包含一种或多种其他赋形剂。在一些实施方案中,所述其他赋形剂选自糖,淀粉,糖醇,抗氧化剂,螯合剂和防腐剂。合适的糖赋形剂的实例包括但不限于海藻糖,葡萄糖,蔗糖等。用于稳定赋形剂的合适的淀粉实例包括但不限于羟乙基淀粉(HES)。用于稳定赋形剂的合适糖醇(也称为多元醇)的实例包括但不限于甘露醇和山梨醇。合适的抗氧化剂的实例包括但不限于抗坏血酸,半胱氨酸,甲硫氨酸,单硫代甘油,硫代硫酸钠,亚硫酸盐,BHT,BHA,抗坏血酸棕榈酸酯,没食子酸丙酯,N-乙酰基-L-半胱氨酸(NAC)和维生素E。合适的螯合剂的实例包括但不限于EDTA,EDTA二钠盐,酒石酸及其盐,甘油,和柠檬酸及其盐。合适的无机盐的实例包括氯化钠,氯化钾,氯化钙,氯化镁,硫酸钙和硫酸镁。合适的防腐剂的实例包括但不限于苯甲醇,对羟基苯甲酸甲酯,对羟基苯甲酸丙酯及其混合物。额外的制剂组分包括局部麻醉剂,如利多卡因或普鲁卡因。在一些实施方案中,制剂中存在的额外的稳定赋形剂的量为约0.1%(w/v)至约60%(w/v),约1%(w/v)至约50%(w/v),约1%(w/v)至约40%(w/v),约1%(w/v)至约30%(w/v),约1%(w/v)至约20%(w/v),约5%(w/v)至约60%(w/v),约5%(w/v)至约50%(w/v),约5%(w/v)至约40%(w/v),约5%(w/v)至约30%(w/v),约5%至约20%(w/v),约10%(w/v)至约60%(w/v),约10%(w/v)至约50%(w/v),约10%(w/v)至约40%(w/v),约10%(w/v)至约30%(w/v),或约10%(w/v)至约20%(w/v)。在一些实施方案中,制剂中存在的额外的稳定赋形剂的量为约,至多,或至少1%,2%,3%,4%,5%,6%,7%,8%,9%,10%,15%,20%,25%,30%,35%,40%,45%,50%,55%或60%(w/v)。

[0075] III. 治疗方法

[0076] 另一方面,本发明提供了治疗疾病、病症或障碍的方法,该方法给对象施用用来治疗疾病、病症或障碍的有效量的在本文所述稳定制剂中的治疗剂来治疗、缓解或预防所述疾病、病症或障碍。

[0077] 在一些实施方案中,本发明的治疗方法包括给予患有低血糖症的对象用于低血糖症的治疗剂来治疗低血糖症,其通过使用有效量的如本文所述的稳定制剂来治疗低血糖症。在一些实施方案中,给对象施用包含胰高血糖素的稳定制剂。在某些方面,低血糖症可能是由糖尿病或非糖尿病相关疾病,病症和障碍引起的。

[0078] 如美国糖尿病协会和内分泌协会(Seaquist等人,(2013),Diabetes Care,第36卷,第1384-1395页)的工作组所述,对于低血糖症,通常不能确定用来定义糖尿病低血糖症的血浆葡萄糖浓度的单一阈值,因为低血糖症(包括其他反应)症状的血糖阈值会在近期的前期低血糖症后转变为较低的血浆葡萄糖浓度,会在控制不佳的糖尿病和低频发的低血糖症患者体内转变为较高的血浆葡萄糖浓度。

[0079] 尽管如此,可以通过定义警报值来引起患者和护理人员对低血糖症相关潜在危害的关注。患有低血糖症风险的患者(即用磺酰脲类,格列奈或胰岛素治疗的患者),当自我监测血浆葡萄糖或监测皮下葡萄糖的持续葡萄糖浓度 $\leq 70\text{mg/dL}$ ($\leq 3.9\text{mmol/L}$)时,应警惕发生低血糖症的可能性。由于该值相对于非糖尿病个体和控制良好的糖尿病个体的症状来说,血糖阈值要高,所以还通常有时间来预防临床低血糖症的发作,并为监测装置在低血糖症水平的有限的准确度提供一些余地。

[0080] 严重低血糖症的病症是需要另一个人协助主动给予碳水化合物,胰高血糖素或采取其他矫正措施的事件。事件期间可能无法获得血浆葡萄糖浓度,但血浆葡萄糖恢复正常后,神经功能恢复被认为是该事件是由血浆葡萄糖浓度低而诱发的充分证据。通常,这些事件发生在血浆葡萄糖浓度 $\leq 50\text{mg/dL}$ (2.8mmol/L)时。记录症状性低血糖症是低血糖症典型症状伴随测量的血浆葡萄糖浓度 $\leq 70\text{mg/dL}$ ($\leq 3.9\text{mmol/L}$)的事件。无症状低血糖症事件不伴有典型低血糖症症状,但血浆葡萄糖浓度测量值 $\leq 70\text{mg/dL}$ ($\leq 3.9\text{mmol/L}$)。可能的症状性低血糖症是典型的低血糖症症状不伴有血浆葡萄糖的测定,但猜测可能是由血浆葡萄糖浓度 $\leq 70\text{mg/dL}$ ($\leq 3.9\text{mmol/L}$)引起的事件。假性低血糖症是有糖尿病的人报告了任何典型的低血糖症症状且测量的血浆葡萄糖浓度 $>70\text{mg/dL}$ ($>3.9\text{mmol/L}$)但接近此水平的事件。

[0081] 本发明能够治疗的适应症进一步包括低血糖症相关的自主神经衰竭(HAAF)。如Philip E.Cryer在Perspectives in Diabetes,Mechanisms of Hypoglycemia-Associated Autonomic Failure and Its Component Syndromes in Diabetes,Diabetes,第54卷,第3592-3601页(2005)一文中所述,“近期的前期医源性低血糖症引起缺陷性葡萄糖的反向调节(通过在胰岛素的缺乏性降低和胰高血糖素的缺乏性增加的设定中将肾上腺素的反应降低至后期低血糖症的给定水平)和无意识低血糖症(对于给定水平的低血糖症,减少交感肾上腺素和由此产生的神经原性症状反应),从而导致低血糖症的恶性循环”。HAAF影响I型和II型晚期糖尿病患者。另外,本发明还可以治疗胰岛细胞移植后患者的低血糖症。

[0082] 本发明的制剂还可以用于治疗高胰岛素血症性低血糖症,其广义上是指由过量的胰岛素引起的低血糖症水平的病症和效果。给I型糖尿病患者施用外源性胰岛素是最常见的严重的但通常为短暂性高胰岛素血症性低血糖症。这种低血糖症可定义为医源性低血糖症,并且是I型和II型糖尿病血糖控制的一种限制因素。夜晚的低血糖症(夜间低血糖症)是服用外源性胰岛素的患者中常见的医源性低血糖症。然而,由于内源性胰岛素,例如先天性胰岛素过多,胰岛素瘤(分泌胰岛素的肿瘤),运动诱导的低血糖症和反应性低血糖症,也可

能引起高胰岛素血症性低血糖症。反应性低血糖症是一种非糖尿病性低血糖症,其原因是餐后发生低血糖症,通常是在进食后四小时内。反应性低血糖症也可被称为餐后低血糖症。反应性低血糖症的症状和体征可能包括饥饿,虚弱,颤抖,嗜睡,出汗,困惑和焦虑。胃手术(如减肥手术)是一种可能的原因,因为手术后食物可能会过快地进入小肠。其他原因包括酶缺乏,从而使人体难以分解食物,或对于激素肾上腺素的敏感性增加。

[0083] 在一些实施方案中,利用本发明的稳定制剂治疗的疾病,病症或障碍是糖尿病病症。糖尿病病症的实例包括但不限于I型糖尿病,II型糖尿病,妊娠糖尿病,前糖尿病,高血糖症,低血糖症和代谢综合征。在一些实施方案中,所述疾病,病症或障碍为低血糖症。在一些实施方案中,所述疾病,病症或障碍为糖尿病。

[0084] 在一些实施方案中,本发明的治疗方法包括通过向患有糖尿病的对象施用治疗糖尿病有效量的如本文所述的稳定制剂中治疗试剂来治疗糖尿病。在一些实施方案中,给对象施用包含胰岛素的稳定制剂。在一些实施方案中,给对象施用包含普兰林肽的稳定制剂。在一些实施方案中,给对象施用包含胰岛素和普兰林肽的稳定制剂。在一些实施方案中,给对象施用包含艾塞那肽的稳定制剂。在一些实施方案中,给对象施用包含胰高血糖素和艾塞那肽的稳定制剂。

[0085] 在某些方面,可以给处于或怀疑有过敏反应的患者施用肾上腺素。肾上腺素可以作为治疗I型过敏反应的紧急手段,所述I型过敏反应由多种来源产生,包括但不限于食物,药物和/或其它过敏原,过敏原免疫疗法,诊断试验物质,昆虫叮咬和咬伤,以及特发性或运动诱发的过敏反应。

[0086] 本文所述用于治疗疾病,病症或障碍(例如,糖尿病性病症,低血糖症或过敏性反应)的肽或小分子药物的施用剂量依照本领域技术人员实施的剂量和时间疗程。在Goodman和Gilman的The Pharmacological Basis of Therapeutics,第11版,2006,上文和Physicians' Desk Reference (PDR)中,例如在第65(2011)或第66(2012)编,PDR Network, LLC中,提供了本发明方法中使用的所有药理学试剂的合适剂量的一般性指导,将其各自通过引用结合于此。用于治疗如本文所述的疾病,病症或障碍的肽类药物的合适剂量将根据若干因素而变化,所述因素包括组合物的制剂,患者反应,病症的严重程度,对象的体重以及处方医师的判断。所述制剂的有效剂量能够递送医学上有效量的肽类药物。所述剂量可随时间增加或减少,如根据个别患者所需或由医务人员确定。

[0087] 有效量或有效剂量的确定完全在本领域技术人员的能力范围内,特别是根据本文提供的详细公开内容。通常,递送这些剂量的制剂可含有一种,两种,三种,四种或更多种小分子,肽或肽类似物(除非明确排除肽类似物,否则统称“肽”),其中每种肽的浓度为约0.1mg/mL直至制剂中肽的溶解极限。该浓度优选为约1mg/mL至约100mg/mL。在一些方面,所述浓度为约1mg/mL,约5mg/mL,约10mg/mL,约15mg/mL,约20mg/mL,约25mg/mL,约30mg/mL,约35mg/mL,约40mg/mL,约45mg/mL,约50mg/mL,约55mg/mL,约60mg/mL,约65mg/mL,约70mg/mL,约75mg/mL,约80mg/mL,约85mg/mL,约90mg/mL,约95mg/mL或约100mg/mL。对于医务人员来说,小分子的浓度是已知的,并且可以使用本文提供的公开内容来建立和实施,例如0.01mg/ml至500mg/ml,或者5,10,25,50,75,100,200,500至1000mg的剂量,包括其间的所有值和范围。

[0088] 本发明的制剂可用于皮下,皮内或肌肉内施用(例如通过注射或通过输液)。在一些

实施方案中,所述制剂采用皮下施用。所述制剂还可以经皮递送,例如通过将组合物局部施用于皮肤上(例如,将组合物涂布在皮肤上或将组合物装载到皮肤贴片上并将皮肤贴片附着到皮肤上)。

[0089] 本发明公开的制剂可以使用任何合适的装置通过输液或通过注射来施用。例如,可以将本发明的制剂放入注射器(例如,预填充的注射器),笔式注射装置,自动注射器装置或泵装置中。在一些实施方案中,所述注射装置是多剂量注射泵装置或多剂量自动注射器装置。该制剂以这样的方式呈现在装置中,即在启动注射装置例如自动注射器时制剂能够容易地从针头流出,以递送肽类药物。合适的笔/自动注射器装置包括但不限于由Becton-Dickenson, Swedish Healthcare Limited (SHL Group), YpsoMed Ag等制造的那些笔/自动注射装置。合适的泵装置包括但不限于由Tandem Diabetes Care, Inc., Delsys Pharmaceuticals等制造的那些泵装置。

[0090] 在一些实施方案中,本发明的制剂以准备在瓶,药筒或预填充注射器中施用来提供。

[0091] 在一些实施方案中,稳定制剂用于配制用于治疗低血糖症的药物。在一些实施方案中,所述稳定制剂包含胰高血糖素或其盐(例如胰高血糖素乙酸盐)。在一些实施方案中,所述稳定制剂包含胰高血糖素和艾塞那肽。

[0092] 在一些实施方案中,稳定制剂用来配制用于治疗糖尿病的药物。在一些实施方案中,所述稳定制剂包含胰岛素。在一些实施方案中,所述稳定制剂包含艾塞那肽。在一些实施方案中,所述稳定制剂包含普兰林肽。在一些实施方案中,所述稳定制剂包含胰岛素和普兰林肽。

[0093] IV试剂盒/容器

[0094] 试剂盒也被考虑用于本发明的某些方面。例如,试剂盒内可以包括本发明的制剂。试剂盒可以包括容器。例如,在一个方面,制剂可以包含在容器内,所述容器已经准备施用给对象而不必重构或稀释所述制剂。也就是说,待施用的制剂可以储存在容器中,并根据需要容易地使用。所述容器可以是装置。该装置可以是注射器(例如预填充注射器),笔式注射装置,自动注射器装置,可以泵送或施用制剂的装置(例如自动或非自动外部泵,可植入泵等)或灌注袋。合适的笔/自动注射器装置包括但不限于由Becton-Dickenson, Swedish Healthcare Limited (SHL Group), YpsoMed Ag等制造的那些笔/自动注射装置。合适的泵装置包括但不限于由Tandem Diabetes Care, Inc., Delsys Pharmaceuticals等制造的那些泵装置。

[0095] V. 实施例

[0096] 使用本申请中公开的方法以及现有技术中公开的方法(例如将肽直接溶解在非质子极性溶剂体系中,并且在将肽在非质子极性溶剂体系中溶解之前,将肽从缓冲水溶液中干燥)来制备大量肽和小分子制剂。如下面的实施例所示,与将肽粉末直接溶解在非质子极性溶剂体系中观察到的组合物相比,通过本发明的方法制备的组合物物理和化学稳定性更高。

[0097] 将通过具体实施例更详细地描述本发明公开的一些实施方案。下面的实施例是为了说明的目的而提供的,并不意图以任何方式限制任何本发明。例如,本领域技术人员将容易地认识到可以改变或修改以各种非关键参数,以产生基本上相同的结果。

[0098] 实施例1

[0099] 在该实施例中,将甘氨酸盐酸盐(CAS No.6000-43-7)直接溶解于DMSO(CAS No.67-68-5)中,浓度为5mM、10mM和20mM,随后加入胰高血糖素粉末(MW=3483g/mol; Bachem AG,产品号4074733),溶解成肽浓度为5mg/mL,从而制备胰高血糖素溶液。制备的样品溶液显示在表1中:

[0100] 表1:通过将甘氨酸盐酸盐和胰高血糖素粉末直接溶解在DMSO中制备的胰高血糖素样品溶液。

胰高血糖素浓度	溶剂	加入的赋形剂
5mg/mL	DMSO	5mM甘氨酸盐酸盐
5mg/mL	DMSO	10mM甘氨酸盐酸盐
5mg/mL	DMSO	20mM甘氨酸盐酸盐

[0102] 用于评估化学稳定性的反相高效液相色谱(RP-HPLC)方法是梯度方法,流动相A和B分别为0.1% (v/v) TFA(三氟乙酸)的水溶液和0.1% (v/v) TFA的乙腈溶液。使用C8柱(BioBasic™-8;ThermoScientific)(内径4.6mm×长250mm,粒径5μm),柱温37℃,流速1.0mL/min,样品注射体积6μL,检测波长280nm。

[0103] 将用不同浓度的甘氨酸盐酸盐制备的样品制剂密封在带有13mmFluroTec®涂覆的橡胶塞(涂布有氟碳膜的丁基橡胶塞,由West Pharmaceuticals生产)的2-mL CZ瓶(Crystal-Zenith,West Pharmaceuticals,PA,USA)中,并在40℃下储存6周。将所述溶液与通过从非挥发性缓冲液干燥(冻干)并且在DMSO中重构制备而成的5mg/mL的胰高血糖素制剂(如Prestrelski'644中所述的pH记忆制剂)进行比较,或者与通过直接将胰高血糖素粉末溶解在DMSO中(如Stevenson'547所述的方法)制备而成的5mg/mL的胰高血糖素制剂进行比较。通过如上所述的RP-HPLC评估制剂的稳定性,并以胰高血糖素的纯度展示在表2中。

[0104] 目测观察表明,在40℃储存六周(42天)后,含甘氨酸盐酸盐作为制剂赋形剂的样品溶液保持澄清和无色,并且并未有任何沉淀和/或凝胶化出现。

[0105] 表2:在40℃储存的5mg/mL的胰高血糖素溶液的稳定性(以肽纯度提供)。

时间点	甘氨酸盐酸盐浓度			pH 记忆	直接溶解
	5 mM	10 mM	20 mM	制剂	在 DMSO 中
1 天	100%	100%	100%	100%	形成凝胶
14 天	99.7%	99.5%	99.3%	99.4%	---
42 天	97.8%	97.0%	97.0%	96.8%	---

[0107] 在室温下24小时内,将胰高血糖素粉末直接溶解在DMSO中制备而成的5mg/mL(大约0.45%w/w)的胰高血糖素溶液表现出物理聚集,如形成不溶物质所示(图1)。相比之下,在5.0mM甘氨酸盐酸盐存在下胰高血糖素粉末溶解于DMSO中所制备的5mg/mL的胰高血糖素溶液在整个孵育期(40℃下6周)保持澄清(即无沉淀),而且是无色的。在用DMSO重构至初始浓度的5倍之前已经预先从缓冲水溶液(pH3.0)冻干的胰高血糖素制剂在40℃储存六周后也显示出约97%的胰高血糖素纯度,所述缓冲水溶液含有1.0mg/mL胰高血糖素、2.0mM甘氨

酸和1.0% (w/v) 海藻糖(即,经过重构后,在非质子极性溶剂体系中的组合物为5.0mg/mL胰高血糖素,10.0mM甘氨酸和5.0% (w/v) 海藻糖)。

[0108] 与将肽粉直接溶解于非质子极性溶剂中的现有技术方法相比,通过本发明的方法制备的组合物稳定性增强。此外,与需要在从缓冲水溶液中干燥肽,然后在非质子极性溶剂体系中重构粉末的方法相比,本发明的制剂可以作为一种替代途径,用来提供一种用于在非质子极性溶剂体系中制备高浓度,稳定的胰高血糖素制剂。

[0109] 实施例2

[0110] 在该实施例中,通过将胰高血糖素粉末(Bachem AG,产品号4074733)溶解在DMSO中制备浓度为5mg/mL的胰高血糖素溶液,所述DMSO包括不同浓度的外加盐酸,从0.001M (1mM)到0.01M (10mM)。为了使添加到制剂中的水的量最小化,使用5N的HCl制备10mM和5.6mM的HCl的DMSO溶液,而使用1N的HCl制备3.2mM、1.8mM和1.0mM的溶液。例如,通过向9.98mL的DMSO(纯净的)中加入20 μ L 5N的HCl来制备10mM HCl的DMSO溶液,而通过将10 μ L 1N的HCl加入到9.99mL的DMSO(纯净的)中来制备1.0mM HCl的DMSO溶液。将每种制剂的样品储存在2mL CZ瓶(每瓶0.5mL样品)中,并在40 $^{\circ}$ C孵育。

[0111] 储存28天和58天后,通过RP-HPLC评估肽的化学稳定性,并将其纯度报告在表3中。添加1.0mM的HCl不足以防止在5mg/mL胰高血糖素溶液中形成不溶性聚集体,因此对于这些样品的化学稳定性不进行测量。相反,当将10mM HCl加入到溶液中时,胰高血糖素分子表现出相对快速的化学降解。降低溶液中加入的HCl浓度,胰高血糖素分子的整体稳定性增加,在所检查的时间段内,3.2mM和1.8mM HCl溶液表现出最高的稳定性。

[0112] 表3:储存在40 $^{\circ}$ C的5mg/mL胰高血糖素-DMSO溶液的稳定性(以肽纯度提供)。

胰高血糖素	加入的盐酸	第28天	第58天
5mg/mL	10.0mM	36.9%	0%
5mg/mL	5.6mM	90.8%	85.3%
5mg/mL	3.2mM	98.0%	96.8%
5mg/mL	1.8mM	98.3%	97.4%
5mg/mL	1.0mM	不溶的聚集体	不溶的聚集体

[0114] 实施例3

[0115] 将胰高血糖素粉末(Bachem AG,产品号4074733)溶解在DMSO中制备5mg/mL的样品溶液,所述DMSO中含有各种外加浓度的甘氨酸盐酸盐(CAS No.6000-43-7),甜菜碱盐酸盐(CAS No.590-46-5),或盐酸(1N;CAS No.7647-01-0)。表4中列出了用于制备样品制剂的不同浓度的每种电离稳定赋形剂。将各制剂的样品储存在CZ瓶中,并在40 $^{\circ}$ C下孵育。在储存28天后,通过RP-HPLC评估胰高血糖素肽的化学稳定性,并将其纯度报告在表4中。该实施例证明了添加的电离稳定赋形剂的质子给予能力(即其“强度”)可能会影响到使治疗分子稳定所需的浓度。由于胰高血糖素分子质子化不充分时倾向于凝胶化(即形成不溶性聚集体),所以被选为肽模型。在40 $^{\circ}$ C下储存28天后,浓度高达2mM的甘氨酸盐酸盐不足以防止溶液中形成不溶性聚集体,但是甜菜碱盐酸盐和盐酸在该浓度足以防止形成不溶性聚集体。

[0116] 表4:在40 $^{\circ}$ C储存28天的5mg/mL胰高血糖素-DMSO溶液的稳定性(以肽纯度%提供)。

胰高血糖素粉末	电离稳定赋形剂	加入的浓度	肽纯度(%)
---------	---------	-------	--------

5mg/mL	甘氨酸盐酸盐	0.5mM	不溶的聚集体
5mg/mL	甘氨酸盐酸盐	1.0mM	不溶的聚集体
5mg/mL	甘氨酸盐酸盐	2.0mM	不溶的聚集体
5mg/mL	甘氨酸盐酸盐	3.0mM	98.5%
5mg/mL	甘氨酸盐酸盐	4.0mM	98.6%
5mg/mL	甘氨酸盐酸盐	5.0mM	99.1%
5mg/mL	甜菜碱盐酸盐	0.5mM	不溶的聚集体
5mg/mL	甜菜碱盐酸盐	2.0mM	98.6%
5mg/mL	甜菜碱盐酸盐	5.0mM	98.4%
5mg/mL	HCl	1.0mM	不溶的聚集体
5mg/mL	HCl	1.8mM	98.3%
5mg/mL	HCl	3.2mM	98.0%

[0118] 实施例4

[0119] 以下实施例证明了根据本发明的方法制备的在外加制剂组分(例如非活性剂,赋形剂)存在下的胰高血糖素溶液的稳定性。通过将胰高血糖素粉末(Bachem AG,产品号4074733)溶解在DMSO中制备浓度为5mg/mL的样品溶液,所述DMSO中含有约3.2mM的外加HCl(来自1N HCl的储备溶液)。向这些溶液中加入不同浓度的水分以及5.5% (w/v) 甘露醇(CAS No.69-65-8)和1% (v/v) 苯甲醇(CAS No.100-51-6)。表5列出了所检验的实验样品。

[0120] 将每种制剂的样品储存在CZ瓶中,并在室温(22-23°C)下孵育。储存180天后,通过RP-HPLC(根据实施例1中所述的方法)评估胰高血糖素肽的化学稳定性,并将胰高血糖素的纯度报告在表5中。该实施例证明了额外的制剂组分(例如水分,非活性剂,赋形剂)可以包含在制剂中,并且在室温下储存约6个月后仍然生成稳定的组合物。

[0121] 表5:在室温下储存180天的5mg/mL胰高血糖素-DMSO溶液的稳定性。以RP-HPLC评估的胰高血糖素的纯度百分比提供稳定性

胰高血糖素	加入的盐酸	加入的水 (% v/v)	甘露醇 (% w/v)	苯甲醇 (%v/v)	胰高血糖素 纯度%
5 mg/mL	3.2 mM	0%	0%	0%	98.2
5 mg/mL	3.2 mM	1%	0%	0%	98.3
5 mg/mL	3.2 mM	3%	0%	0%	98.1
5 mg/mL	3.2 mM	5%	0%	0%	98.4
5 mg/mL	3.2 mM	1%	5.5%	0%	98.6
5 mg/mL	3.2 mM	3%	5.5%	0%	97.7
5 mg/mL	3.2 mM	5%	5.5%	0%	98.9
5 mg/mL	3.2 mM	1%	5.5%	1%	95.3
5 mg/mL	3.2 mM	3%	5.5%	1%	96.9
5 mg/mL	3.2 mM	5%	5.5%	1%	97.1

[0122]

[0123] 实施例5

[0124] 以下实施例证明了肽浓度对稳定制剂所需的电离稳定赋形剂的量的影响。

[0125] 将胰高血糖素粉末(Bachem AG,产品号4074733)溶解在DMSO中,制备浓度为20-

50mg/mL的样品溶液,所述DMSO中含有各种浓度的外加HCl(来自1N的储备溶液(CAS No.7647-01-0))。表6中列出了所检验的实验样品。将制剂储存在2mL的CZ瓶(每瓶0.5mL样品溶液)中,并置于40°C/75%RH的稳定室中。通过目视检查评估样品的物理稳定性,并注意是否存在不溶性颗粒。肽的浓度越高需要电离稳定赋形剂(在该实施例为HCl)的浓度越高,以防止不溶性聚集体的聚集和形成。通过RP-HPLC(根据实施例1中所述的方法)评估肽的化学稳定性,并且将胰高血糖素的纯度报告在表6(注意含有不溶性颗粒的制剂未经RP-HPLC检测)。

[0126] 表6:在40°C/75%RH下储存84天含有外加盐酸的胰高血糖素-DMSO溶液的化学和物理稳定性。

浓度 (mg/mL)	加入的 HCl (mM)	胰高血糖素 纯度%	物理稳定性 (目测观察)
20	10.0	---	不溶性颗粒
20	12.6	97.7%	澄清无色溶液
25	12.6	---	不溶性颗粒
25	15.8	97.6%	澄清无色溶液
30	15.1	---	不溶性颗粒
30	19.0	97.5%	澄清无色溶液
40	25.3	---	不溶性颗粒
40	31.8	97.9%	澄清无色溶液
50	31.6	---	不溶性颗粒
50	39.8	97.9%	澄清无色溶液

[0127] 实施例6

[0128] 以下实施例证明了根据本发明的方法利用硝酸,硫酸,磷酸或柠檬酸作为电离稳定赋形剂制备而成的胰高血糖素溶液的稳定性。

[0129] 将胰高血糖素粉末(Bachem AG,产品号4074733)溶解在DMSO中制备浓度为5mg/mL的样品溶液,所述DMSO中含有各种浓度的外加HNO₃(从70%(w/w)储备溶液(CAS号7697-37-2)中制备1M溶液添加硝酸)。表7中列出了所检验的实验样品。将制剂储存在用FluroTec[®]涂覆的橡胶塞密封的2mL的CZ瓶(每瓶0.5mL样品溶液)中,并置于40°C/75%RH的稳定室中。储存56天后,通过RP-HPLC评估胰高血糖素肽的化学稳定性(根据实施例1中所述的方法),并且将胰高血糖素的纯度报告在表7中。

[0130] 表7:在40°C/75%RH下储存56天含有外加硝酸的5mg/mL胰高血糖素-DMSO溶液的

稳定性。通过RP-HPLC评估的胰高血糖素纯度来提供稳定性。

[0132]	胰高血糖素	加入的硝酸	胰高血糖素纯度%
	5mg/mL	1.0mM	不溶的聚集体
	5mg/mL	2.0mM	96.2%
	5mg/mL	5.0mM	94.8%
	5mg/mL	7.5mM	86.5%
	5mg/mL	10.0mM	78.6%

[0133] 将胰高血糖素粉末 (Bachem AG, 产品编号4074733) 溶解于DMSO中, 制备浓度为5mg/mL的样品溶液, 所述DMSO中含有各种浓度的添加硫酸 (来自1N (0.5M) 储备溶液 (CAS号7664-93-9)) 和5% (w/v) 海藻糖 (来自二水合物; CAS号6138-23-4)。表8中列出了所检测的实验样品。将样品制剂储存在用FluroTec® 涂覆的橡胶塞密封的2mL的CZ瓶 (每瓶0.5mL样品溶液) 中, 并置于40°C/75%RH的稳定室中。储存84天后, 通过RP-HPLC评估胰高血糖素肽的化学稳定性 (根据实施例1中所述的方法), 并在表8中报告了胰高血糖素的纯度。

[0134] 表8: 40°C/75%RH下储存84天后, 含有添加硫酸和5% (w/v) 海藻糖的5mg/mL胰高血糖素-DMSO溶液的稳定性。通过RP-HPLC评估的胰高血糖素纯度来提供稳定性。

[0135]	胰高血糖素	加入的硫酸	胰高血糖素纯度%
	5mg/mL	2.0mM	不溶的聚集体
	5mg/mL	4.0mM	95.3%
	5mg/mL	5.0mM	95.2%
	5mg/mL	6.3mM	94.3%
	5mg/mL	7.9mM	93.3%
	5mg/mL	10.0mM	92.3%
	5mg/mL	12.6mM	87.2%

[0136] 将胰高血糖素粉末 (Bachem AG, 产品号4074733) 溶解在DMSO中制备浓度为5mg/mL的样品溶液, 所述DMSO中含有不同浓度的添加磷酸 (所述磷酸是从1M的溶液中加入的, 所述1M的溶液是从85% (w/w) 储备溶液 (CAS No. 7664-38-2) 制备的)。表9中列出了所检验的实验样品。将样品制剂储存在用FluroTec® 涂覆的橡胶塞密封的2mL CZ瓶 (每瓶0.5mL样品溶液) 中, 并置于40°C/75%RH的稳定室中。储存80天后, 通过RP-HPLC评估胰高血糖素肽的化学稳定性 (根据实施例1中所述的方法), 并在表9中报告了胰高血糖素的纯度。

[0137] 表9: 在40°C/75%RH下储存80天含有添加磷酸的5mg/mL胰高血糖素-DMSO溶液的稳定性。通过RP-HPLC评估的胰高血糖素纯度提供稳定性。

[0138]	胰高血糖素	加入的磷酸	胰高血糖素纯度%
	5mg/mL	10mM	不溶的聚集体
	5mg/mL	20mM	85.4%
	5mg/mL	40mM	88.8%
	5mg/mL	60mM	89.6%
	5mg/mL	80mM	88.7%
	5mg/mL	100mM	89.1%

[0139] 将胰高血糖素粉末溶解在DMSO中制备浓度为5mg/mL的样品溶液,所述DMSO含有各种浓度的添加柠檬酸(CAS号77-92-9),所述柠檬酸已直接溶解于纯的DMSO中。表10中列出了所检测的实验样品。将样品制剂储存在用FluroTec[®]涂覆的橡胶塞密封的2mL CZ瓶(每瓶0.5mL样品溶液)中,并将其置于40°C/75%RH的稳定室中。储存65天后,通过RP-HPLC评估胰高血糖素肽的化学稳定性(根据实施例1中描述的方法),并在表10中报告了胰高血糖素的纯度。

[0140] 表10:在40°C/75%RH储存65天含有添加柠檬酸的5mg/mL胰高血糖素-DMSO溶液的稳定性。通过RP-HPLC评估的胰高血糖素纯度提供稳定性。

[0141]	胰高血糖素	加入的[C ₆ H ₈ O ₇]	胰高血糖素纯度%
	5mg/mL	2.5mM	90.4%
	5mg/mL	5.0mM	86.8%
	5mg/mL	10.0mM	82.3%
	5mg/mL	15.0mM	78.1%
	5mg/mL	20.0mM	74.0%

[0142] 该实施例表明,各种酸,包括有机酸和无机酸,均可用作电离稳定赋形剂。在给定的溶剂体系中给定电离稳定赋形剂的所需浓度将会根据各种制剂参数而变化,包括API, API浓度,其他制剂组分(例如水分,赋形剂)的存在以及电离稳定赋形剂的酸强度。

[0143] 实施例7

[0144] 在5mM甘氨酸盐酸盐(CAS No.6000-43-7)或者5mM无水柠檬酸(CAS No.77-92-9)存在下,将乙酸普兰林肽粉末(分子量=3949.4;CAS号196078-30-5;ChemPep, Inc., Wellington, FL)溶解在DMSO中制备浓度为1mg/mL的胰淀素类似物普兰林肽制剂。为了对比,将乙酸普兰林肽粉末以相同浓度直接溶解在DMSO中(但没有添加赋形剂)。将每种制剂的样品储存在CZ瓶中并在40°C下孵育。整个研究期间样品溶液保持澄清(即不含不溶性聚集体)并且是无色的。在储存14天和28天后,根据实施例1中描述的方法通过RP-HPLC评估肽的化学稳定性。如表11所示,与仅包含普兰林肽和DMSO的溶液相比,包含5mM甘氨酸盐酸盐和5mM柠檬酸的溶液的稳定性增强。

[0145] 表11:在40°C下储存的普兰林肽-DMSO溶液的稳定性(以肽纯度百分比提供)。

[0146]	普兰林肽粉末的浓度	赋形剂	第0天	第14天	第28天
	1 mg/mL	没有	100%	77.5%	49.1%
	1 mg/mL	5 mM 甘氨酸盐酸盐	100%	100%	100%
	1 mg/mL	5 mM 柠檬酸	100%	91.1%	76.6%

[0147] 实施例8

[0148] 将胰淀素类似物乙酸普兰林肽粉末溶解在DMSO中(浓度为1mg/mL),并向其中加入不同浓度的盐酸,0.00001M(0.01mM)至0.1M(100mM)。用5N的HCl制备100mM和10mM的HCl的DMSO溶液,用1N的HCl制备1mM、0.1mM和0.01mM的HCl的DMSO溶液。举例来说,对于100mM HCl的DMSO溶液,将10μL的1N HCl加入到9.99mL的DMSO中。将每种制剂的样品储存在CZ瓶中,并

在40°C下孵育。在储存31天后,根据实施例1中描述的方法通过RP-HPLC评估肽的化学稳定性。在整个研究期间,样品溶液保持澄清(即不含不溶物质)并且是无色的。然而,如表12所示,相对于其他样品制剂,加入特定量的HCl (1mM HCl的DMSO溶液) 提供提高的肽稳定性,使化学降解最小化。

[0149] 表12:在40°C储存的1mg/mL普兰林肽-DMSO溶液的稳定性(以肽的纯度%提供)。

普兰林肽	加入的盐酸mM	第0天	第31天
1mg/mL	100	100%	0%
1mg/mL	10	100%	72.9%
1mg/mL	1	100%	100.0%
1mg/mL	0.1	100%	72.8%
1mg/mL	0.01	100%	43.2%

[0151] 实施例9

[0152] 为了进一步检测能够使胰淀素类似物普兰林肽的DMSO溶液稳定的外加HCl的范围,在0.00032 (0.32mM) 至0.00316M (3.16mM) 的不同浓度的盐酸DMSO溶液存在下,通过将乙酸普兰林肽粉末溶解在DMSO中来制备5mg/mL的普兰林肽制剂。表13中显示了所研究的HCl浓度。将0.5mL体积的溶液储存在2mL的CZ瓶中,并置于温度设定为40°C的恒温箱中。在整个研究期间,样品制剂保持澄清(即不含不溶性物料)并且是无色的。在储存31天后,在表13中示出了制剂中肽的稳定性(根据实施例1中所述的方法通过RP-HPLC评估)。

[0153] 表13:在40°C下储存31天的5mg/mL普兰林肽-DMSO溶液的稳定性(以肽纯度%提供)。

普兰林肽粉末浓度	加入的盐酸mM	肽纯度
5mg/mL	3.16	69.0%
5mg/mL	1.78	87.3%
5mg/mL	1.26	94.9%
5mg/mL	1.00	97.7%
5mg/mL	0.79	97.0%
5mg/mL	0.56	90.5%
5mg/mL	0.32	59.2%

[0155] 表13中的绘制数据表明,添加的离子稳定赋形剂可能存在的最佳范围,以使得肽稳定性被优化(在该实施例中约为1.00mM) (图2)。如图2所示(其中X轴表示添加的HCl浓度(mM),以对数表示),偏离HCl的最佳加入浓度(通过增加或降低HCl浓度)促进已经溶解的普兰林肽分子的化学和/或物理降解。

[0156] 实施例10

[0157] 稳定给定肽所需的离子稳定赋形剂的浓度将取决于各种制剂参数,包括肽的氨基酸序列和溶液中肽的浓度。在本实施例中,制备两种不同的浓度的乙酸普兰林肽的DMSO溶液:1mg/mL和5mg/mL。将电离稳定赋形剂HCl水溶液(5N和1N浓度)加入到溶液中,以获得左栏中规定的最终加入的HCl浓度。然后将样品在40°C下储存1个月。如表14所示,如根据实施例1中描述的方法通过RP-HPLC评估的普兰林肽分子的稳定性表明:将药物浓度提高五倍,需要使添加的HCl的浓度大致相应地增加,以稳定该分子,因为1mg/mL普兰林肽溶液在

1.00mM HCl (或0.56mM和1.78mM HCl之间)下表现出最大稳定性,而5mg/mL溶液在约3.16mM和5.62mM HCl下表现出最大稳定性。

[0158] 表14:在40℃储存31天后通过RP-HPLC评估的普兰林肽纯度。

加入的盐酸浓度	普兰林肽 (1 mg/mL)	普兰林肽 (5 mg/mL)
10.00 mM	---	83.5%
5.62 mM	---	99.3%
[0159] 3.16 mM	79.2%	100.0%
1.78 mM	96.3%	88.5%
1.00 mM	100.0%	68.9%
0.56 mM	96.0%	57.7%
0.32 mM	67.3%	56.8%

[0160] *对于1mg/mL浓度的普兰林肽溶液,由于随着HCl浓度从1.78mM增加至3.16mM,制剂表现出降低的稳定性,因此未在5.62mM和10.0mM HCl浓度下制备样品。

[0161] 实施例11

[0162] 在该实施例中,将胰岛素(重组人源)粉末(CAS No.11061-68-0)溶解于DMSO中,浓度为3.5mg/mL。在胰岛素粉末溶解后,将不同浓度的盐酸加入到样品溶液中。加入的HCl的浓度为0.010M(10mM)至0.00032M(0.32mM)。表15中显示了所研究的HCl浓度。将0.5mL等份的胰岛素溶液样品储存在2mL CZ瓶中,并置于温度设定为40℃的恒温箱中。对于储存后的溶液目测观察,表明它们在整个孵育期间保持澄清(即不含不溶性物质)并且是无色的。根据实施例1中所述的方法,在储存14天后,通过RP-HPLC评估制剂中肽的化学稳定性,结果(以肽纯度提供)显示于下表15中。

[0163] 表15:在40℃储存2周的3.5mg/mL胰岛素-DMSO溶液的稳定性(以肽纯度提供)。

胰岛素粉末浓度	盐酸mM	胰岛素纯度
3.5mg/mL	10.0	70.7%
3.5mg/mL	5.6	72.4%
3.5mg/mL	3.2	74.7%
3.5mg/mL	1.8	88.1%
3.5mg/mL	1.0	95.5%
3.5mg/mL	0.6	97.3%
3.5mg/mL	0.3	94.7%

[0165] 实施例12

[0166] 以下实施例证明本发明适用于共制剂的制备。将胰岛素(重组人源)粉末(CAS No.11061-68-0)溶解于DMSO(纯的)中,终浓度为3.5mg/mL,所述DMSO中加入了不同浓度的盐酸。如表16所示,添加的HCl浓度为0.010M(10mM)至0.00032M(0.32mM)。然后向这些溶液

中加入乙酸普兰林肽粉末 (CAS No.196078-30-5),浓度为1.0mg/mL。因此,每种样品溶液都含有溶于DMSO的3.5mg/mL的胰岛素粉末和1.0mg/mL的普兰林肽粉末,其中DMSO中含有特定浓度的外加HCl。将0.5mL等份的共制剂样品溶液置于2mL CZ瓶中,并在室温(22-23°C)下储存。在储存52天后通过RP-HPLC(根据实施例1中所述的方法)评估制剂中肽的稳定性,结果显示在表16中。与之前针对含有单一API的制剂的实施例一样,共制剂也呈现出为两种肽提供最佳稳定性的外加HCl浓度。

[0167] 表16:在室温(22-23°C)下储存52天的含有3.5mg/mL胰岛素粉末和1.0mg/mL普兰林肽粉末的溶解于DMSO的共制剂稳定性(以肽纯度提供)。

[0168]

胰岛素粉末浓度	普兰林肽粉末浓度	加入的盐酸	组合纯度
3.5mg/mL	1.0mg/mL	3.2mM	87.4%
3.5mg/mL	1.0mg/mL	1.8mM	92.9%
3.5mg/mL	1.0mg/mL	1.0mM	98.1%
3.5mg/mL	1.0mg/mL	0.6mM	88.8%
3.5mg/mL	1.0mg/mL	0.3mM	87.5%

[0169] 实施例13

[0170] 以下实施例证明本发明适用于小分子稳定制剂的制备。将肾上腺素(来自酒石酸氢盐)粉末(CAS号51-42-3)溶解在DMSO(纯的)中,API浓度为10mg/mL(约55mM),所述DMSO中已经加入了不同浓度的盐酸(来自1N储备溶液)。如表17所示,添加的HCl浓度为1mM至100mM。将0.5mL等份的肾上腺素溶液储存在2mL(1型)玻璃瓶中,并置于温度为40°C,相对湿度为75%的稳定室中。这些样品在室温中制备,并在室温下将其存储在用FluroTec®涂覆的橡胶塞密封的瓶中(注意样品也可以在惰性气体(氮气,氩气)下填充)。

[0171] 在储存1个月通过RP-HPLC评估制剂中小分子的稳定性,结果示于表17中。对于HPLC分析,制备1升由0.05M磷酸二氢钠,519mg 1-辛烷磺酸钠,45mg乙二胺四乙酸二钠组成的水溶液,并用H₃PO₄将pH调节至3.8。流动相由85:15(v/v)的所述水溶液与甲醇的混合物组成。使用BDS Hypersil C8柱(4.6mm内径×150mm长),注射体积为20μL和检测波长为280nm。在使用之前,通过0.45μm尼龙过滤器在真空下过滤流动相,并将10mg/mL的肾上腺素样品溶液用流动相稀释200倍(例如5μL样品体积在1mL总体积中)。由于肾上腺素溶液容易变色,部分原因是肾上腺素分子通过氧化转化为肾上腺素红(以溶液的粉红色变色为特征)和/或黑色素(以溶液的黄色/棕色变色为特征),因此目视检查样品溶液的颜色。如表17所示,在环境条件下密封时向肾上腺素溶液中加入约等摩尔浓度的HCl(50mM)防止变色。

[0172] 此外,水溶液中的肾上腺素也很容易从生物活性立体异构体(L-肾上腺素)转化成无活性形式(D-肾上腺素)。因此,通过手性RP-HPLC也检测了DMSO溶液中的对映体纯度。流动相为水溶液(0.20M NaCl,0.05%冰醋酸)和乙腈95:5(v/v)的混合物。使用的手性柱(Shodex ORpak CDBS-453;内径4.6mm,长150mm),柱温10°C,流速0.5mL/分钟,检测波长280nm。使用前,通过0.45μm尼龙过滤器真空下过滤所述流动相,利用手性HPLC流动相将10mg/mL样品溶液稀释200倍。表17中列出了对映体的纯度(以L-肾上腺素占总肾上腺素的百分比提供)。

[0173] 注意到,如现有技术(例如,美国专利9,125,805)中所述,当肾上腺素酒石酸氢盐直接溶解于DMSO中时,该溶液呈现出大量的变色。向制剂中加入HCl抑制变色的程度,直到

加入50mM的HCl (其与10mg/mL的溶液中的肾上腺素分子的浓度近似等摩尔)时,该溶液在整个1个月的存储期间保持澄清和无色。加入75和100mM的HCl,溶液表现出明显的变色。

[0174] 表17:于环境气氛下密封的10mg/mL的肾上腺素溶液在40°C和75%RH下储存1个月的稳定性

[0175]	肾上腺素的浓度	加入的盐酸	%纯度	溶液颜色	对映体纯度
	10mg/mL	0mM	92.6%	深红色	100%
	10mg/mL	1mM	94.9%	深粉色	100%
	10mg/mL	10mM	98.5%	浅粉色	100%
	10mg/mL	25mM	100.0%	很浅的浅粉色	100%
	10mg/mL	50mM	100.0%	无色	100%
	10mg/mL	75mM	91.6%	棕色	97.4%
	10mg/mL	100mM	74.8%	深棕色	93.1%

[0176] 实施例14

[0177] 以下实施例证明本发明适用于制备稳定的小分子制剂,并且在惰性气氛下对样品瓶进行密封。将肾上腺素(来自酒石酸氢盐)粉末(CAS No.51-42-3)溶解于在DMSO(纯的)中,最终API浓度为10mg/mL(约55mM),其中所述DMSO中已经加入了不同浓度的盐酸(来自1N的储备溶液)。如表18所示,添加的HCl浓度为1mM至100mM。将0.5mL等份的肾上腺素溶液储存在2mL(1型)玻璃瓶中,并置于温度为40°C,相对湿度为75%的稳定室中。这些样品在环境下制备,但是在惰性气体(氩气)下密封,因为众所周知肾上腺素很容易发生氧化降解反应。

[0178] 在储存1个月通过RP-HPLC评估在惰性气体下密封的制剂中的小分子稳定性,结果示于表18中。如实施例13中所述通过HPLC分析化学稳定性。由于肾上腺素溶液很容易发生降解促进的变色,部分原因是肾上腺素分子通过氧化转化为肾上腺素红(特征在于溶液的粉色变色)和/或黑色素(其特征在于溶液的黄色/棕色变色),目视检查样品溶液的颜色。如表18所示,将样品瓶在惰性气体(在该特定实施例中为氩气)下密封,抑制了如上述实施例11中所述的样品瓶在环境气氛下密封带来的粉红色变色。然而,向制剂中加入过量的HCl(例如相对于小分子API明显高于等摩尔浓度),观察到与来自实施例10的溶液类似的深黄色/深棕色变色。

[0179] 如实施例13中所述,也对氩回填的肾上腺素样品进行手性HPLC分析。使用前,通过0.45 μ m尼龙过滤器真空下过滤流动相,用手性HPLC流动相将10mg/mL样品溶液稀释200倍。表18中列出了对映体纯度(以L-肾上腺素占总肾上腺素的百分比提供)。

[0180] 将肾上腺素(来自酒石酸氢盐)直接溶解在DMSO中,并在氩气氛下密封在玻璃瓶中,溶液仍表现出变色,但与在环境下密封的样品相比变色缓和。向制剂中加入HCl抑制了变色的程度;当加入10-50mM的HCl(后者与肾上腺素分子大约等摩尔)时,在整个1个月的储存期间,溶液保持澄清和无色。当加入75和100mM的HCl中,观察到溶液明显变色。

[0181] 表18:于氩气气氛下密封,在40°C和75%RH下储存1个月的10mg/mL肾上腺素溶液的化学稳定性。

[0182]	肾上腺素浓度	加入的盐酸	纯度%	溶液颜色	对映体纯度
	10mg/mL	0mM	100.0%	浅粉色	100.0%
	10mg/mL	1mM	100.0%	很浅的浅粉色	100.0%

10mg/mL	10mM	100.0%	无色	100.0%
10mg/mL	25mM	100.0%	无色	100.0%
10mg/mL	50mM	100.0%	无色	100.0%
10mg/mL	75mM	93.9%	黄色	97.3%
10mg/mL	100mM	91.1%	橙色	91.1%

[0183] 实施例15

[0184] 以下实施例证明本发明适用于制备稳定的小分子制剂。将肾上腺素(来自酒石酸氢盐)粉末(CAS编号51-42-3)溶解于DMSO(纯的)中,API浓度为3mg/mL(约16mM),所述DMSO中已经加入了不同浓度的盐酸(来自1N储备溶液)。如表19所示,加入的HCl浓度为0mM至25mM。将0.5mL等份的肾上腺素溶液储存在2mL(1型)玻璃瓶中,并置于温度为40°C,相对湿度为75%的稳定室中。这些样品在环境下制备并在环境气氛下密封在瓶中(注意样品也可以在惰性气体(例如氮气,氩气)下填充)。

[0185] 如实施例13中所述的,在储存16周后通过RP-HPLC评估制剂中小分子的稳定性,结果示于表19中。在分析之前,用流动相将3mg/mL肾上腺素样品溶液稀释大约30倍(例如在1mL总体积中的33μL样品体积)。如表19所示,向肾上腺素酒石酸氢盐中添加约等摩尔浓度的HCl(16.4mM),当在环境下密封约16周(114天)时,抑制样品溶液变色。

[0186] 如实施例13中所述的,通过手性RP-HPLC检查DMSO-肾上腺素溶液中的对映体纯度。在分析之前,用手性HPLC流动相将3mg/mL样品溶液稀释30倍。表19中列出了对映体的纯度(以L-肾上腺素占总肾上腺素的百分比提供)。

[0187] 制剂中加入HCl抑制变色的程度,直到加入16.4mM的HCl(其与肾上腺素分子大约等摩尔)时,溶液在整个16周的储存期间保持澄清和无色。当加入20和25mM的HCl中,溶液表现出轻度变色。

[0188] 表19:于环境气氛下密封并在40°C和75%RH下储存16周的3mg/mL的肾上腺素溶液的化学稳定性。

[0189]

肾上腺素浓度	加入的盐酸	%纯度	溶液颜色	对映体纯度
3mg/mL	0mM	74%	棕色	99%
3mg/mL	1mM	76%	深红色	99%
3mg/mL	5mM	96%	深黄色	100%
3mg/mL	10mM	100%	浅棕色	100%
3mg/mL	15mM	100%	无色	100%
3mg/mL	20mM	97%	很浅的黄色	96%
3mg/mL	25mM	90%	浅棕色	92%

[0190] 鉴于本发明公开的内容,本文公开和要求保护的所有组合和/或方法可根据本发明的公开进行制造和实施,而无需过度实验。虽然已经在一些实施方案描述了本发明公开的组合物和方法,但是对于本领域技术人员来说显而易见的是,可以对组合物和方法以及步骤或者步骤顺序进行变换,而不背离本发明公开的构思、精神和范围。更具体地说,显然的是,某些在化学和生理学上相关的试剂可以代替本文所述的试剂,而获得相同或相似的结果。对于本领域技术人员显然的所有这些类似的替代和修改被认为是在本文所描述的发明的精神、范围和构思内。



图1

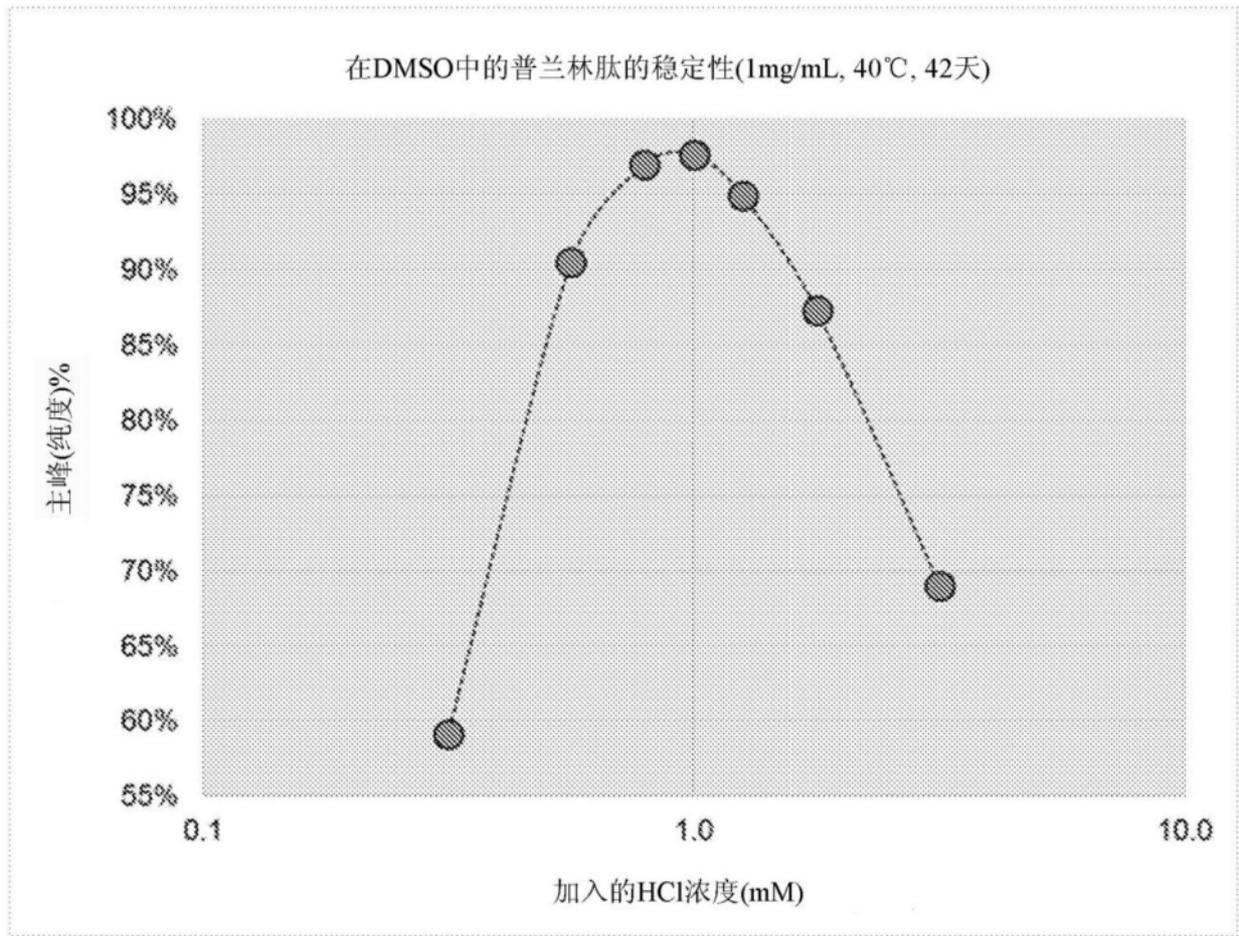


图2