



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 117653715 A

(43) 申请公布日 2024. 03. 08

(21) 申请号 202311408454.8

A61K 38/26 (2006.01)

(22) 申请日 2018.02.02

A61K 47/20 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 47/22 (2006.01)

62/454613 2017.02.03 US

A61K 47/10 (2017.01)

A61P 3/10 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

201880022823.0 2018.02.02

(71) 申请人 范德比尔特大学

地址 美国田纳西州

(72) 发明人 A. 彻林顿 D. 马格斯 S. 高希

C.A. 罗德斯 J. 林

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

专利代理师 王颖煜 彭昶

(51) Int. Cl.

A61K 38/28 (2006.01)

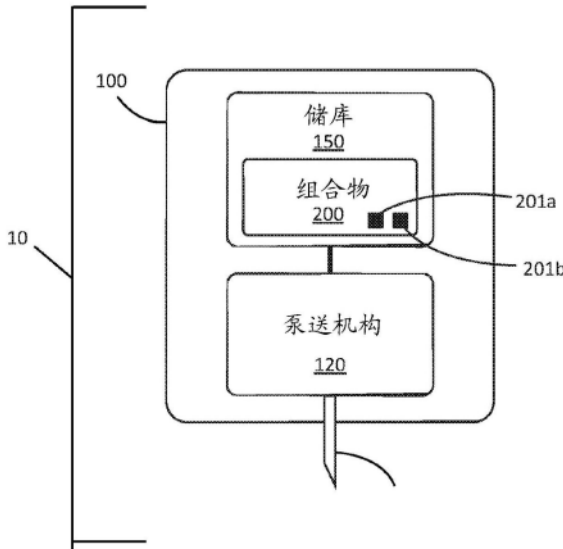
权利要求书2页 说明书23页 附图79页

(54) 发明名称

用于治疗糖尿病的系统、组合物和方法

(57) 摘要

本公开涉及用于治疗糖尿病的系统、组合物和方法。提供了包括向对象共同施用胰岛素和胰高血糖素的治疗方法以及包含胰岛素和胰高血糖素的共制剂。



1. 一种胰岛素和胰高血糖素在制备用于治疗的药物中的用途,所述用途包括向对象共同施用胰岛素和胰高血糖素,其中以约1:1至约6:1的胰岛素:胰高血糖素摩尔比共同施用所述胰岛素和胰高血糖素,其中所述胰岛素和胰高血糖素以在治疗上有效于同时治疗或抑制高血糖和抑制低血糖的量施用;且

其中共同施用所述胰岛素和所述胰高血糖素包括以约0.2-0.6mU/kg/分钟的基础输注速度施用所述胰岛素和以约1-4ng/kg/分钟的基础输注速度施用所述胰高血糖素。

2. 权利要求1的用途,其中在共同施用所述胰岛素和所述胰高血糖素之前所述对象是高血糖对象。

3. 权利要求1的用途,其中共同施用所述胰岛素和所述胰高血糖素包括向所述对象施用包含胰岛素和胰高血糖素的共制剂。

4. 权利要求3的用途,其中所述共制剂包含浓度为约1mg/ml至约10mg/ml的胰岛素和浓度为约0.1mg/ml至约1mg/ml的胰高血糖素。

5. 权利要求3的用途,其中所述共制剂包含浓度为约3mg/ml至约5mg/ml的胰岛素和浓度为约0.1mg/ml至约0.8mg/ml的胰高血糖素。

6. 权利要求3的用途,其中所述共制剂包含溶剂,所述溶剂包含一种或多种非水性溶剂。

7. 权利要求6的用途,其中约20%至约60%的溶剂(v/v)由一种或多种非水性溶剂组成。

8. 权利要求6的用途,其中至少一种非水性溶剂是二甲基亚砜(DMSO)或N-甲基吡咯烷酮(NMP)。

9. 权利要求6的用途,其中所述溶剂还包含一种或多种水性溶剂。

10. 权利要求9的用途,其中不超过约40%的溶剂(v/v)由一种或多种水性溶剂组成。

11. 权利要求6的用途,其中约10%至约40%的溶剂是丙二醇(PG)、甘油或PG和甘油的组合。

12. 权利要求3的用途,其中所述胰岛素和胰高血糖素的共制剂具有足够的作为注射或在输注泵中用于患者处理的使用期间稳定性。

13. 权利要求1的用途,其中共同施用所述胰岛素和所述胰高血糖素包括皮下施用所述胰岛素和所述胰高血糖素。

14. 权利要求1的用途,其中所述胰岛素包含肝偏好性胰岛素。

15. 权利要求1的用途,其中以约1:1至约5:1的胰岛素:胰高血糖素摩尔比共同施用所述胰岛素和所述胰高血糖素。

16. 权利要求1的用途,其中以约3:1至约6:1的胰岛素:胰高血糖素摩尔比共同施用所述胰岛素和所述胰高血糖素。

17. 权利要求1的用途,其中以约3:1至约5:1的胰岛素:胰高血糖素摩尔比共同施用所述胰岛素和所述胰高血糖素。

18. 权利要求1的用途,其中共同施用所述胰岛素和所述胰高血糖素包括以约0.3-0.5mU/kg/分钟的基础输注速度施用所述胰岛素。

19. 权利要求1的用途,其中共同施用所述胰岛素和所述胰高血糖素包括以约2-3ng/kg/分钟的基础输注速度施用所述胰高血糖素。

20. 权利要求1的用途,其中所述胰岛素包含胰岛素类似物。
21. 权利要求1的用途,其中所述胰高血糖素包含胰高血糖素类似物。
22. 权利要求1的用途,其中所述对象患有1型、2型、妊娠或其他形式的糖尿病。
23. 权利要求22的用途,其中当共同施用所述胰岛素和所述胰高血糖素时,所述对象正表现出低血糖相关的自主神经衰竭。
24. 一种共制剂,其包含浓度为约1mg/ml至约10mg/ml的胰岛素和浓度为约0.1mg/ml至约1mg/ml的胰高血糖素,其中胰岛素:胰高血糖素的摩尔比为约1:1至约6:1。
25. 权利要求24的共制剂,其中胰岛素:胰高血糖素的摩尔比为约1:1至约5:1。
26. 权利要求24的共制剂,其中胰岛素:胰高血糖素的摩尔比为约3:1至约6:1。
27. 权利要求24的共制剂,其中胰岛素:胰高血糖素的摩尔比为约3:1至约5:1。
28. 权利要求24的共制剂,其中所述胰岛素的浓度为约3mg/ml至约5mg/ml,所述胰高血糖素的浓度为约0.1mg/ml至约0.8mg/ml。
29. 权利要求24的共制剂,其还包含溶剂,所述溶剂包含一种或多种水性溶剂和一种或多种非水性溶剂。
30. 权利要求29的共制剂,其中约20%至约60%的溶剂(v/v)由一种或多种非水性溶剂组成,且不超过约40%的溶剂(v/v)由一种或多种水性溶剂组成。
31. 权利要求29的共制剂,其中至少一种非水性溶剂是二甲基亚砜(DMSO)或N-甲基吡咯烷酮(NMP)。
32. 权利要求29的共制剂,其中约10%至约40%的溶剂是丙二醇(PG)、甘油或PG和甘油的组合。

用于治疗糖尿病的系统、组合物和方法

[0001] 本申请是申请日为2018年2月2日,申请号为201880022823.0,名称为“用于治疗糖尿病的系统、组合物和方法”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

本申请要求2017年2月3日提交的美国临时申请号62/454,613的权益,出于所有目的,该临时申请的内容通过引用整体并入本文。

[0003] 领域

本公开提供了用于治疗糖尿病患者的系统、组合物和方法,特别是包括胰岛素和胰高血糖素的共同施用的治疗。

[0004] 背景

糖尿病患者的治疗通常包括递送胰岛素,例如通过注射器注射或胰岛素递送泵来进行递送。低血糖是T1DM患者最担心的并发症。这是有效治疗的主要障碍,因为人们为了避免低血糖而使用不足剂的胰岛素。结果,当前的治疗常常导致不充分的血糖控制,涉及不希望的低血糖和/或高血糖事件。

[0005] 需要在减少血糖波动和低血糖发作的同时治疗糖尿病患者的系统、组合物和方法。

[0006] 概述

本文描述的系统、装置和方法的实施方案可以指向用于治疗糖尿病患者的系统、装置和方法。

[0007] 在一些方面,本公开提供了包括向对象共同施用胰岛素和胰高血糖素的治疗方法,其中以约1:1至约6:1的胰岛素:胰高血糖素摩尔比共同施用胰岛素和胰高血糖素,并且其中胰岛素和胰高血糖素以在治疗上有效于同时治疗或抑制高血糖和抑制低血糖的量施用。例如,胰岛素和胰高血糖素可以以约1:1至约5:1、约3:1至约6:1或约3:1至约5:1的胰岛素:胰高血糖素摩尔比共同施用。在共同施用胰岛素和胰高血糖素之前,对象可以是高血糖对象。在一些实施方案中,共同施用胰岛素和胰高血糖素可以包括向对象施用包含胰岛素和胰高血糖素的共制剂。共制剂可包含浓度为约1mg/ml至约10mg/ml的胰岛素和浓度为约0.1mg/ml至约1mg/ml的胰高血糖素。例如,共制剂可包含浓度为约3mg/ml至约5mg/ml的胰岛素和浓度为约0.1mg/ml至约0.8mg/ml的胰高血糖素。共制剂可包含溶剂,其包括至少一种非水性溶剂(例如非质子溶剂,如二甲基亚砜和/或N-甲基吡咯烷酮)。在一些实施方案中,约20%至约60%的溶剂(v/v)由一种或多种非水性溶剂组成。溶剂可以进一步包括一种或多种水性溶剂。在一些实施方案中,不超过约40%的溶剂(v/v)由一种或多种水性溶剂组成。在一些实施方案中,约10%至约40%的溶剂(v/v)是丙二醇(PG)、甘油或PG和甘油的组合。胰岛素和胰高血糖素的共同施用可包括皮下施用胰岛素和胰高血糖素。共同施用胰岛素和胰高血糖素可包括以约0.2-0.6mU/kg/分钟的基础输注速度施用胰岛素和以约1-4ng/kg/min的基础输注速度施用胰高血糖素。例如,可以以约0.3-0.5mU/kg/分钟的基础输注速度施用胰岛素,和/或可以以约2-3ng/kg/分钟的基础输注速度施用胰高血糖素。

[0008] 在一些方面,本公开提供了共制剂,其包含浓度为约1mg/ml至约10mg/ml的胰岛素

和浓度为约0.1mg/ml至约1mg/ml的胰高血糖素,其中胰岛素:胰高血糖素的摩尔比为约1:1至约6:1。例如,胰岛素:胰高血糖素的摩尔比可以为约1:1至约5:1、约3:1至约6:1,或约3:1至约5:1。胰岛素的浓度可以为约3mg/ml至约5mg/ml,胰高血糖素的浓度可以为约0.1mg/ml至约0.8mg/ml。共制剂可进一步包含溶剂,该溶剂包括一种或多种水性溶剂和一种或多种非水性溶剂(例如非质子溶剂,如DMSO和/或NMP)。在一些实施方案中,约20%至约60%的溶剂(v/v)可以由一种或多种非水性溶剂组成。溶剂可以进一步包括一种或多种水性溶剂。在一些实施方案中,不超过约40%的溶剂(v/v)可以由一种或多种水性溶剂组成。在一些实施方案中,约10%至约40%的溶剂可以是丙二醇(PG)、甘油或PG和甘油的组合。

[0009] 根据以下详细描述并结合附图,将最好地领会和理解本文描述的技术及其属性和伴随的优点,其中以实例的方式描述了代表性实施方案。

[0010] 附图简述

图1示出了符合本发明构思的用于向患者递送组合物的系统,该系统包括具有单一储器的单一泵送装置。

[0011] 图1A示出了符合本发明构思的用于向患者递送组合物的系统,该系统包括具有两个储器的单一泵送装置。

[0012] 图1B示出了符合本发明构思的用于向患者递送组合物的系统,该系统包括两个泵送装置。

[0013] 图2-15示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的数据。

[0014] 图16示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的方案。

[0015] 图17-46示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的数据。

[0016] 图47-48示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的数据,其中使用了胰岛素和胰高血糖素的共制剂。

[0017] 图49示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的实验时间轴,以评估胰高血糖素在出现胰岛素诱导的低血糖时增加和维持增加葡萄糖产生的能力。

[0018] 图50-60示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的数据,以评估胰高血糖素在出现胰岛素诱导的低血糖时增加和维持增加葡萄糖产生的能力。

[0019] 图61和62示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的数据,以评估胰岛素和胰高血糖素的共制剂允许基础激素替代和提供显著的低血糖保护的潜力。

[0020] 图63-65示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的数据,以评估胰岛素和胰高血糖素的共输注替代两种激素的基础内源性分泌同时仍保持正常血糖的能力。

[0021] 图66和67示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的数据,以确定将I/G摩尔比保持在4同时减少胰岛素和胰高血糖素的基础替代速度能否维持正常血糖。

[0022] 图68和69示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的数据,以评估速度为0.4mU/kg/min的胰岛素输注和速度为1.38ng/kg/min的胰高血糖素输注有效替代胰岛素和胰高血糖素的基础分泌并限制胰岛素诱导的低血糖的能力。

[0023] 图70-73示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的数据,以支持开发稳定在2-8℃的用于输注泵的胰岛素和胰高血糖素的非水性共制剂。

[0024] 图74-76示出了符合本发明构思的由申请人进行的哺乳动物研究的数据,以评估

胰岛素和胰高血糖素的共制剂溶液与作为单独溶液的胰岛素和胰高血糖素相比的治疗价值。

[0025] 详述

现在将详细参照本技术的实施方案,其实例在附图中示出。在整个附图中使用相同的参考号指代相同或相似的部分。

[0026] 将理解在本文使用时,词语“包含 (comprising)” (以及包含的任何形式,例如“包含 (comprise)”和“包含 (comprises)”)、“具有 (having)” (以及具有的任何形式,例如“具有 (have)”和“具有 (has)”)、“包括 (including)” (以及包括的任何形式,例如“包括 (includes)”和“包括 (includes)”)或“含有 (containing)” (以及含有的任何形式,例如“含有 (contains)”和“含有 (contain)”)指定存在陈述的特征、整数、步骤、操作、元件和/或组件,但不排除一个或多个其他特征、整数、步骤、操作、元件、组件和/或其群组的存在或加入。

[0027] 将进一步理解,尽管本文可以使用术语第一、第二、第三等来描述各种限制、元件、组件、区域、层和/或区段,但是这些限制、元件、组件、区域、层和/或区段不应受到这些术语的限制。这些术语仅用于将一个限制、元件、组件、区域、层或区段与另一限制、元件、组件、区域、层或区段区分。因此,在不脱离本申请的教导的情况下,以下讨论的第一限制、元件、组件、区域、层或区段可以被称为第二限制、元件、组件、区域、层或区段。

[0028] 将进一步理解,当元件被称为“在”另一元件“上”、“附接”、“连接”或“耦合”到另一元件时,它可以直接在另一元件之上或上面,或者连接或耦合到另一元件,或者可以存在一个或多个中间元件。相反,当一个元件被称为“直接在”另一元件“上”、“直接附接”、“直接连接”或“直接耦合”到另一元件时,则不存在中间元件。应当以类似的方式来解释用于描述元件之间的关系的其他词语 (例如,“在...之间”与“直接在...之间”,“相邻”与“直接相邻”等)。

[0029] 将进一步理解,当第一元件被称为在第二元件“中”、“上”和/或“内”时,第一元件可被定位于:在第二元件的内部空间内、在第二元件的一部分内 (例如在第二元件的壁内);定位在第二元件的外表面和/或内表面上;以及它们中一种或多种的组合。

[0030] 如本文所使用的,术语“接近”应包括相对接近于所参照的组件或其他位置的位置、在所参照的组件或其他位置上、中和/或内的位置。

[0031] 空间相对术语,如“在...之下”、“在...下方”、“低于...”、“在...上方”、“在...之上”等可用于描述元件和/或特征与另一个或多个元件和/或特征的关系,例如如附图所示。将进一步理解,除了附图中所描绘的方位之外,空间相对术语还意图涵盖装置在使用和/或操作中的不同方位。例如,如果图中的装置被翻转,则被描述为在其他元件或特征“下方”和/或“之下”的元件将被定向为在其他元件或特征“上方”。装置可以以其他方式定向 (例如旋转90度或以其他定向),并且本文使用的空间相对描述语被相应地解释。

[0032] 在本文中使用时,术语“减少 (reduce)”、“减少 (reducing)”、“减少 (reduction)”等包括数量的减少,包括减少到零。减少发生的可能性应包括预防发生。

[0033] 在本文中使用时,术语“和/或”应被视为两个指定的特征或组件中的每个与另一个一起或不与另一个一起的具体公开。例如,“A和/或B”应被视为 (i) A、(ii) B和 (iii) A和B中的每一个的具体公开,就像它们各自在本文中被单独阐述一样。

[0034] 在本文中使用时,术语“胰岛素”应包括激素胰岛素和/或任何一种或多种胰岛素类似物(例如本领域技术人员已知的一种或多种胰岛素类似物),如NPH胰岛素、门冬胰岛素、赖谷胰岛素、赖脯胰岛素和/或肝偏好性胰岛素(hepato-preferential insulin)。

[0035] 在本文中使用时,术语“胰高血糖素”应包括激素胰高血糖素和/或一种或多种胰高血糖素类似物(例如本领域技术人员已知的一种或多种胰高血糖素类似物),如Dasiglucagon(也称为ZP-4207,Zealand Pharmaceuticals)、[Asp28]胰高血糖素、[Asp28,Glu29]胰高血糖素、[Asp28,Glu29]胰高血糖素和/或胰高血糖素-Cex。

[0036] 应当理解,为了清楚起见,在单独的实施方案的上下文中描述的本发明的某些特征也可以在单一实施方案中组合提供。相反,为了简洁起见,在单一实施方案的上下文中描述的本发明的各种特征也可以单独地或以任何合适的子组合来提供。例如,将理解的是,可以以任何给定的方式组合任何权利要求(无论是独立的还是从属的)中阐述的所有特征。

[0037] 本文提供了例如通过同时或至少相对同时地(本文中“同时(simultaneously)”或“同时(at the same time)”)递送胰岛素和胰高血糖素二者来用于治疗糖尿病患者的系统、组合物和方法。例如,同时递送包括在0.1秒至90分钟的时间段、0.1秒至60分钟的时间段或者0.1秒至30分钟的时间段内发生的以任一顺序递送的一定体积的第一药剂(例如胰岛素)和一定体积的第二药剂(例如胰高血糖素)的顺序递送。

[0038] 可以进行胰岛素的修饰以减轻医源性低血糖的风险,以便改善糖尿病患者的治疗。通过开发一种低血糖安全的胰岛素,可以提高(titrate up)胰岛素剂量,并通过这样做来减少血浆葡萄糖的起起落落。在T1DM治疗中,血浆葡萄糖波动的更多调整是高度期望的结果,并且应导致HbA1c的改善和其他并发症的减少。胰高血糖素和胰岛素对肝脏中的葡萄糖代谢有相反的影响,长期以来一直使用胰高血糖素注射来克服因胰岛素过量引起的低血糖。当血浆葡萄糖水平低时,胰高血糖素是已知的第一个激素响应者。在非糖尿病个体中,响应低血糖而分泌的胰高血糖素刺激葡萄糖产生,从而限制血浆葡萄糖的下降。在患有1型糖尿病(T1DM)的个体中, α 细胞(胰高血糖素的细胞来源)功能失调,并且胰高血糖素响应低血糖时不会升高,因此给自主神经系统带来了更大负担,其结果可能是自身失效。

[0039] 在正常血糖/高血糖条件下,胰岛素(I)压制胰高血糖素(G)对肝脏的作用(Steiner等人,Metabolism,1990),使得在给定的I/G摩尔比下,当二者的输注速度都升高时,胰岛素将主导胰高血糖素。另一方面,在低血糖条件下,胰高血糖素在与胰岛素竞争时更有效。本发明构思的系统、装置和方法以期望的摩尔比组合胰岛素和胰高血糖素作为治疗方式,从而减轻了胰岛素诱导低血糖的程度,同时保留了胰岛素控制高血糖的能力。两种肽激素的递送可以通过同时共同施用它们各自的制剂,或者通过施用肽激素的共制剂来进行。这样,所施用的胰高血糖素补偿了不足的 α 细胞响应,从而减轻了对自主神经系统的需求。这种组合提供低血糖缓冲,同时对葡萄糖耐量几乎没有影响或没有影响。申请人进行了如下所述的体内实验,其中特定比例的胰岛素和胰高血糖素同时均通过静脉内递送至皮下组织,以支持该期望的治疗结果。

[0040] 现在参照图1,示出了符合本发明构思的用于治疗糖尿病患者的系统。系统10包括泵100和组合物200。泵100可以包括储器150,其可以用于包围、存储、供应和/或以其他方式提供(在本文中一般为“提供”)组合物200,例如以允许长时间和/或间歇递送组合物200。泵100可以构造成将组合物200递送到一个或多个患者位置,例如当泵100将组合物200递送到

以下的一种或多种时：皮下组织；肌肉；静脉；和/或动脉。组合物200可包含两种或更多种药剂，例如当组合物200至少包含胰岛素（例如胰岛素和/或胰岛素类似物，本文中的“胰岛素”）和胰高血糖素（例如作为单独的材料或作为共制剂或以其他方式混合的状态）时。组合物200可包含至少两种药剂的共制剂或其他混合物。或者，组合物200可包含第一药剂201a（例如，至少包含胰岛素的药剂）和单独的第二药剂201b（例如，至少包含胰高血糖素的药剂，其不与第一药剂混合）。通过系统10递送给患者的第一药剂201a和第二药剂201b的量的比例（例如，胰岛素/胰高血糖素摩尔比或I/G摩尔比）可以预先确定和/或以其他方式控制（例如，控制到最大、最小和/或一定范围内），以例如对患者而言达到所需的治疗益处和/或没有不良事件。

[0041] 泵100可以包括定位于患者外部的泵，例如当泵100包括流体递送元件130时，该流体递送元件130包括：组合针（例如，穿过皮肤定位到身体位置如皮下（SQ）空间、腹膜内（IP）空间、静脉或动脉的针）；输液器，其包括针（例如，穿过皮肤定位到身体位置如皮下空间、腹膜内空间、静脉或动脉的针）；和/或导管（例如，穿过皮肤定位到身体位置如皮下空间、腹膜内空间、静脉或动脉的导管）。或者，泵100可包括可植入泵，例如当流体递送元件130包括导管时，如植入皮下组织中的导管。泵100可包括可植入泵，该可植入泵包括可通过针穿过患者皮肤的加注口。

[0042] 泵100可包括一个或多个泵送机构，例如选自以下的泵送机构120：注射器驱动器；蠕动泵送组件；旋转泵；弹簧驱动泵；以及这些中的一种或多种的组合。储器150可包括单一或多个储器，例如当储器150包括注射器和/或腔室（例如可压缩腔室）中的一个或多个时。

[0043] 在一些实施方案中，组合物200包含胰岛素和胰高血糖素的共制剂，例如当储器150包括提供共制剂的单一储器时。组合物200可包含胰高血糖素和肝偏好性胰岛素的共制剂。肝偏好性胰岛素具有增强的肝脏聚焦作用，其中胰高血糖素是低血糖条件下的有效竞争者。与包含非肝偏好性胰岛素的共制剂相比，在共同配制的组合物200中使用肝偏好性胰岛素可以构造成提供增强的结果，因为共同配制形式的非肝偏好性胰岛素对肌肉葡萄糖摄取的影响将变得更加突出。

[0044] 在一些实施方案中，组合物200包含I/G摩尔比低于约6，例如I/G比低于约5、低于约4或低于约3的胰岛素和胰高血糖素。在一些实施方案中，组合物200包含I/G摩尔比小于6但大于约1，例如I/G摩尔比高于约2或高于约3的胰岛素和胰高血糖素。在一些实施方案中，组合物200包含I/G摩尔比为下文所述的申请人研究中使用的近似I/G摩尔比的胰岛素和胰高血糖素。在一些实施方案中，组合物200可包含浓度为约1mg/ml至约10mg/ml，例如约3mg/ml至约5mg/ml的胰岛素。在一些实施方案中，组合物200可包含浓度为约0.1mg/ml至约1mg/ml，例如约0.1mg/ml至约0.8mg/ml的胰高血糖素。在一些实施方案中，组合物200包含浓度为在下文所述的申请人研究中使用的浓度的胰岛素和胰高血糖素。可以在治疗上有效于同时治疗或抑制高血糖和抑制低血糖的量将组合物200施用于对象。例如，可以以使得以约0.2-0.6mU/kg/min的基础胰岛素输注速度施用胰岛素，以及使得以约1-4ng/kg/min的基础输注速度施用胰高血糖素的方式施用组合物。在一些实施方案中，可以以使得以约0.3-0.5mU/kg/min的基础胰岛素输注速度施用胰岛素，以及使得以约2-3ng/kg/min的基础输注速度施用胰高血糖素的方式施用组合物。我们的数据显示，当增加胰岛素输注速度以覆盖一餐时，I/G摩尔比为3提供低血糖保护，且对高血糖的治疗几乎没有或没有负面影响。最佳

I/G摩尔比可能在2和6之间变化,因为较低的I/G比可能会产生可增加餐后高血糖的胰高血糖素水平,而较高的I/G摩尔比可能会提供太少的低血糖保护。另外,由于胰高血糖素和胰岛素类似物可能具有与天然人胰岛素和胰高血糖素不同的效力,因此,当使用胰岛素和胰高血糖素类似物时,必须进一步调整最佳比例以顾及不同的效力。

[0045] 组合物200可进一步包含溶剂,所述溶剂包括一种或多种非水性溶剂和/或包括一种或多种水性溶剂。在一些实施方案中,约20%至约60%的溶剂(v/v)可以由一种或多种非水性溶剂组成。在一些实施方案中,至少一种非水性溶剂可以是非质子溶剂,包括但不限于二甲基亚砜(DMSO)或N-甲基吡咯烷酮(NMP)。溶剂可以进一步包括一种或多种水性溶剂。在一些实施方案中,不超过约40%的溶剂(v/v)可以由一种或多种水性溶剂组成。最后,在一些实施方案中,约10%至约40%的溶剂可以是丙二醇(PG)、甘油或PG和甘油的组合。

[0046] 在一些实施方案中,泵100包括具有双储器的泵,例如如图1A所示。储器150a可被构造提供第一药剂201a(例如胰岛素),而储器150b可被构造提供第二药剂201b(例如胰高血糖素)。在这些实施方案中,组合物200包含药剂201a和单独的(未混合的)药剂201b全体。药剂201a和201b可以在进入单一泵送机构120之前混合,并由单一泵送机构120递送。分别存储在储器150a和150b中的药剂201a和201b各自的浓度应确定每种药剂的关键组分比例(例如以递送如本文所述的预定摩尔比的胰岛素与胰高血糖素)。或者,泵100可以包括两个泵送机构120(例如,机构120a和120b,其未示出但是是可独立控制的机构),使得可将泵送的流速构造(例如,程序化或可程序化)成实现所需比例的药剂150a与试剂150b的递送,而不依赖于其相对浓度。

[0047] 在一些实施方案中,泵100包括两个泵:泵100a和100b,例如如图1B所示。泵100a包括储器150a,储器150a可被构造提供第一药剂201a(例如胰岛素)。泵100b可以包括第二储器150b,其可被构造提供第二试剂201b(例如胰高血糖素)。在这些实施方案中,组合物200包含药剂201a和单独的(未混合的)药剂201b全体。药剂201a与药剂201b的递送比例由两种药剂201a和201b各自的浓度以及两个泵100a和100b各自的程序化流速确定(例如以递送如本文所述的预定摩尔比的胰岛素与胰高血糖素)。

[0048] 组合物200可以被构造使得其胰高血糖素和胰岛素一致作用以紧密调节血糖。胰岛素促进从血液中去掉葡萄糖至肌肉和脂肪组织中,还抑制肝脏产生葡萄糖,从而降低血糖水平。胰高血糖素刺激肝脏葡萄糖产生,其释放到血流中以提高血糖。在患有糖尿病的人中,分泌胰岛素的 β 细胞和分泌胰高血糖素的 α 细胞都将变得有缺陷。此问题表现为胰岛素不足,导致葡萄糖利用降低和葡萄糖产生增加。同时,胰高血糖素过量也导致增加的葡萄糖产生。因此,不足为奇的是,当前的治疗方法集中于增强胰岛素的分泌和作用,以及阻断胰高血糖素的分泌和作用。

[0049] 有效治疗患有糖尿病的人的主要障碍之一是其用正常胰高血糖素响应来响应低血糖的能力有缺陷,特别是在患有1型糖尿病(T1D)的人中。这种缺陷使T1D患者比正常(非糖尿病)个体更容易发生低血糖。由于该缺陷,这些患者的血糖水平波动广泛,表现出明显的高血糖和低血糖二者,从而使这类患者仅用胰岛素治疗非常难以充分控制其血糖水平。最近,研究人员使用闭环胰岛素泵得出的结论是,在血糖高时使用胰岛素和在血糖低时使用胰高血糖素可以减少低血糖和高血糖二者的程度(例如,描述于以下出版物:Russel等人,New England Journal of Medicine,2014年6月;和Bakhtiani等人,Diabetes,Obesity

and Metabolism,2013)。尽管在闭环系统中使用了实时葡萄糖传感器和复杂的算法来触发胰岛素或胰高血糖素输注,但对减少血糖的这种波动并最小化低血糖发作仍然存在着极大的未满足的需求。

[0050] 组合物200包括在胰岛素和胰高血糖素的量之间的特定关系(例如比例),以实现有益的治疗效果同时最小化低血糖。组合物200可包含这样的比例和/或以其他方式构造以避免由高胰岛素血和/或高胰高血糖素血引起的并发症。在一些实施方案中,系统10和组合物200被构造造成向患者提供足够的胰高血糖素,以在高胰岛素血或增加的胰岛素递送的背景下能够防范低血糖风险。系统10可以约2ng/kg/min的速度向患者提供胰高血糖素。系统10可以以大于0.5ng/kg/min或大于0.75ng/kg/min的速度提供胰高血糖素,从而例如在胰岛素水平提高或输注速度增加时防范低血糖。替代地或附加地,系统10可以提供小于20ng/kg/min的胰高血糖素输注速度,以便避免过量胰高血糖素引起的代谢紊乱和/或心血管毒性风险增加。在一些实施方案中,系统10和组合物200提供胰岛素的输注速度,该胰岛素输注速度被构造造成面对先前定义的胰高血糖素输注水平时维持葡萄糖稳态。组合物200可包含比例为1:1至6:1,例如比例为约1:1至5:1、约3:1至约6:1或约3:1至约5:1的人胰岛素:人胰高血糖素,从而例如降低葡萄糖效能以及减少低血糖风险。在一些实施方案中,系统10可以构造造成施用少于3.2mU/kg/min的胰岛素(例如人胰岛素),以便减少施用任何量的胰高血糖素都无法克服的过量胰岛素的可能性。

[0051] 在一些实施方案中,系统10以最低速度提供胰高血糖素,所述速度被构造造成足以在高胰岛素血的条件下免受低血糖而不引起来自高胰高血糖素血的毒性,例如可以皮下递送的高于10ng/kg/min的速度或高于20ng/kg/min的速度。在一些实施方案中,组合物200包含一定比例的胰岛素:胰高血糖素,所述比例构造造成在通过系统10经由组合物200递送的胰高血糖素的背景下允许改善的葡萄糖稳态。通过施用包含固定摩尔比的组合物200,系统10提供了免受低血糖,即使胰岛素将被系统10(例如经由泵100)团注。

[0052] 申请人已经进行了研究,研究表明胰高血糖素和胰岛素相互作用以控制肝脏葡萄糖产生的方式受到普遍的血浆葡萄糖水平的影响。例如,在正常血糖条件下以摩尔为基础将胰岛素和胰高血糖素水平都升至4倍导致胰岛素作用主导胰高血糖素作用。实际上,当胰岛素水平也升至4倍时,升至4倍的胰高血糖素刺激肝脏葡萄糖产生的能力减少80%。相反的情况发生在低血糖条件下。申请人已经表明,在低血糖条件下,甚至在存在高胰岛素水平的情况下,胰高血糖素在存在低葡萄糖的情况下的有效性是正常血糖条件下的3倍。已经证明低血糖使肝脏中的胰岛素信号传导分离,从而使胰高血糖素更好地工作。这种胰高血糖素效力的改善导致了胰岛素和胰高血糖素的共同施用会提供治疗优势的反常可能性。

[0053] 本文所述的本发明构思教导了正确比例的胰岛素和胰高血糖素的共同施用或共制剂允许更积极但安全地治疗T1D患者,从而提供对血糖水平的增强的长期控制。在进食和血糖提高期间,本发明构思的系统、组合物和方法提供了膳食剂量的胰岛素和胰高血糖素,其中两者成比例地增加,其中额外胰岛素的影响超过了额外胰高血糖素的影响。另一方面,在低血糖期间,提高的胰岛素在肝脏的效果较差,从而使额外的胰高血糖素驱动葡萄糖产生增加,从而限制了低血糖并减少了交感神经系统激活的需要。本发明构思提供了胰高血糖素和胰岛素的共同施用和/或共制剂,其限制了这些血糖漂移,从而改善了HbA1c水平并减少了患者的糖尿病并发症。

[0054] 本公开提供：使用限定比例的胰岛素和胰高血糖素的共输注来控制血糖；使用共同配制的胰岛素胰高血糖素混合物来控制血糖；胰岛素和胰高血糖素混合物减少低血糖相关的自主神经衰竭(HAAF)的用途；胰岛素胰高血糖素混合物预防胰岛素介导的体重增加的用途；胰岛素胰高血糖素混合物限制肝脏中的脂肪堆积的用途。本发明构思安全地减少了T1D患者的血糖变异性，从而允许更积极的治疗，这导致改善的HbA1c水平和减少的患者并发症。如本文所述，本发明构思的胰岛素可包括胰岛素、胰岛素类似物和优先偏向的胰岛素，例如肝偏好性胰岛素。

[0055] 通常，胰岛素和胰高血糖素被分泌到肝门静脉中，使得肝脏暴露于任何其他组织2-3倍的水平。在过夜禁食后，基础I/G摩尔分泌比约为10，但是在分别低血糖或高血糖状态下，该基础I/G摩尔分泌比可以从低水平(例如约0)变化至高水平(例如约240)。在申请人的初步实验中，表明当两种激素外周输注时，当胰高血糖素输注速度为1.6ng/kg/min时维持正常的空腹葡萄糖代谢所需的摩尔比约为3-4。研究包括通过递送I/G比为约20和约4的组合物200来检查胰岛素升高引起低血糖或阻止高血糖的能力。

[0056] 申请人对表示为对象1、2、3和4的四个清醒对象(犬)中的每一个进行配对研究(实验A和B)，以便支持提高的胰岛素和胰高血糖素的共同施用的临床价值。这些研究的结果示于图2至15中。在对象1和对象2中，通过递送生长抑素抑制内源性胰岛素和胰高血糖素分泌，并通过腿静脉输注来替代两种激素，在0min时控制了内分泌胰腺。胰高血糖素以1.6ng/kg/min(约为其正常分泌速度的3倍)输注，并根据需要输注胰岛素以维持正常血糖。在对象1中，需要200-240 μ U/kg/min，而在对象2中，则需要340-380 μ U/kg/min。在对象1的实验A(见图2)的测试期(140-320min)中，血浆胰岛素和胰高血糖素升至4倍，而在相同对象的实验B中，胰岛素升至4.8倍，胰高血糖素保持在1.6ng/kg/min。在对象2中，在实验B中胰岛素和胰高血糖素都增至5.3倍，而在实验A中胰岛素增至5.8倍，同时胰高血糖素保持在基础(不变)。以这种方式评估了胰高血糖素的增加(对象1中为基础的4倍，对象2中为基础的5.3倍)对胰岛素驱动的低血糖的保护作用。

[0057] 图3示出了数据，该数据表明在上述实验的测试期中明显的血浆葡萄糖漂移。额外的胰高血糖素倾向于减慢一个对象的血浆葡萄糖下降，但是最重要的是，它引起了两个对象的血浆葡萄糖反弹至几乎mg/dl(图3所示的参照实验1A、2B)。在基础胰高血糖素的存在下引起的相同的胰岛素升高分别在实验1B和2A中引起大约40mg/dl和大约50mg/dl的持续低血糖。

[0058] 图4示出了数据，该数据表明额外的胰高血糖素的存在明显减弱了胰岛素对净肝脏葡萄糖输出(NHGO)的抑制作用(如1A和2B所示)。

[0059] 图5示出了数据，该数据表明在对象1的两个实验中肝脏内的血浆胰岛素水平相似，对象2在实验B中的血浆胰岛素略高于实验A。对象2的这种结果说明图3所示的数据甚至更引人注目，因为尽管对象2的实验B的血浆胰岛素水平稍高，但其低血糖程度减少。

[0060] 图6示出了数据，该数据证实血浆胰高血糖素在实验1B和2A中保持在基础，但在实验1A和2B中升高(由于胰高血糖素输注分别增至4倍和5.3倍)。

[0061] 图7示出了数据，该数据表明在实验1A和2B中血浆皮质醇水平下降，因为葡萄糖返回至60mg/dl。数据还表明当胰高血糖素提高时，动脉血浆肾上腺素偏移减少(1A, 2B)，说明对低血糖的交感神经系统响应减少。因此，由在实验1A和2B中小得多的血浆FFA升高(如图8

所示)证明了脂解反应也得到了减少。类似地,在存在增加的胰高血糖素的情况下(1A,2B),对肌肉的交感神经驱动被取消,从而导致血液乳酸水平的增加要小得多。正如预期的那样,胰岛素±胰高血糖素的增加导致血液丙氨酸水平下降(如图9所示)。

[0062] 显然,当胰高血糖素和胰岛素成比例升高(与单独的胰岛素增加相反)时,额外的胰高血糖素的存在减弱了归因于胰岛素的低血糖反应,并减少了神经系统的激活(否则将是保护血糖水平所需的)。因此,尽管CNS激活减少,但仍可改善低血糖。因此,这些数据表明,本发明构思可用于减少低血糖相关的自主神经衰竭(HAAF)。

[0063] 在一些实施方案中,本发明构思的胰岛素和胰高血糖素的共制剂不仅限制低血糖,而且也没有显著损害肝脏餐后葡萄糖摄取。在两个对象(对象3和4)中证明了双重益处。与对象1和2一样,通过递送生长抑素来抑制胰岛素和胰高血糖素的分泌,并替代为1.6ng/kg/min的胰高血糖素和胰岛素(对象3为290 μ U/kg/min,对象4为280-350 μ U/kg/min)进入腿静脉带来胰腺钳夹,这是维持正常血糖所需的(见图2)。在140min时,胰岛素输注速度增至4或6倍,而胰高血糖素则保持不变(3B,4A)或增至4或6倍(3A,4B)。同时,通过腿静脉输注葡萄糖以使血浆葡萄糖水平加倍(约200mg/dl)。

[0064] 图10示出了数据,该数据表明在所有四个实验中血浆葡萄糖水平升高至>200mg/dl。图11示出了数据,该数据表明肝脏响应于高胰岛素血和高血糖的联合刺激而从净肝脏葡萄糖输出转换为净肝脏葡萄糖摄取(NHGU)。额外的胰高血糖素最初稍微减慢了NHGU增加,但是到实验的最后一个小时,NHGU并没有明显的不同(对象3中2.8vs 3.1mg/kg/min;对象4中4.8vs 5.1mg/kg/min,分别在存在或不存在额外的胰高血糖素的情况下)。

[0065] 图12示出了数据,该数据表明在对象3的两个实验中血浆胰岛素的增量是相等的,并且在对象4中在存在基础胰高血糖素的情况下胰岛素适度地较高,这使得葡萄糖平衡数据甚至更加令人印象深刻,因为额外的胰岛素应进一步增加NHGU。

[0066] 图13示出了数据,该数据表明血浆胰高血糖素确实在实验3A和4B中提高但在3B和4A中并未提高。

[0067] 图14示出了数据,该数据表明在四个实验中脂解的抑制是等效的,如血浆FFA和甘油(未显示甘油数据)的难区分的变化所说明的。同样,在四个实验中血浆乳酸的升高和血液丙氨酸水平的变化都没有不同(如图14和15所示)。

[0068] 因此,额外的胰高血糖素的存在对在高胰岛素血/高血糖条件下肝脏摄取和储存葡萄糖的能力几乎没有或没有影响。因此,这些数据表明,在存在提高的胰岛素的情况下提高胰高血糖素会限制胰岛素诱导的低血糖,而不会明显减弱胰岛素在高血糖条件下抑制脂解或引起净肝脏葡萄糖摄取的能力。

[0069] 通常,胰岛素和胰高血糖素被分泌到肝门静脉中,使得肝脏暴露于任何其他组织2-3倍的水平。过夜禁食后,基础I-G摩尔分泌比约为10,但根据低血糖或高血糖以及其他因素的存在,该基础I-G摩尔分泌比可广泛变化。在初步实验中,外周静脉胰高血糖素输注速度设置为1.6ng/kg/min(0.45pmol/kg/min;为其向门静脉的基础分泌速度的3倍)。然后确定需要外周胰岛素输注速度(1.62pmol/kg/min;I/G摩尔比约为3.7)来维持正常的空腹葡萄糖代谢。考虑到这一点,实验检查了当胰高血糖素与胰岛素成比例增加(I/G摩尔比为3-5)或保持在1.6ng/kg/min(I/G摩尔比为12-25)时,胰岛素输注增加引起低血糖的能力。

[0070] 在四个清醒对象(犬)中进行了配对研究,以测试以下假设:同时提高胰岛素和胰

高血糖素(例如,将I/G摩尔比维持在基础值)而不是单独升高胰岛素并因此增加I/G摩尔比,将限制胰岛素引起的低血糖。在对象1、2和5中,通过递送生长抑素抑制内源性胰岛素和胰高血糖素分泌来建立0min时内分泌胰腺的控制,并通过经由每个对象的腿静脉输注激素来替代这两种激素。实验包括以1.6ng/kg/min输注胰高血糖素(约为其正常分泌速度的3倍),并需要根据需要输注胰岛素以维持正常血糖。在对象1中,需要200-240 μ U/kg/min;在对象2中,需要340-380 μ U/kg/min;并且在对象5中,需要220-380 μ U/kg/min。在对象1的实验A(图16)的测试期(140-320min)中,血浆胰岛素升至4倍,胰高血糖素升至4倍,而实验B中的胰岛素升至4.8倍,胰高血糖素保持不变(在1.6ng/kg/min)。在对象2中,实验B中的胰岛素和胰高血糖素均增至5.3倍,而实验A中的胰岛素增至5.8倍,胰高血糖素保持在基础。在对象5中,在实验A中胰岛素增至4倍,在实验B中增至6.9倍,而胰高血糖素在实验A中保持在1.6ng/kg/min,在实验B中增至6.9倍。以这种方式进行了关于胰高血糖素增加对胰岛素驱动的低血糖的保护作用的评估。在对象6中,没有基础钳夹期,但在测试期(140-320min)过程中,胰岛素输注增至5倍,胰高血糖素输注或者保持在1.6ng/kg/min或增至5倍。

[0071] 图17-24描绘了来自上述八个实验的数据。图17、19、21和23示出了来自对照期(阴影条)和实验期的最后2小时(空心条)的葡萄糖数据。在对照期内,在每个对象的两个实验中,血浆葡萄糖、净肝脏葡萄糖输出、胰岛素和胰高血糖素均相等。在对象1的实验期内(图17),胰岛素水平在两个实验中均相等,但在一个实验中,胰高血糖素保持在基础(I/G摩尔比为12),而在另一个实验中,胰高血糖素显著增加,维持I/G摩尔比为3。与胰岛素成比例地升高胰高血糖素,刺激了净肝脏葡萄糖输出,这大幅减少了血浆葡萄糖水平的下降(约8mg/dl)。

[0072] 参照图17,示出了来自对象1的数据。在实验期过程中,输注生长抑素使内分泌胰腺失效。在对象1的腿静脉中以其基础(B)分泌速度4倍的速度输注胰岛素3小时,并以基础速度(I/G比为12)或4xB速度(I/G比为3)输注胰高血糖素。由于增加的胰高血糖素驱动的肝脏葡萄糖产生(2.8 ± 0.2 vs 1.9 ± 0.2 mg/kg/min),额外的胰高血糖素减少了胰岛素引起的葡萄糖下降(最低点为 42 ± 1 vs 50 ± 3 mg/dl)。数据来自对照期(阴影条)和实验期的最后2小时(实心条)。

[0073] 参照图19,示出了来自对象2的数据。在实验期过程中,输注生长抑素使内分泌胰腺失效。在对象2的腿静脉中以其基础(B)分泌速度6倍的速度输注胰岛素3小时,并以基础速度(I/G比为25)或6xB速度(I/G比为5)输注胰高血糖素。由于增加的胰高血糖素驱动的肝脏葡萄糖产生(2.3 ± 0.2 vs 4.6 ± 1.4 mg/kg/min),额外的胰高血糖素减少了胰岛素引起的葡萄糖下降(最低点为 52 ± 1 vs 57 ± 3 mg/dl)。数据来自对照期(阴影条)和实验期的最后2小时(实心条)。

[0074] 参照图21,示出了来自对象5的数据。在实验期过程中,输注生长抑素使内分泌胰腺失效。在对象5的腿静脉中以其基础(B)分泌速度7倍的速度输注胰岛素3小时,并以基础速度(I/G比为19)或7xB速度(I/G比为3)输注胰高血糖素。由于增加的胰高血糖素驱动的肝脏葡萄糖产生(0.7 ± 0.2 vs 1.4 ± 0.2 mg/kg/min),额外的胰高血糖素减少了胰岛素引起的葡萄糖下降(最低点为 39 ± 1 vs 40 ± 1 mg/dl)。数据来自对照期(阴影条)和实验期的最后2小时(实心条)。

[0075] 参照图23,示出了来自对象6的数据。在实验期过程中,输注生长抑素使内分泌胰

腺失效。在对象6的腿静脉中以其基础(B)分泌速度5倍的速度输注胰岛素3小时,并以基础速度(I/G比为19)或5xB速度(I/G比为4)输注胰高血糖素。额外的胰高血糖素未改变胰岛素引起的葡萄糖下降(最低点为 45 ± 2 vs 46 ± 2 mg/dl),并且未测量净肝脏葡萄糖产生。数据来自对照期(阴影条)和实验期的最后2小时(实心条)。

[0076] 图18、20、22和24表明,当胰高血糖素的升高伴随胰岛素的升高时,血液中的皮质醇和肾上腺素减少,从而导致脂肪中脂解反应减少,并且肌肉中糖原分解反应减少。图18示出了数据,该数据表明胰高血糖素的增加(I/G摩尔比为3)和/或血浆葡萄糖下降的减少导致低血糖相关的皮质醇释放和肾上腺素分泌减少。这又减少了低血糖驱动的脂解作用(NEFA的增加较小)和低血糖相关的肌肉糖原分解升高(血液乳酸的增加较小)。在对象2中观察到了相同的模式(图19和20),除了与对象1相比,低血糖保护较少(5mg/dl),交感神经系统响应的减少也略少。在对象5中观察到了相同的模式(图21和22),除了较低的I/G摩尔比几乎没有提供低血糖保护(约1mg/dl),但交感神经系统对低血糖的响应仍存在大幅减少。同样,在对象6中(图23和24),低血糖保护最小,但是在存在提高的胰高血糖素(即低I/G摩尔比)的情况下,交感神经系统对低血糖的响应存在显著降低。

[0077] 参照图18,示出了来自对象1的数据。在实验期过程中,输注生长抑素使内分泌胰腺失效。在存在胰高血糖素输注成比例升高的情况下(与维持胰高血糖素在基础相反)升高胰岛素输注导致自主神经系统对低血糖的响应减半(Epi 1130 ± 122 vs 668 ± 100 pg/ml&皮质醇 8.0 ± 0.9 vs 4.6 ± 1.3 μ g/dl),因此脂解(NEFA; $\Delta 865$ vs $\Delta 385$ μ mol/L)和肌肉糖原分解(乳酸 $\Delta 662$ vs $\Delta 64$ μ mol/L)的增加要小得多。数据来自对照期(阴影条)和实验期的最后2小时(实心条)。

[0078] 现在参照图20,示出了来自对象2的数据。在实验期过程中,输注生长抑素使内分泌胰腺失效。在存在胰高血糖素输注成比例升高的情况下(与维持胰高血糖素在基础相反)升高胰岛素输注导致自主神经系统对低血糖的响应减少1/3(Epi 3318 ± 523 vs 2449 ± 547 pg/ml&皮质醇 6.4 ± 0.8 vs 4.5 ± 1.3 μ g/dl),因此脂解(NEFA; $\Delta 121$ vs $\Delta 9$ μ mol/L)和肌肉糖原分解(乳酸 $\Delta 1690$ vs $\Delta 1162$ μ mol/L)的增加要小得多。数据来自对照期(阴影条)和实验期的最后2小时(实心条)。

[0079] 现在参照图22,示出了来自对象5的数据。在实验期过程中,输注生长抑素使内分泌胰腺失效。在存在胰高血糖素输注成比例升高的情况下(与维持胰高血糖素在基础相反)升高胰岛素输注导致自主神经系统对低血糖的响应减少1/3(Epi 1841 ± 393 vs 1207 ± 300 pg/ml&皮质醇 10.5 ± 0.8 vs 8.8 ± 1.2 μ g/dl),因此脂解(NEFA; $\Delta 242$ vs $\Delta 0$ μ mol/L)和肌肉糖原分解(乳酸 $\Delta 575$ vs $\Delta 253$ μ mol/L)的增加要小得多。数据来自对照期(阴影条)和实验期的最后2小时(实心条)。

[0080] 现在参照图24,示出了来自对象6的数据。在实验期过程中,输注生长抑素使内分泌胰腺失效。在存在胰高血糖素输注成比例升高的情况下(与维持胰高血糖素在基础相反)升高胰岛素输注导致自主神经系统对低血糖的响应减半(Epi 3060 ± 450 vs 1334 ± 195 pg/ml&皮质醇 9.3 ± 1.2 vs 4.8 ± 1.4 μ g/dl),因此脂解(NEFA; $\Delta 182$ vs $\Delta 68$ μ mol/L)和肌肉糖原分解(乳酸 $\Delta 396$ vs $\Delta 105$ μ mol/L)的增加减少。数据来自对照期(阴影条)和实验期的最后2小时(实心条)。

[0081] 总体而言,这些数据表明,在存在成比例改变的胰高血糖素(维持低I/G摩尔比)的

情况下引起高胰岛素血可以减少大多数犬对象的低血糖程度,并且重要地是可以减少对用于防护所有动物血糖的交感神经系统的依赖性。与胰岛素平行提高胰高血糖素减少了对胰岛素的低血糖响应,同时减少了对用于防护血糖的交感神经系统的依赖。应该强调的是,当血浆葡萄糖处于40' s时,血糖的小差异(2-5mg/dl)可对反调节激素对胰岛素诱导低血糖的响应产生巨大影响。因此,即使葡萄糖下降幅度的小幅降低在临床上也是显著的。

[0082] 如果面对增加的胰岛素递送时保持低I/G摩尔比可以防范低血糖和/或对低血糖的响应,则会出现其在高血糖情况下是否会损害胰岛素作用的问题。申请人对两个对象(对象3和4)进行了配对实验。方案(如图25所示)由140min的钳夹期(与上述低血糖研究一样),然后是实验期组成,其中葡萄糖钳夹在约210ng/dl,并且其中胰岛素增至4至5.7倍,同时胰高血糖素维持在基础(相对于1.6ng/kg/min不变)或增至(4或6倍)。

[0083] 图26和27示出了相似的数据,并且表明净肝脏葡萄糖摄取、脂解抑制和乳酸水平实际上不受额外的胰高血糖素影响。因此,以低I/G摩尔比(例如3-5)共输注胰岛素和胰高血糖素可防范低血糖,而不会在高血糖条件下对肝脏葡萄糖摄取产生有害影响。

[0084] 现在参照图26,示出了来自对象3的数据。在实验期过程中,输注生长抑素使内分泌腺失效。以4x基础(B)速度输注胰岛素3小时,并以1xB或4xB输注胰高血糖素。葡萄糖水平被钳夹在大约210mg/dl。额外的胰高血糖素(分别为4xB和1xB,将I/G摩尔比从16变至4)对从净肝脏葡萄糖输出($1.5 \pm 0.1 \text{ mg/kg/min}$)转换为摄取($2.4 \pm 0.2 \text{ vs } 3.0 \pm 0.2 \text{ mg/kg/min}$),抑制血浆NEFA($567 \pm 3 \mu\text{mol/L}$ 至 $116 \pm 21 \text{ vs } 89 \pm 10 \mu\text{mol/L}$),以及血液乳酸升高($582 \pm 51 \mu\text{mol/L}$ 至 $1141 \pm 40 \text{ vs } 1040 \pm 65 \mu\text{mol/L}$)都没有影响。数据来自对照期(阴影条)和实验期的最后2小时(实心条)。

[0085] 现在参照图27,示出了来自对象4的数据。在实验期过程中,输注生长抑素使内分泌腺失效。以6x基础(B)速度输注胰岛素3小时,并以1xB或6xB输注胰高血糖素。葡萄糖水平被钳夹在大约210mg/dl。额外的胰高血糖素(分别为6xB和1xB,将I/G摩尔比从16变至4)对从净肝脏葡萄糖输出($1.52.4 \pm 0.2 \text{ mg/kg/min}$)转换为摄取($4.9 \pm 0.3 \text{ vs } 4.2 \pm 0.4 \text{ mg/kg/min}$),抑制血浆NEFA($371 \pm 94 \mu\text{mol/L}$ 至 $47 \pm 10 \text{ vs } 41 \pm 3 \mu\text{mol/L}$),以及血液乳酸升高($819 \pm 182 \mu\text{mol/L}$ 至 $1040 \pm 74 \text{ vs } 845 \pm 38 \mu\text{mol/L}$)都没有影响。数据来自对照期(阴影条)和实验期的最后2小时(实心条)。

[0086] 图28至34示出了随时间绘制的来自4个低血糖对象和2个高血糖对象(如上文所述)的平均数据。在低血糖对象中,无论胰高血糖素成比例增加(I/G摩尔比3-5)或不成比例增加(I/G摩尔比12-25),胰岛素的升高(约50 $\mu\text{U/ml}$)都是相似的。胰高血糖素要么增加约180pg/ml,要么没有显著变化。

[0087] 图29示出了数据,该数据表明在存在提高的胰高血糖素的情况下,胰岛素诱导的血浆葡萄糖下降减少。该减少与净肝脏葡萄糖输出增加有关,并且可能是由净肝脏葡萄糖输出增加引起的。当胰高血糖素提高时,肾上腺素和皮质醇对低血糖的响应减少(如图30所示)。类似地,存在额外的胰高血糖素减少了低血糖驱动的NEFA(脂解)和血液乳酸(肌肉糖原分解)的升高(如图31所示)。

[0088] 图32-34示出了高血糖研究随时间的平均数据。再次,无论胰高血糖素是否提高,胰岛素的升高都是相似的。在两种方案中,血浆葡萄糖水平都钳夹在约210mg/dl。响应于胰岛素和葡萄糖的升高,肝脏从净葡萄糖输出转换为摄取。当胰高血糖素提高时,向净肝脏葡

葡萄糖摄取的转变发生得稍微更慢一些,但是在实验期的最后90min内,净肝脏葡萄糖摄取没有差异。类似地,FFA(脂解)的下降和乳酸的上升(乳酸从肝脏溢出)几乎相同。因此,具有低I/G摩尔比的组合物200可以免受低血糖,而不会明显损害高血糖条件下的肝脏葡萄糖摄取。

[0089] 申请人的进一步研究包括皮下共同施用胰岛素和胰高血糖素。使用两个输注泵,例如上文参照图1B描述的输注泵100a和100b进行实验。此类型的前8个实验中的每一个(4个对象:对象7、8、9和10,每个对象2个实验)均由对照期(-30至0min),然后是其中输注生长抑素抑制内分泌胰腺的时段(0-180min)组成。同时,给予胰岛素(0.3或0.4mU/kg/min)和胰高血糖素(1.6至2.0ng/kg/min)的基础输注。目的是将血浆葡萄糖水平钳夹在基础值。明显地,生长抑素迅速抑制内源性胰岛素和胰高血糖素分泌,皮下输注不能及时恢复基础激素水平。血浆胰高血糖素和胰岛素水平均在最初下降(15min),并花费1-2小时恢复。在其他对象(对象11)的另外四个实验中,生长抑素输注的开始被延迟了60或90min,以防止胰岛素和胰高血糖素的短暂下降。到基础期结束时,0.4mU/kg/min的胰岛素输注速度产生10-12 μ U/ml的平均动脉血浆胰岛素水平,尽管对象之间的平均值范围为1至28 μ U/ml。因此,除了围绕血浆胰岛素升高延迟的问题外,使用皮下递送途径时明显的固有变异性高。尽管如此,0.4mU/kg/min(平均)的胰岛素输注速度足以进行基础替代。

[0090] 在基础钳夹期之后,使胰岛素输注速度增至4倍,而胰高血糖素或者增至4倍或者保持在基础。因此,对象7的I/G摩尔比为3.8或15.0,对象8、9、10和11A&B的I/G摩尔比为4或16,对象11C&D的I/G摩尔比为2.9和11.5(图35、36)。考虑到对象之间的差异,数据是四个对象的平均值,其中一个对象(对象15)研究了两次,尽管实验设计存在细微差别。不包括来自一个对象的数据,因为其血糖降至低于40mg/dl并且需要葡萄糖钳夹,从而阻止了葡萄糖水平成为有效终点。在基线期之后,两组的胰岛素输注速度都增加,血浆胰岛素相似地上升至约45 μ U/ml(图37)。显然,在I/G比为4的组中血浆胰高血糖素水平升至近150pg/ml,而其在I/G比为16的组中则没有变化(图38)。结果,两组的血浆葡萄糖均下降,但是在I/G摩尔比为4的情况下,下降被延迟并缩小(图39)。当针对基线差异进行调整并以扩展比例绘制时,I/G摩尔比较低的组中的血浆葡萄糖下降约少10mg/dl(图40)。与本文所述的IV输注实验一样,较低的I/G摩尔比与肾上腺素和皮质醇对低血糖的响应减少有关(图41;数据为低血糖期最后一个小时的平均值)。

[0091] 使用皮下激素输注的进一步研究检查了维持I/G摩尔比为4与16对对象响应以10mg/kg/min向腿静脉IV输注葡萄糖的能力的影响(图42)。再次,该实验由对照期(-30至0min)、基础钳夹期(0-150min)和葡萄糖输注期(150-360min)组成。在0min开始输注生长抑素,以使内分泌胰腺失效,并分别以0.4mU/kg/min和2ng/kg/min的速度皮下输注胰岛素和胰高血糖素(I/G摩尔比为4.1)。如在相同皮下低血糖研究期中所示的,在基础期过程中血浆葡萄糖略有下降(图43)。在150min时,开始葡萄糖输注,并且胰岛素输注速度增至四倍,而胰高血糖素输注或者增至四倍或者保持在基础,分别产生了4.1或16.2的I/G摩尔比。I/G比为4的组中的葡萄糖偏移略高,但这归因于150min基线值的差异(图43),因此将数据绘制为相对于基线的变化时(图44),额外的胰高血糖素没有丝毫影响。从图45中可以看出,两组的血浆胰岛素升高相同,而I/G比为4的组中胰高血糖素升高,I/G比为16的组中胰高血糖素却没有升高(图46)。

[0092] 申请人的进一步研究包括皮下施用胰岛素和胰高血糖素的共制剂。这些实验的数据在图47-48中示出。在对象12中,进行了两个实验(A和B)。在实验A中,在研究日,I/G摩尔比为12的胰高血糖素和胰岛素在二甲基亚砜(DMSO)中的共同配制的溶液以约20微升/hr的速度(胰高血糖素2.6ng/kg/min和胰岛素1.6mU/kg/min)通过放置在皮下组织中的导管输注。在输注期过程中,血浆葡萄糖在约30min开始向下漂移,最终在最后一小时以约44mg/dl达到稳定(见图47)。然后在第二天使用I/G摩尔比为3的另一共同配制的胰高血糖素和胰岛素在DMSO中的溶液重复该研究。也以大约20微升/hr(胰高血糖素10.2ng/kg/min和胰岛素1.6mU/kg/min)输注该共制剂。在这种情况下,葡萄糖最初上升,随后在150min时下降到最小值,类似于实验A中看到的那样。然而,随后血浆葡萄糖水平增加,以约56mg/dl达到稳定(见图47)。因此,与胰岛素和胰高血糖素的独立皮下输注所发生的一样,胰高血糖素的伴随升高明显减少了由胰岛素升高引起的低血糖程度。在两个实验中血浆中的胰岛素水平相似(在最后一个小时过程中为35vs 31 μ U/ml),而在实验A中胰高血糖素保持低(60pg/ml),在实验B中升至121pg/ml(见图48)。这些数据建立了两个重要原则。首先,显然有可能在相互兼容的溶剂中共同配制胰岛素和胰高血糖素,以便这些肽激素可以在一个溶液中共同施用。其次,对两种激素的生物学反应是相似的,无论它们是独立皮下输注还是作为共同配制的混合物皮下输注。在这两种情况下,将胰岛素输注增至四倍,并且胰高血糖素同时且按比例上升(I/G摩尔比为3)将胰岛素诱导的低血糖减少约10-12mg/dl。这种作用很可能与自主神经系统的激活显著减少有关。

[0093] 总而言之,本文所述的研究确定了用于一种或多种形式的皮下胰岛素和胰高血糖素递送的有效I/G摩尔比。这些研究还证实了IV输注数据,表明在升高胰岛素的同时保持低I/G摩尔比可防范低血糖,而不会显著干扰胰岛素应对高血糖的能力。

[0094] 现在参照图49-60,给出了符合本发明构思的由申请人进行的研究的结果。在这些研究中,评估了胰高血糖素在出现胰岛素引起的低血糖时增加和维持增加的葡萄糖产生的能力。这些研究结果说明,胰高血糖素在出现胰岛素诱导的低血糖时可以产生显著的和持续的葡萄糖产生。如下文所述,数据说明胰高血糖素对肝脏具有双相而非时间依赖性作用。胰高血糖素产生葡萄糖的快速突现,随后是延长的葡萄糖产生的第二阶段,这说明在胰岛素诱导的低血糖的存在下,胰高血糖素继续在延长的时段(例如至少4小时)起作用。这些研究表明,身体意识到胰高血糖素水平的增加,并且作为响应减少了其交感神经系统对低血糖的响应。对低血糖的交感神经系统响应减少表明,脑可以感知血浆胰高血糖素,而胰高血糖素与交感神经系统之间在控制血糖水平方面存在交互关系。脑监视胰高血糖素水平,在存在过量胰高血糖素的情况下,会降低交感神经系统对给定低血糖的响应。这将允许葡萄糖进一步下降以触发中枢神经系统响应的更大幅度的增加,从而提供针对低血糖的更大防范。研究证明,本发明构思的共同配制的胰岛素和胰高血糖素溶液可以为糖尿病患者提供安全和有效的治疗价值。

[0095] 申请人已经对八个清醒对象(犬)中的每一个进行了研究,以支持本发明构思的共同配制的胰岛素和胰高血糖素溶液的治疗价值。将八名对象分为两组,每组四个对象,第一组表示为基础胰高血糖素组(Ba GGN),第二组表示为高胰高血糖素组(Hi GGN)。该研究的结果示于图49-60。

[0096] 对每个犬对象进行肾上腺切除术,并用糖皮质激素和盐皮质激素处理,以维持这

些激素在血液中的基础水平,使得低血糖引起的葡萄糖产生响应可以归因于胰高血糖素而不是肾上腺素。将导管放置在向肝脏供血(例如,动脉、肝门静脉)和从肝脏排血(例如,肝静脉)的血管中。将血流探针放置在肝动脉和门静脉周围,以允许使用动静脉差异(AV)方法来计算净肝脏葡萄糖输出(HGO)。此外,使用示踪法(例如3-3H葡萄糖)评估肝脏葡萄糖产生(HGP)。从手术中恢复后和过夜禁食后,对每个处于清醒状态的对象进行实验。

[0097] 图49示出了用于八个对象中的每个的实验时间线。示踪剂输注在-140min开始,并允许100min平衡。-40min至0min的对照期之后是270min的测试期。在0min时,输注生长抑素(SRIF)以使内分泌胰腺失效。将胰岛素以0.8mU/kg/min输注入腿静脉以产生低血糖。在30min开始,胰高血糖素也以1或8ng/kg/min(例如,Ba GGN对象为1ng/kg/min,Hi GGN对象为8ng/kg/min)输注入腿静脉。根据需要输注葡萄糖,以使两组中的葡萄糖下降速度匹配,并确保任一组中的血浆葡萄糖水平不会降至低于40mg/dL。

[0098] 图50示出了数据,该数据表明两组的动脉胰岛素水平从 $\approx 10\mu\text{U/mL}$ 增至 $\approx 40\mu\text{U/mL}$ 。

[0099] 图51示出了数据,该数据表明Ba GGN组中的动脉胰高血糖素水平保持在基础(例如 $\sim 45\text{pg/mL}$),但在Hi GGN组中增至 $\approx 270\text{pg/mL}$ 。

[0100] 图52示出了数据,该数据表明两组中的皮质醇浓度均保持在基础(例如 $2.5\mu\text{g/dL}$),这归因于肾上腺切除术和基础激素替代。

[0101] 图53说明了数据,该数据表明两组中肾上腺素浓度均保持在基础(例如50-75pg/mL),这归因于肾上腺切除术和基础激素替代。

[0102] 图54示出了数据,该数据表明,对于两组,在实验的最后2.5小时中,动脉血浆葡萄糖均等地降低并且以相似的水平达到稳定(例如,Ba GGN组为42mg/dL,Hi GGN组为40mg/dL)。

[0103] 图55示出了数据,该数据表明,使每组葡萄糖曲线匹配所需的葡萄糖输注速度。对于Ba GGN组,在30min开始(例如与胰高血糖素输注同时开始)输注葡萄糖,并在整个实验过程中继续输注,在最后2.5小时期间平均在约2.8mg/kg/min。对于Hi GGN组,在2小时开始输注葡萄糖,输注速度缓慢增加至约0.8mg/kg/min。

[0104] 图56示出了数据,该数据表明净肝脏葡萄糖输出。对于两组,由于胰岛素增加和胰高血糖素降低,净肝脏葡萄糖输出在0至30min内降低。在第30min输注胰高血糖素后,Ba GGN组的净肝脏葡萄糖输出保持在约 $\approx 0.4\text{mg/kg/min}$ 。在第30min输注胰高血糖素后,Hi GGN组的净肝脏葡萄糖输出迅速增至约7mg/kg/min,此后在约90min的时间段内降低,最终在实验的最后2.5小时达到平均2.4mg/kg/min的速度。这样的数据说明在存在低血糖的情况下,尽管持续存在提高的胰岛素,但胰高血糖素的增加维持了约2-2.5mg/kg/min的葡萄糖产生增加。

[0105] 图57示出了3-3H葡萄糖示踪剂确定的葡萄糖产生数据,并确认了上文参照图56所述的净肝脏葡萄糖平衡数据。

[0106] 图58A示出了数据,该数据表明在两组中低血糖引起血浆去甲肾上腺素增加。该数据反映了去甲肾上腺素从全身神经末梢的溢出(例如交感神经系统增强),并反映了在胰岛素诱导的低血糖期间刺激脂解的信号。图58B示出了数据,该数据表明Ba GGN组中血浆去甲肾上腺素的增加是Hi GGN组中血浆去甲肾上腺素增加的两倍。

[0107] 图59A和B示出了数据,该数据表明在Hi GGN组中,相对于Ba GGN组,低血糖引起降

低的脂解反应,如使用动脉甘油水平所评估的。在存在高胰高血糖素的情况下,对低血糖的脂解反应降低了 $\approx 60\%$ 。

[0108] 图60示出了数据,该数据表明在Hi GGN组中,相对于Ba GGN组,低血糖引起降低的脂解反应,如使用动脉游离脂肪酸水平所评估的。

[0109] 现在参照图61和62,给出了符合本发明构思的由申请人进行的研究的结果。在这些研究中,评估了本发明构思的胰岛素和胰高血糖素的共制剂的潜力,该共制剂被构造成允许基础激素替代并提供显著的低血糖保护。这些研究的结果表明,优化的胰岛素与胰高血糖素(I/G)摩尔比应大于1但小于10。如下文所述,皮下共输注I/G摩尔比为4的胰岛素(速度为 $0.4\text{mU/kg/min}(\pm 20\%)$)和胰高血糖素(速度为 $2.1\text{ng/kg/min}(\pm 20\%)$)可以替代两种激素的基础分泌,且血浆葡萄糖水平的偏差最小。这些研究的结果还表明,当随着胰岛素增至4倍而保持I/G摩尔比时,胰岛素诱导的低血糖显著减少并且中枢神经系统激活明显减少。这些研究是在清醒的犬对象上进行的,以进一步检查具有不同I/G摩尔比的共同配制的胰岛素和胰高血糖素溶液的功效。

[0110] 进行了初步实验以更好地理解皮下输注胰岛素的药代动力学(PK)和药效学(PD)特性。图61示出了数据,该数据涉及符合本发明构思的在清醒犬对象中的皮下胰岛素输注。如下所述,已表明将胰岛素输注速度增至4倍可将动脉胰岛素水平增至约4倍,滞后时间约为90min。在过夜禁食的犬中,在-30min至0min,基线动脉血浆胰岛素为 $7.1 \pm 0.7\mu\text{M/mL}$ 。在以 0.4mU/kg/min 皮下输注胰岛素90min后,动脉血浆胰岛素增至 $9.4 \pm 0.8\mu\text{U/mL}$;这反映了内源性释放和输注的胰岛素二者。在90min时,开始输注生长抑素以使内分泌胰腺失效。内源性胰岛素分泌迅速停止(如C肽降低所说明的),因此归因于内源性胰岛素分泌的胰岛素在30min内被耗尽。在基础激素替代期的最后30min(例如150至180min)期间,动脉胰岛素平均为 $9.8 \pm 1.4\mu\text{U/mL}$,并且仅归因于皮下输注。因此,当以 0.4mU/kg/min 皮下递送胰岛素时,动脉胰岛素从基线增加约40%。这种增加类似于当外周静脉内胰岛素递送代替内源性胰岛素分泌时,维持正常血糖所需的动脉胰岛素增加。可以估计,在基线时(由于内源性胰岛素释放到门静脉,因此为-30min至0min),肝脏中的胰岛素水平为 $\approx 17\mu\text{U/mL}$,而在基础激素替代期过程中(例如,当内源性分泌受到抑制时),肝脏中的胰岛素水平为 $7.8\mu\text{U/mL}$,降低近50%。因此,以 0.4mU/kg/min 的皮下胰岛素输注速度,复制了在缺乏 β 细胞功能的1型糖尿病人中皮下施用胰岛素所看到的典型临床状况。在胰岛素挑战期过程中,将胰岛素输注速度增至4倍,导致动脉胰岛素水平在90min内增至 $34.5 \pm 2.9\mu\text{U/mL}$,此后以最低限度增加,最终达到 $38.8 \pm 3.5\mu\text{U/mL}$ 。根据这些数据,确定需要大约90min的皮下胰岛素输注($20\mu\text{L/h}$)来“引发”系统(即在没有生长抑素输注的情况下输注胰岛素)。以 0.4mU/kg/min 的速度进行皮下胰岛素输注提供了基础胰岛素替代,并且胰岛素输注速度增至4倍使动脉胰岛素增至4倍。

[0111] 图62示出了数据,该数据涉及清醒犬对象中的皮下胰高血糖素输注。如下文所述,将胰高血糖素输注速度增至4倍(称为Hi GGN组)会在1至2个小时内增加动脉胰高血糖素水平,此后降低。应当指出,在这些实验中,Mercodia测定因为其提高的准确性而被用于测量胰高血糖素,因此血浆胰高血糖素水平低于早期研究。三个犬对象的动脉胰高血糖素水平升高倍数的峰值分别为3.7、5.7和6.8($\bar{x} = 5.4$)。在过夜禁食的犬中(如蓝色圆点所示,并称为Ba GGN),基线动脉血浆胰高血糖素在-30min至0min为 $7.5 \pm 1.2\text{pg/mL}$,导致肝的预计水

平为 $\approx 15\text{pg/mL}$ (例如由于内源性胰高血糖素分泌到门静脉中)。如图61所示,在0min时与SQ胰岛素输注同时开始,也以 2.1ng/kg/min 的速度皮下输注胰高血糖素。皮下输注胰高血糖素90min后,动脉血浆胰高血糖素已增至平均 $21.5 \pm 4.0\text{pg/mL}$;这反映了内源性释放和输注的胰高血糖素二者。生长抑素输注 (例如,以抑制内源性胰高血糖素分泌) 开始后30min内,动脉胰高血糖素水平降至 $\approx 15.0 \pm 4.5\text{pg/mL}$,代表接近基线胰高血糖素值的两倍的水平。因此,可以估计以 2.1ng/kg/min 的速度输注导致肝窦内的胰高血糖素水平接近其基线值。在胰岛素挑战期间,其中基础胰高血糖素输注速度保持在 2.1ng/kg/min ,动脉胰高血糖素水平维持3.5小时。

[0112] 现在参照图63-65,给出了符合本发明构思的由申请人进行的研究的结果。在这些研究中,评估了在最佳替代速度下本发明构思的胰岛素和胰高血糖素的共输注能力,该共输注被构造造成替代两种激素的基础内源性分泌,同时仍维持正常血糖。

[0113] 图63A和B示出了数据,该数据涉及本发明构思的胰岛素和胰高血糖素的共输注期间的激素浓度。以 0.4mU/kg/min 的速度输注胰岛素,并以 2.1ng/kg/min 的速度输注胰高血糖素。在0-180min的引发和基础替代期过程中,I/G摩尔比为4。在180min胰岛素挑战期开始时,胰岛素输注增至4倍,为 1.6mU/kg/min ,而胰高血糖素或者增至4倍,为 8.4ng/kg/min (I/G摩尔比为4,称为Hi GGN组),或者保持在基础,为 2.1ng/kg/min (I/G摩尔比为16,称为Ba GGN组)。如图63A所示,两组的动脉胰岛素水平非常相似,并且在胰岛素挑战期过程中增至约4倍。如图63B所示,在胰岛素挑战期过程中,Ba GGN组中的动脉胰高血糖素水平保持基础,Hi GGN组中的动脉胰高血糖素水平增至超过5倍。

[0114] 图64A-C示出了数据,该数据涉及本发明构思的胰岛素和胰高血糖素的共输注期间的葡萄糖浓度。以 0.4mU/kg/min 的速度输注胰岛素,并以 2.1ng/kg/min 的速度输注胰高血糖素。在0-180min的引发和基础替代期过程中,I/G摩尔比为4。在180min胰岛素挑战期开始时,胰岛素输注增至4倍,为 1.6mU/kg/min ,而胰高血糖素或者增至4倍,为 8.4ng/kg/min (I/G摩尔比为4,称为Hi GGN组),或者保持在基础,为 2.1ng/kg/min (I/G摩尔比为16,称为Ba GGN组)。如图64A所示,在120-180min的基础激素替代期过程中,血浆葡萄糖水平稳定在 $\approx 100\text{mg/dL}$,这说明以 0.4mU/kg/min 的速度皮下输注胰岛素,并以 2.1ng/kg/min 的速度皮下输注胰高血糖素可以成功替代内源性胰岛素和胰高血糖素分泌。但是,当胰高血糖素保持在基础 (I/G摩尔比为16) 时,血浆葡萄糖水平在90min内降低,并在实验的最后1小时期间达到稳定,为 $\approx 41\text{mg/dL}$ 。如图64A和B所示,当I/G摩尔比保持在4时,葡萄糖水平的降低慢得多,并且在实验的最后1小时期间平均为 $\sim 46\text{mg/dL}$ 。如图64C所示,在Ba GGN组中以 $\sim 0.8\text{mg/kg/min}$ 的速度输注葡萄糖以防止血浆葡萄糖水平降低至低于 40mg/dL 。Hi GGN组中的葡萄糖输注和胰高血糖素的时间依赖性44%下降 (相对于峰值) 均导致数据低估了胰高血糖素提供的低血糖保护。然而,数据表明,额外的胰高血糖素的存在使胰岛素的低血糖作用最小化。

[0115] 图65A-D示出了数据,该数据涉及本发明构思的胰岛素和胰高血糖素的共输注期间的肾上腺素和皮质醇浓度。以 1.6mU/kg/min 的速度输注胰岛素。以4倍基础的速度 (8.4ng/kg/min) (I/G摩尔比为4,称为Hi GGN组) 或保持基础的速度 (2.1ng/kg/min) (I/G摩尔比为16,称为Ba GGN组) 输注胰高血糖素。在存在额外的胰高血糖素的情况下,肾上腺素和皮质醇水平的增加 (例如,由于中枢神经系统的激活而导致的) 分别减少了 $\approx 50\%$ 和 30% 。

此外,尽管中枢神经系统的参与减少,但仍观察到血糖的改善。这表明中枢神经系统用于进一步防护血糖的可用性增加。

[0116] 现在参照图66和67,给出了符合本发明构思的由申请人进行的研究的结果。进行这些研究以确定在降低胰岛素和胰高血糖素的基础替代速度的同时保持I/G摩尔比为4是否仍能维持正常血糖。这一点是重要的,因为个体之间的胰岛素敏感性可能会有所不同,而且并非所有动物都需要相同的胰岛素和胰高血糖素基础替代速度。

[0117] 图66A和B示出了数据,该数据涉及本发明构思的胰岛素和胰高血糖素的共输注期间的激素浓度。以0.32mU/kg/min的速度输注胰岛素,并以1.68ng/kg/min的速度输注胰高血糖素。在0-180min的引发和基础替代期过程中,I/G摩尔比为4。在180min胰岛素挑战期开始时,胰岛素输注增至4倍,为1.28mU/kg/min,而胰高血糖素或者增至4倍,为6.72ng/kg/min(I/G摩尔比为4,称为Hi GGN组),或者保持在基础,为1.68ng/kg/min(I/G摩尔比为16,称为Ba GGN组)。如图66A所示,在基础激素替代期的最后1个小时内的胰岛素水平平均仅为6 μ U/mL,与减少的胰岛素输注速度一致。如图66B所示,在基础激素替代期的最后1小时内的胰高血糖素水平平均仅为 $\approx$ 9pg/mL,与减少的胰高血糖素输注一致。

[0118] 图67A和B示出了数据,该数据涉及本发明构思的胰岛素和胰高血糖素的共输注期间的葡萄糖浓度。以0.32mU/kg/min的速度输注胰岛素,并以1.68ng/kg/min的速度输注胰高血糖素。在0-180min的引发和基础替代期过程中,I/G摩尔比为4。在180min胰岛素挑战期开始时,胰岛素输注增至4倍,为1.28mU/kg/min,而胰高血糖素或者增至4倍,为6.72ng/kg/min(I/G摩尔比为4,称为Hi GGN组),或者保持在基础,为1.68ng/kg/min(I/G摩尔比为16,称为Ba GGN组)。如图67A和B所示,在基础激素替代期过程中的血浆葡萄糖水平几乎与上文参照图64所述的相同。该数据表明,由于胰岛素和胰高血糖素的血浆水平均减少,因此在输注中减少的效果相互抵消。在不存在胰高血糖素升高的情况下,胰岛素增至4倍(例如增至1.28mU/kg/min),导致血浆葡萄糖在390min时缓慢降低至37mg/dL的最终水平。伴随胰高血糖素增至4倍,导致血浆葡萄糖在390min时缓慢降低至 $\sim$ 50mg/dL的最终水平。因此,本发明构思的胰岛素和胰高血糖素的共同施用(I/G摩尔比为4)即使在适度改变($\sim$ 20%)胰岛素和胰高血糖素的绝对基础替代速度的情况下(这可能是给定个体所需的)也提供了针对低血糖的防范。

[0119] 现在参照图68和图69,给出了符合本发明构思的由申请人进行的研究的结果。在这些研究中,评估了符合本发明构思的以0.4mU/kg/min的速度输注胰岛素和以1.38ng/kg/min的速度输注胰高血糖素(I/G摩尔比为6)有效替代胰岛素和胰高血糖素的基础分泌并限制胰岛素诱导的低血糖的能力。

[0120] 图68A和图68B示出了数据,该数据涉及本发明构思的胰岛素和胰高血糖素的共输注期间的激素浓度。以0.4mU/kg/min的速度输注胰岛素,并以1.38ng/kg/min的速度输注胰高血糖素。在0-180min的引发和基础替代期过程中,I/G摩尔比为6。在180min胰岛素挑战期开始时,胰岛素输注增至4倍,为1.6mU/kg/min,而胰高血糖素或者增至4倍,为5.56ng/kg/min(I/G摩尔比为6,称为Hi GGN组),或者保持在基础,为1.39ng/kg/min(I/G摩尔比为24,称为Ba GGN组)。如图68A所示,在基础激素替代期过程中,胰岛素水平与上文参照图61所述的那些相似。响应于其输注速度增至4倍而发生的胰岛素水平增加也接近与上文参照图61所述的那些相似的水平。如图68B所示,在基础激素替代期和胰高血糖素输注速度增至4倍

时,输注速度为1.38ng/kg/min时胰高血糖素水平增加较少,与2.1ng/kg/min的输注速度相比。

[0121] 图69A-D示出了数据,该数据涉及本发明构思的胰岛素和胰高血糖素的共输注期间的葡萄糖浓度。以0.4mU/kg/min的速度输注胰岛素,并以1.38ng/kg/min的速度输注胰高血糖素。在0-180min的引发和基础替代期过程中,I/G摩尔比为6。在180min胰岛素挑战期开始时,胰岛素输注增至4倍,为1.6mU/kg/min,而胰高血糖素或者增至4倍,为5.52ng/kg/min (I/G摩尔比为6,称为Hi GGN组),或者保持在基础,为1.38ng/kg/min (I/G摩尔比为24,称为Ba GGN组)。如图69A所示,在I/G摩尔比为6的情况下,基础激素替代期的血浆葡萄糖水平降低至80mg/dL。如图69B所示,输注葡萄糖以防止血浆葡萄糖水平进一步降低(例如低于80mg/dL)。如图69C和D所示,免受胰岛素诱导的低血糖为2mg/dL,尽管在基础葡萄糖组中输注了略微更多的葡萄糖。

[0122] 现在参照图70-73,给出了符合本发明构思的由申请人进行的研究的结果。进行这些研究以支持开发用于输注泵(如上文所述系统10的泵100)的含非水性共溶剂的胰岛素和胰高血糖素的共制剂,该制剂与泵系统相容并在2-8℃以及在搅拌条件下稳定。挑战包括胰岛素和胰高血糖素在含有机溶剂的非水性溶液共制剂中的溶解度,以及共制剂与输注泵100的相容性。为了实现改善的溶解度和稳定性,采用了两种方法:纯有机溶剂,例如丙酮、苯甲醇、苯甲酸苄酯、二甲基亚砜(DMSO)、乙醇、乙酸乙酯、甘油、甲醇、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、聚乙二醇和丙二醇(PG);和共溶剂,例如有机溶剂溶液,其混有水溶液,以及添加了主要的共溶剂混合物和添加剂。

[0123] 以1至10mg/mL的胰岛素的目标浓度和0.1至1.0mg/mL的胰高血糖素的目标浓度,更具体地3至5mg/mL的胰岛素浓度和0.1至0.8mg/mL的胰高血糖素浓度进行了这些研究。假定U-100的基础胰岛素速度为10-20μL/hr,I/G摩尔比为3至16,且胰岛素剂量固定。

[0124] 图70和70A-C示出了数据,该数据涉及向犬对象施用的胰岛素和胰高血糖素于DMSO中的三种共制剂。为了确定共制剂的浓度,将样品用0.01N HCl稀释,然后通过反相高效液相色谱(RP-HPLC)方法进行分析。胰岛素和胰高血糖素的保留时间分别为10.7min和14.6min。如图70所示,共制剂AB-160003-01包含4.48mg/mL的胰岛素和0.83mg/mL的胰高血糖素,共制剂AB-160002-01包含4.48mg/mL的胰岛素和0.21mg/mL的胰高血糖素,和共制剂AB-160001-01包含1.08mg/mL的胰岛素和0.21mg/mL的胰高血糖素。共制剂AB-160003-01和AB-160001-01的摩尔比均为3。共制剂AB-160002-01的摩尔比为12。

[0125] 对于DMSO中的包含1.0mg/mL胰岛素和0.5mg/mL胰高血糖素的共制剂进行了搅拌研究。将等分样品放置三种条件下长达7天:5℃和0rpm(作为对照),25℃和50rpm,以及37℃和50rpm。用0.01N HCl稀释样品,然后通过RP-HPLC分析。计算活性物(胰岛素和胰高血糖素)的回收率,并列在下表中。搅拌7天后,胰岛素和胰高血糖素均显示出良好的回收率。

时间(天)	胰高血糖素			胰岛素		
	37°C, 50 rpm	25°C, 50 rpm	5°C, 0 rpm	37°C, 50 rpm	25°C, 50 rpm	5°C, 0 rpm
0	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
3	96.6%	97.5%	100.4%	96.0%	99.2%	99.6%
5	97.6%	95.0%	100.8%	95.6%	98.9%	103.6%
7	94.0%	95.4%	96.1%	91.8%	97.1%	100.1%

[0126] 图71A和B示出了数据,该数据涉及符合本发明构思的胰岛素和胰高血糖素各自在非水性溶剂中的溶解度。通过RP-HPLC分析上清液中胰岛素和胰高血糖素的浓度。如图71A和B所示,DMSO和NMP均表明对胰岛素(例如,浓度大于8mg/mL)和胰高血糖素(例如,浓度大于1mg/mL)的良好溶解度。甘油和丙二醇都表明对胰高血糖素的良好溶解度(例如,浓度大于2.5mg/mL),但是对胰岛素的溶解度差(例如,浓度小于2mg/mL)。介电常数为25至70的非水性溶剂对胰高血糖素的溶解度相对较高,例如溶剂(括号内为介电常数),如N-甲基吡咯烷酮(32)、甲醇(33)、N,N-二甲基甲酰胺(37)、乙腈(38)、二甲基乙酰胺(38)、DMSO(47)、碳酸丙烯酯(65)。

[0127] 图72A和72B示出了数据,该数据涉及符合本发明构思的胰岛素和胰高血糖素在共溶剂中的共制剂的溶解度,其包含与磷酸盐缓冲盐水(PBS)或磷酸盐缓冲液(PB)和维生素ETPGS混合的非水性有机溶剂,其中非水性有机共溶剂占制剂的至少60%。通过RP-HPLC分析上清液中胰岛素和胰高血糖素的浓度。在包含60%有机溶剂的溶液中,胰高血糖素在PB中展示出更好的溶解度。如图72A所示,当与至少一种以下共溶剂:5%维生素ETPGS;10%DMSO;10% NMP;10% PG;和10%甘油混合时,观察到包含75-95%PBS的胰岛素和胰高血糖素共制剂的溶解度。当与95% PBS和5%维生素E TPGS混合时,胰岛素的单独DS溶解度为1.38mg/mL,胰高血糖素的单独DS溶解度为0.25mg/mL。如图72B所示,当与至少一种以下共溶剂:4.5%维生素E TPGS;30%DMSO;30%NMP;30% PG;30%甘油;和1%乙二胺四乙酸(EDTA)混合时,观察到包含34.5-35.5% PB的本发明构思的胰岛素和胰高血糖素共制剂的溶解度。在包含34.5-35.5% PB的所有共溶剂中均观察到胰岛素的目标浓度。另外,在包含34.5-35.5% PBS、4.5%维生素E TPGS、30%DMSO和30%PG的第一共溶剂和包含34.5-35.5%PBS、4.5%维生素E TPGS、30%DMSO和30%甘油的第二共溶剂中观察到胰高血糖素的目标浓度。

[0128] 图73示出了数据,该数据涉及胰岛素和胰高血糖素各自在包含与高达40%的PB水溶液(pH 7.8)混合的非水性有机溶剂的共溶剂中的溶解度。符合本发明构思的共溶剂包含以下有机溶剂中的至少一种:NMP;PG;甘油;和DMSO,其中共溶剂或共溶剂混合物占制剂的至少60%。通过RP-HPLC分析上清液中胰岛素和胰高血糖素的浓度。在包含30%或更多有机溶剂的溶液中,胰高血糖素在PB中展示出更好的溶解度(例如0.1-0.3mg/mL),与胰高血糖素在100% PB中的溶解度相反(例如小于0.02mg/mL)。胰岛素在所有测试的共溶剂中均展示出目标浓度,其中有机共溶剂占混合物的大于30%。

[0129] 现在参照图74-76,给出了符合本发明构思的由申请人进行的研究的结果。对犬对象进行这些研究以评估与作为单独溶液的胰岛素和胰高血糖素相比,共同配制的胰岛素和胰高血糖素溶液的治疗价值。

[0130] 通过用PG和PB(pH 7.4)稀释胰高血糖素在DMSO中的储备溶液,然后加入胰岛素,制备胰岛素和胰高血糖素的共制剂。胰高血糖素DMSO储备溶液通过将胰高血糖素以0.55mg/mL的浓度溶解在DMSO中来制备,并以4:2:4的体积比(胰高血糖素DMSO储备溶液:PG:PB)用PG然后是PB(例如,20mM,pH 7.4)稀释至0.12mg/mL。将所需量的胰岛素加入胰高血糖素溶液(例如0.12mg/mL)中,以达到0.83mg/mL的胰岛素浓度。胰岛素与胰高血糖素的摩尔比为4。观察到最终的共制剂是澄清且无色的。

[0131] 通过RP-HPLC分析共制剂中胰岛素和胰高血糖素的浓度。用0.01N HCl稀释共制剂

的样品。使用配备有二极管阵列检测器 (DAD) 的 Agilent HPLC, 并进一步包括 5 μ m 的 Zorbax SB-C8, 1mL/min 的 4.6x 250mm 柱流速, 214nm 的紫外检测, 和 50 μ l 的进样量来分析稀释的共制剂。柱温保持在 30 $^{\circ}$ C, 并且样品室保持在 5 $^{\circ}$ C。流动相由 0.1% 三氟乙酸 (TFA) / Milli-Q water (流动相 A) 和 0.1% TFA/乙腈 (流动相 B) 的组合组成。流动相组合以等度的 70% 流动相 A 开始, 持续 5min, 然后以 0.5%/min 的速度降低至 60% 的流动相 A, 接着以较高百分比的流动相 B 进行柱清洗, 持续 5min。

[0132] 图 74 示出了数据, 该数据涉及与作为单独溶液的胰岛素和胰高血糖素的共输注相比, 在共制剂的输注期间的血浆葡萄糖水平。在 90-390min 时段期间, 将生长抑素施用于犬对象以使内分泌胰腺失效。在 0-180min 时段期间, 以基础量以 0.4mU/kg/min 的速度皮下输注胰岛素和以 2.1ng/kg/min 的速度皮下输注胰高血糖素, 所述胰岛素和胰高血糖素或者作为单独的溶液 (称为 Ba GGN 组) 或者作为共制剂 (称为 Hi GGN 组)。在 180min 时, Ba GGN 和 Hi GGN 组的胰岛素输注速度均增至 1.6mU/kg/min。Ba GGN 组的胰高血糖素输注速度保持在基础, 而 Hi GGN 组的胰高血糖素输注速度却增至 8.4ng/kg/min。

[0133] 在 90-180min 的基础激素替代期过程中, Ba GGN 组的葡萄糖水平为 100mg/dL。Hi GGN 组的葡萄糖水平接近 80mg/dL, 由此说明在共制剂中胰岛素作用占主导地位。在 180-390min 的胰岛素挑战期过程中, I/G 摩尔比为 16 的 Ba GGN 组的葡萄糖水平降至 41mg/dL。当胰高血糖素水平增至 4 倍以维持 I/G 摩尔比为 4 (如图 76 所示) 时, Hi GGN 组中的葡萄糖水平仅降至 56mg/dL。

[0134] 图 75 示出了数据, 该数据涉及在共制剂中或作为单独溶液的胰岛素输注期间的动脉胰岛素水平。在 0-180min 的引发和基础替代期过程中, 以 0.4mU/kg/min 的速度皮下输注胰岛素, 所述胰岛素或者作为单一溶液 (称为 Ba GGN 组) 或者在含胰高血糖素的共制剂中 (称为 Hi GGN 组)。在 180 至 390min 的挑战期过程中, Ba GGN 和 Hi GGN 组均以 1.6mU/kg/min 的速度皮下输注胰岛素, 前者在含胰高血糖素的共制剂中。两组的胰岛素水平相似地增加。

[0135] 图 76 示出了数据, 该数据涉及与作为单独溶液的胰高血糖素输注相比, 在共制剂输注期间的动脉胰高血糖素水平。在 0-390min 的整个实验中, 在 Ba GGN 组中以 2.1ng/kg/min 的速度皮下输注作为单一溶液的胰高血糖素。在前 180min 期间, 在 Hi GGN 组中, 以 2.1ng/kg/min 的速度输注在含胰岛素的共制剂中的胰高血糖素。在 180 至 390min 的胰岛素挑战期过程中, 在 Hi GGN 组中, 以 8.4ng/kg/min 的速度皮下输注在含胰岛素的共制剂中的胰高血糖素。胰高血糖素水平增至 $\approx$ 4 倍。

[0136] 在图 75 和 76 所示的实验中, 在 0-180min 的引发和替代期过程中, 两组的 I/G 摩尔比均为 4。在 180-390min 的胰岛素挑战期过程中, Ba GGN 组的 I/G 摩尔比增至 16, Hi GGN 组的 I/G 摩尔比保持在 4。

[0137] 本公开的方面可以在以下条款中阐述的发明中进一步体现:

条款 1: 一种治疗方法, 其包括向对象共同施用胰岛素和胰高血糖素, 其中以约 1:1 至约 6:1 的胰岛素: 胰高血糖素摩尔比共同施用胰岛素和胰高血糖素, 并且其中胰岛素和胰高血糖素以在治疗上有效于同时治疗或抑制高血糖和抑制低血糖的量施用。

[0138] 条款 2: 条款 1 的方法, 其中在共同施用胰岛素和胰高血糖素之前所述对象是高血糖对象。

[0139] 条款 3: 条款 1 或条款 2 的方法, 其中共同施用胰岛素和胰高血糖素包括向对象施用

包含胰岛素和胰高血糖素的共制剂。

[0140] 条款4:条款3的方法,其中所述共制剂包含浓度为约1mg/ml至约10mg/ml的胰岛素和浓度为约0.1mg/ml至约1mg/ml的胰高血糖素。

[0141] 条款5:条款3或条款4的方法,其中所述共制剂包含浓度为约3mg/ml至约5mg/ml的胰岛素和浓度为约0.1mg/ml至约0.8mg/ml的胰高血糖素。

[0142] 条款6:条款3-5中任一项的方法,其中所述共制剂包含溶剂,所述溶剂包含一种或多种非水性溶剂。

[0143] 条款7:条款6的方法,其中约20%至约60%的溶剂(v/v)由一种或多种非水性溶剂组成。

[0144] 条款8:条款6或条款7的方法,其中至少一种非水性溶剂是二甲基亚砜(DMSO)或N-甲基吡咯烷酮(NMP)。

[0145] 条款9:条款6-8中任一项的方法,其中所述溶剂还包含一种或多种水性溶剂。

[0146] 条款10:权利要求9的方法,其中不超过约40%的溶剂(v/v)由一种或多种水性溶剂组成。

[0147] 条款11:条款6-10中任一项的方法,其中约10%至约40%的溶剂(v/v)是丙二醇(PG)、甘油或PG和甘油的组合。

[0148] 条款12:条款3-10中任一项的方法,其中胰岛素和胰高血糖素的共制剂具有足够的作为注射或在输注泵中用于患者处理的使用期间稳定性。

[0149] 条款13:前述条款中任一项的方法,其中共同施用胰岛素和胰高血糖素包括皮下施用胰岛素和胰高血糖素。

[0150] 条款14:前述条款中任一项的方法,其中所述胰岛素包含肝偏好性胰岛素。

[0151] 条款15:前述条款中任一项的方法,其中以约1:1至约5:1的胰岛素:胰高血糖素摩尔比共同施用胰岛素和胰高血糖素。

[0152] 条款16:前述条款中任一项的方法,其中以约3:1至约6:1的胰岛素:胰高血糖素摩尔比共同施用胰岛素和胰高血糖素。

[0153] 条款17:前述条款中任一项的方法,其中以约3:1至约5:1的胰岛素:胰高血糖素摩尔比共同施用胰岛素和胰高血糖素。

[0154] 条款18:前述条款中任一项的方法,其中共同施用胰岛素和胰高血糖素包括以约0.2-0.6mU/kg/分钟的基础输注速度施用胰岛素和以约1-4ng/kg/分钟的基础输注速度施用胰高血糖素。

[0155] 条款19:条款18的方法,其中共同施用胰岛素和胰高血糖素包括以约0.3-0.5mU/kg/分钟的基础输注速度施用胰岛素。

[0156] 条款20:条款18或条款19的方法,其中共同施用胰岛素和胰高血糖素包括以约2-3ng/kg/分钟的基础输注速度施用胰高血糖素。

[0157] 条款21:前述条款中任一项的方法,其中所述胰岛素包含胰岛素类似物。

[0158] 条款22:前述条款中任一项的方法,其中所述胰高血糖素包含胰高血糖素类似物。

[0159] 条款23:前述条款中任一项的方法,其中所述对象患有1型、2型、妊娠或其他形式的糖尿病。

[0160] 条款24,其中当共同施用胰岛素和胰高血糖素时,所述对象正表现出低血糖相关

的自主神经衰竭。

[0161] 条款25:一种共制剂,其包含浓度为约1mg/ml至约10mg/ml的胰岛素和浓度为约0.1mg/ml至约1mg/ml的胰高血糖素,其中胰岛素:胰高血糖素的摩尔比为约1:1至约6:1。

[0162] 条款26:条款25的共制剂,其中胰岛素:胰高血糖素的摩尔比为约1:1至约5:1。

[0163] 条款27:条款25或条款26的共制剂,其中胰岛素:胰高血糖素的摩尔比为约3:1至约6:1。

[0164] 条款28:条款25-27中任一项的共制剂,其中胰岛素:胰高血糖素的摩尔比为约3:1至约5:1。

[0165] 条款29:条款25-28中任一项的共制剂,其中胰岛素的浓度为约3mg/ml至约5mg/ml,胰高血糖素的浓度为约0.1mg/ml至约0.8mg/ml。

[0166] 条款30:条款25-29中任一项的共制剂,其还包含溶剂,所述溶剂包含一种或多种水性溶剂和一种或多种非水性溶剂。

[0167] 条款31:条款30的共制剂,其中约20%至约60%的溶剂(v/v)由一种或多种非水性溶剂组成,且不超过约40%的溶剂(v/v)由一种或多种水性溶剂组成。

[0168] 条款32:条款30或条款31的方法,其中至少一种非水性溶剂是二甲基亚砜(DMSO)或N-甲基吡咯烷酮(NMP)。

[0169] 条款33:条款30-32中任一项的方法,其中约10%至约40%的溶剂是丙二醇(PG)、甘油或PG和甘油的组合。

[0170] 应理解上述实施方案仅用作说明性实例;设想了其他实施方案。本文关于任一实施方案描述的任何特征可以单独使用,或者与所描述的其他特征结合使用,并且还可以与任何其他实施方案,或任何其他实施方案的任何组合的一个或多个特征结合使用。此外,在不脱离由所附权利要求限定的本发明的范围的情况下,也可以采用以上未描述的等同和修改。

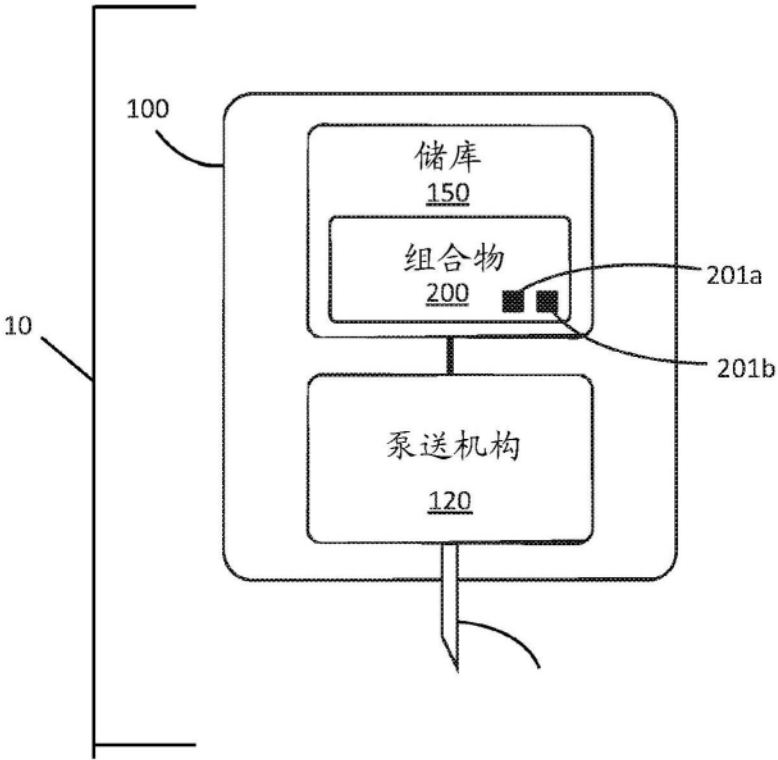


图1

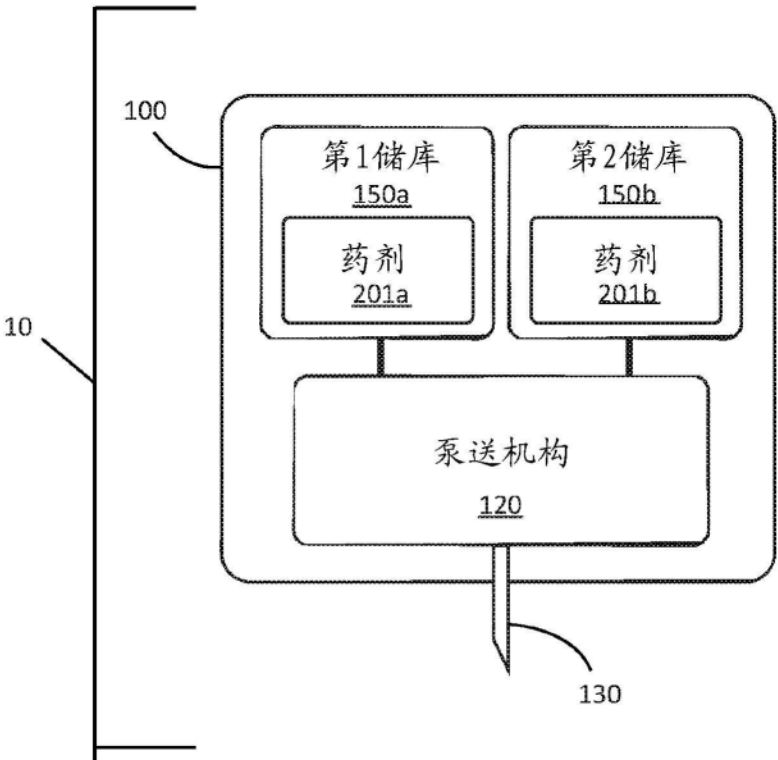


图1A

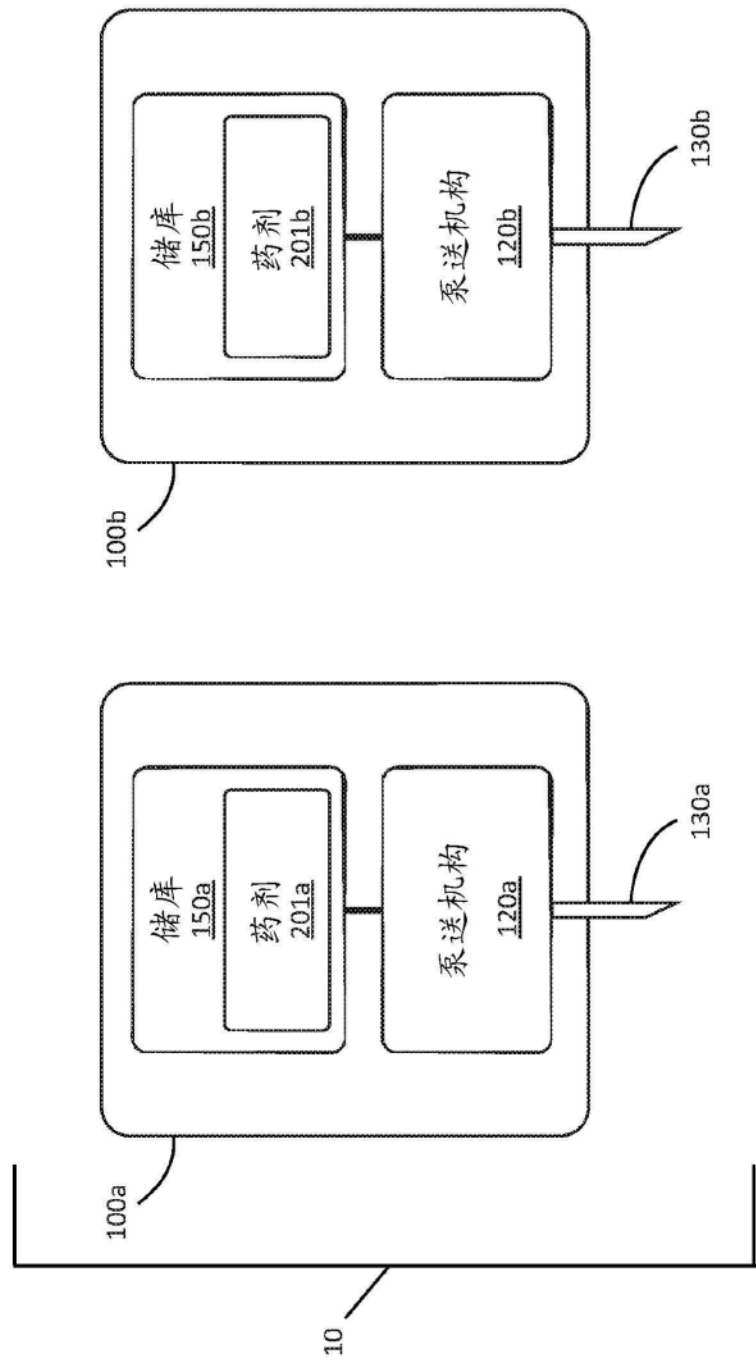


图1B

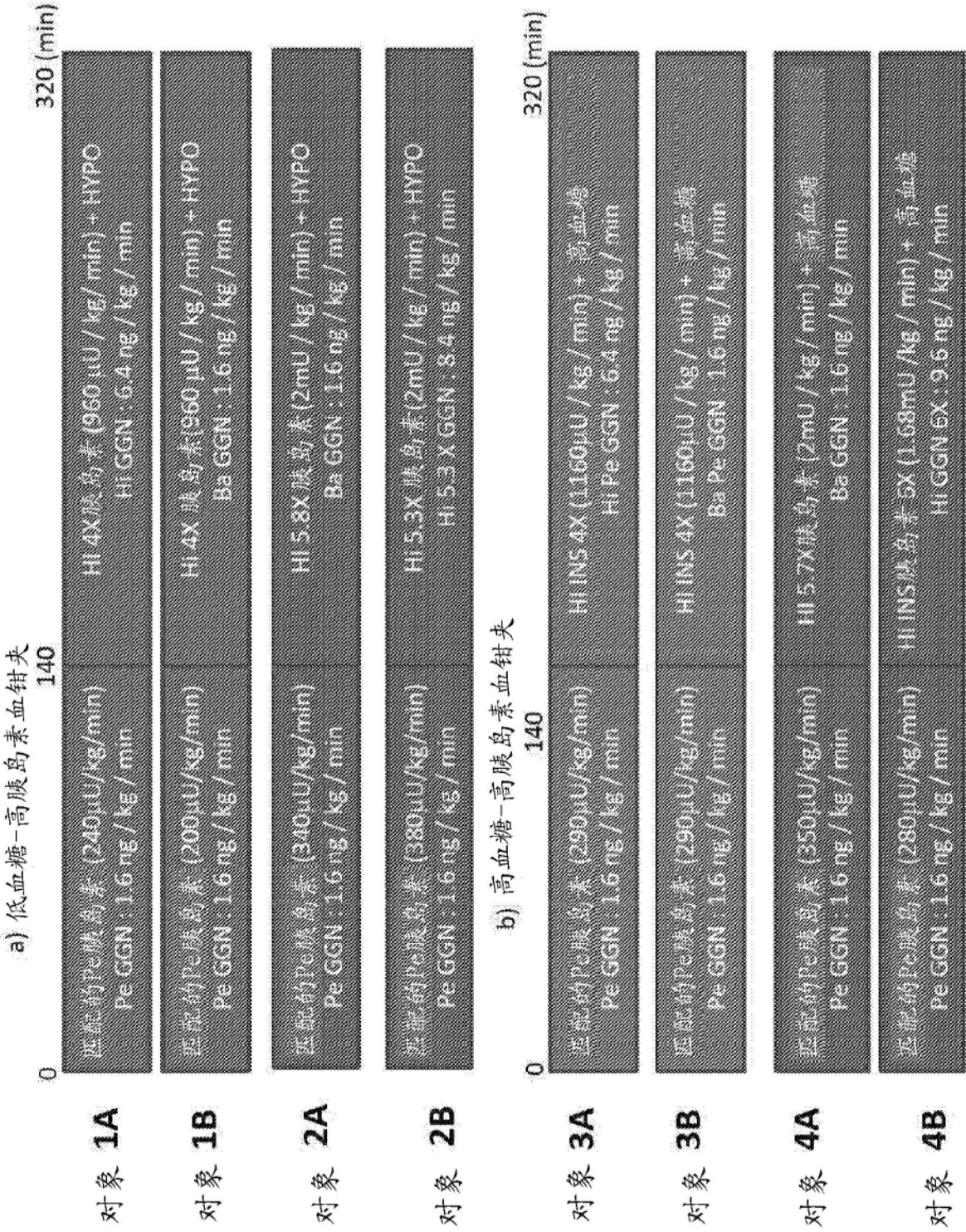


图2

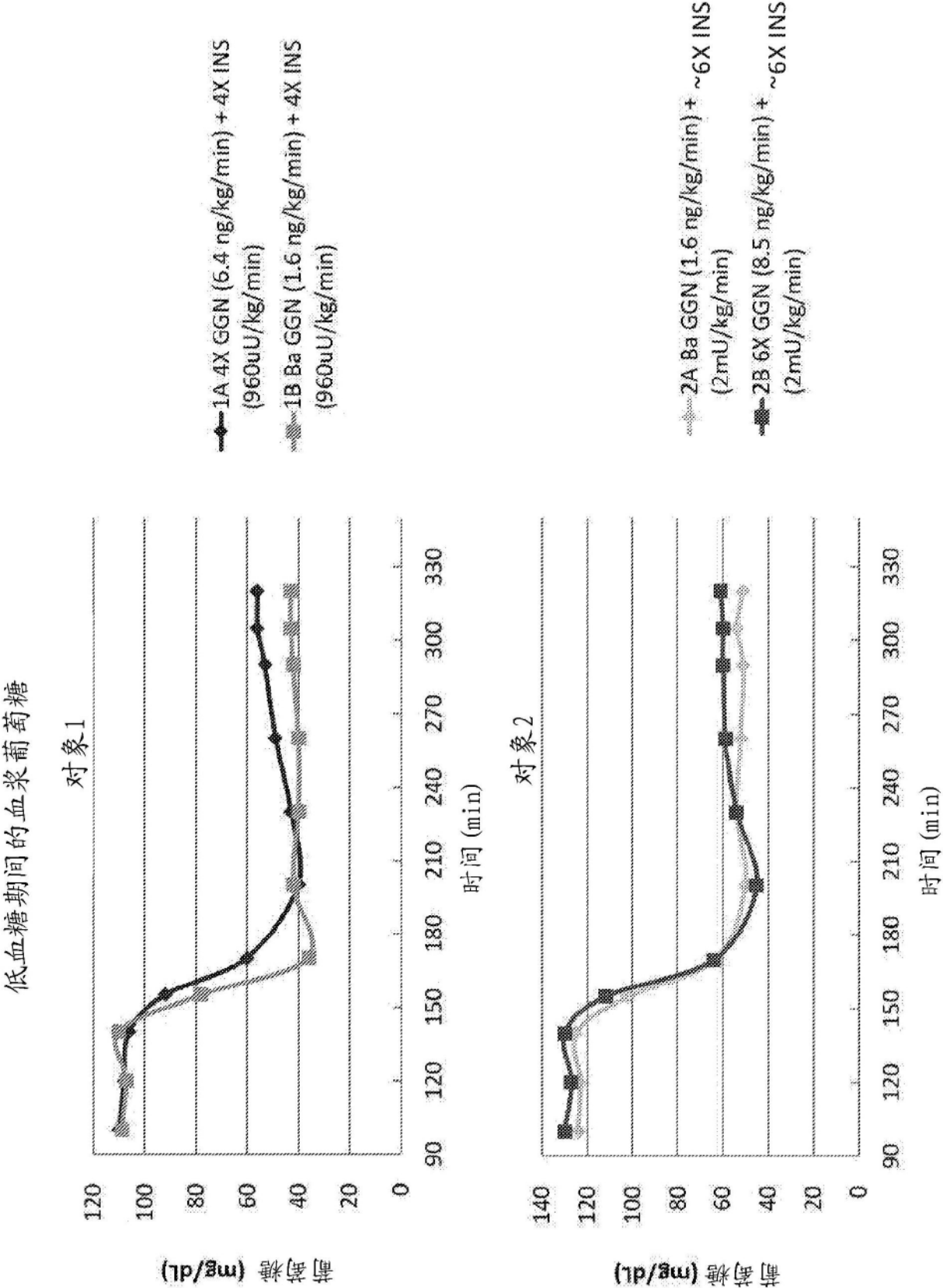


图3

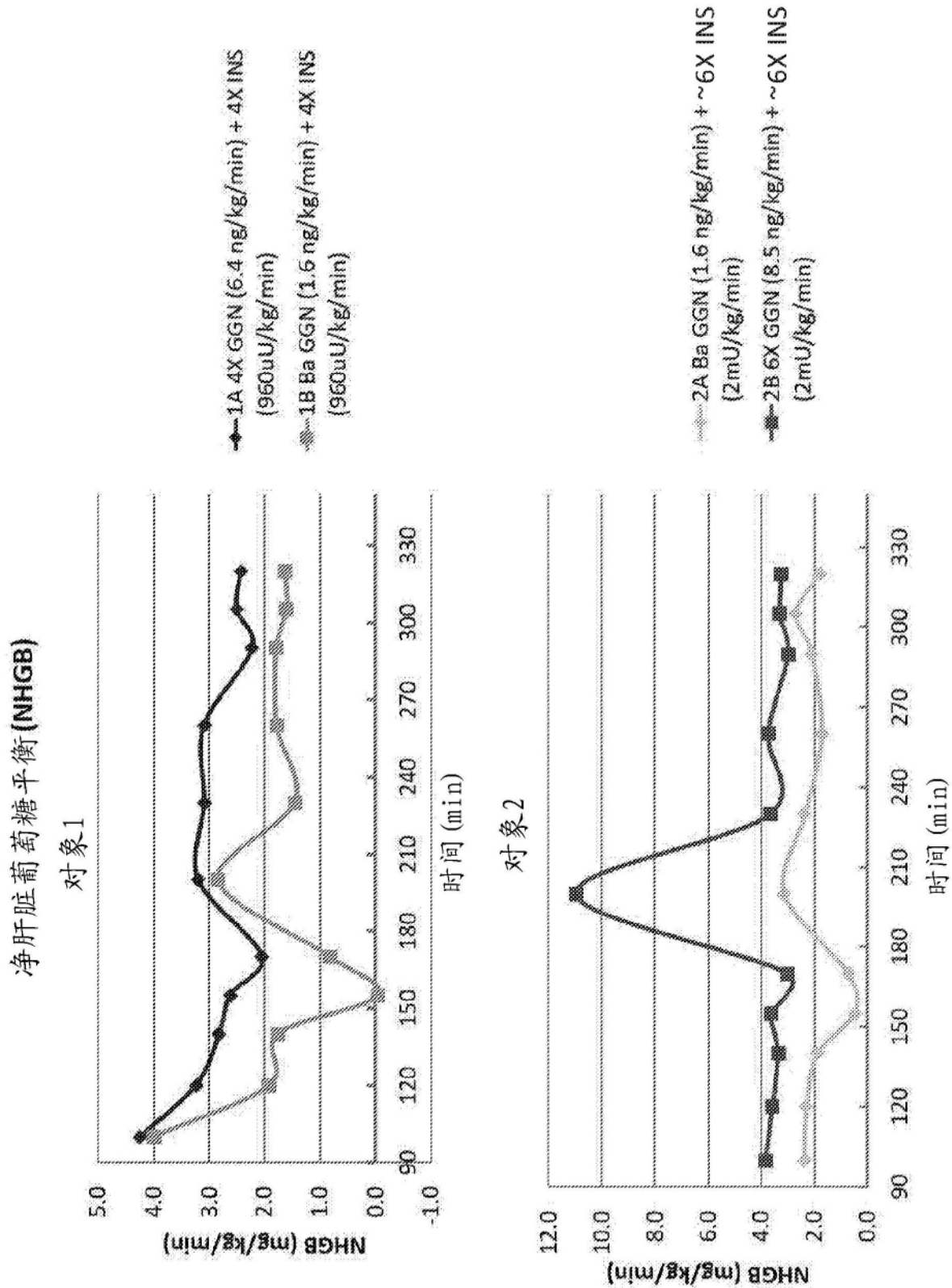


图4

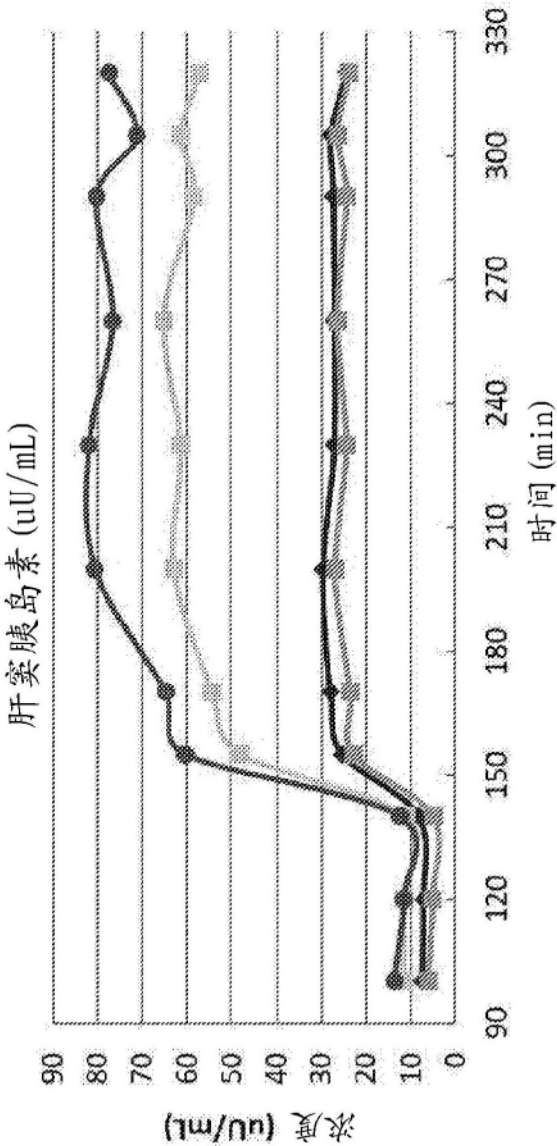


图 5

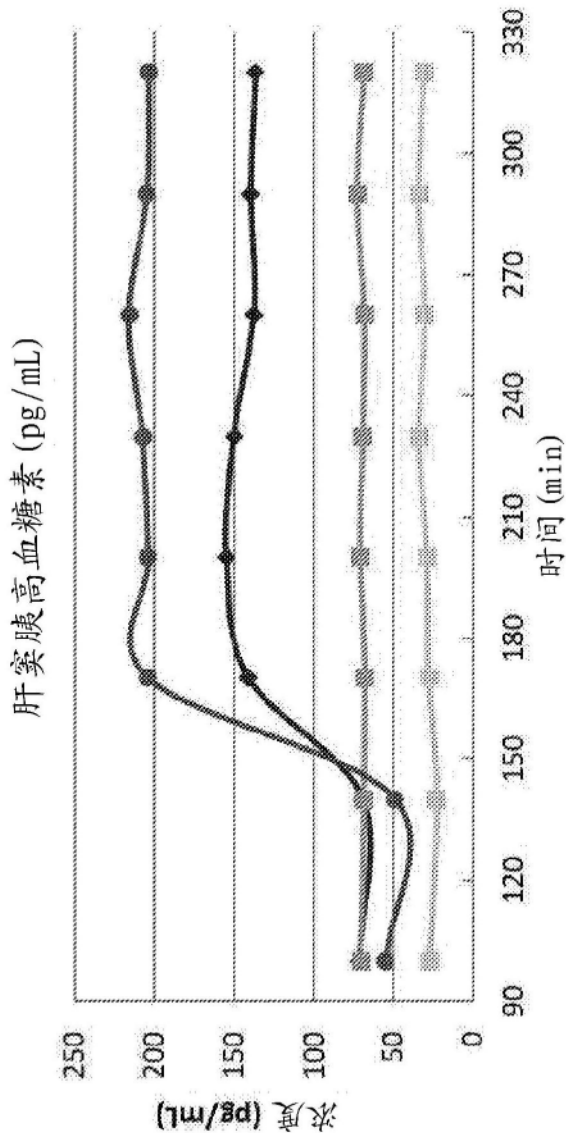


图 6

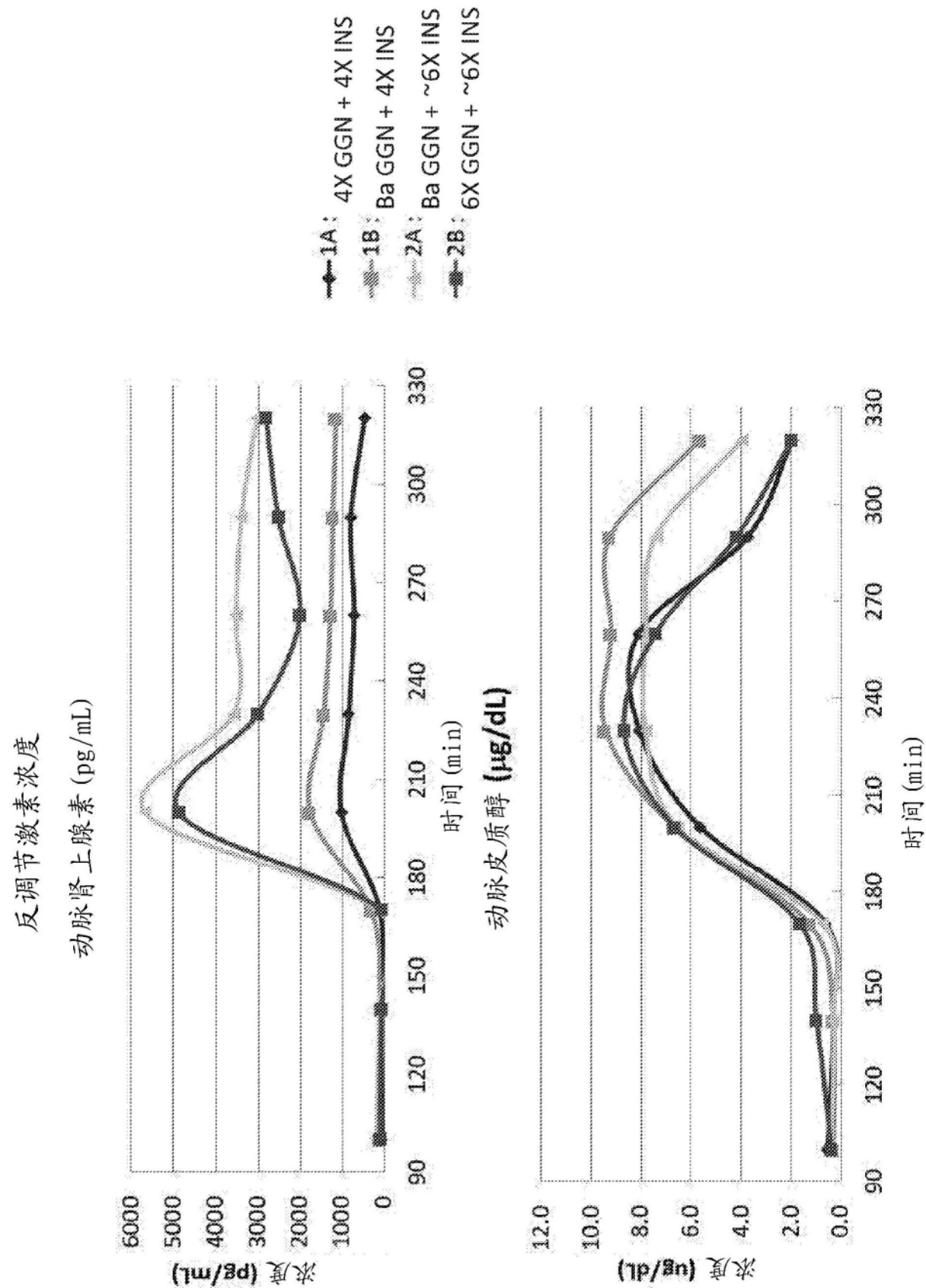


图7

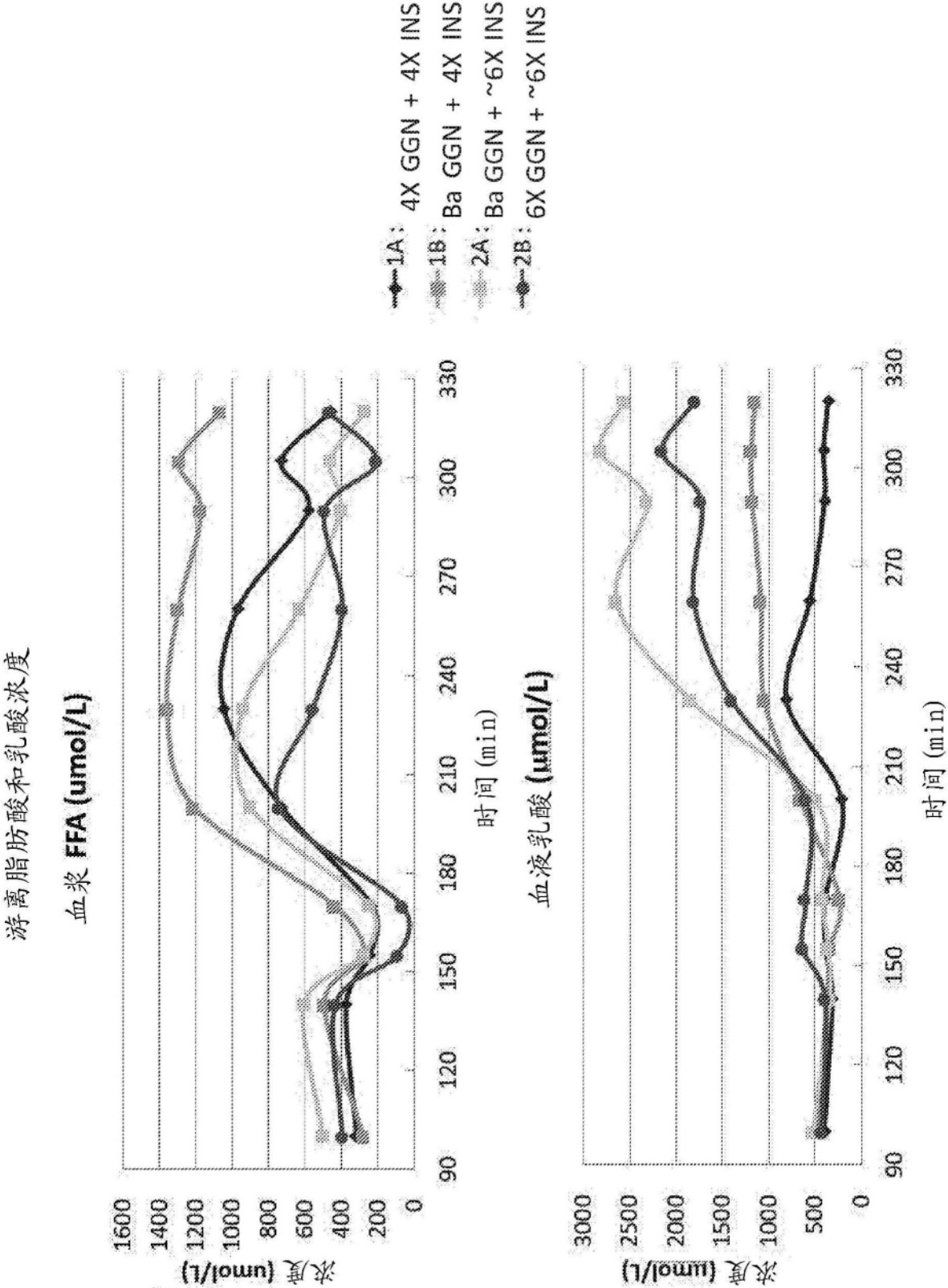


图8

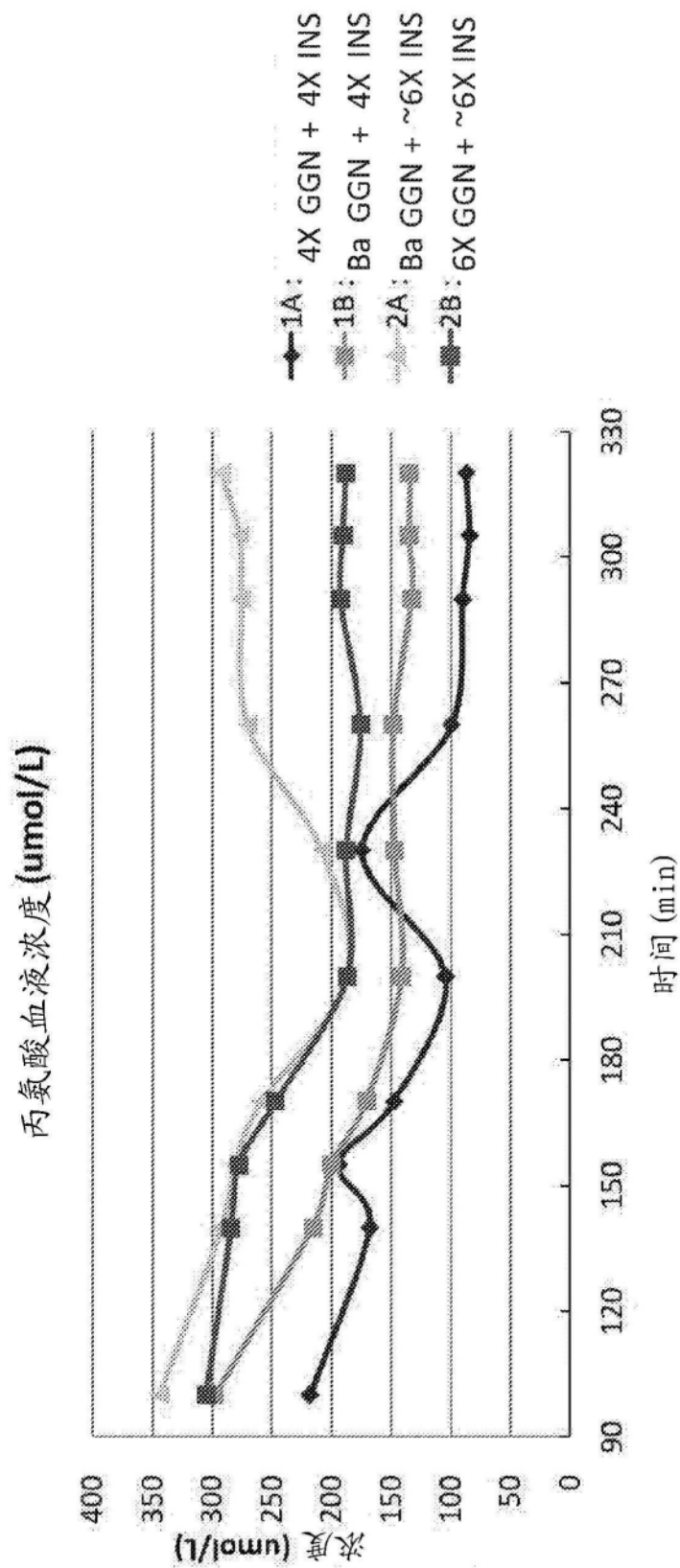


图9

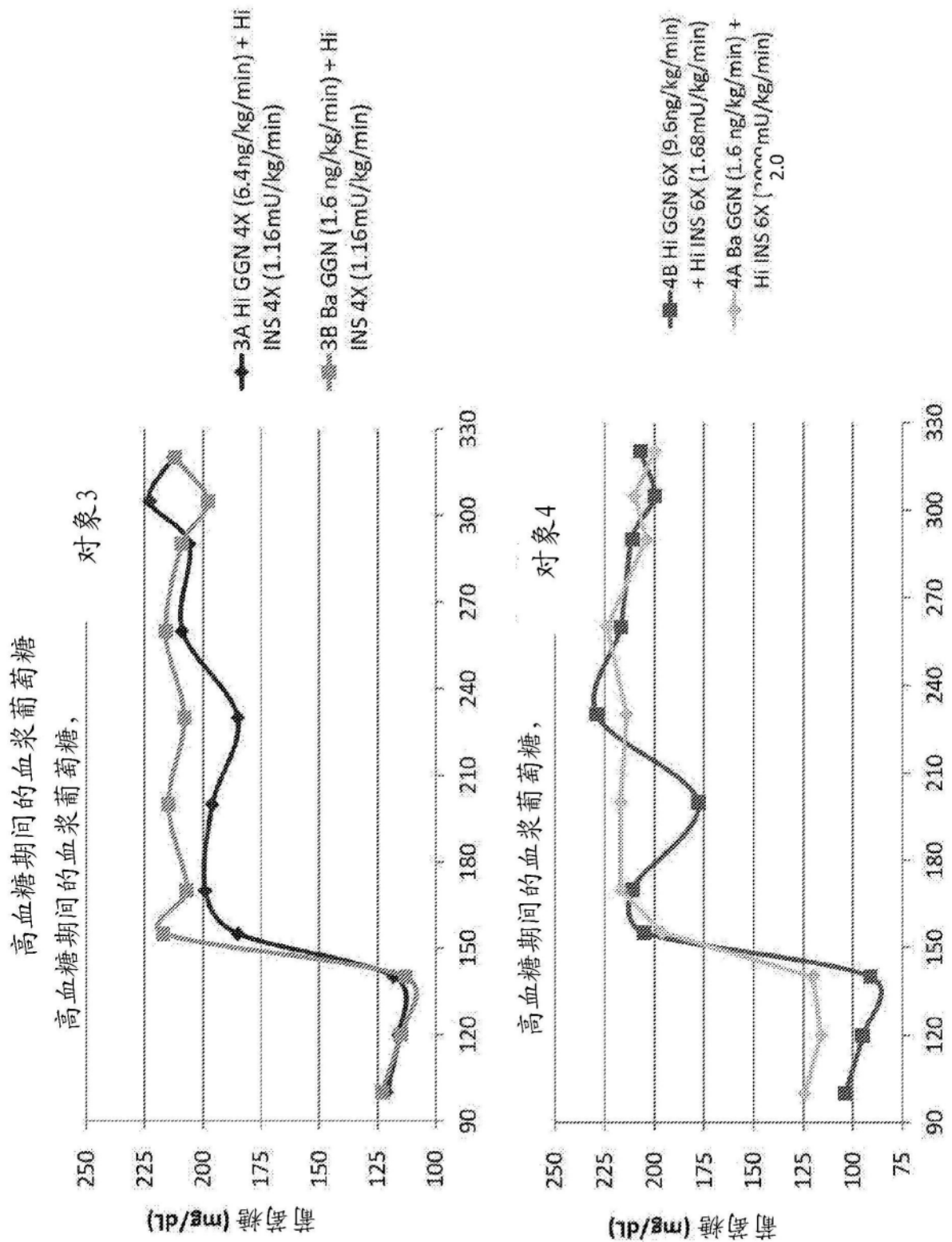


图10

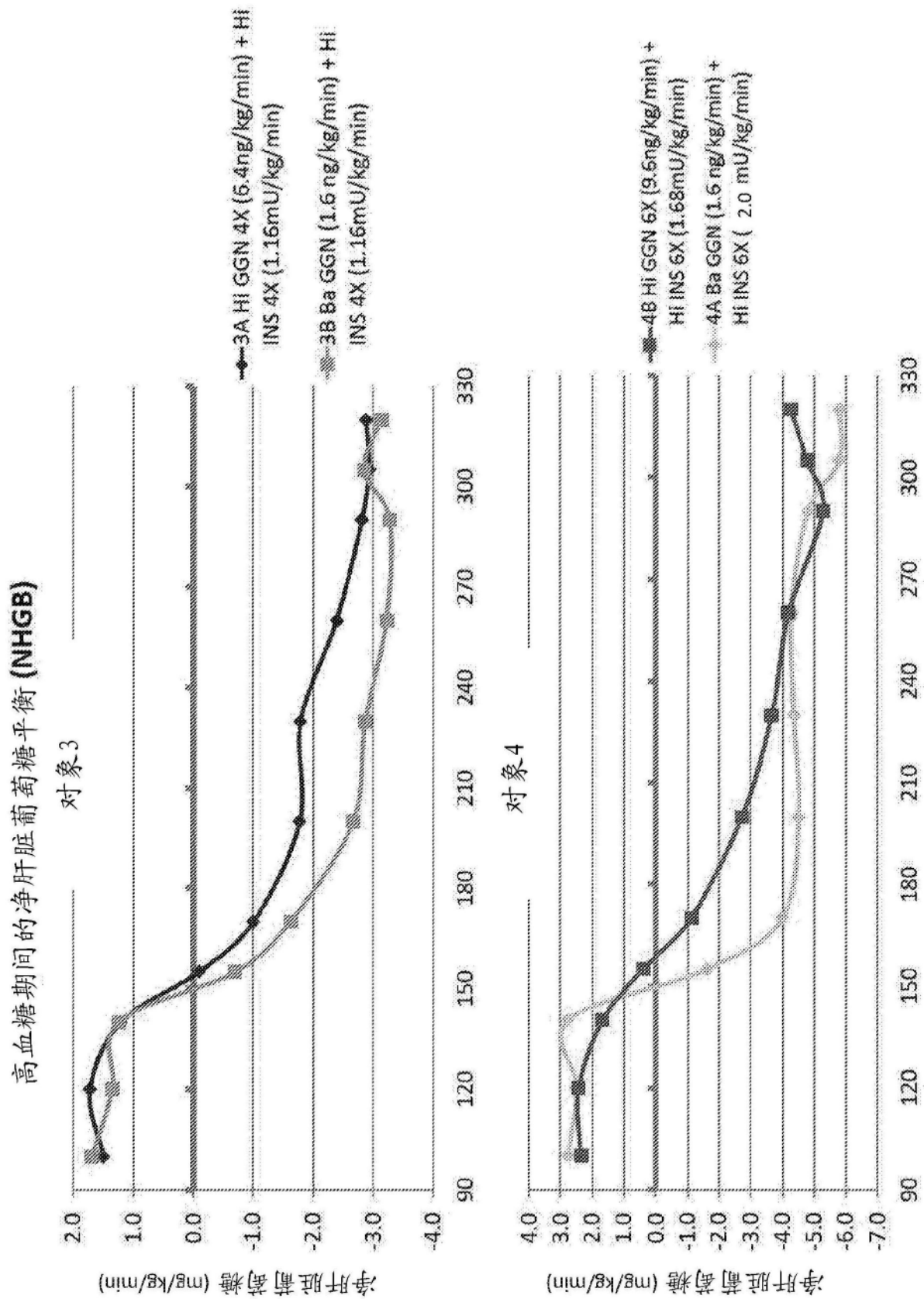


图11

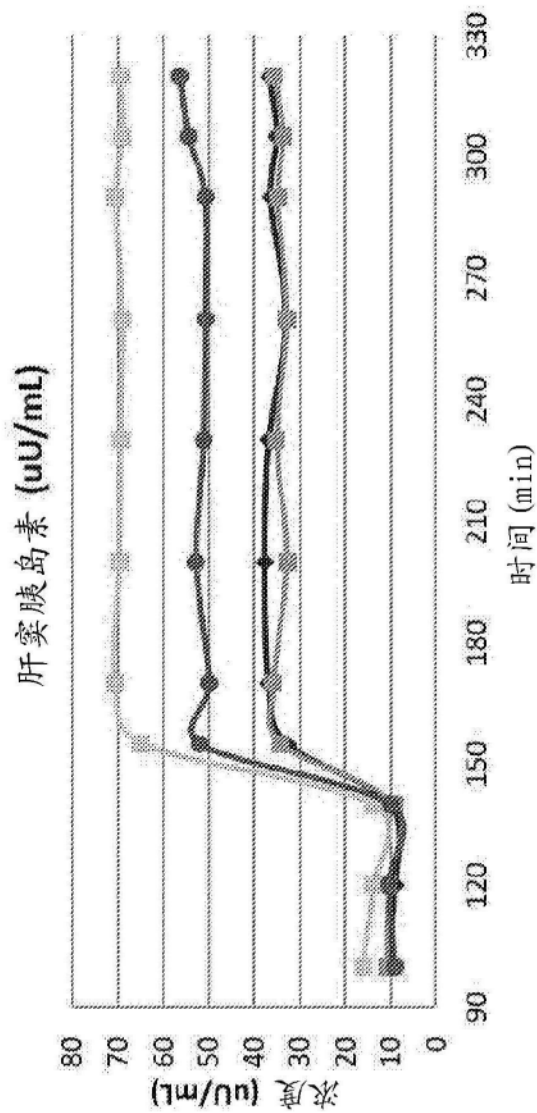


图12

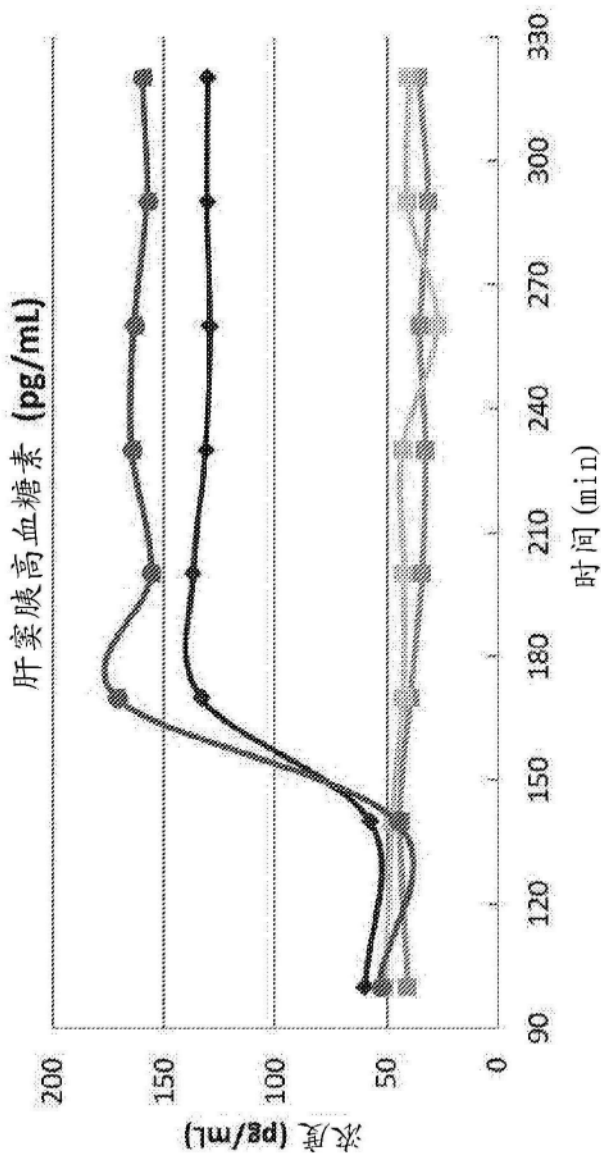


图13

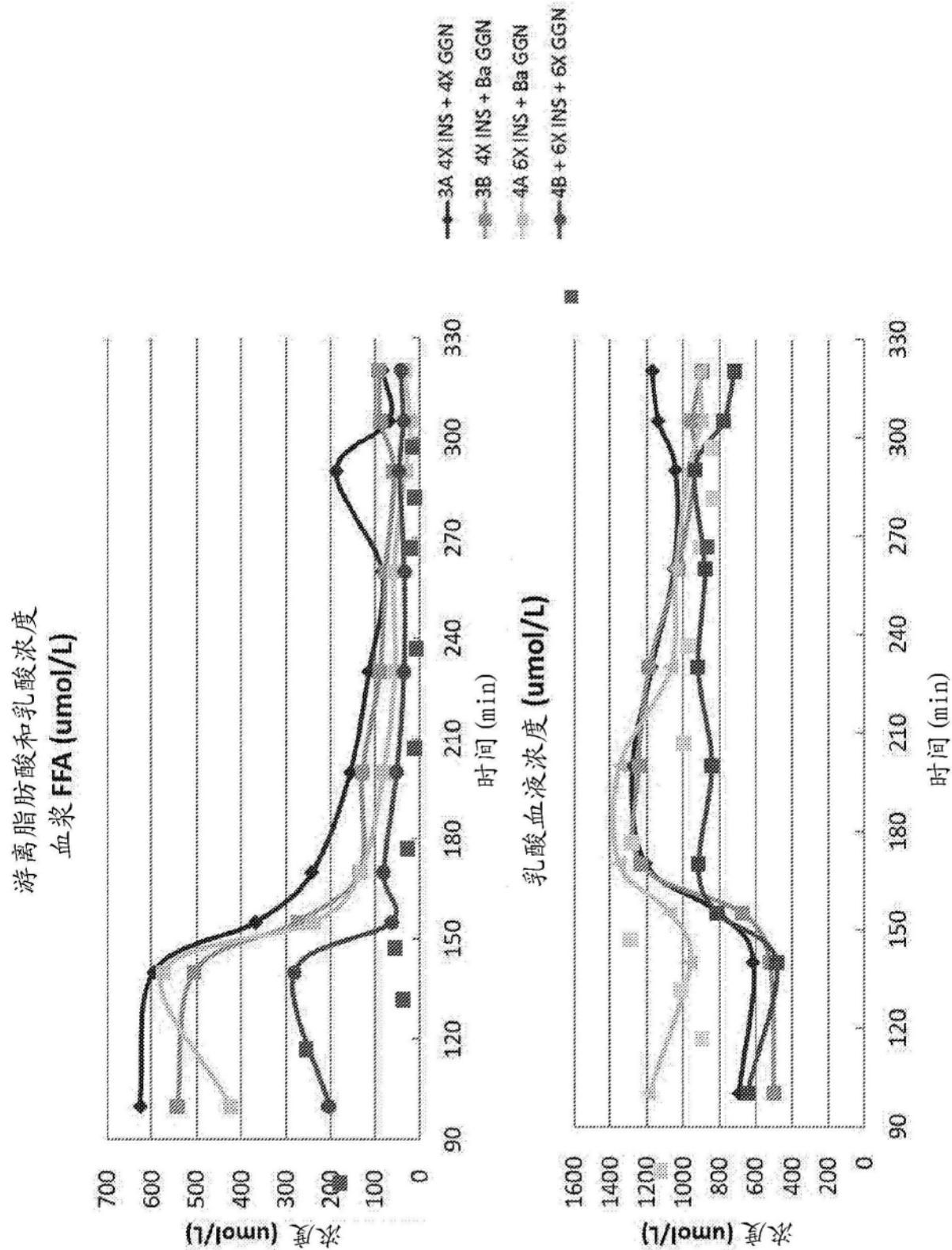


图14

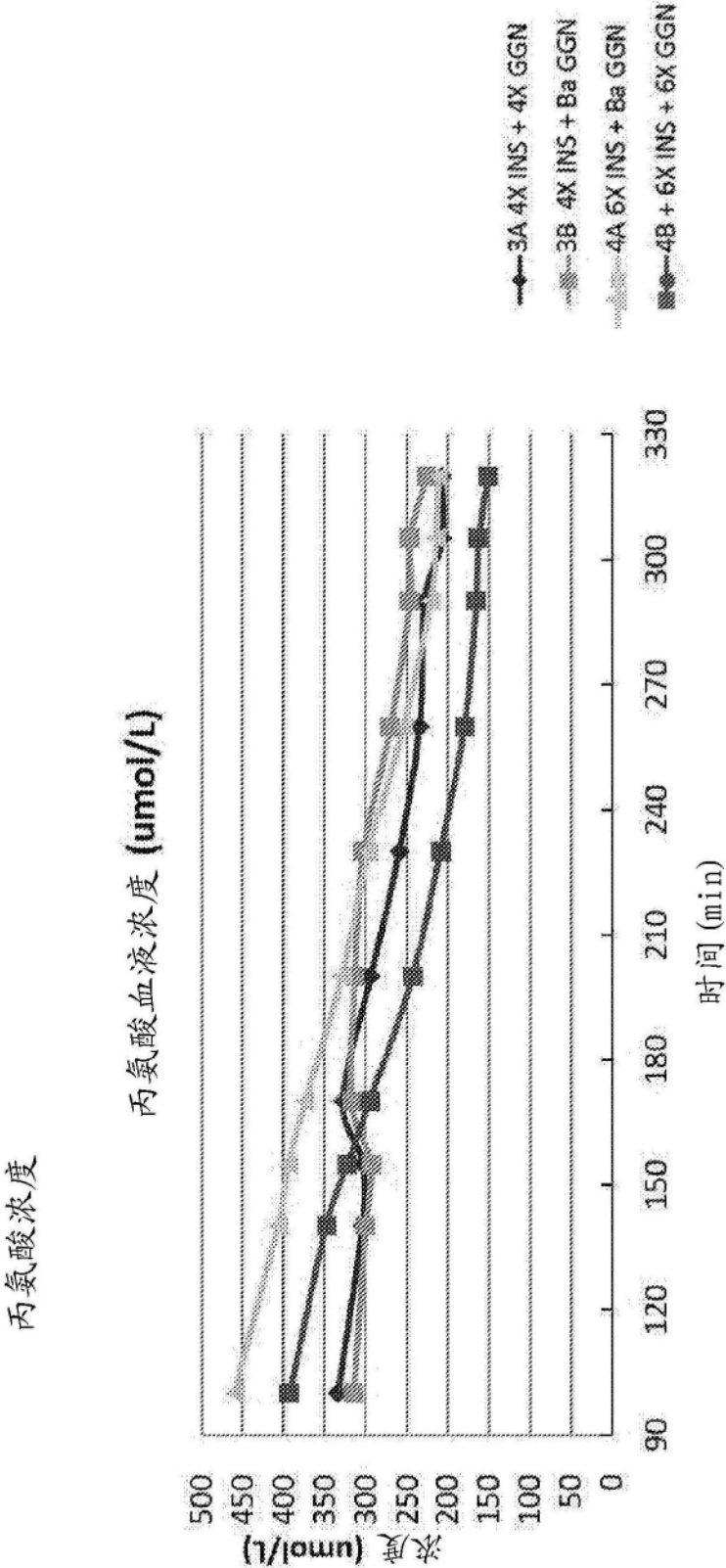


图15

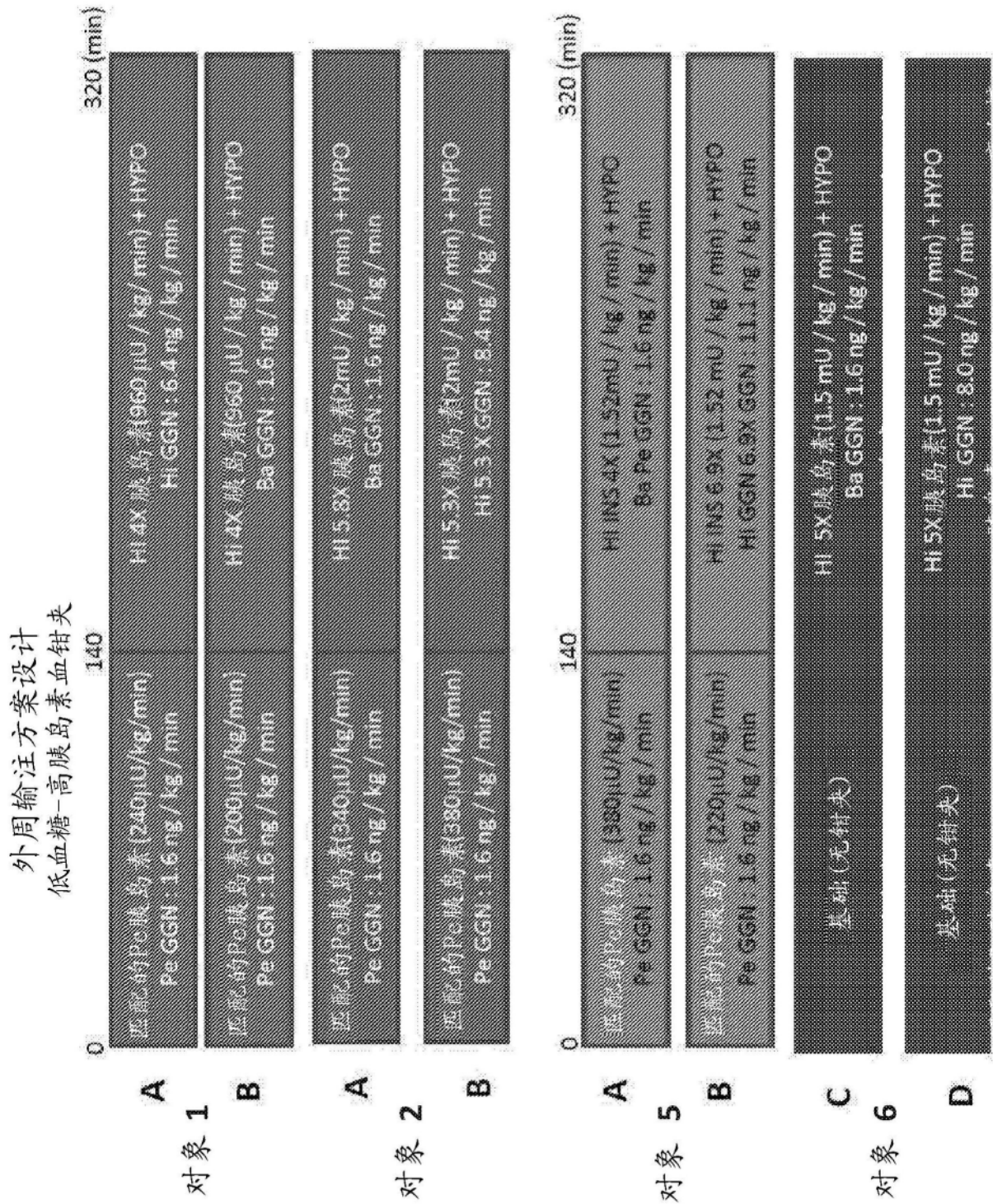


图16

减少胰岛素/胰高血糖素摩尔比防范了
胰岛素的低血糖可能性

对象1

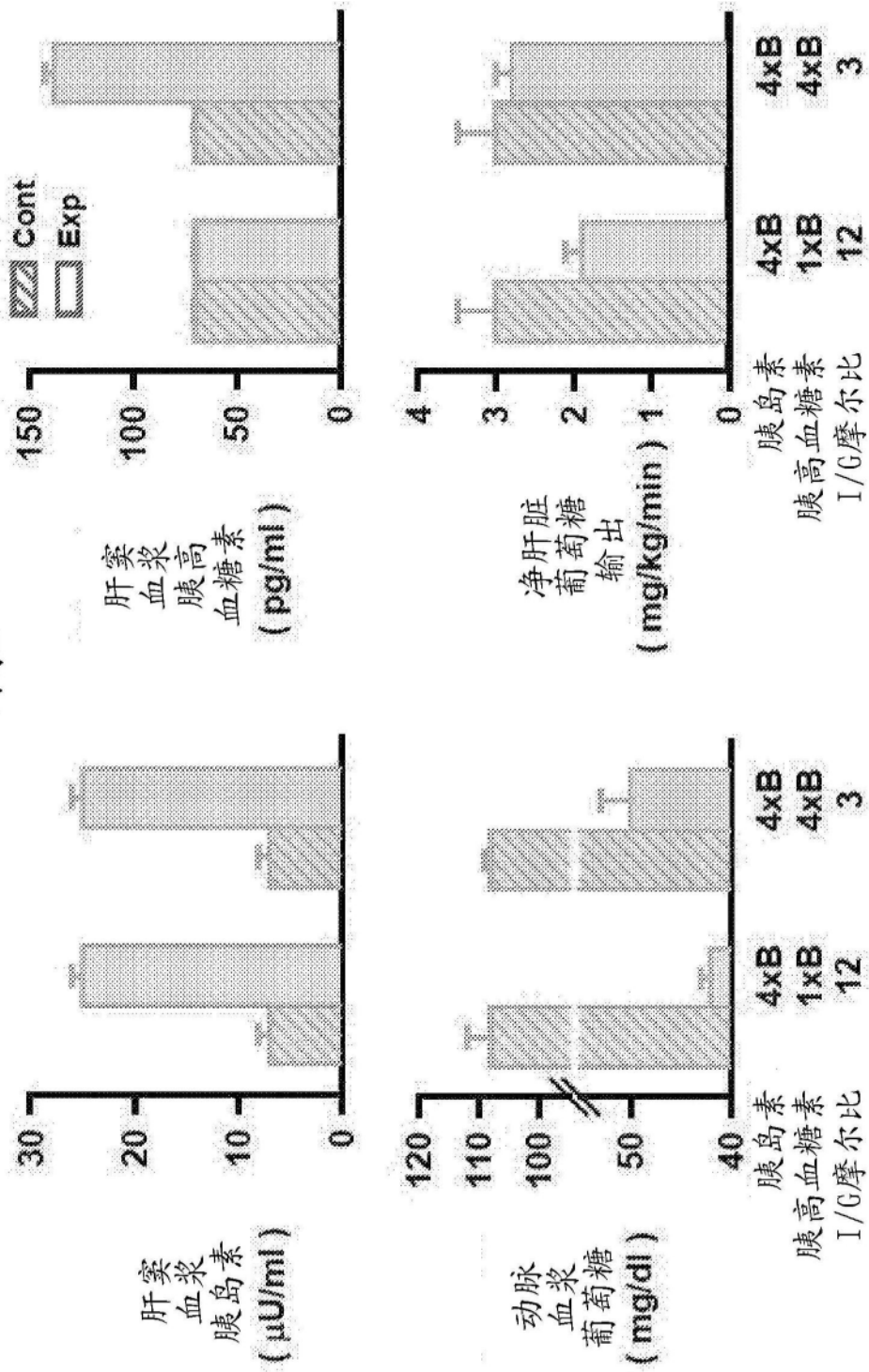


图17

减少胰岛素/胰高血糖素摩尔比减少了
对交感神经系统对低血糖的响应的需求

对象1

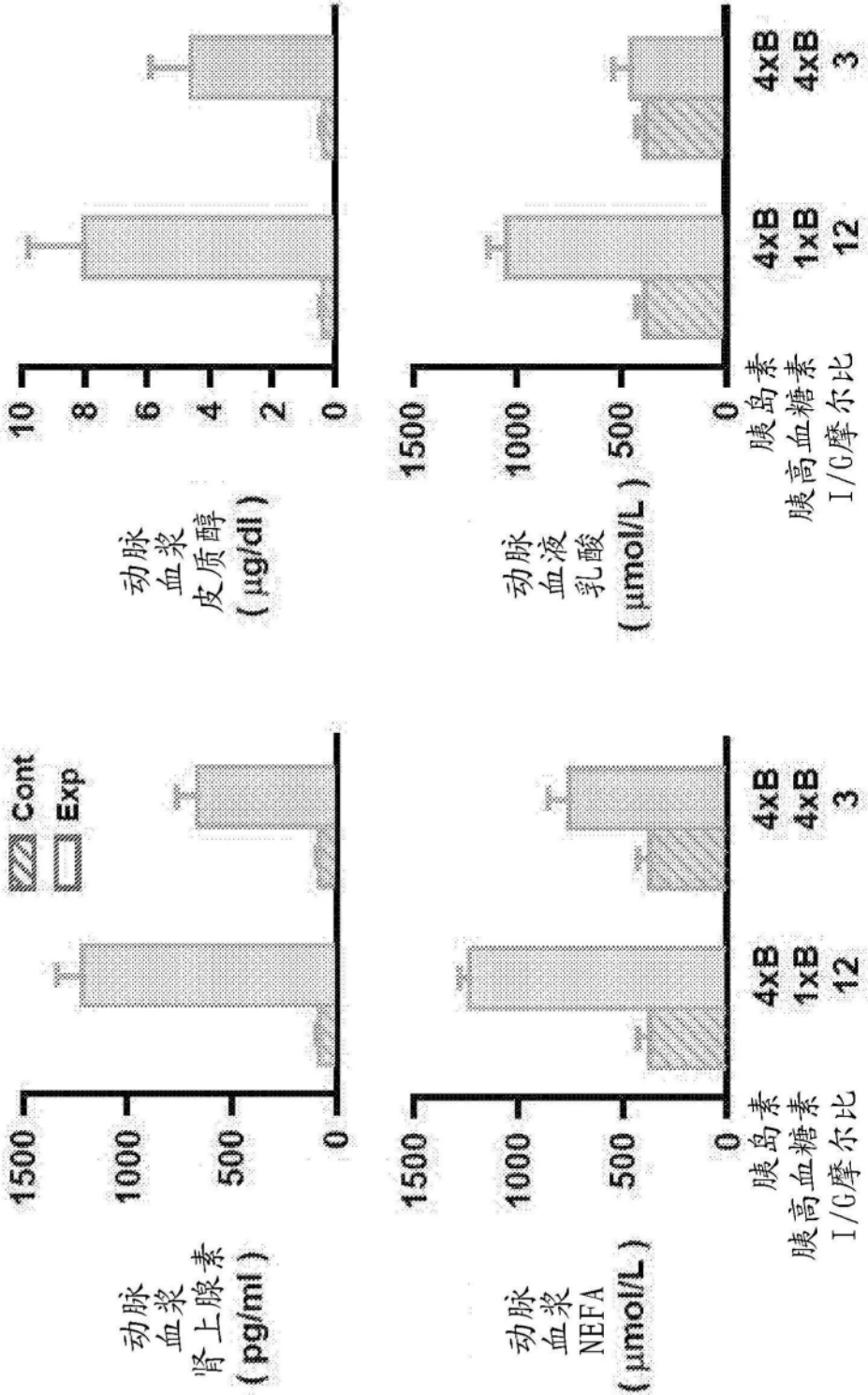


图18

减少胰岛素/胰高血糖素摩尔比防范了
胰胰岛素的低血糖可能性

对象2

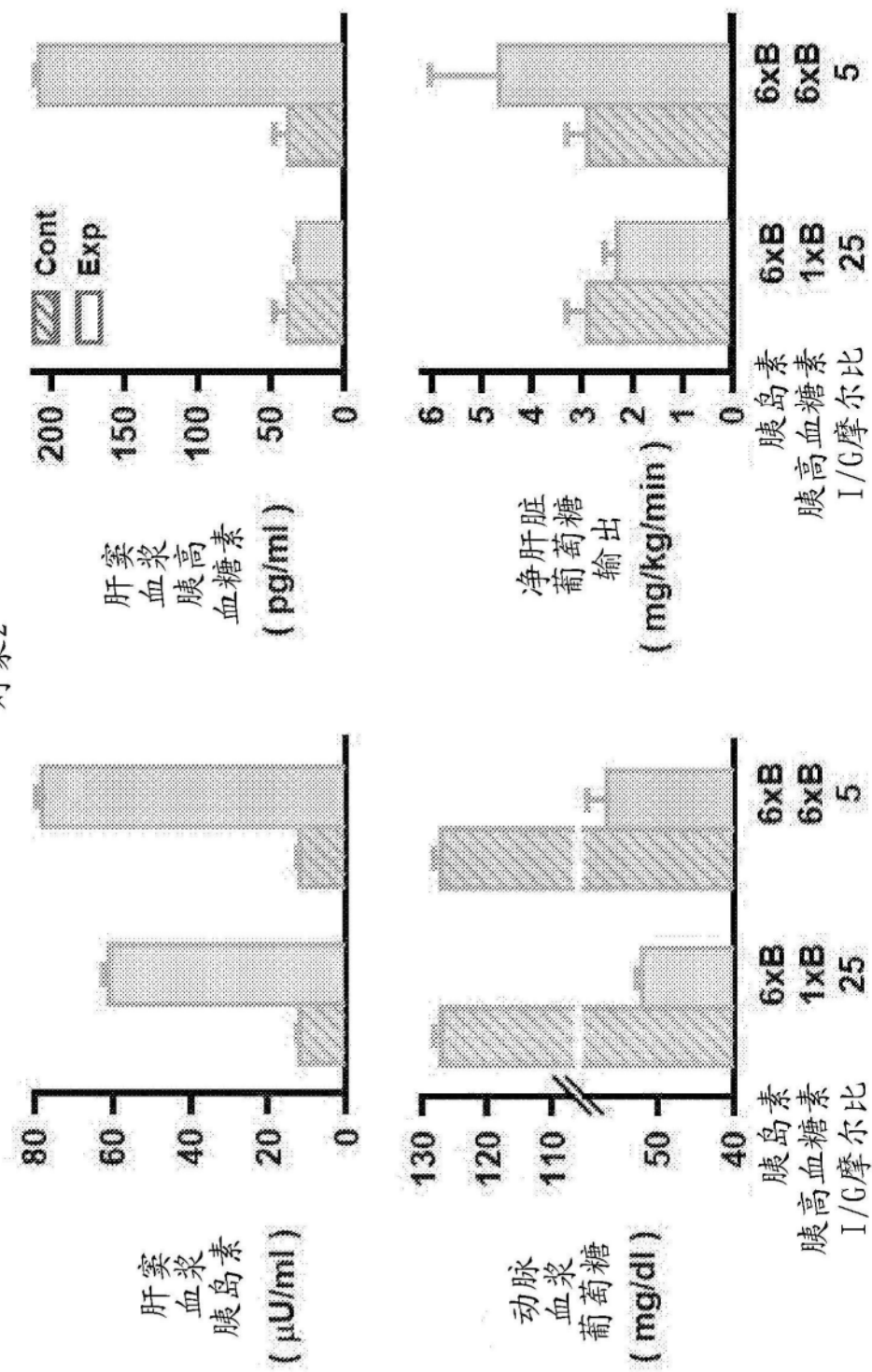


图19

减少胰岛素/胰高血糖素摩尔比减少了
对交感神经系统对低血糖的响应的需求

对象2

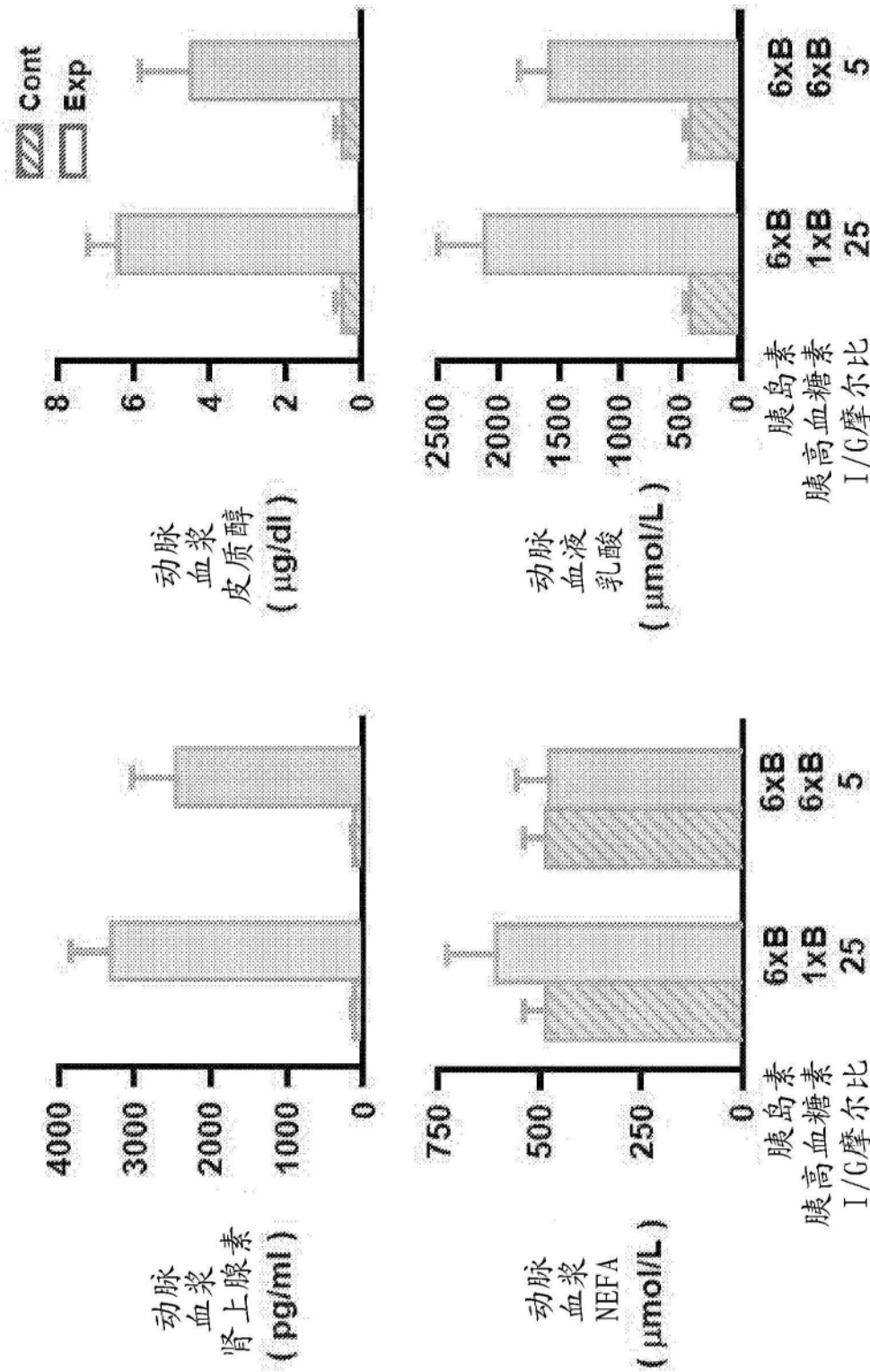


图20

减少胰岛素/胰高血糖素摩尔比防范了
胰岛素的低血糖可能性

对象5

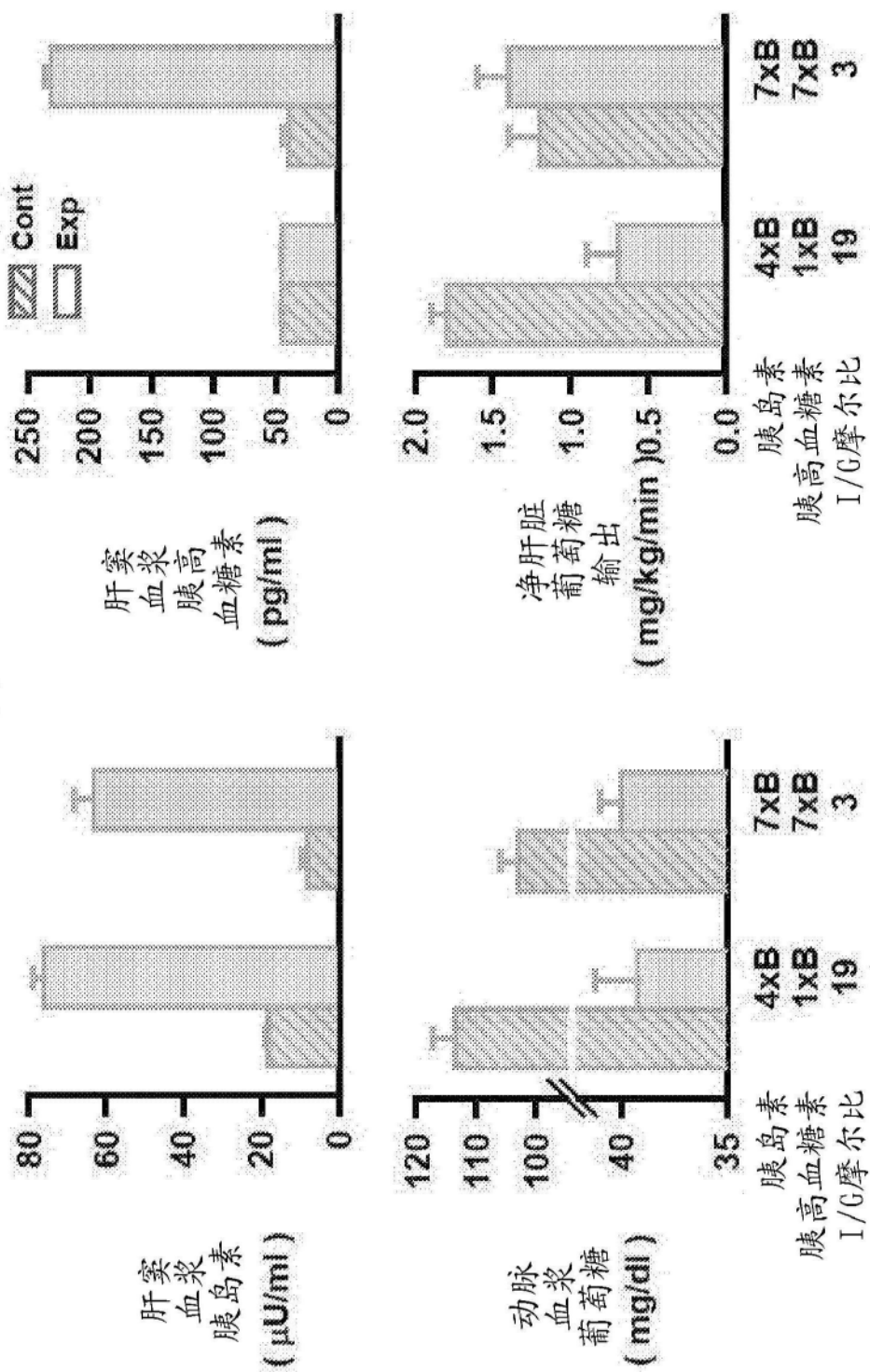


图21

减少胰岛素/胰高血糖素摩尔比减少了
对交感神经系统对低血糖的响应的需求

对象5

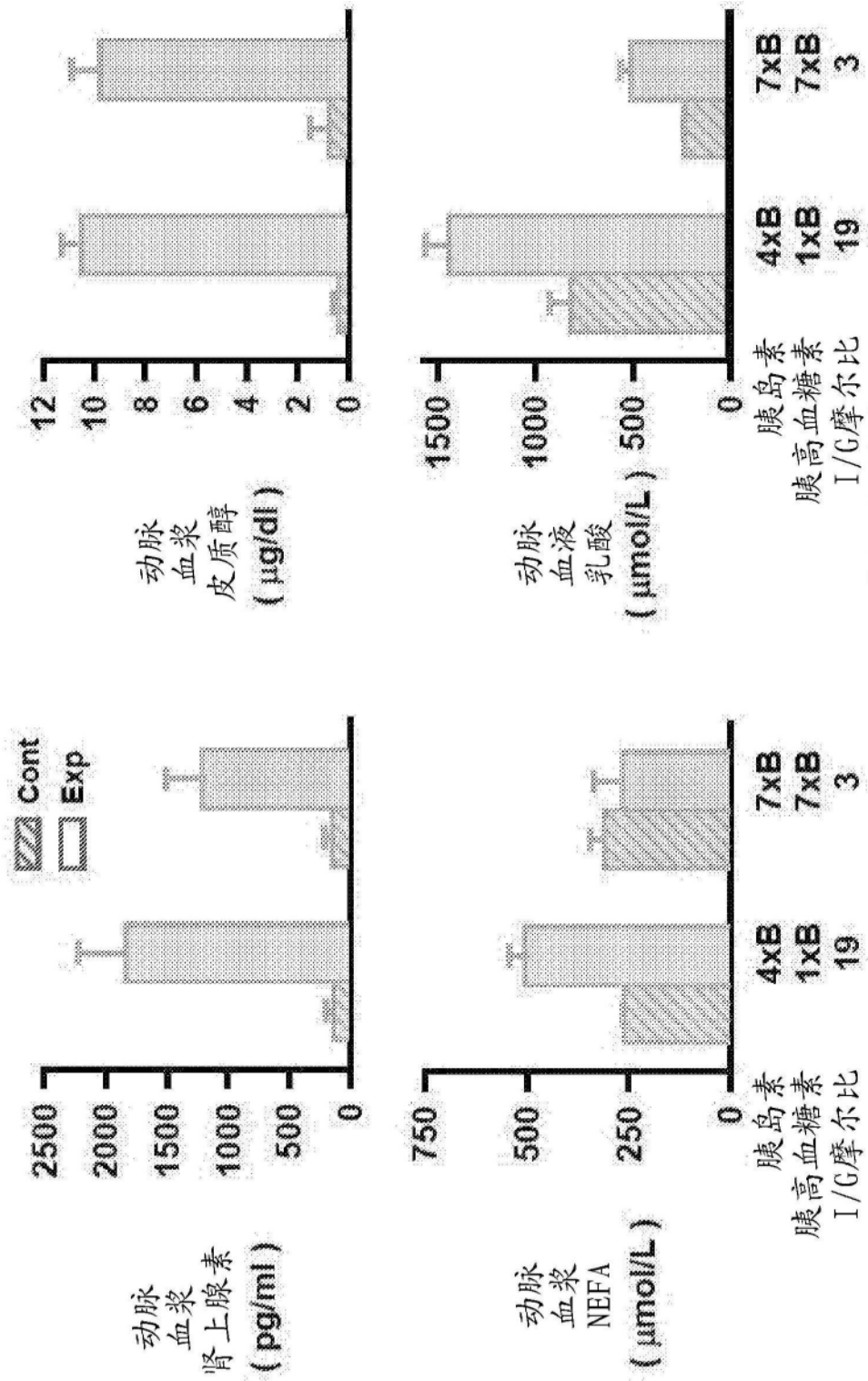


图22

减少胰岛素/胰高血糖素摩尔比防范了
胰胰岛素的低血糖可能性

对象6

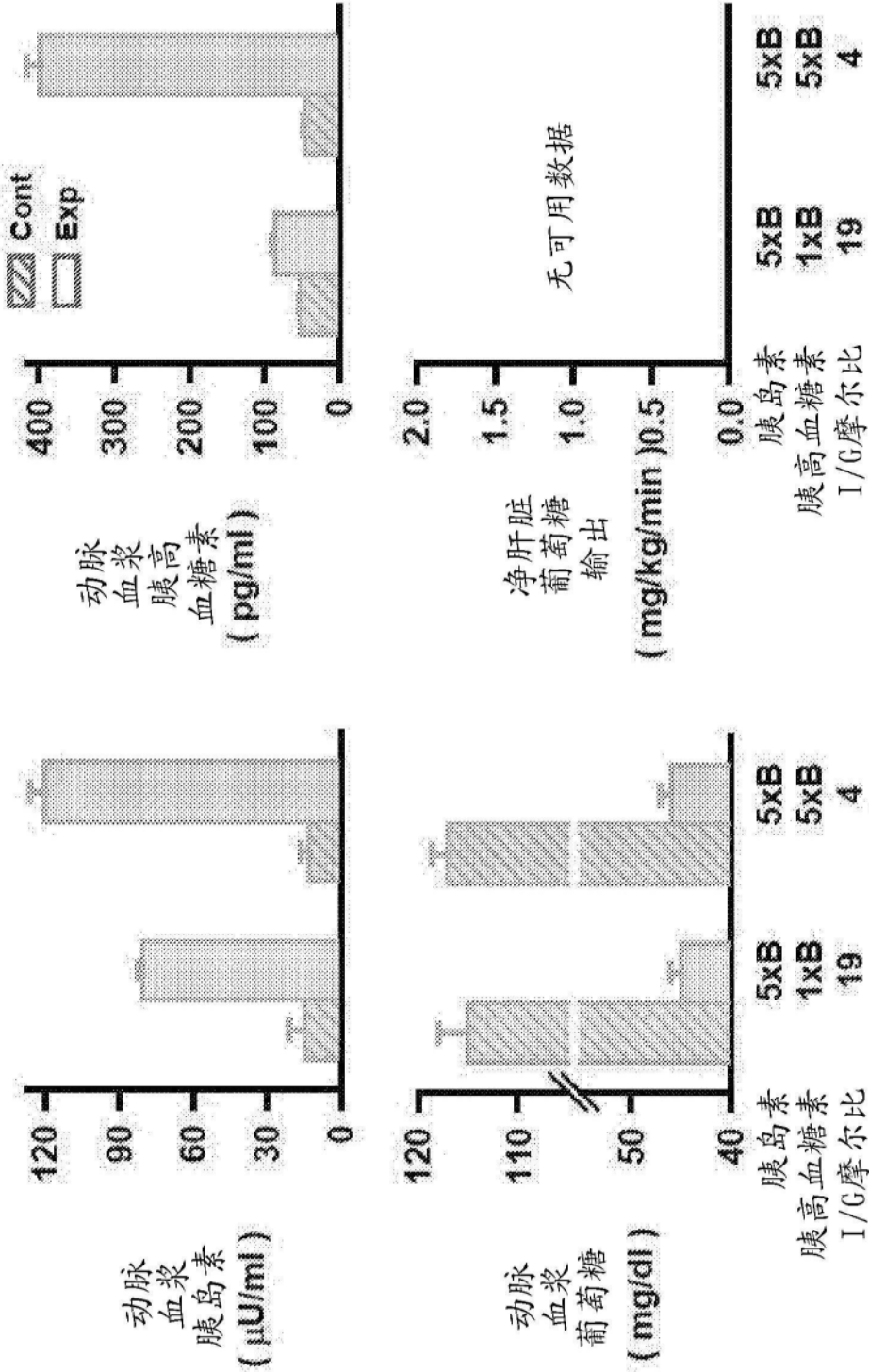


图23

减少胰岛素/胰高血糖素摩尔比减少了
对交感神经系统对低血糖的响应的需求

对象6

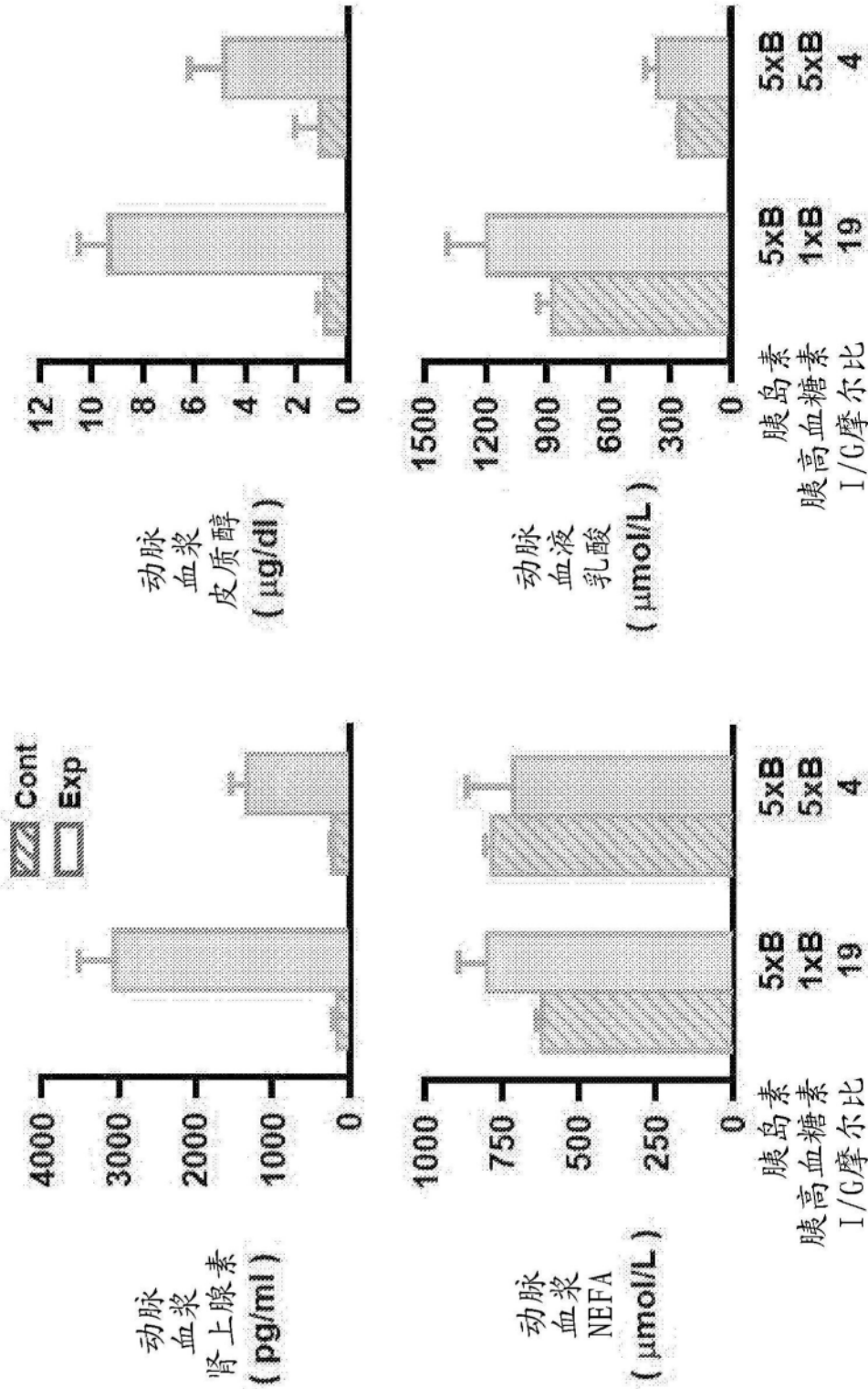


图24

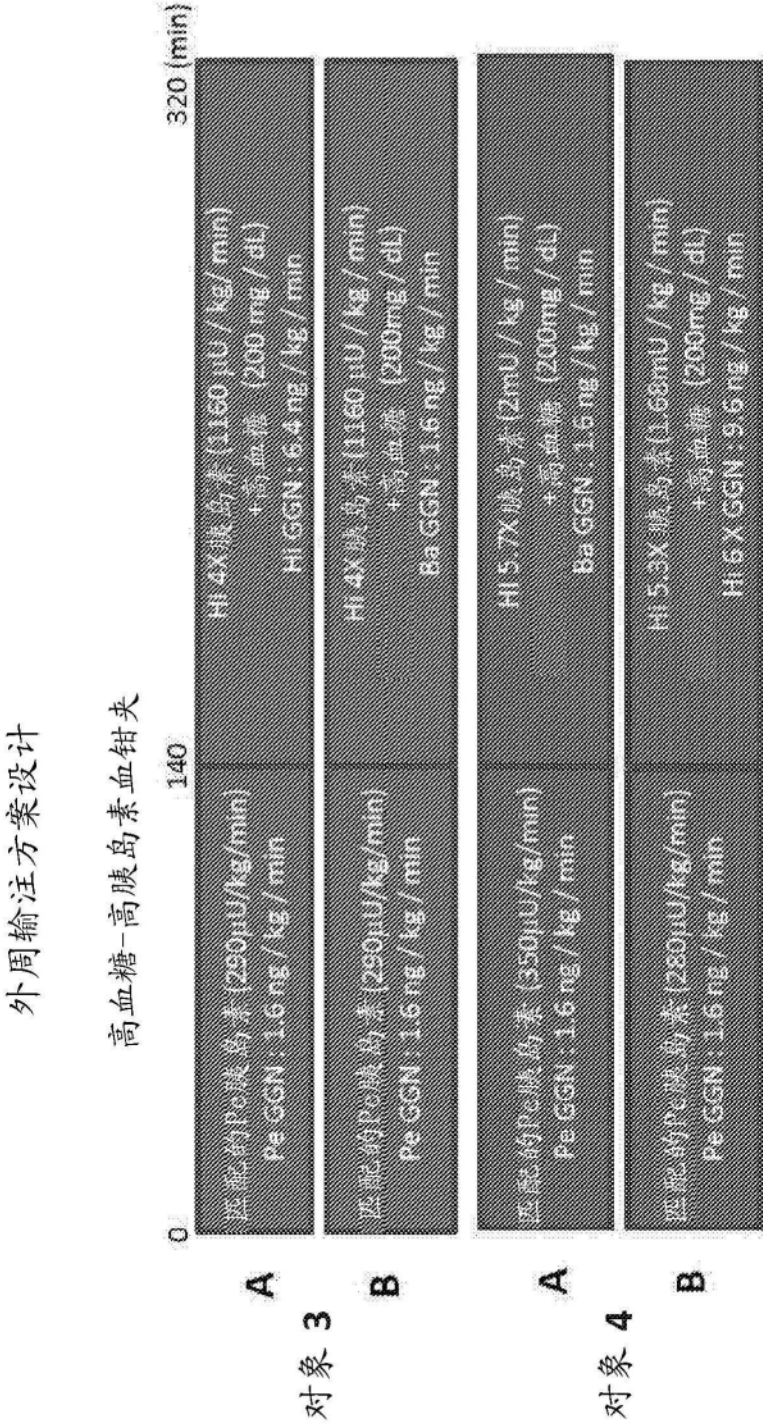


图25

降低胰岛素/胰高血糖素摩尔比不损害
高血糖驱动下的肝脏葡萄糖摄取

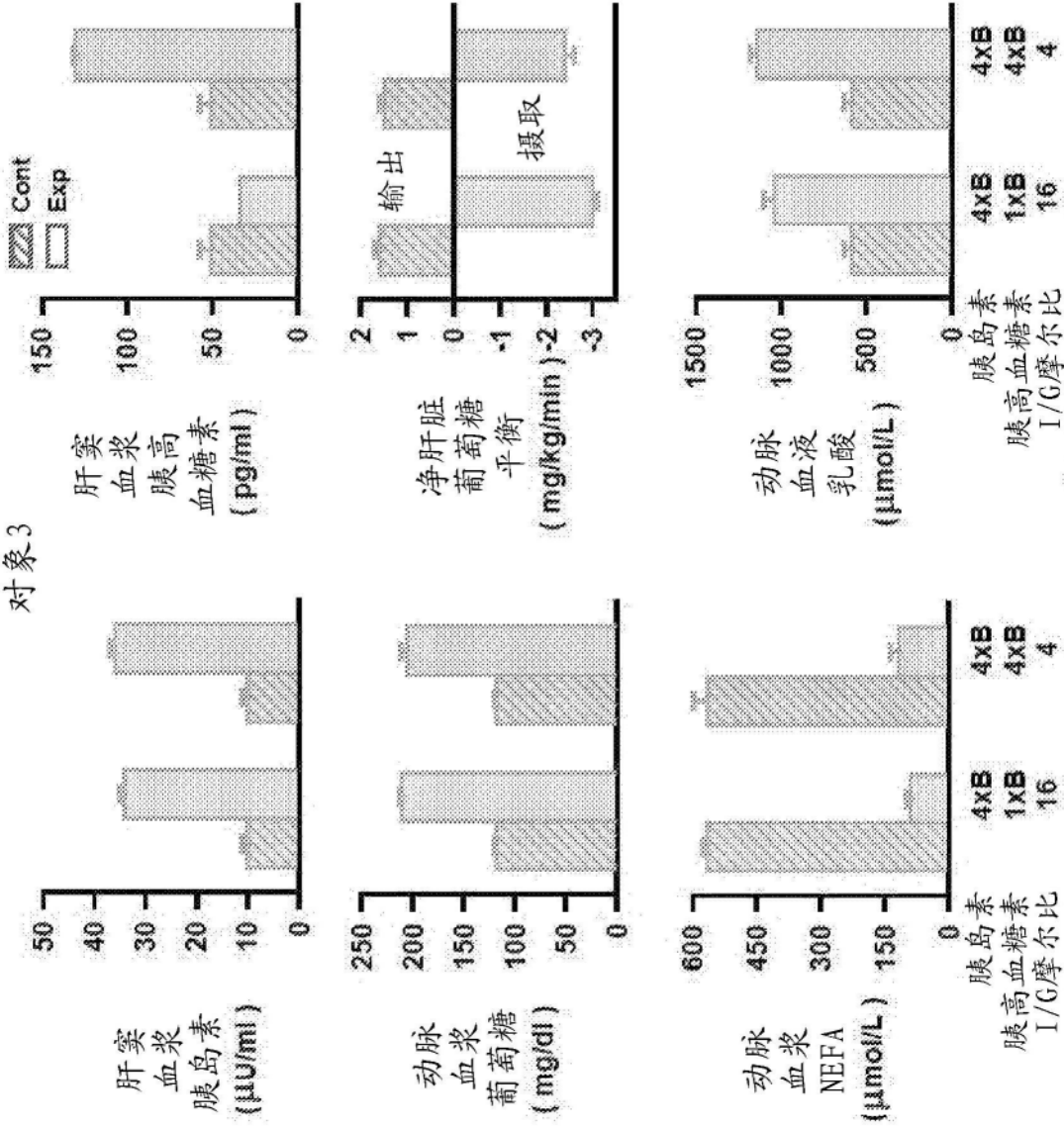


图26

降低胰岛素/胰高血糖素摩尔比不损害
高血糖驱动的肝脏葡萄糖摄取

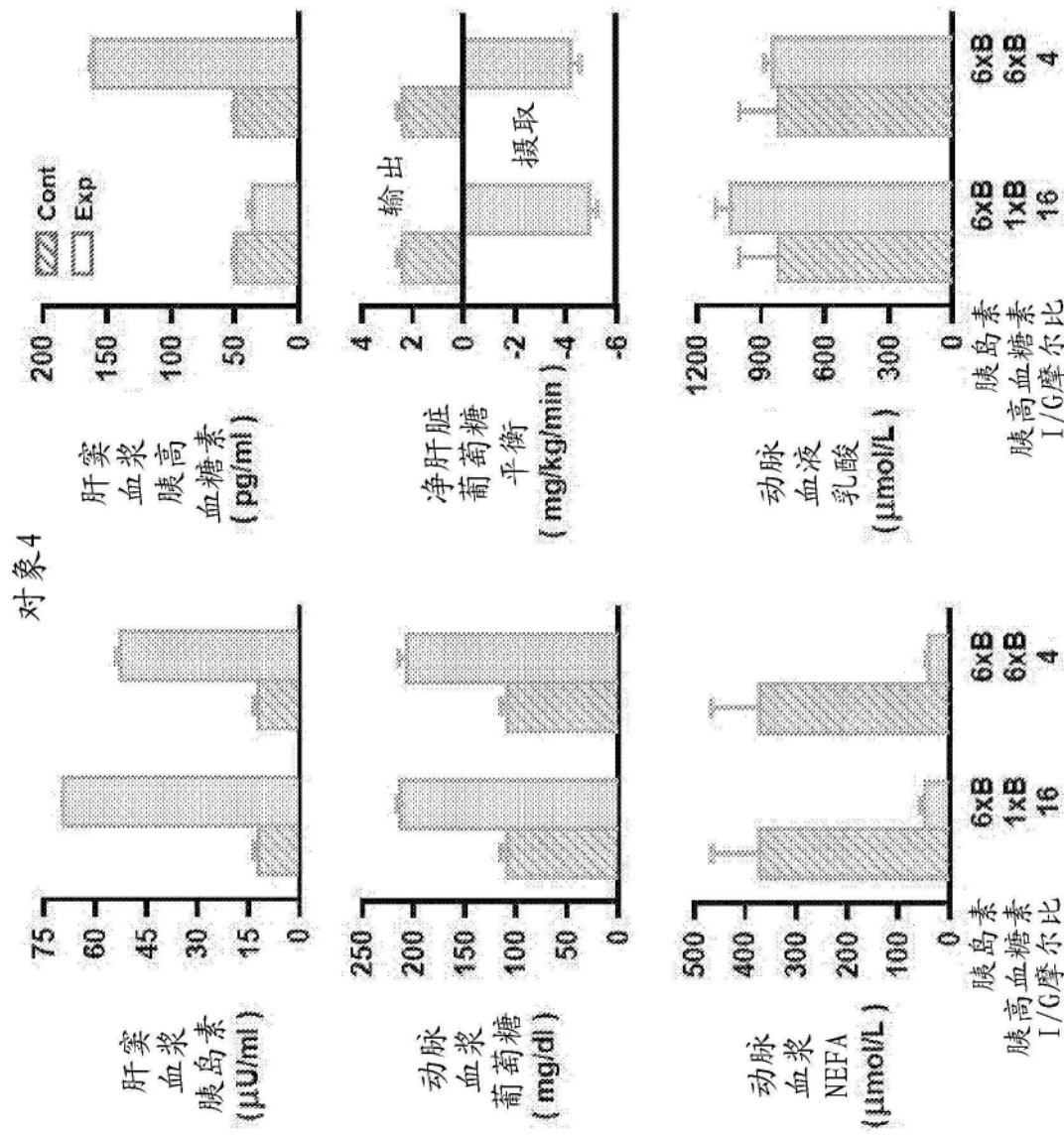


图27

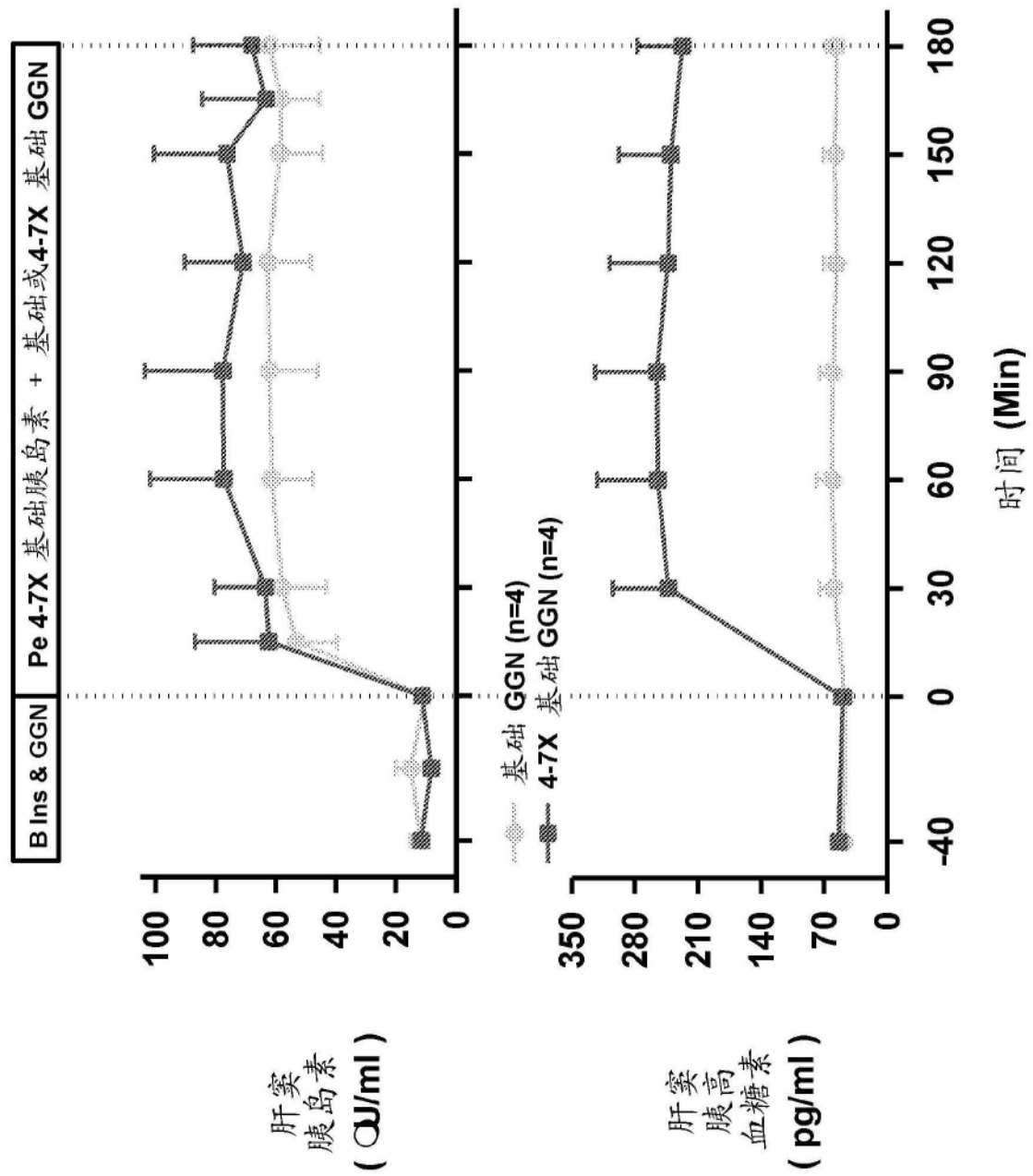


图28

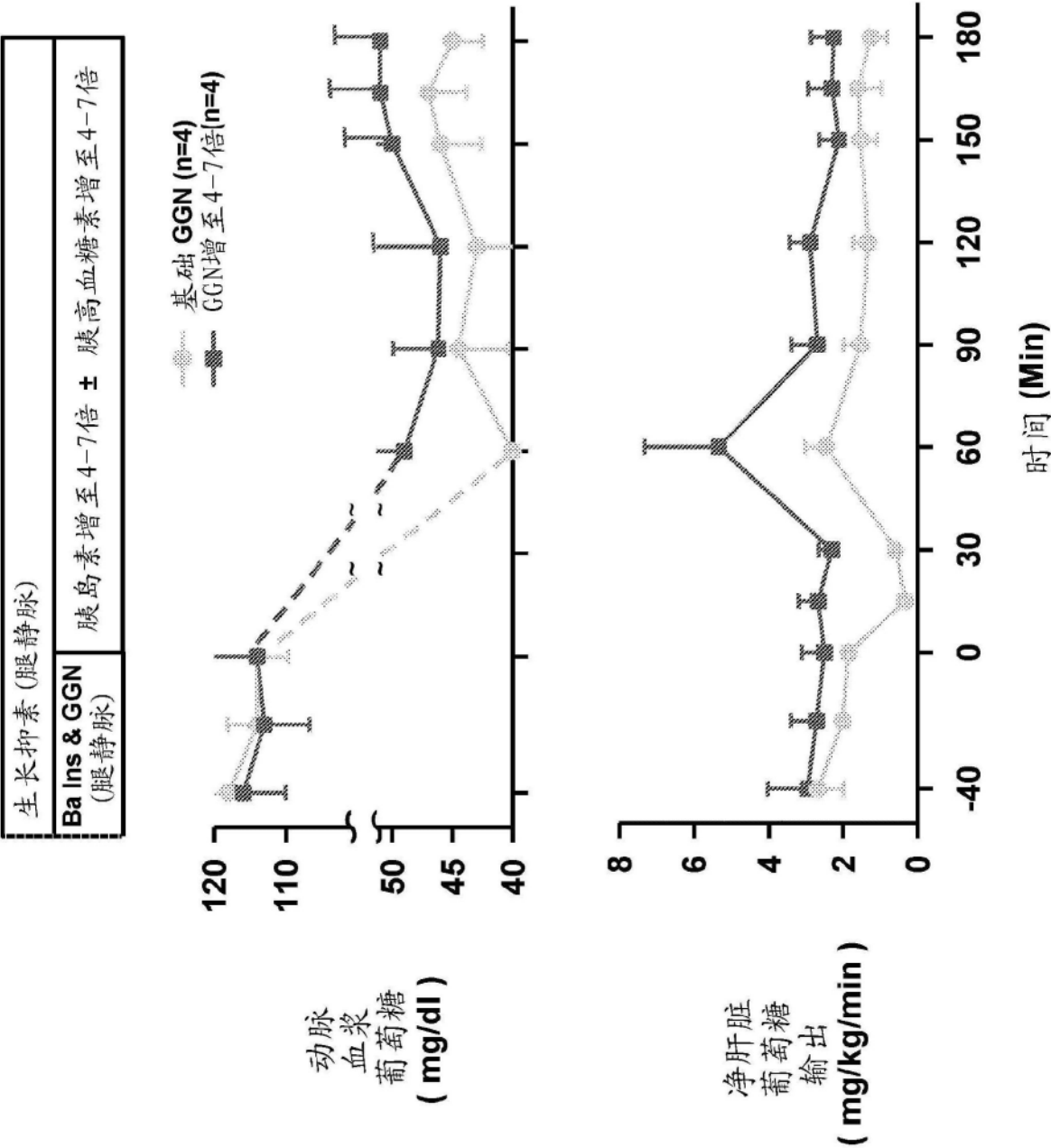


图29

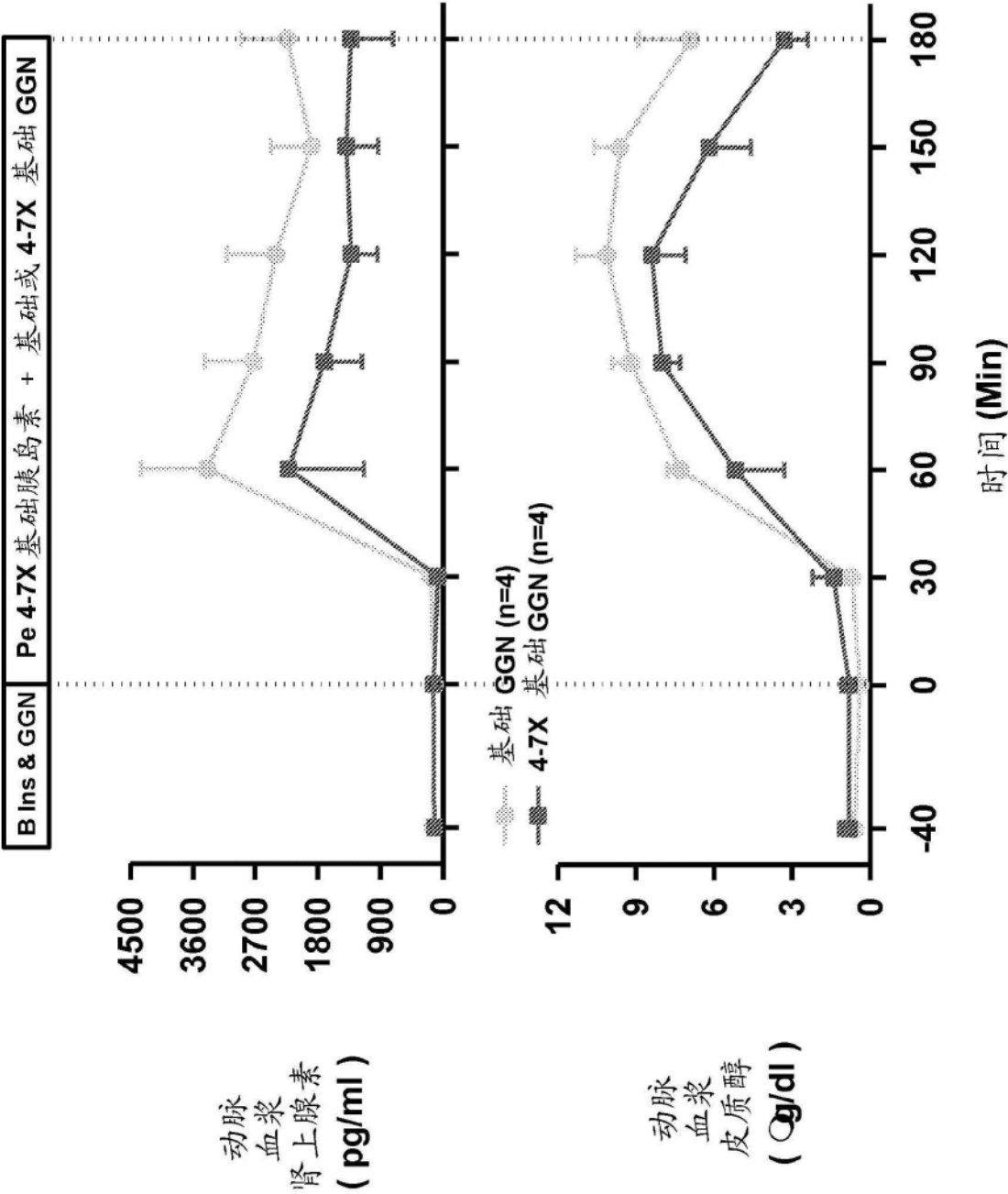


图30

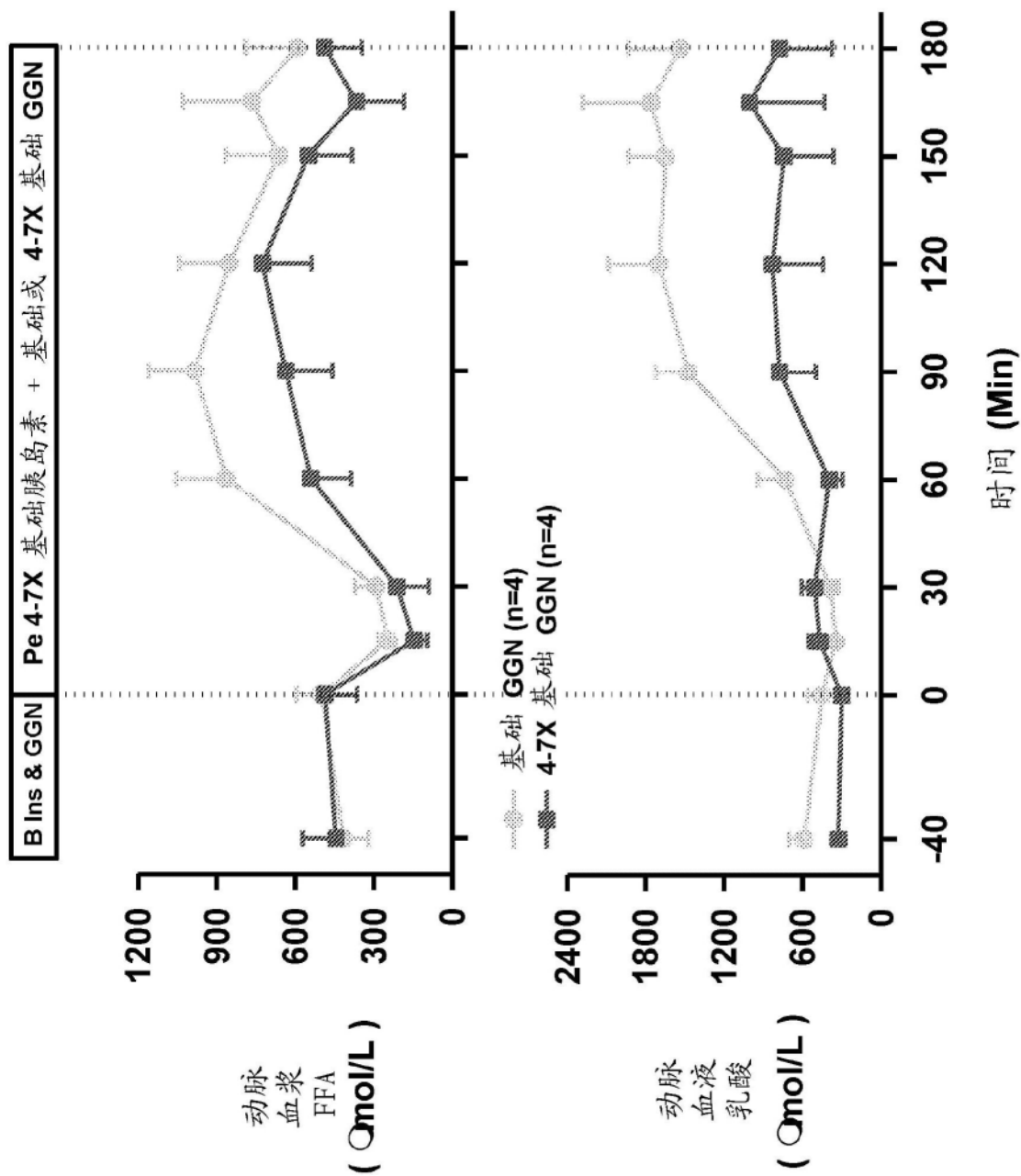


图31

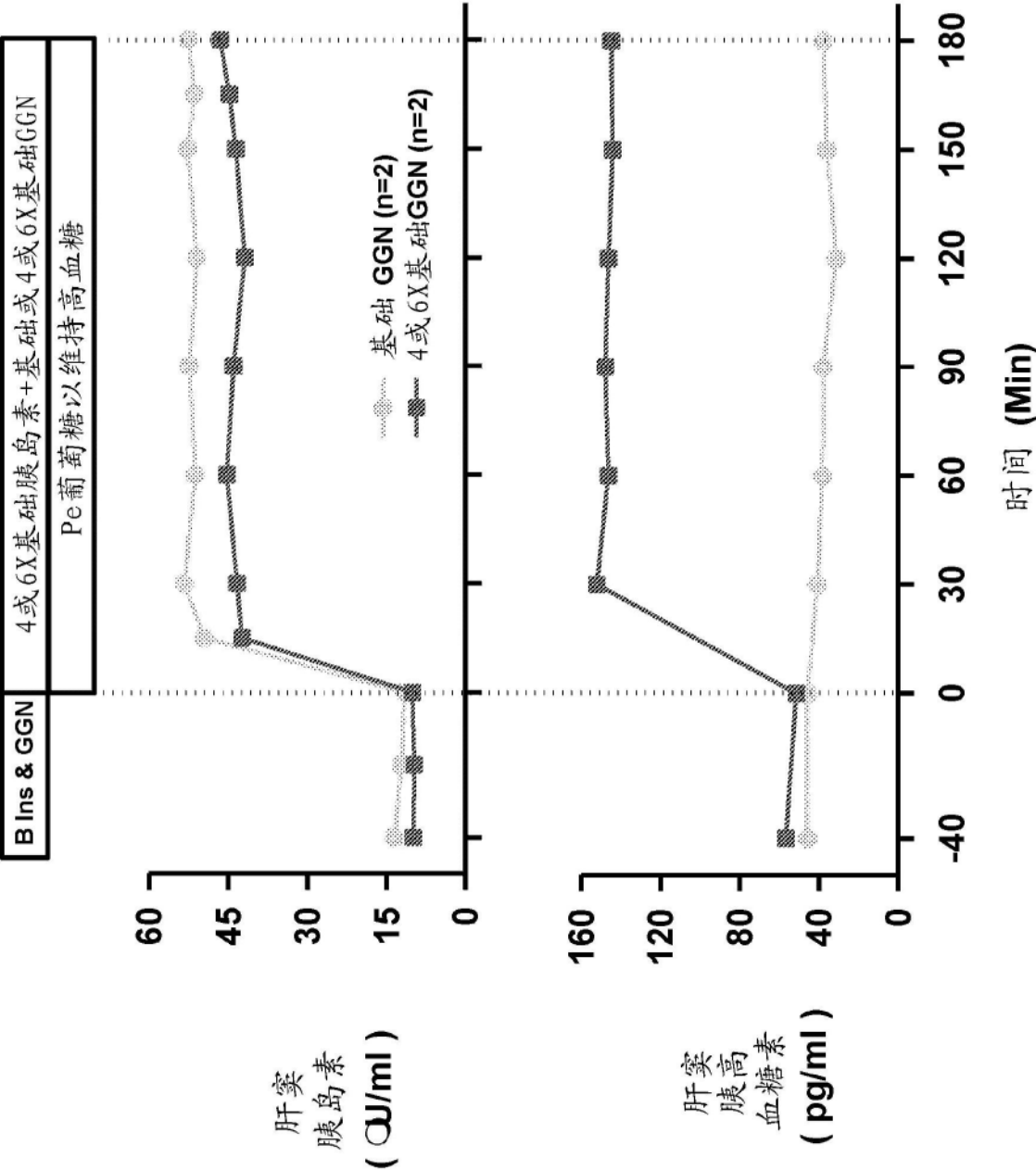


图32

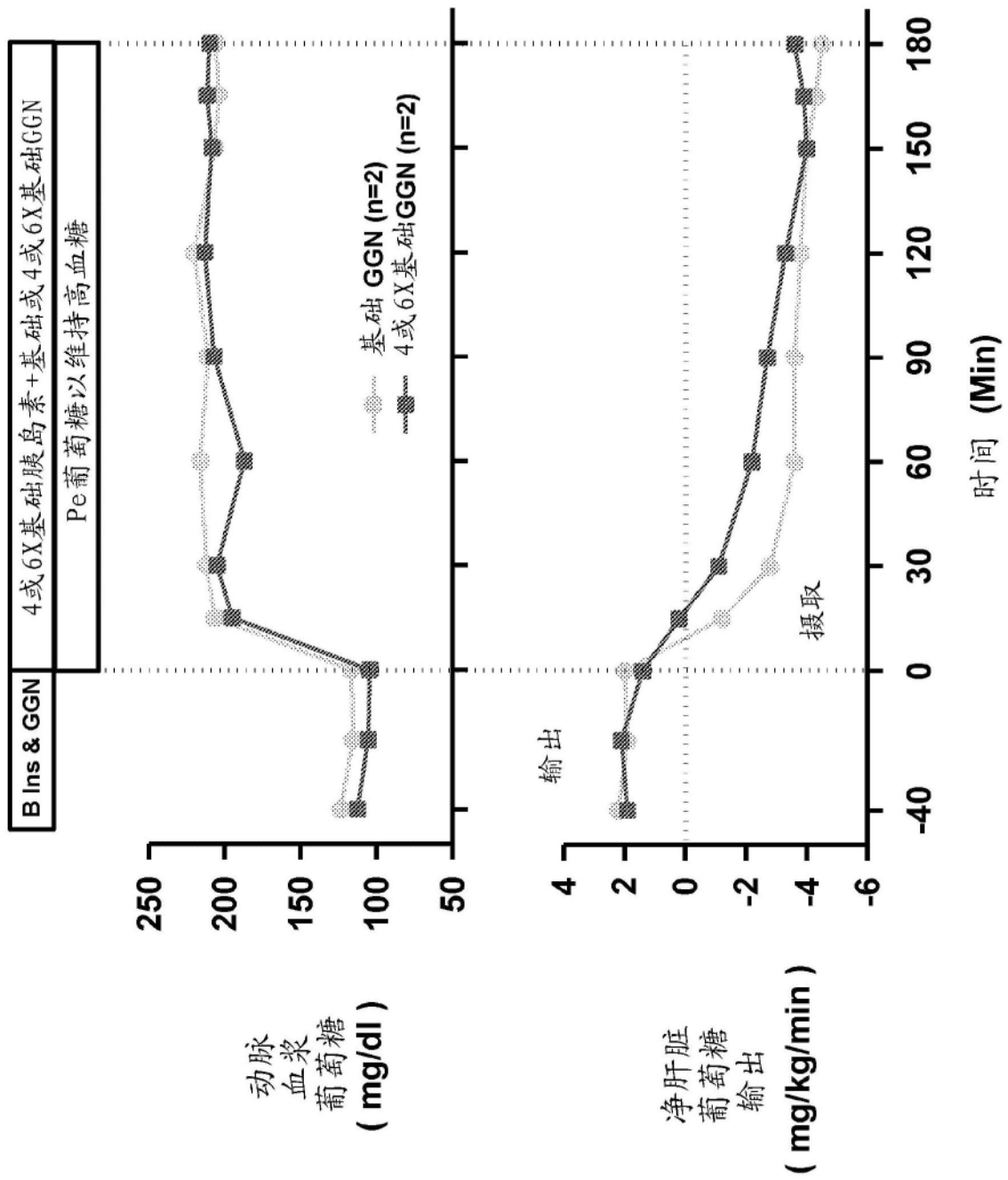


图33

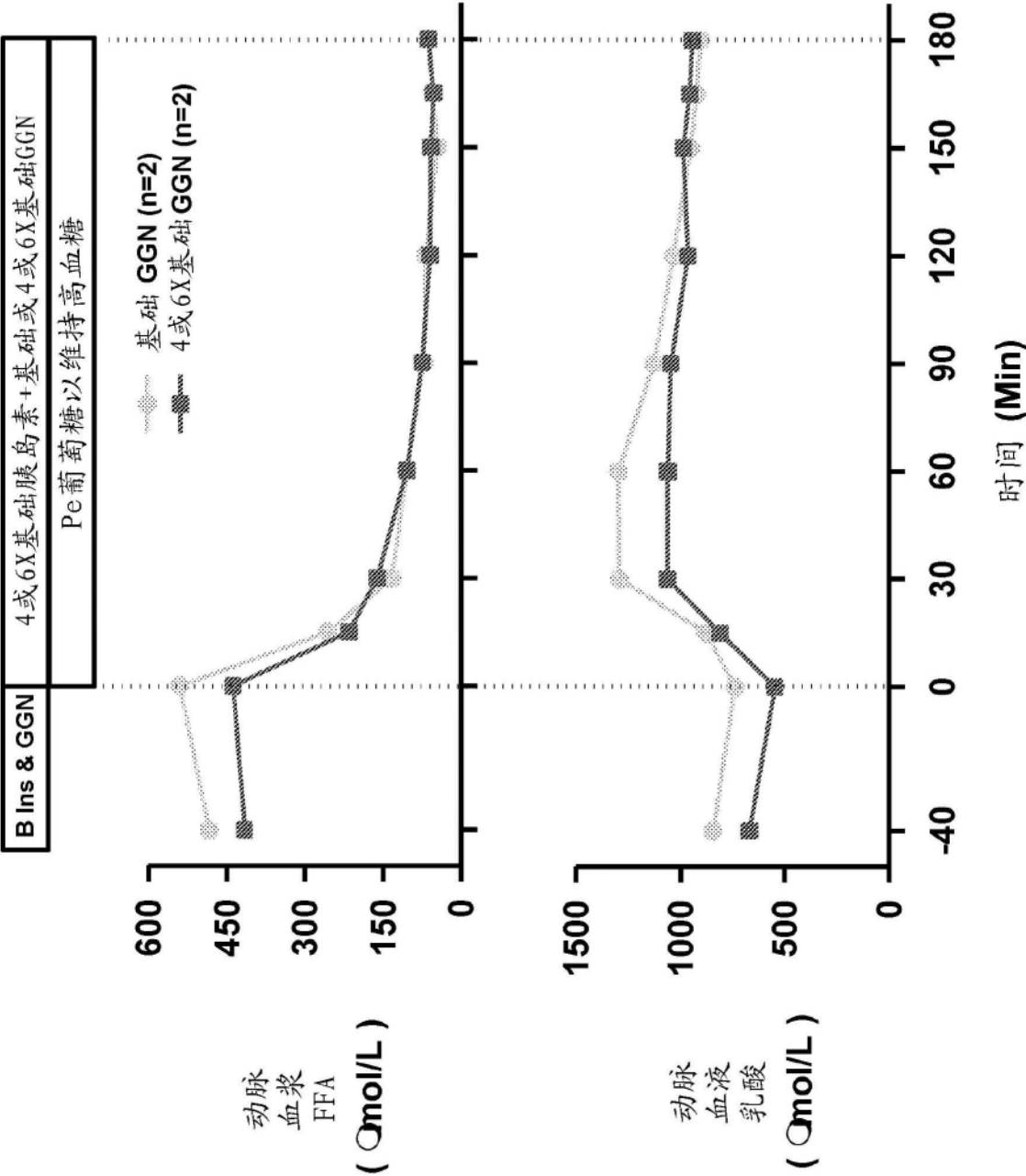


图34

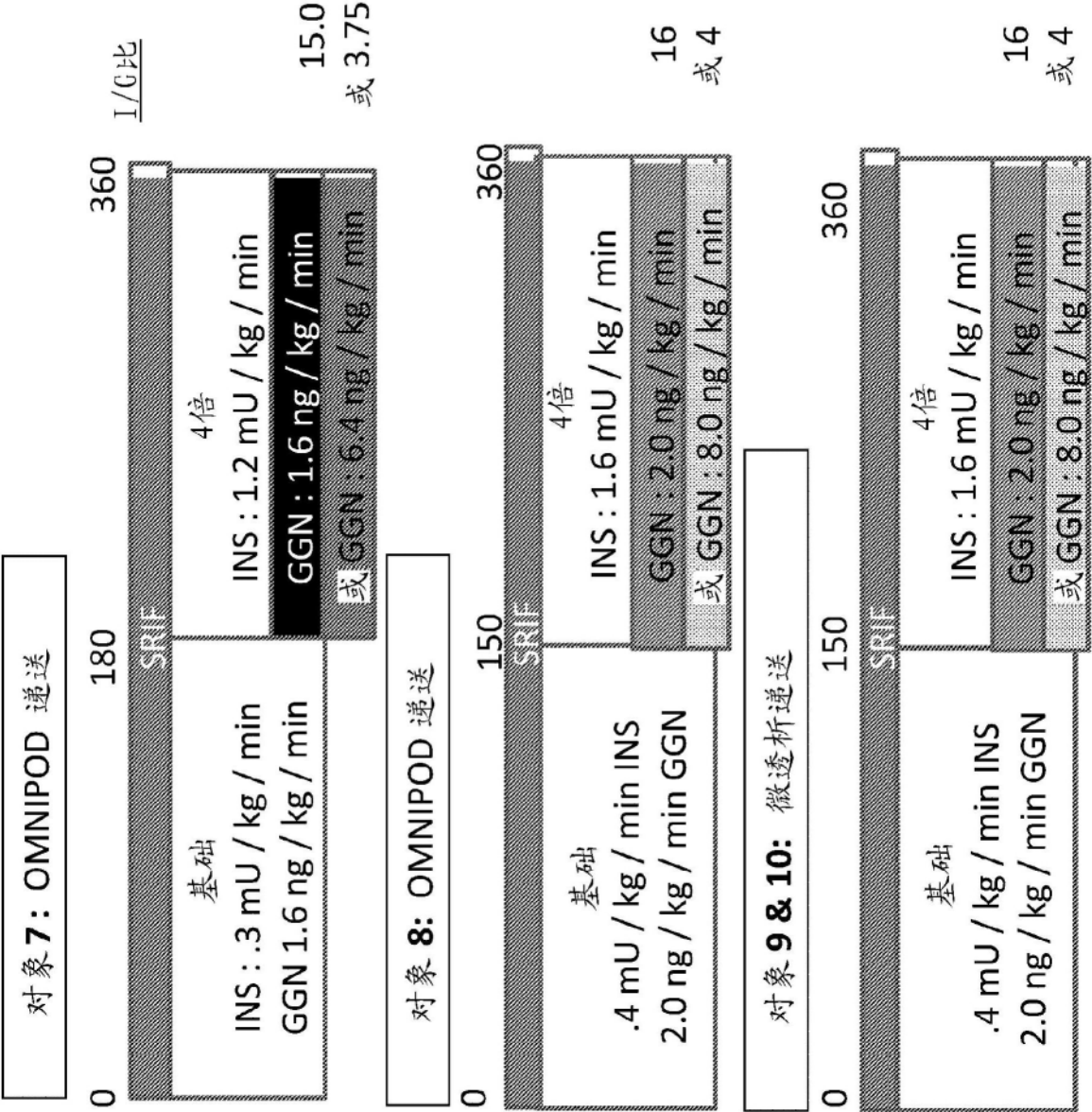


图35

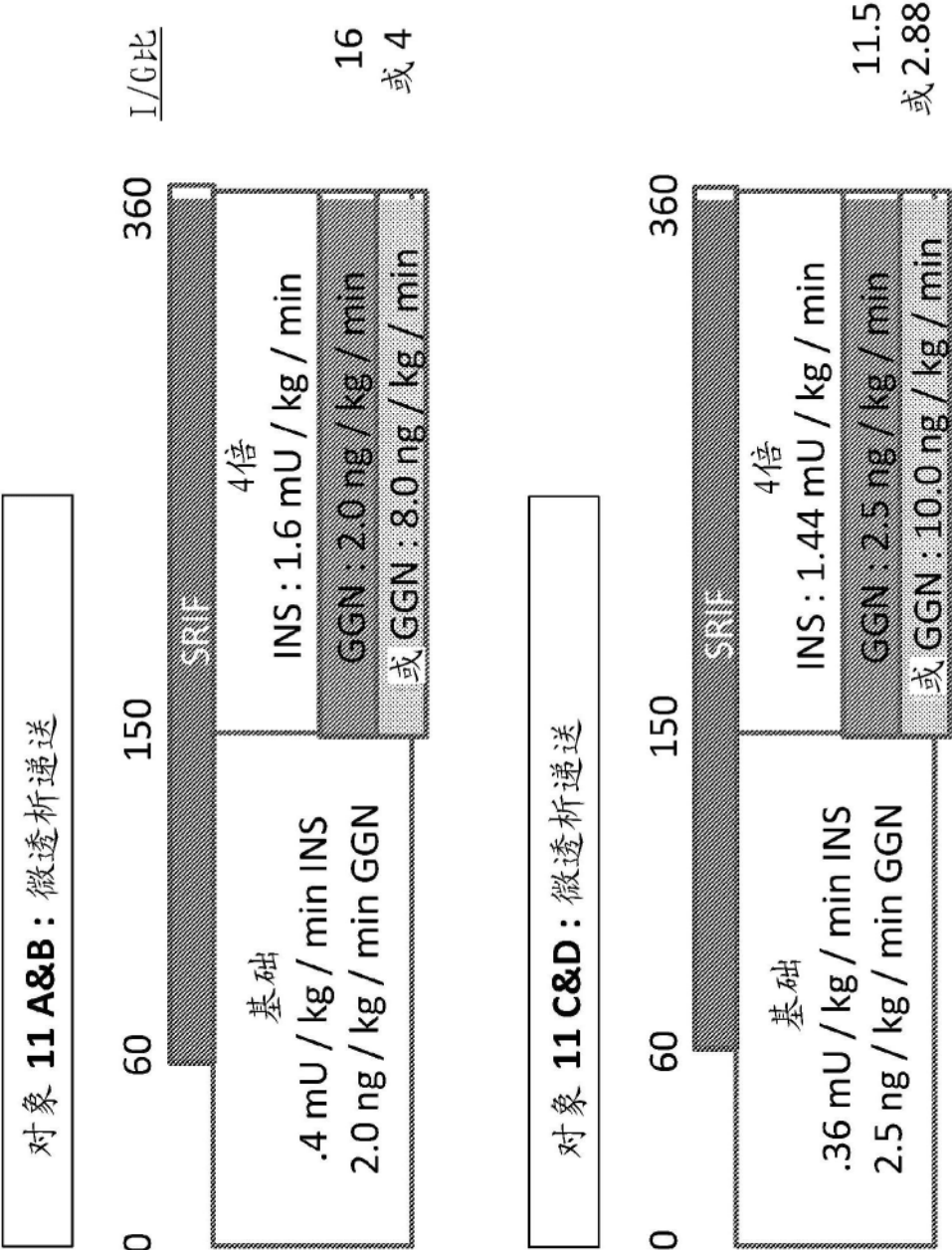


图36

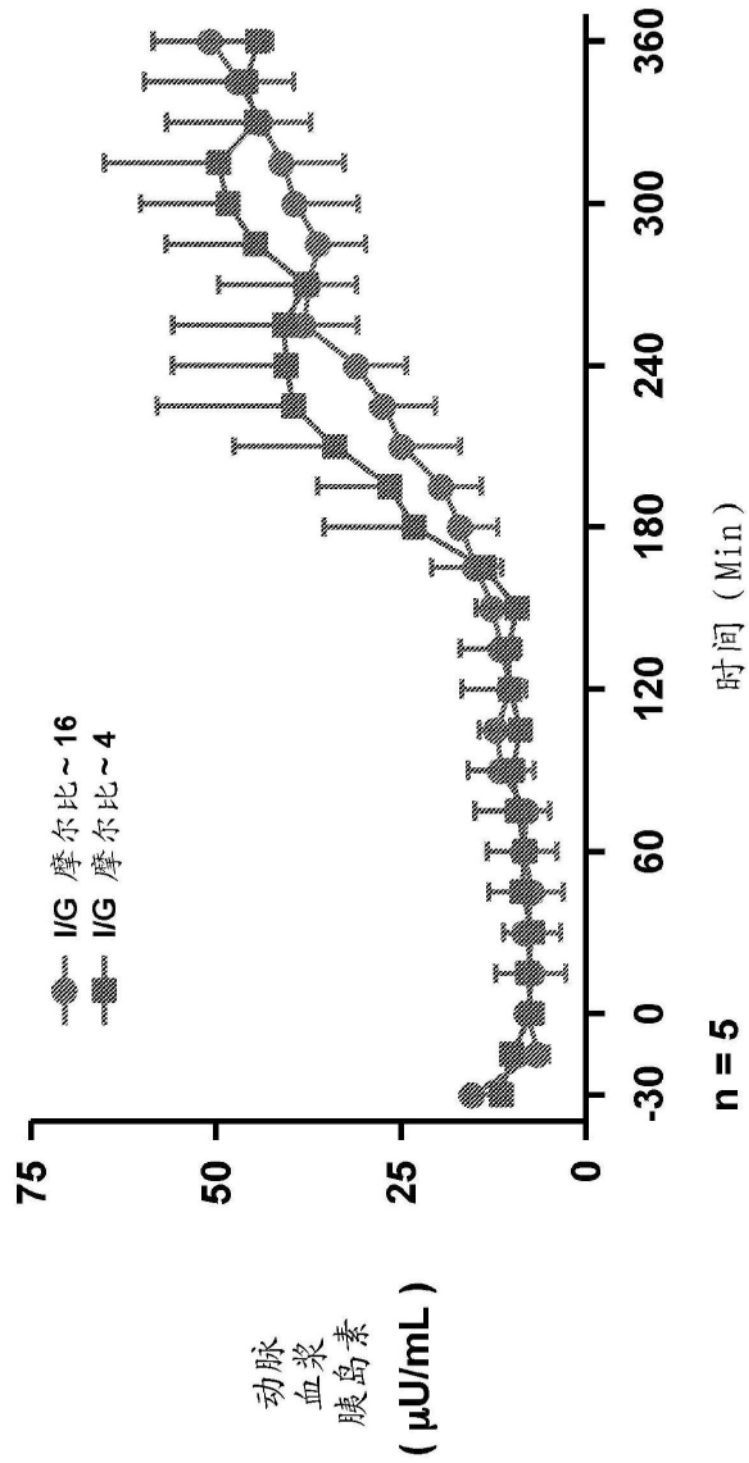


图37

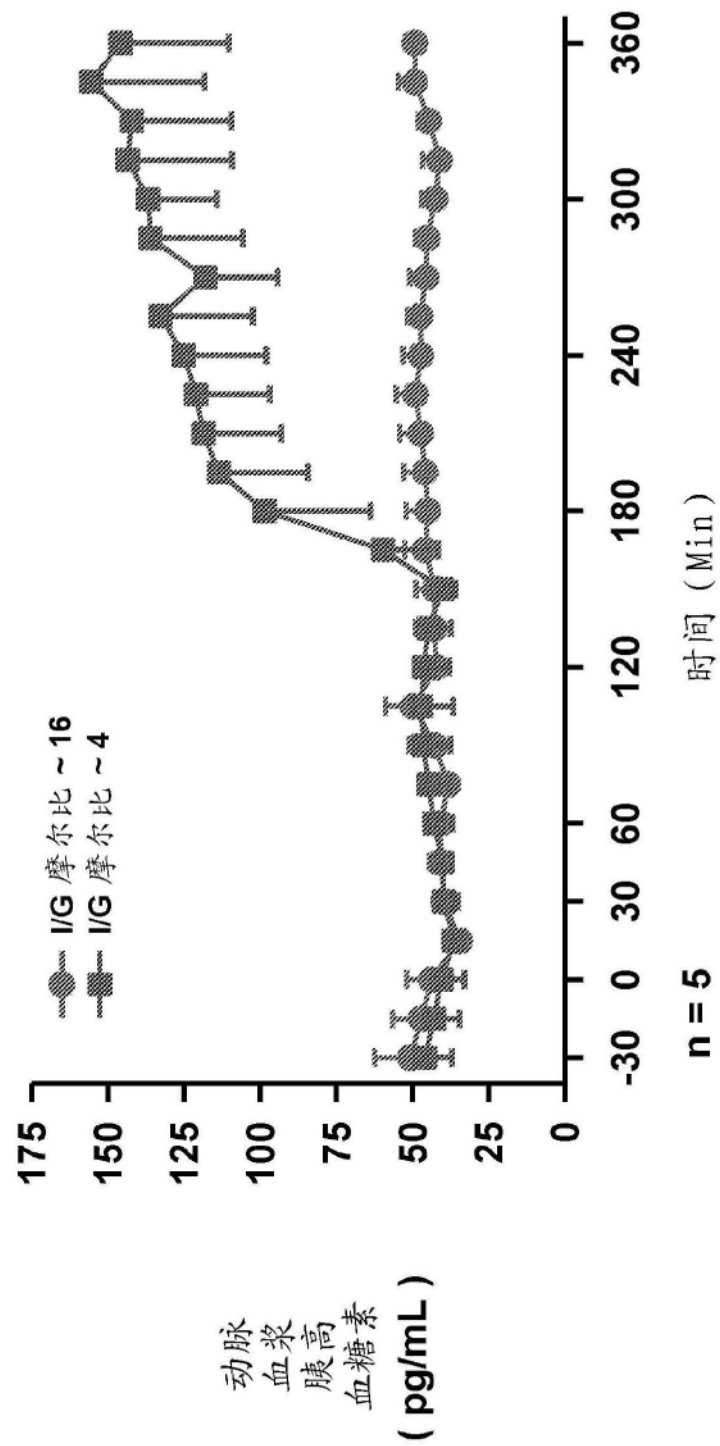


图38

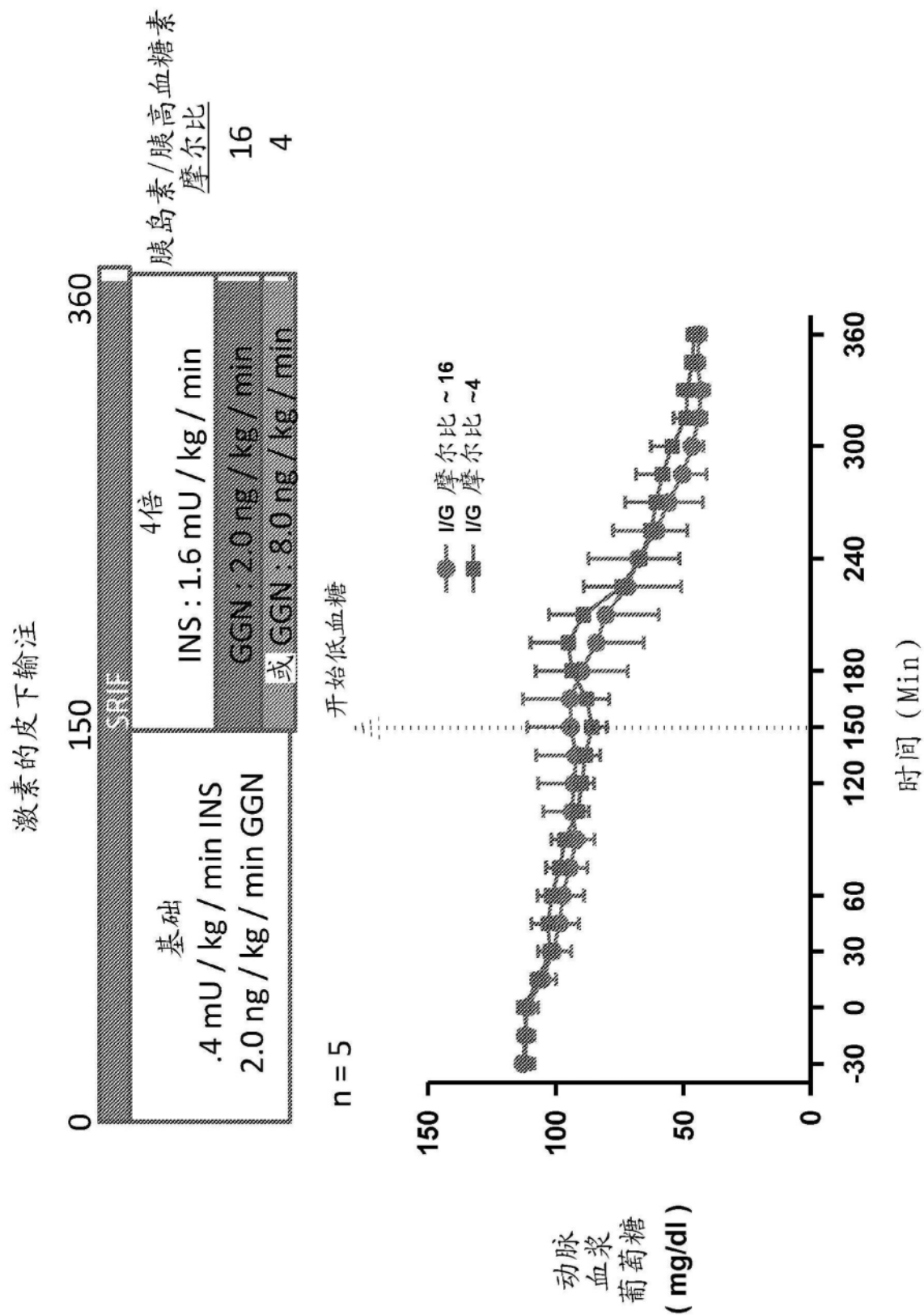


图39

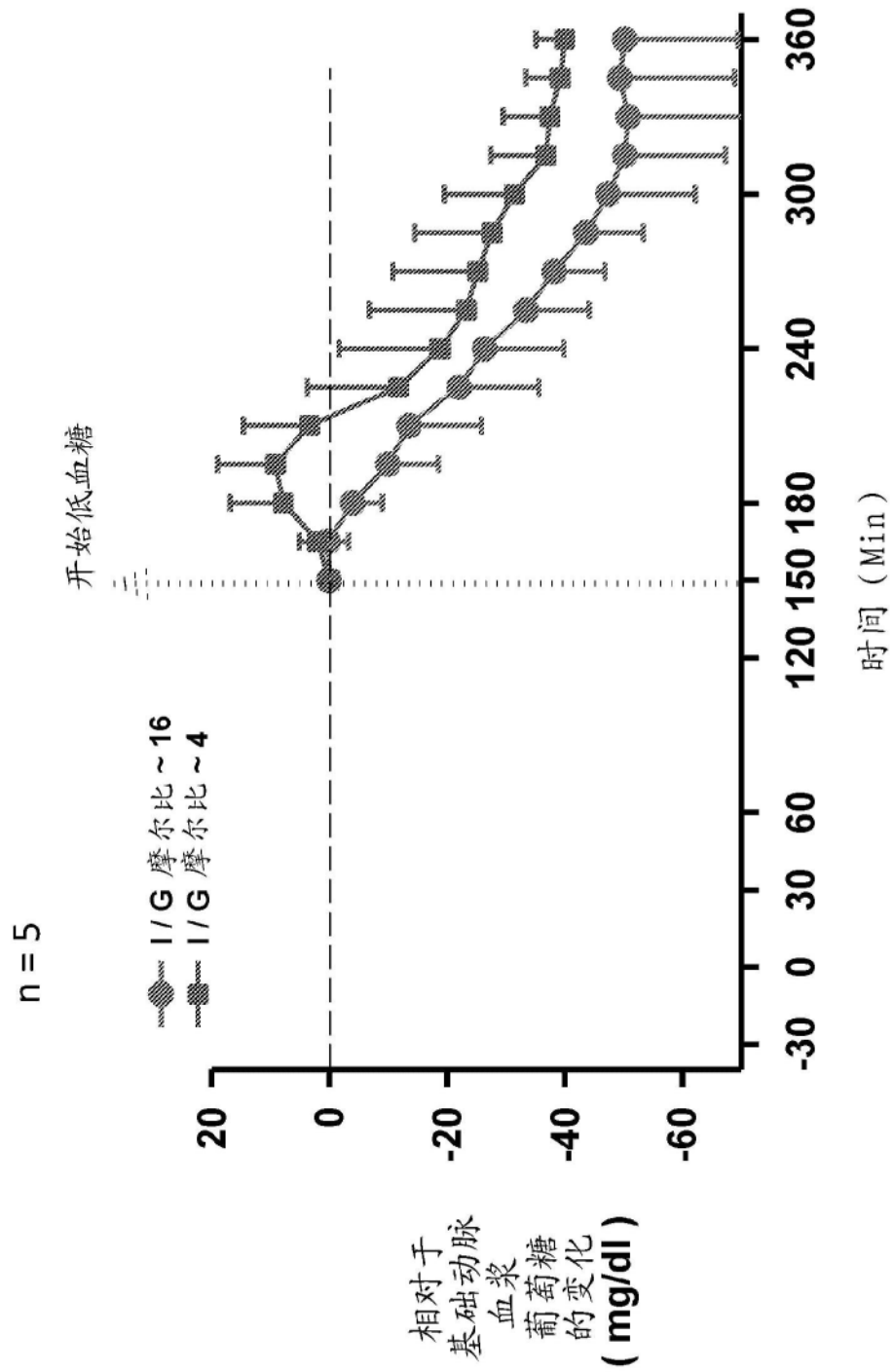


图40

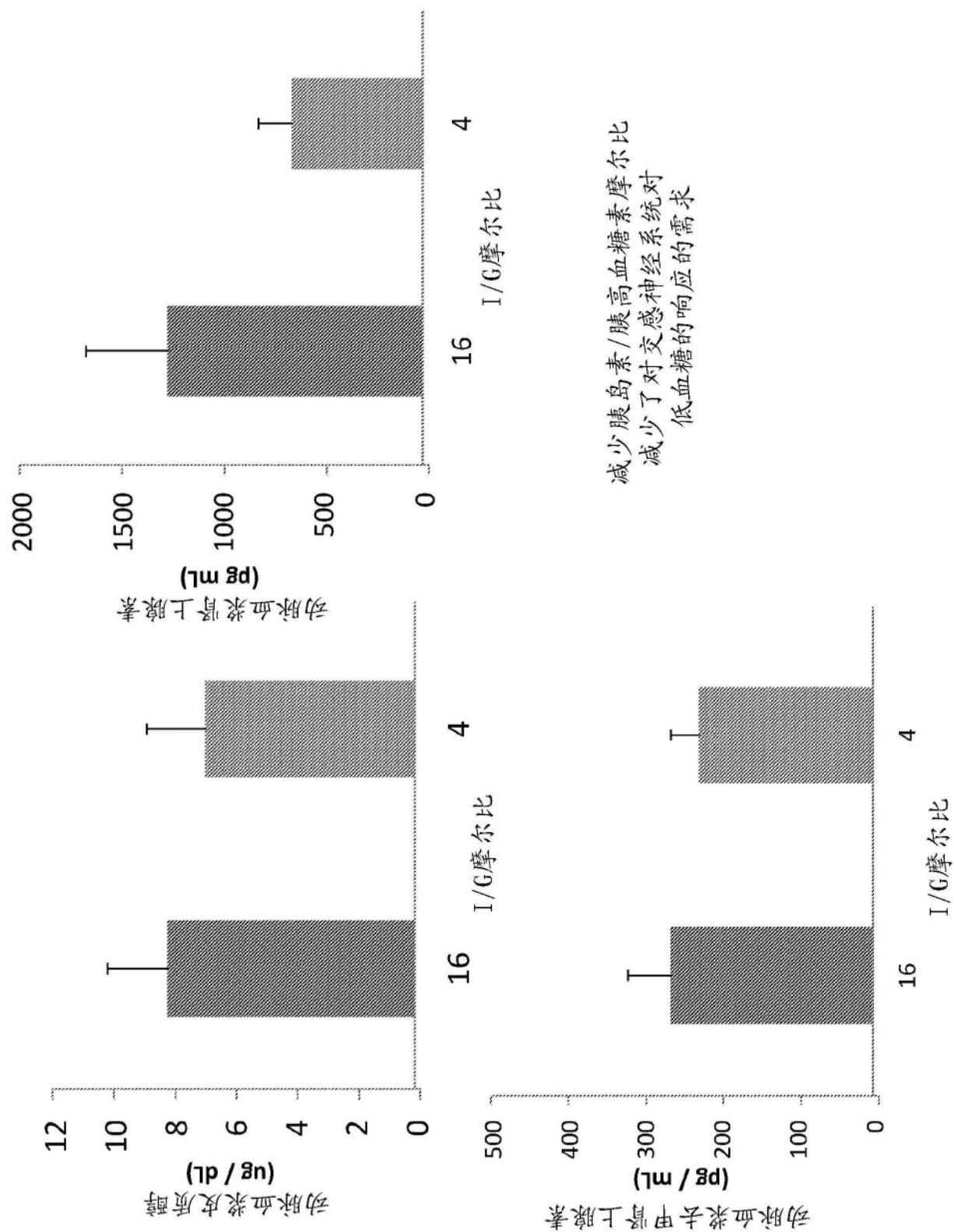


图41

高血糖-高胰岛素血症

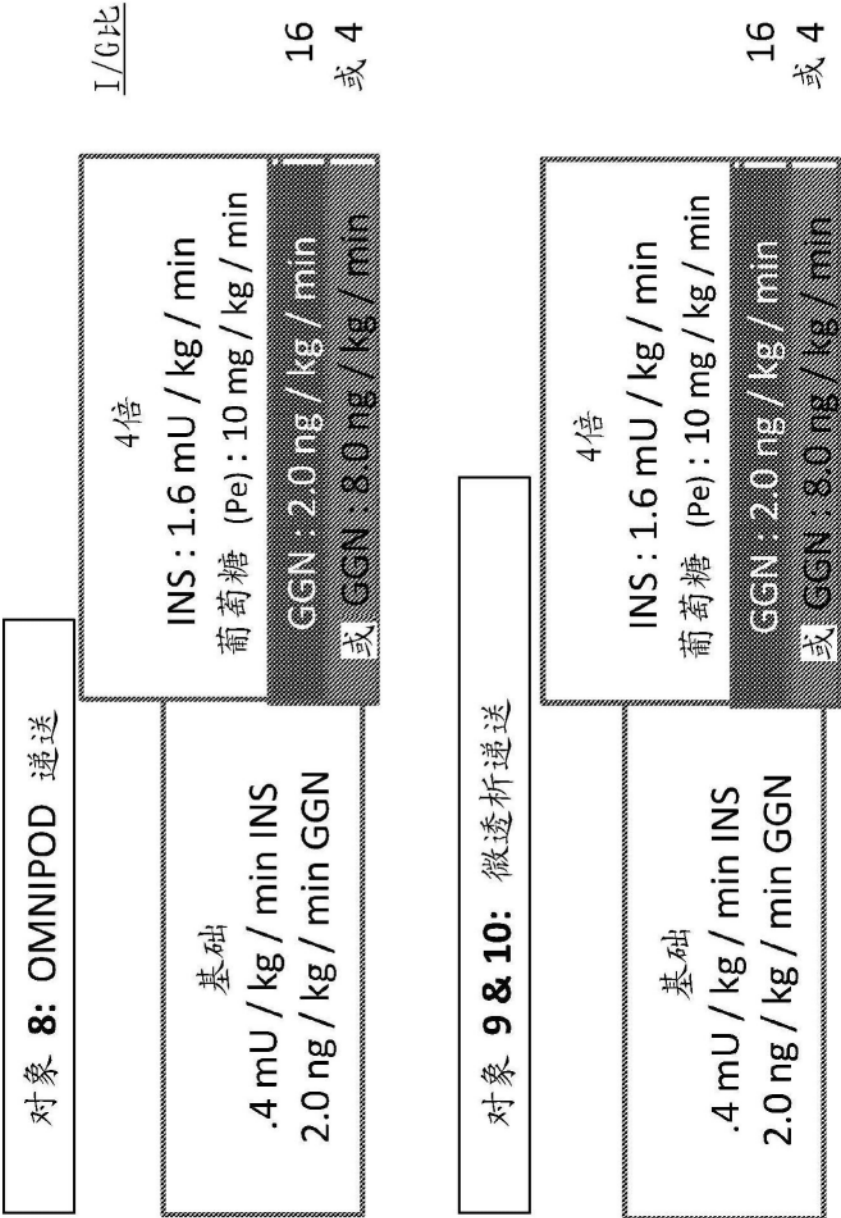


图42

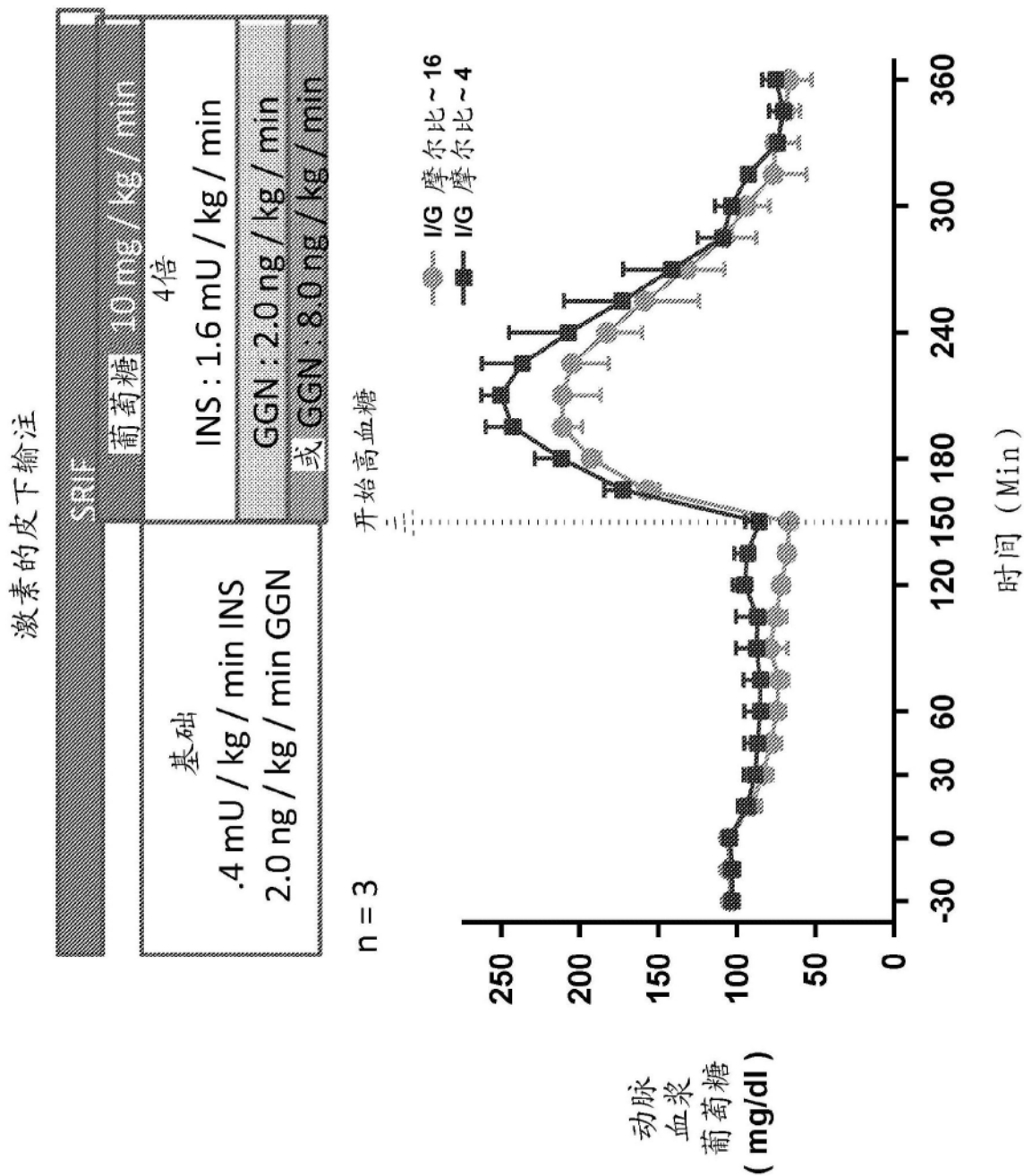


图43

降低胰岛素/胰高血糖素摩尔比不影响
高血糖期间的葡萄糖清除率

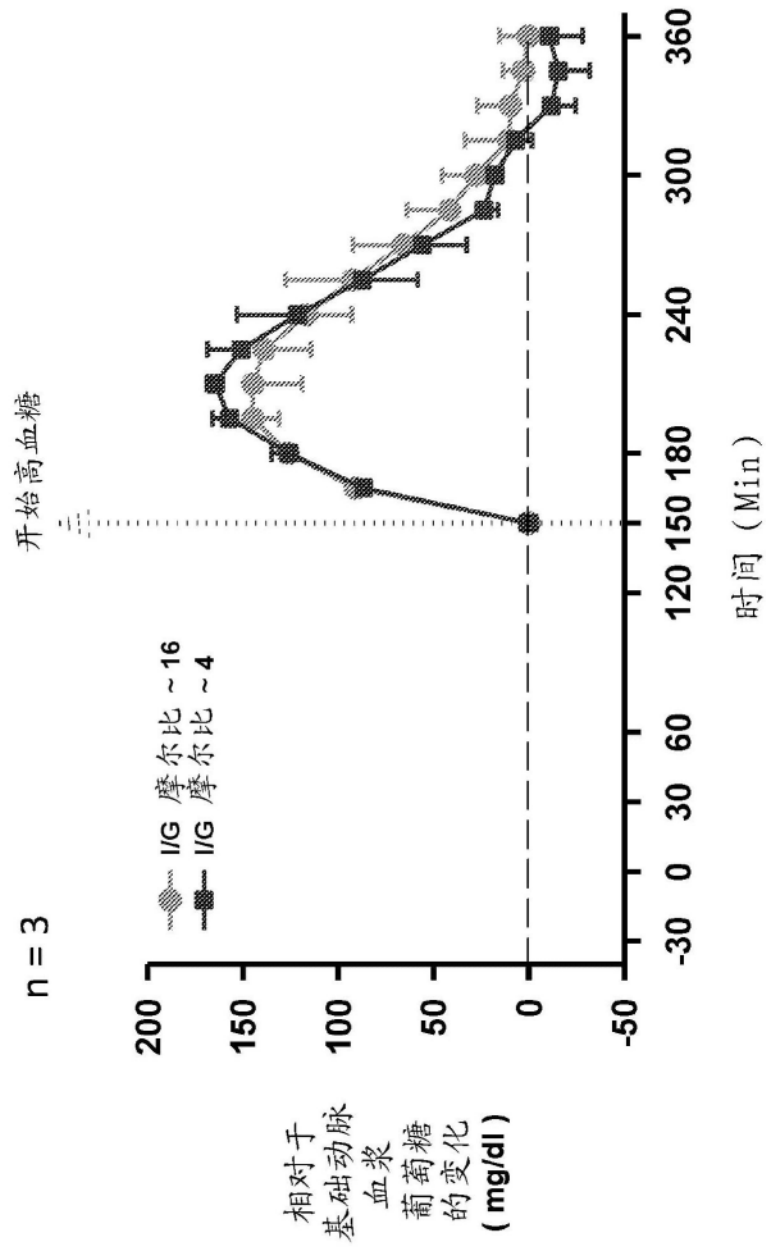


图44

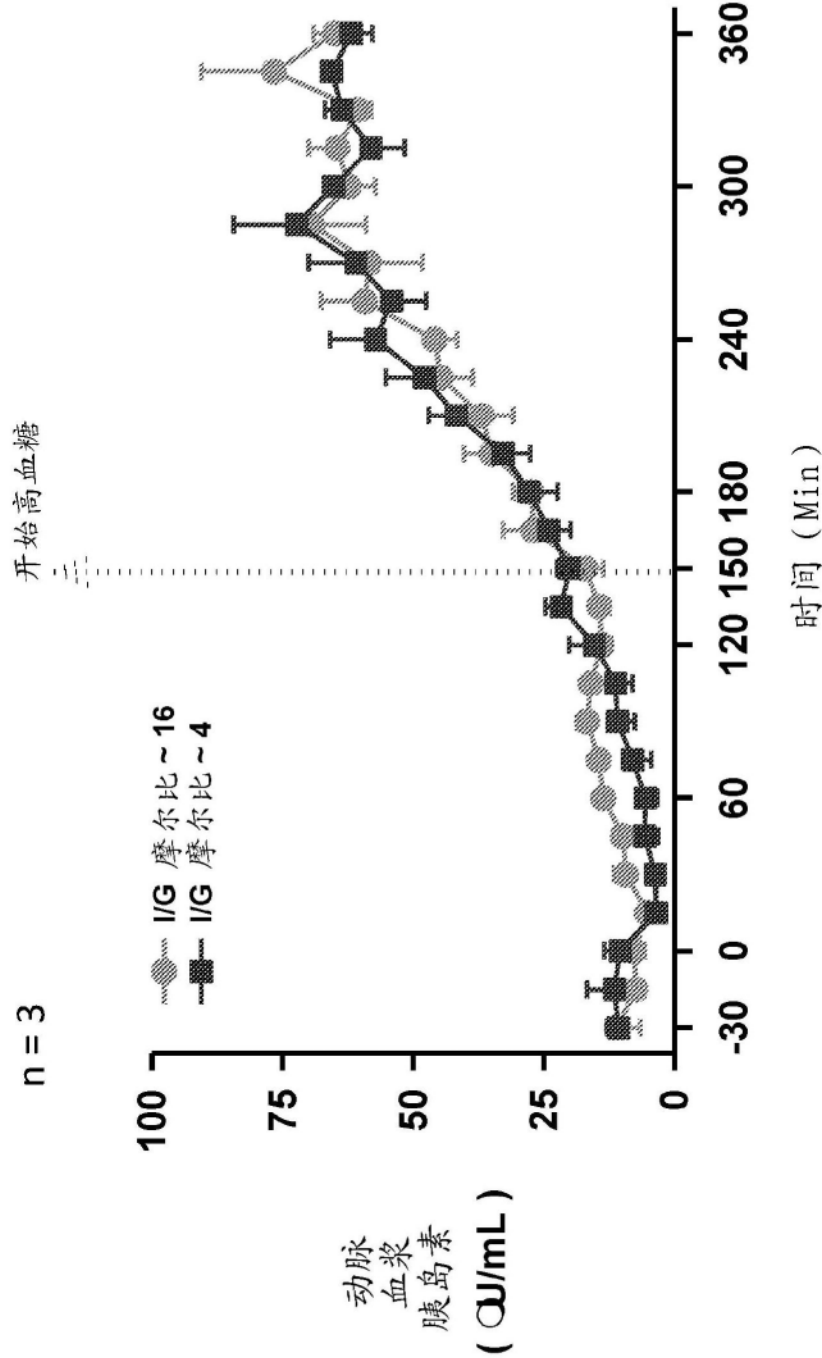


图45

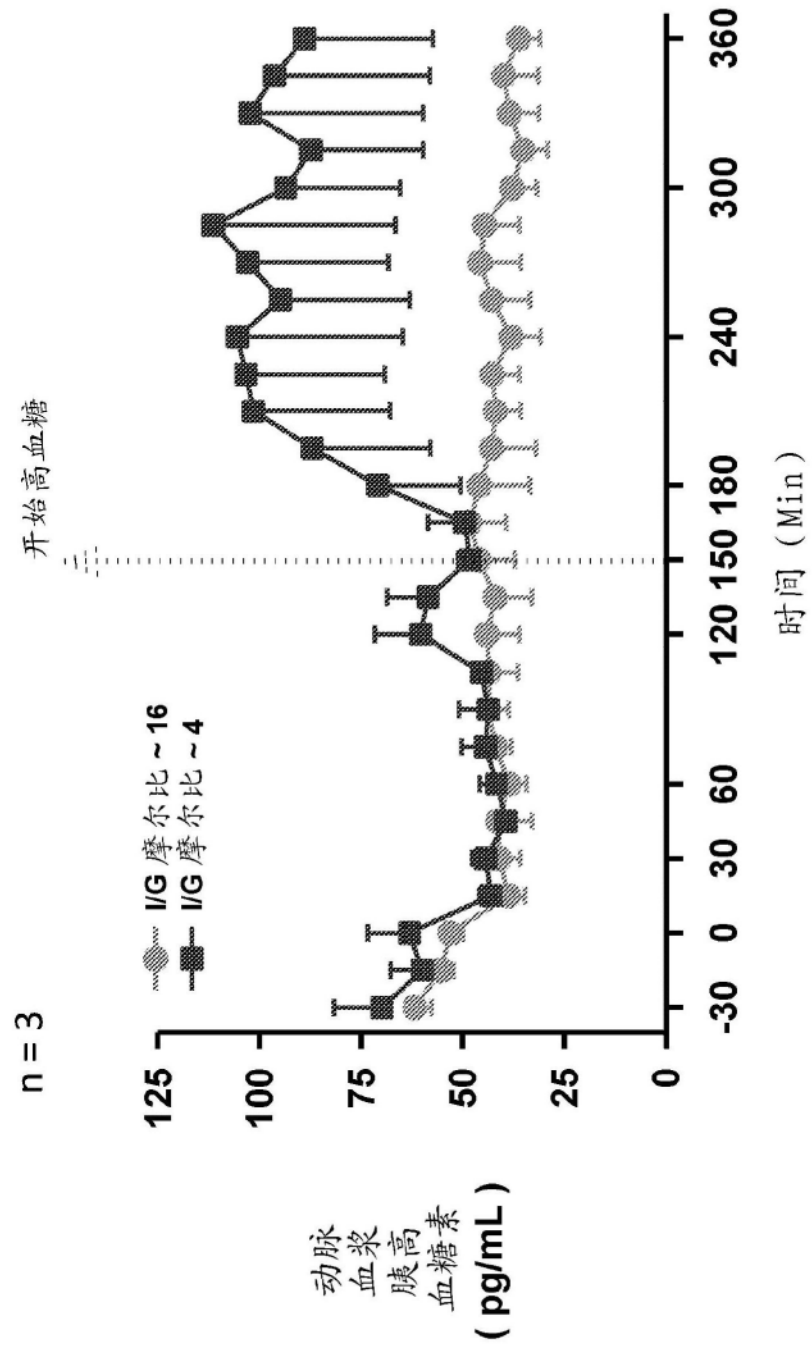


图46

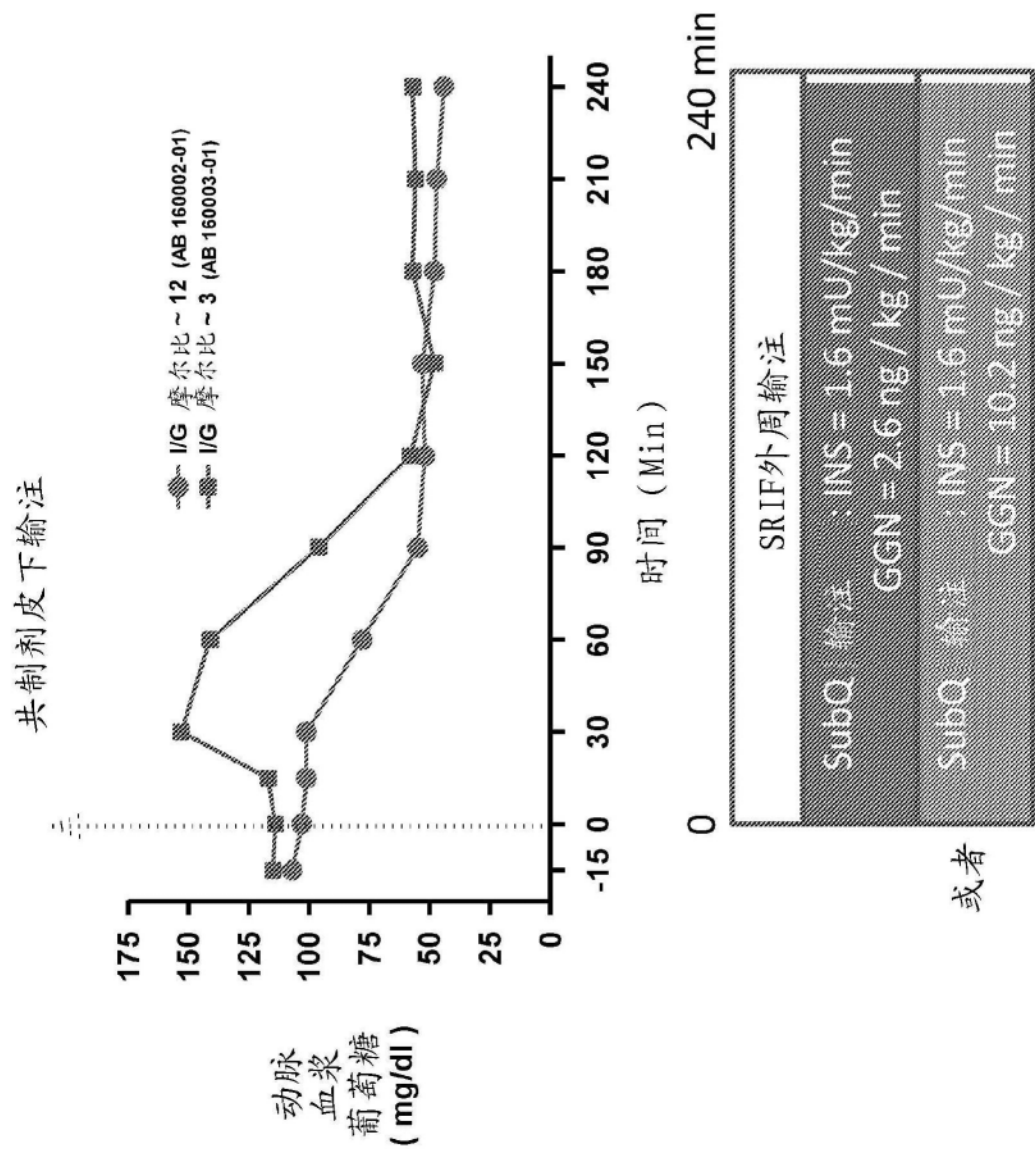


图47

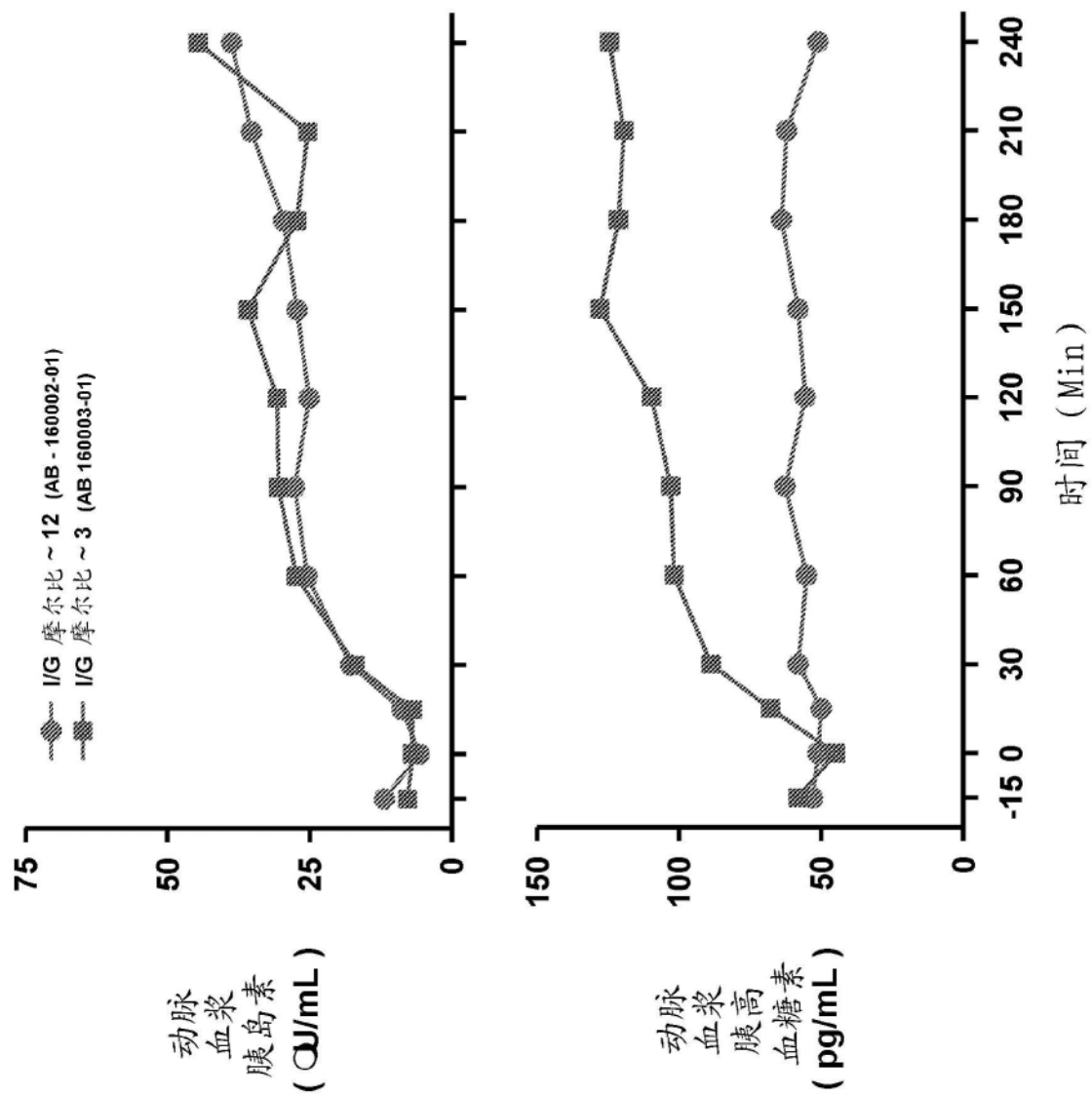


图48

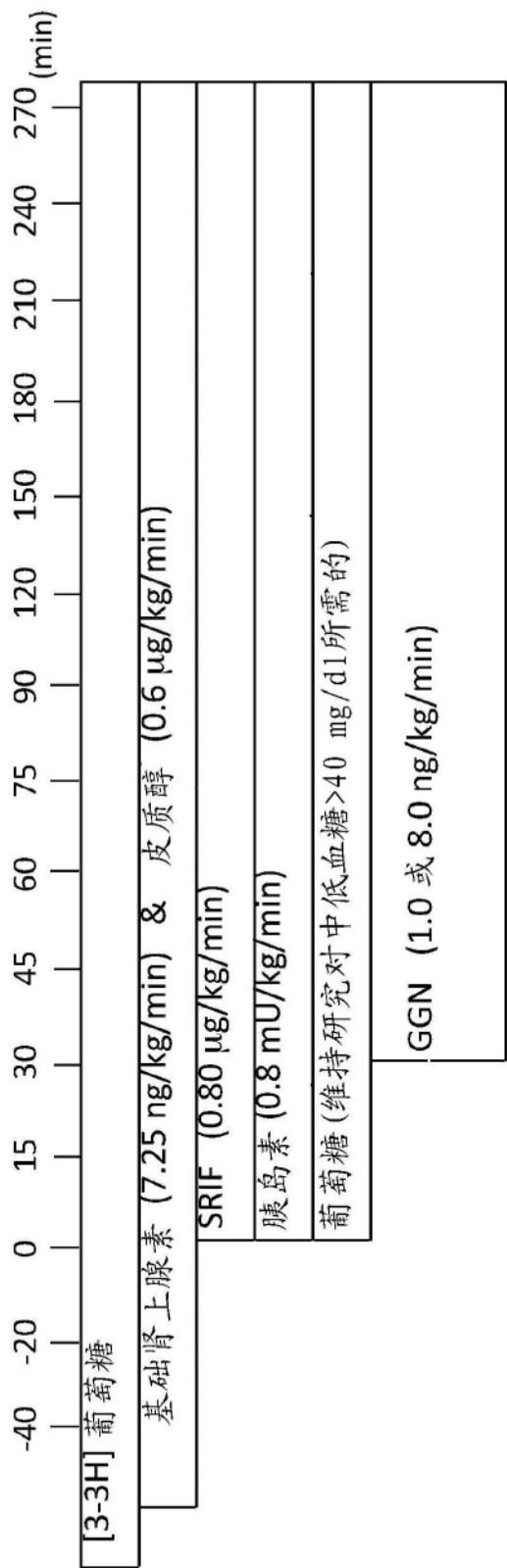


图49

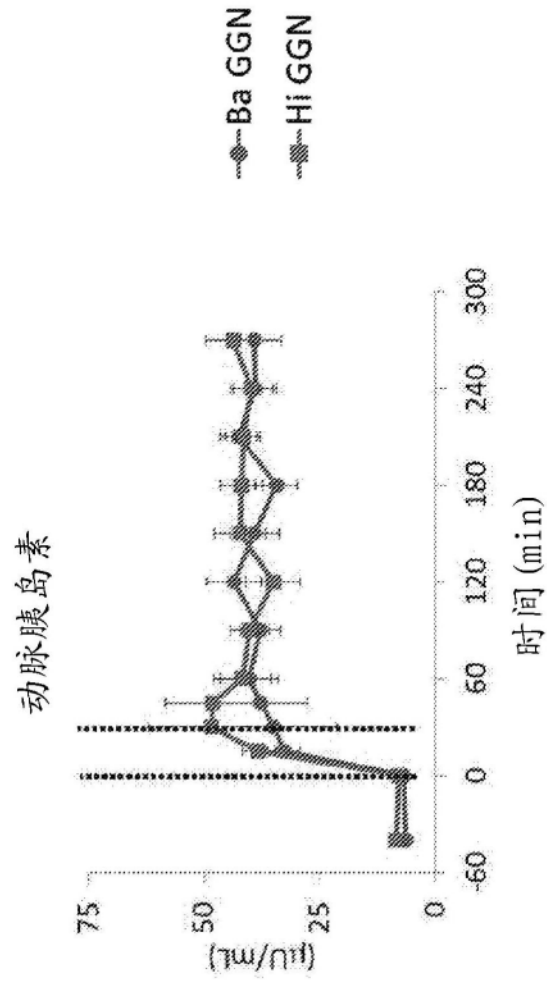


图50

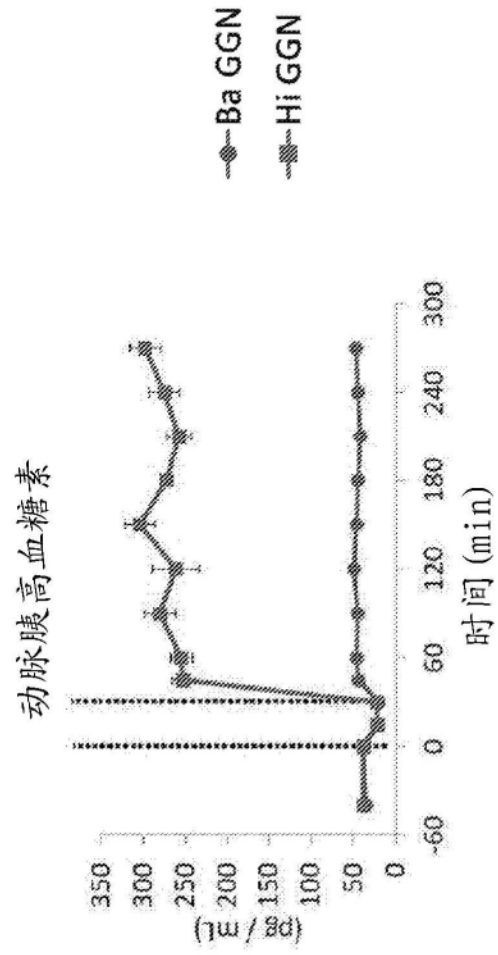


图51

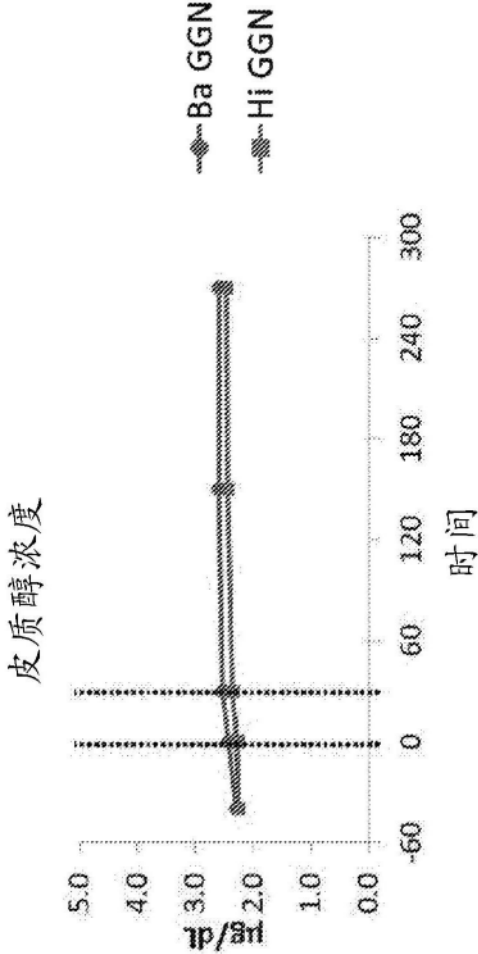


图52

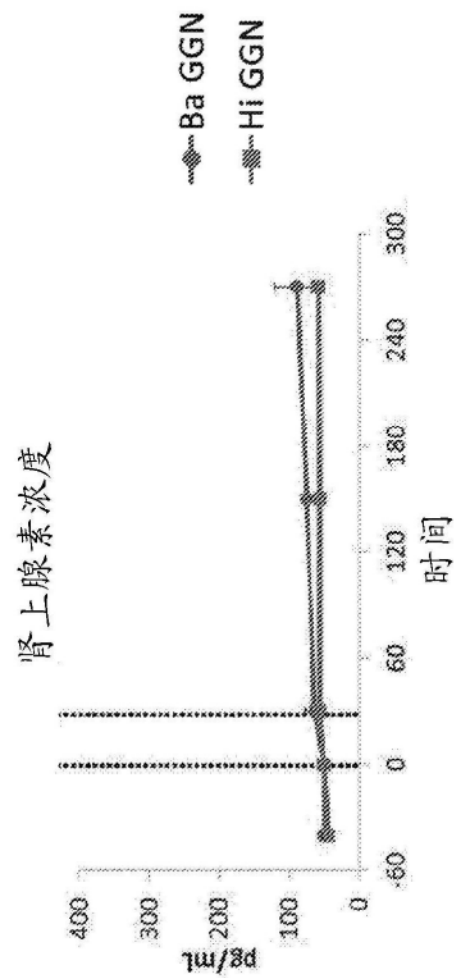


图53

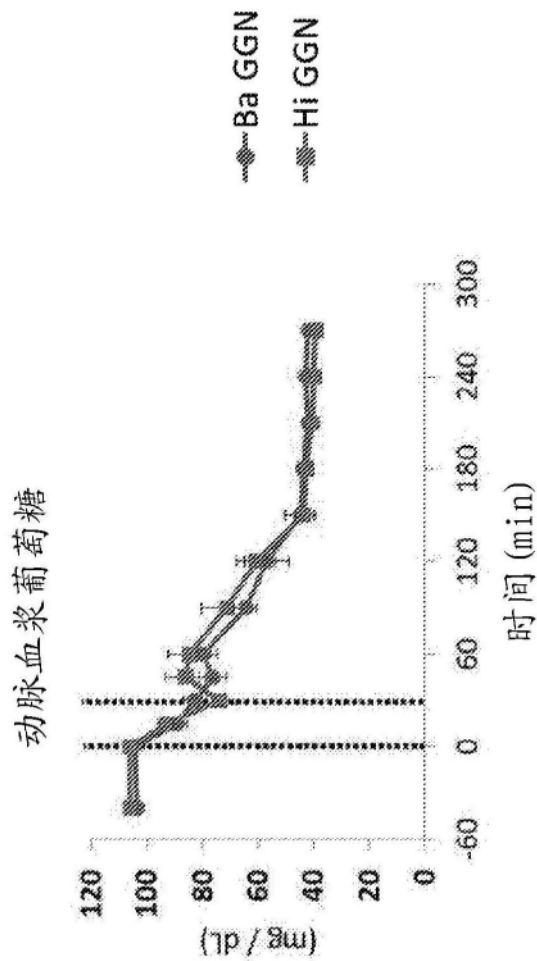


图54

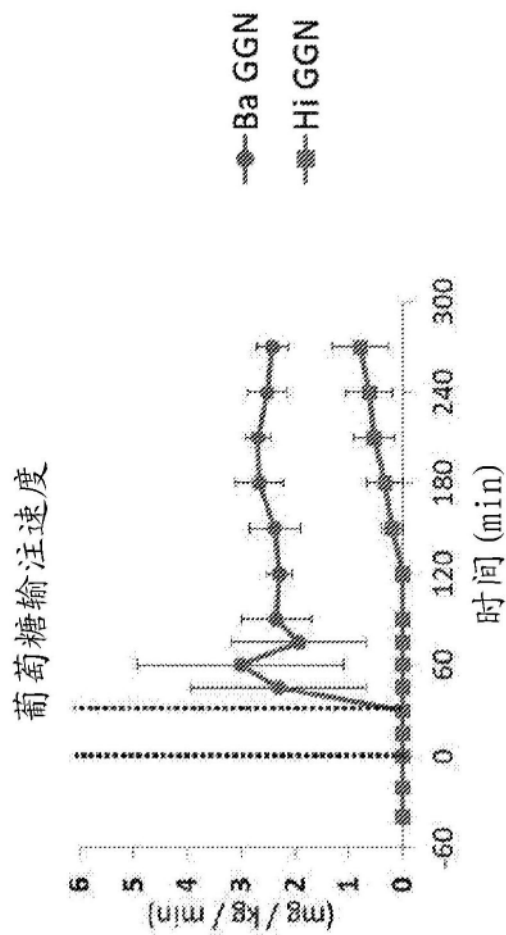


图55

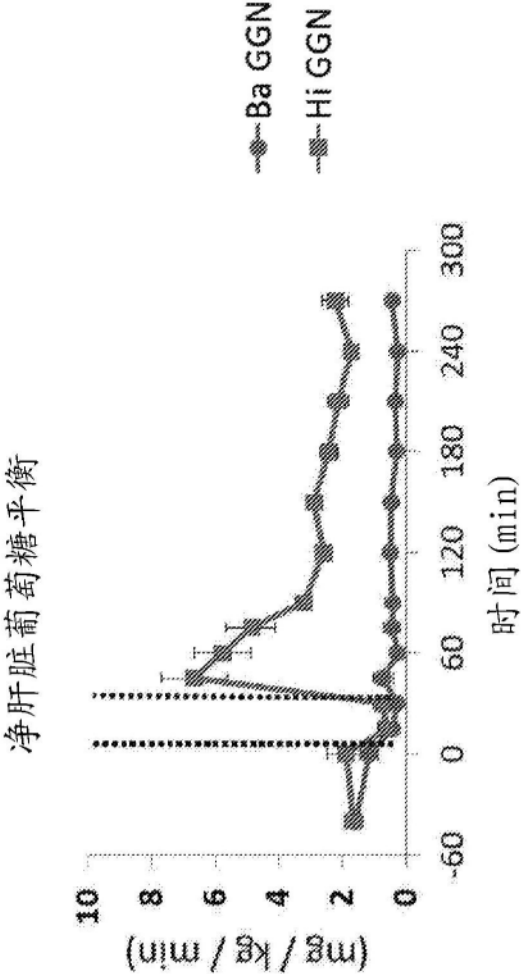


图56

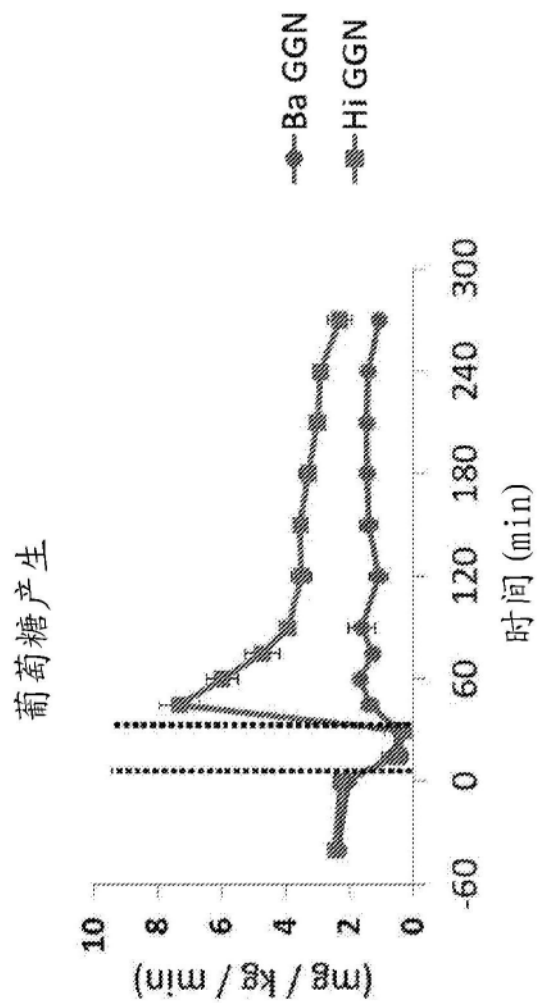


图57

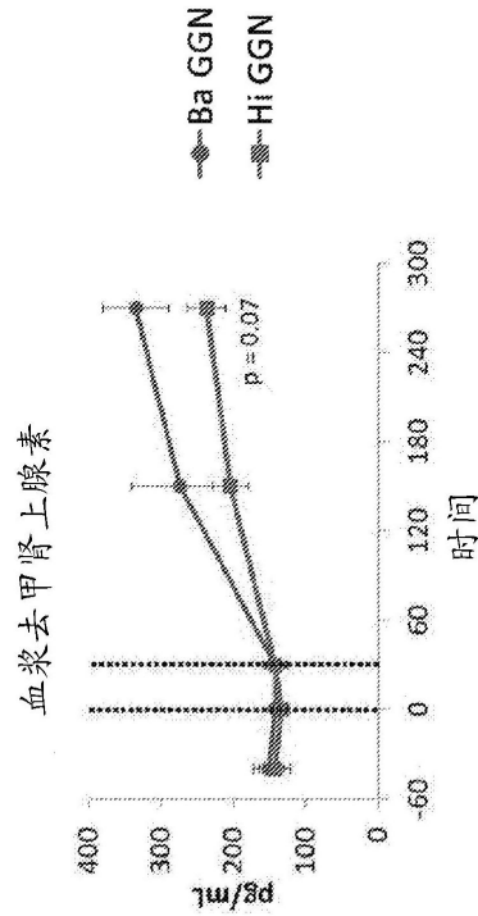


图58A

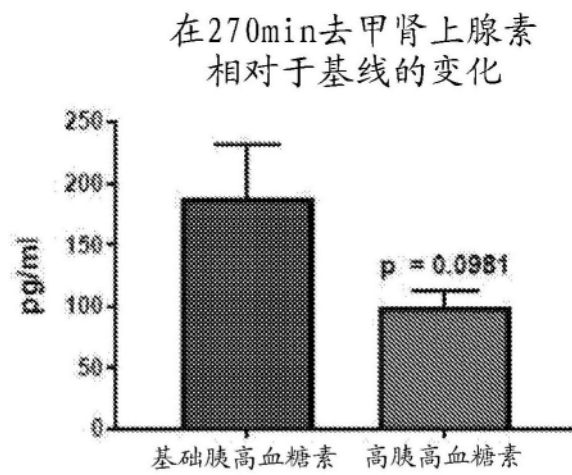


图58B

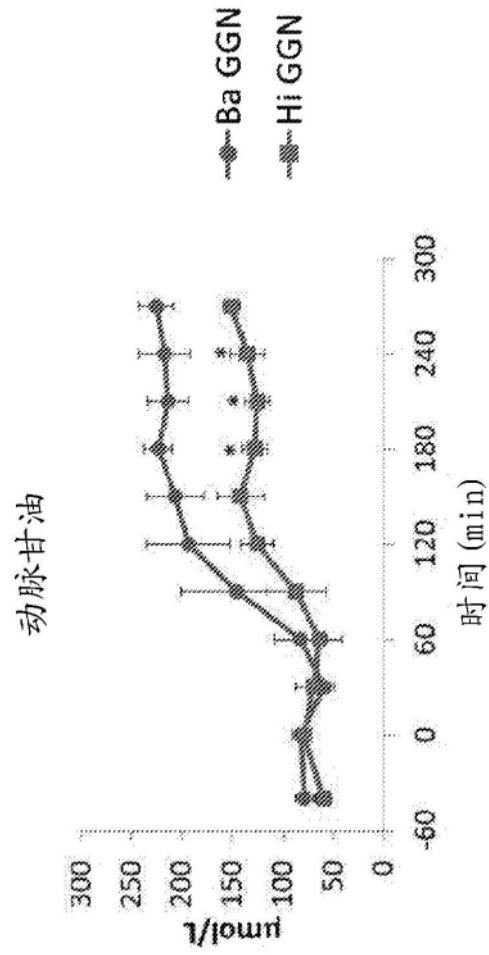


图59A

在180-270min甘油
相对于基线的变化

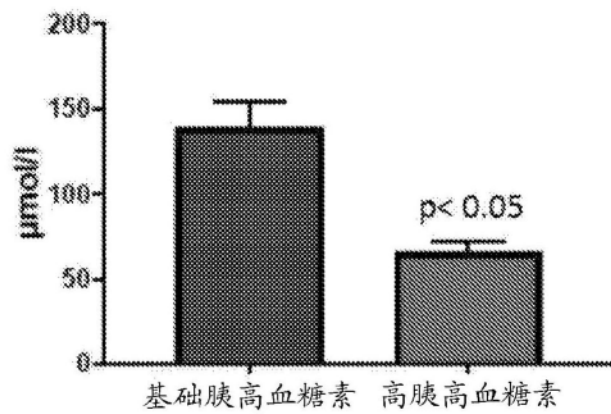


图59B

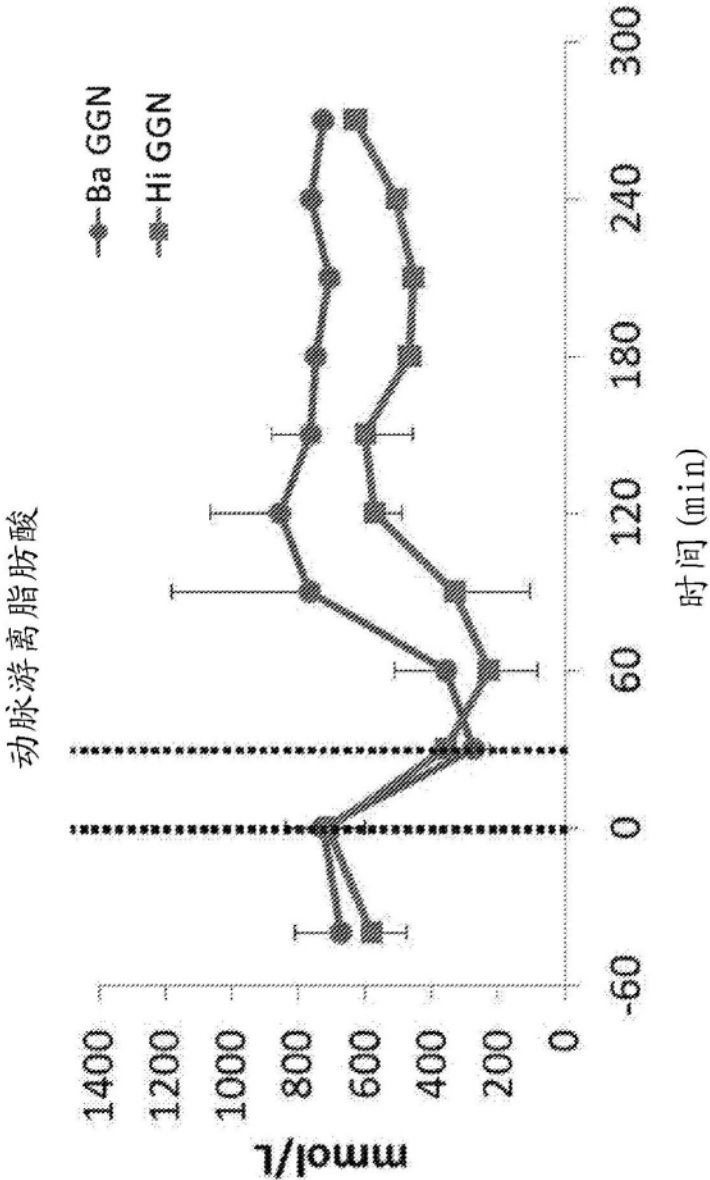


图60

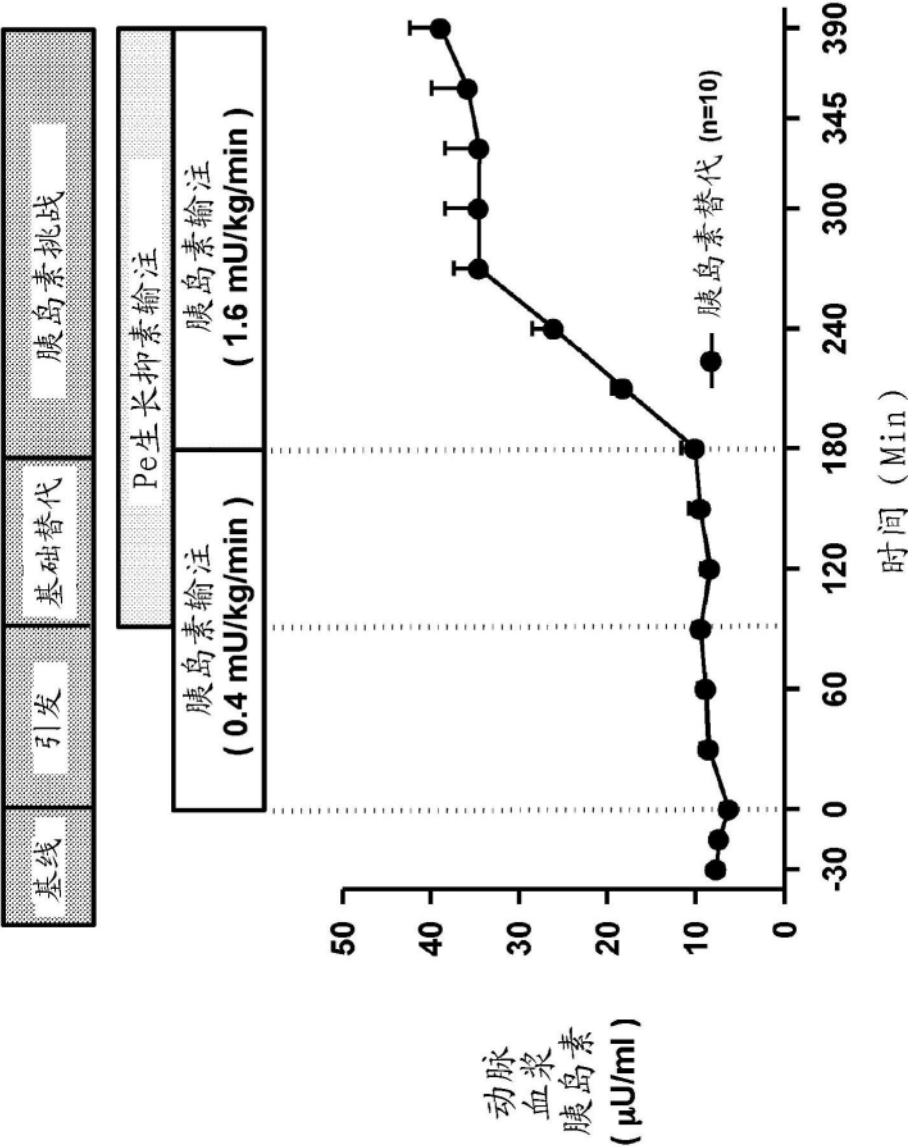


图61

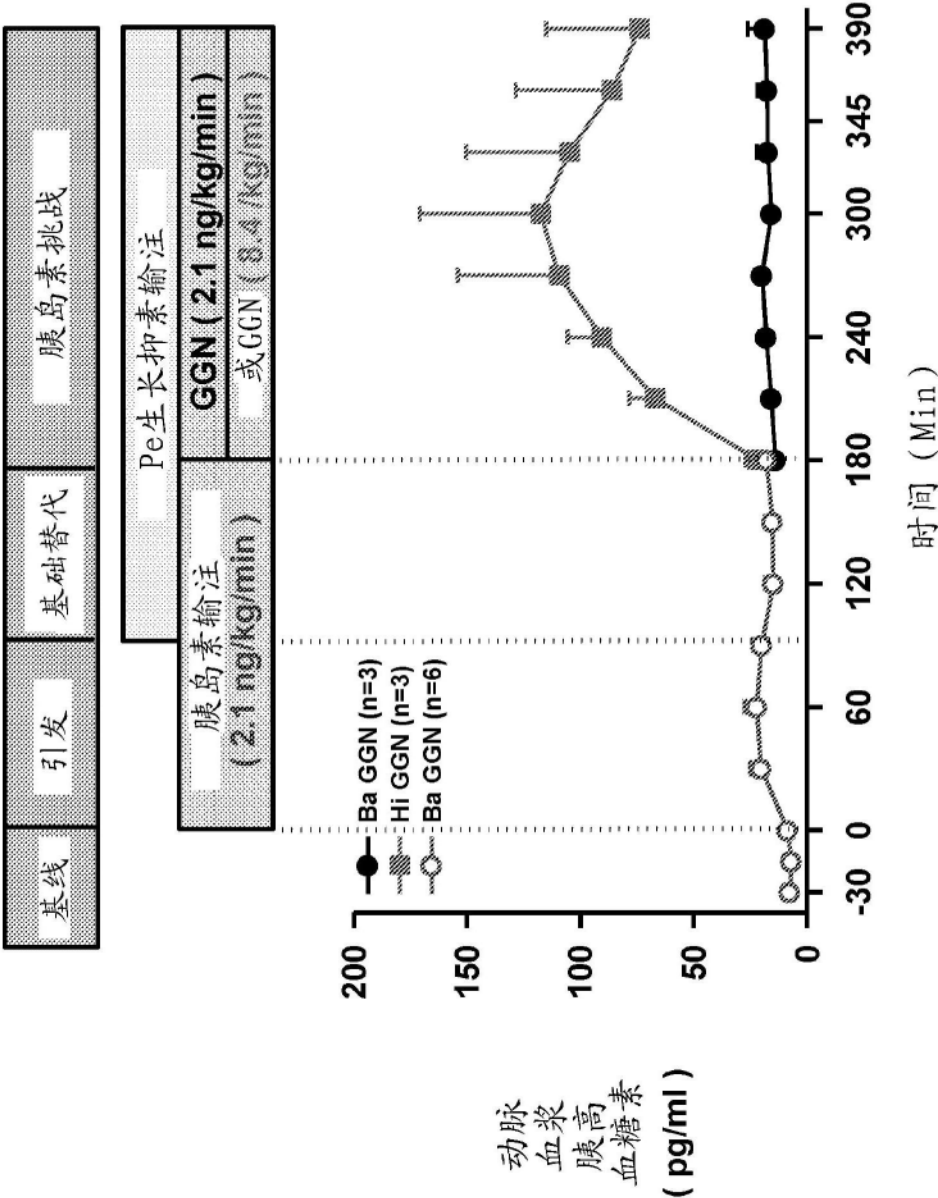
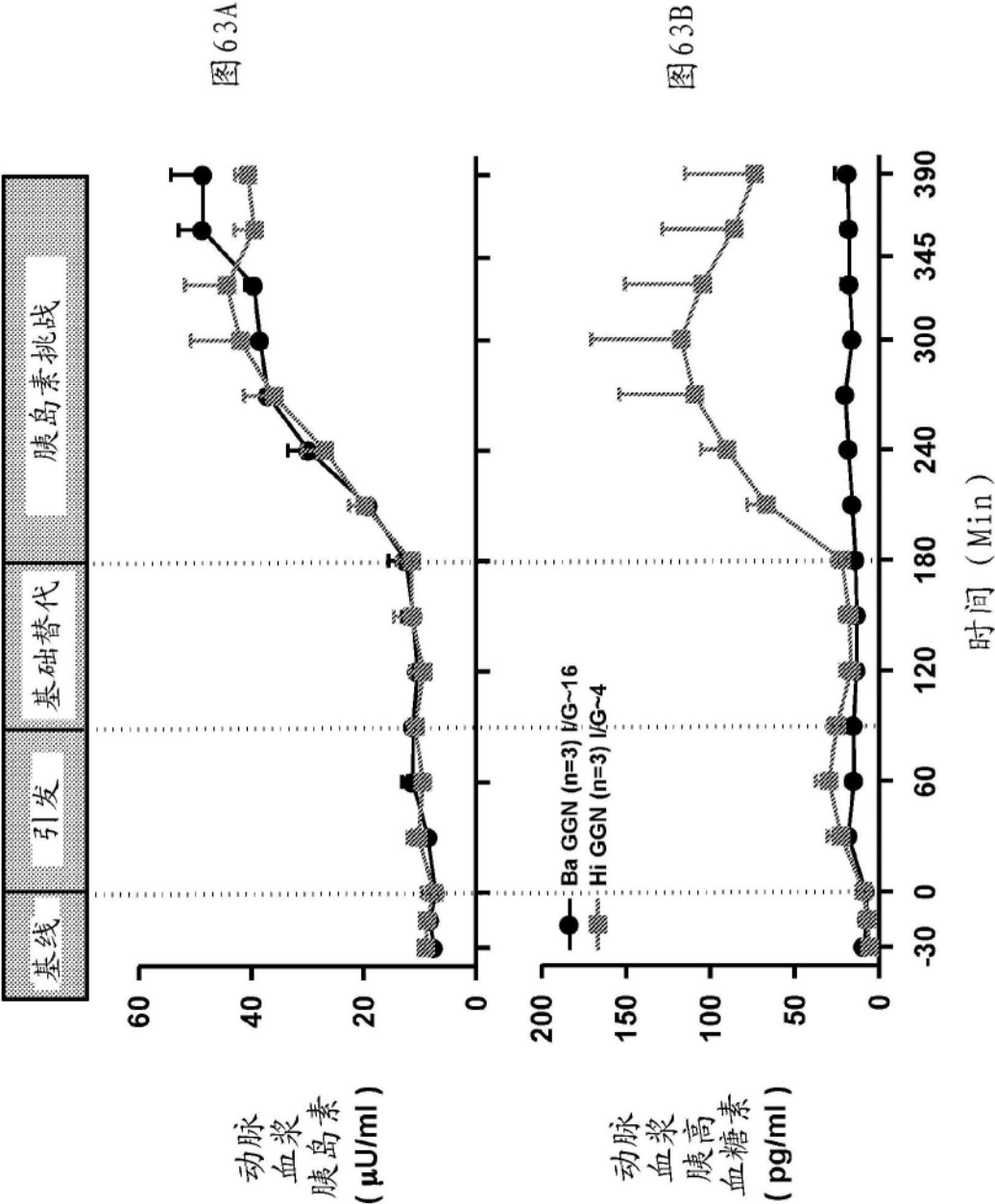


图62



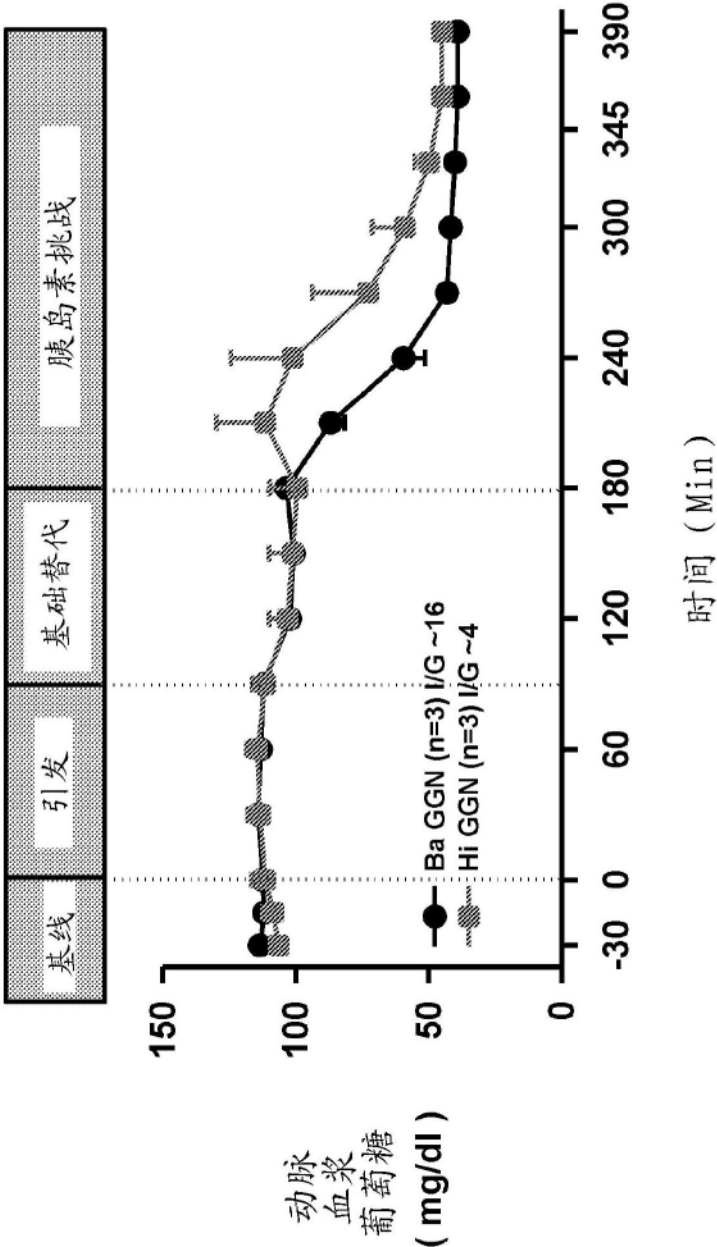


图64A

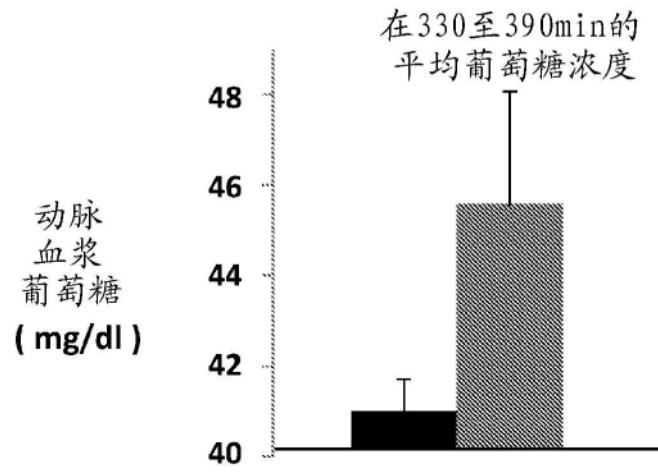


图64B

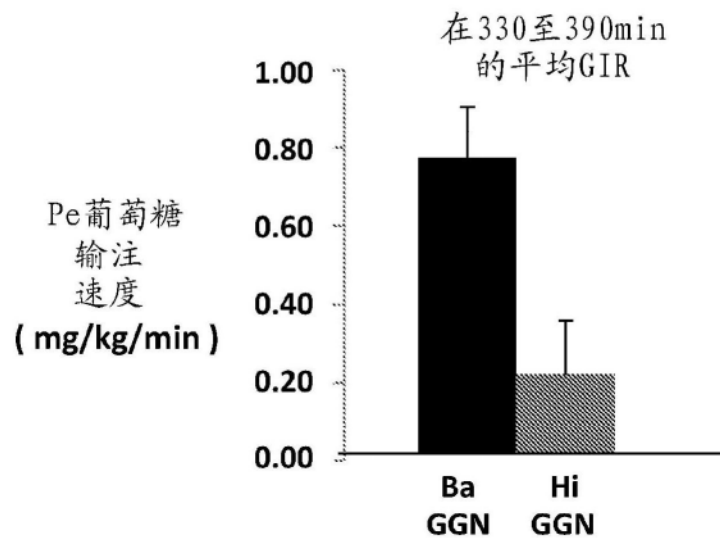


图64C

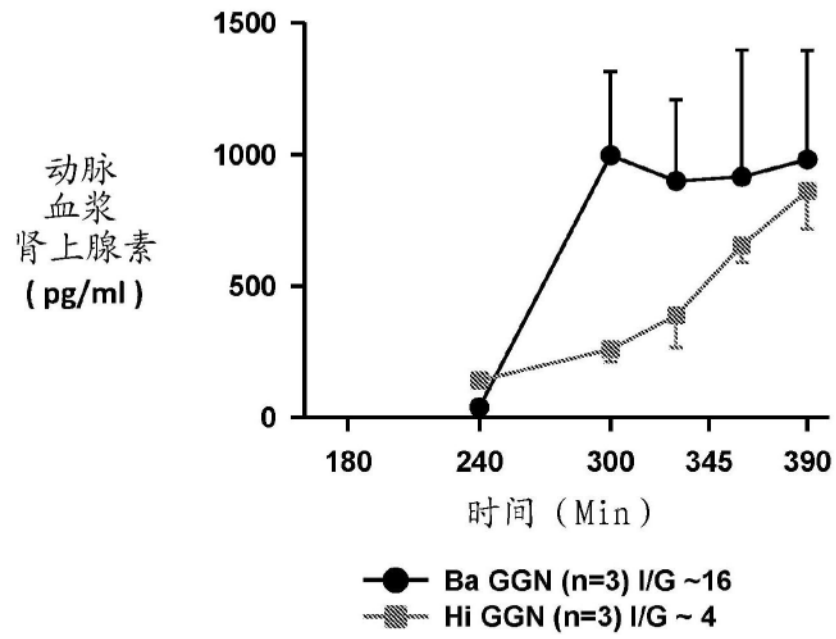


图65A

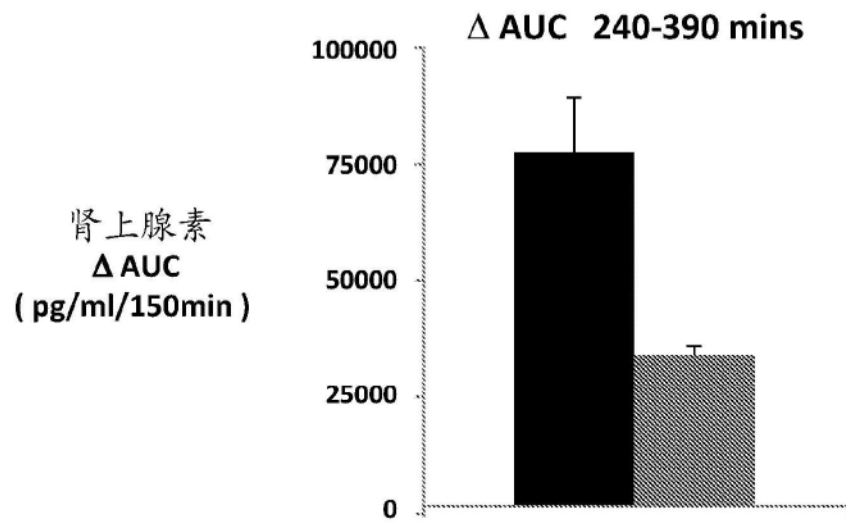


图65B

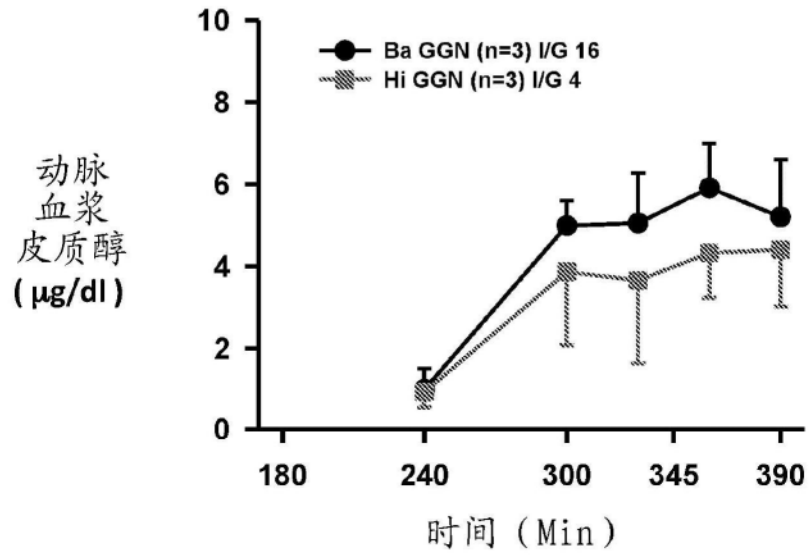


图65C

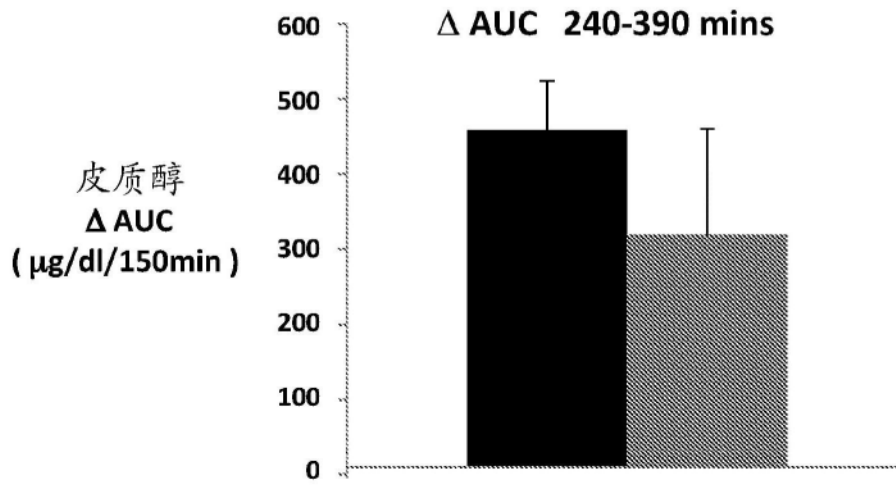
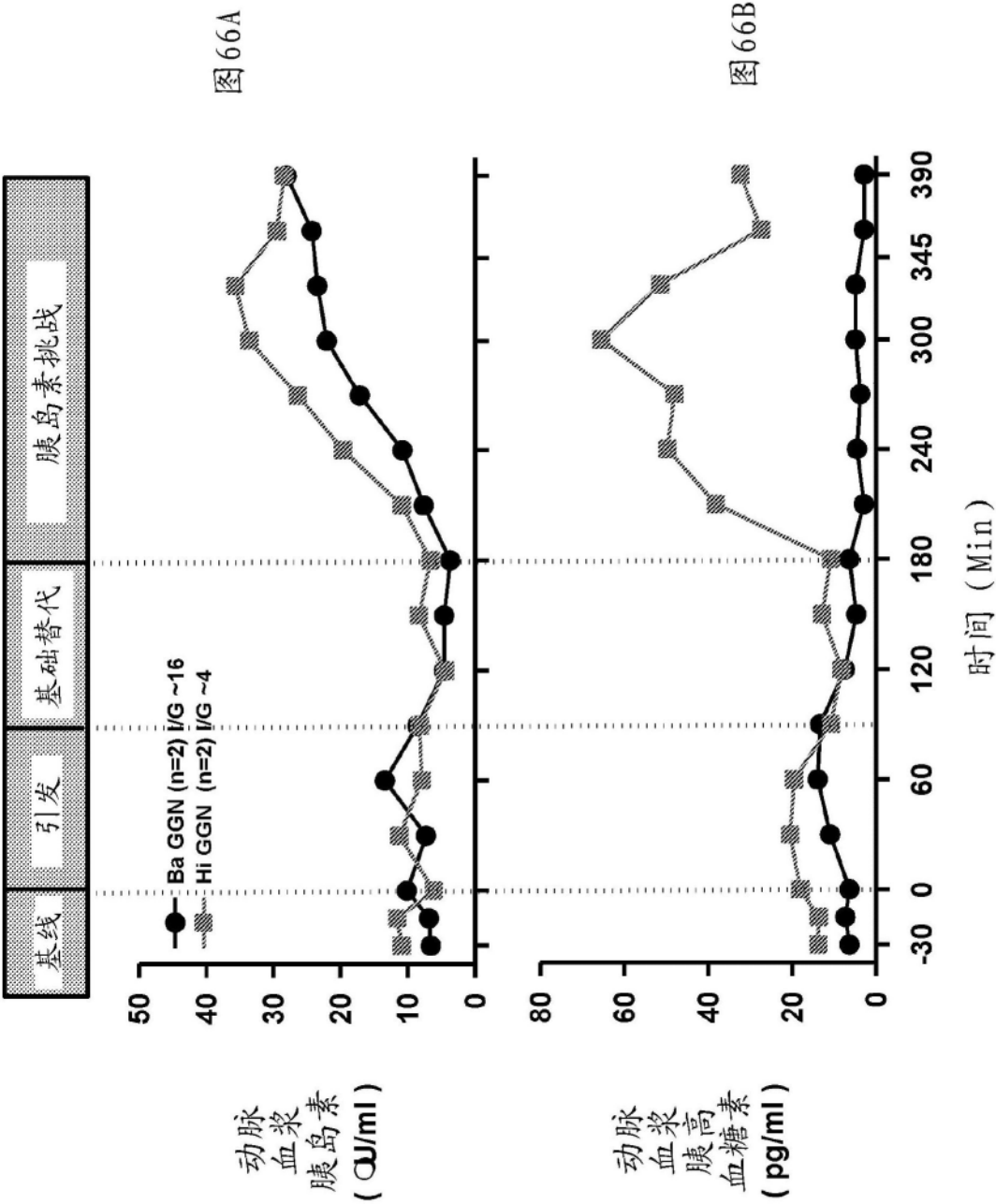


图65D



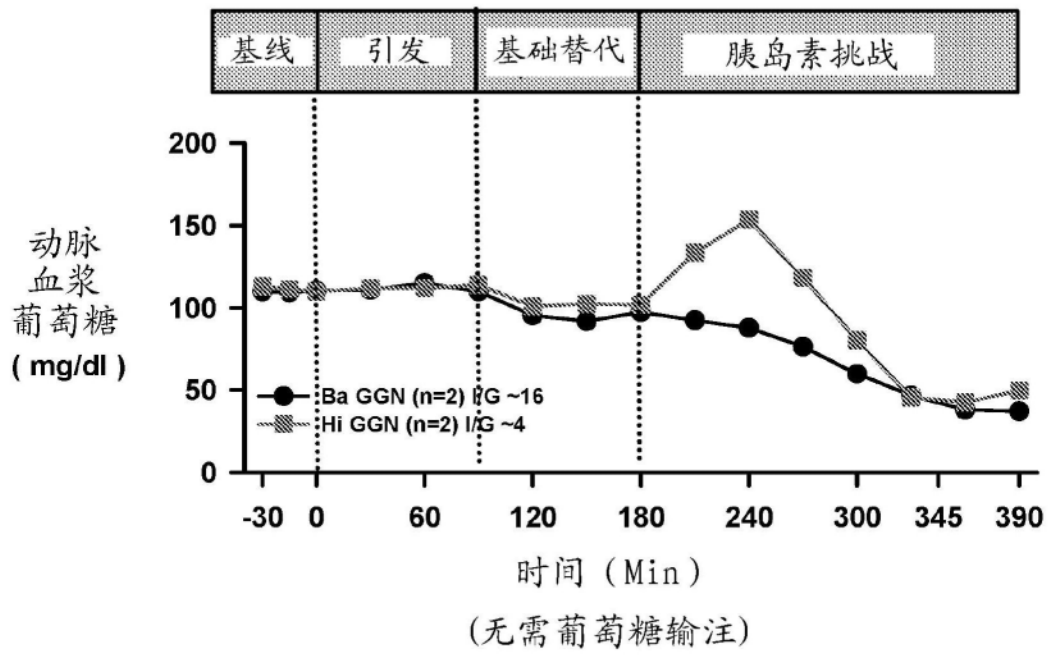


图67A

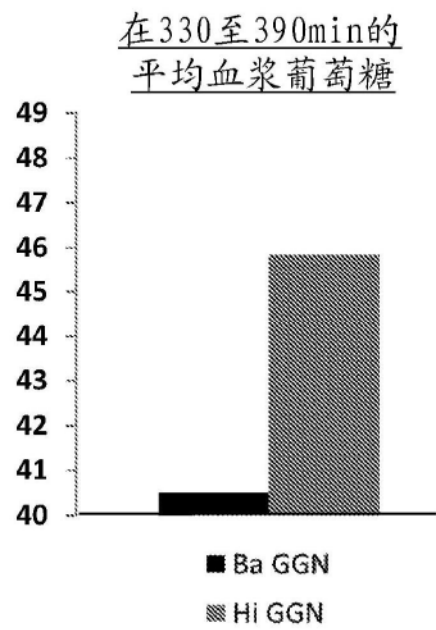
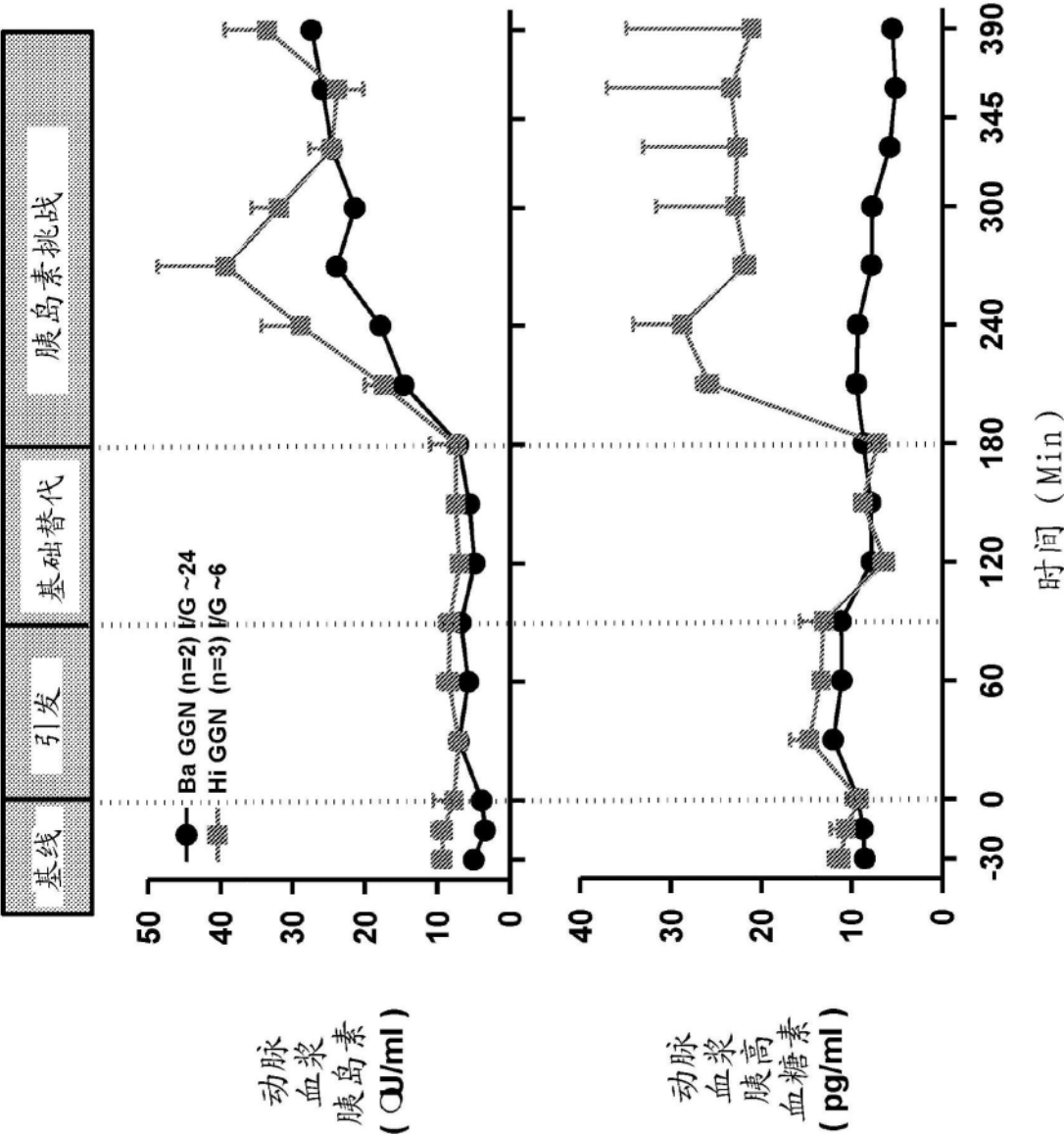


图67B



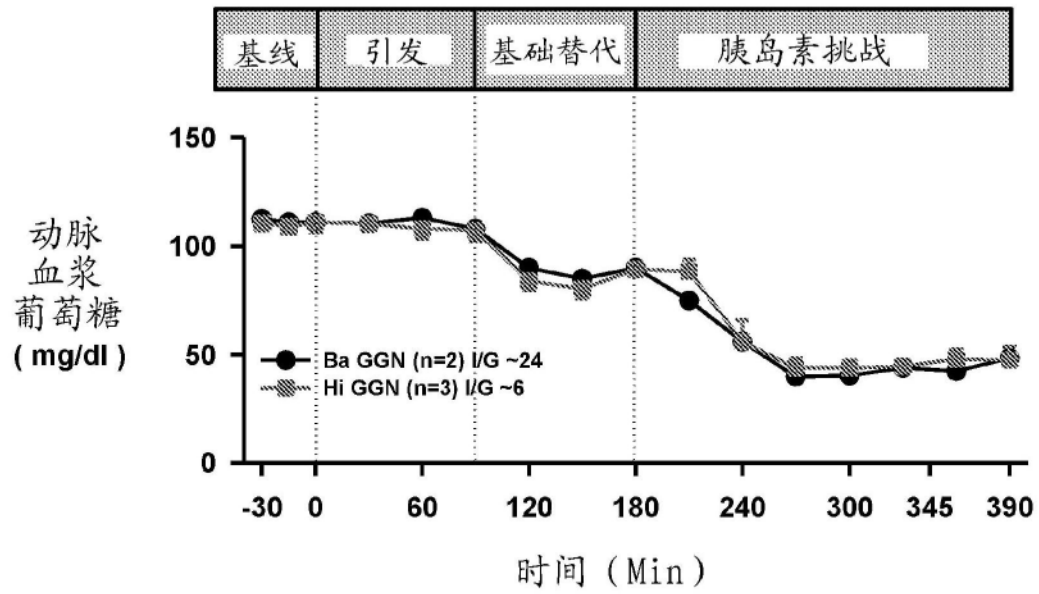


图69A

在120至180min的
平均葡萄糖输注速度

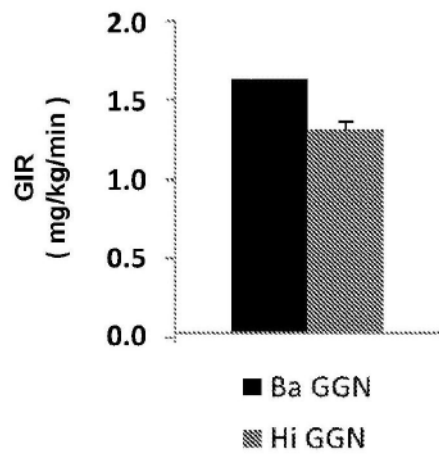


图69B

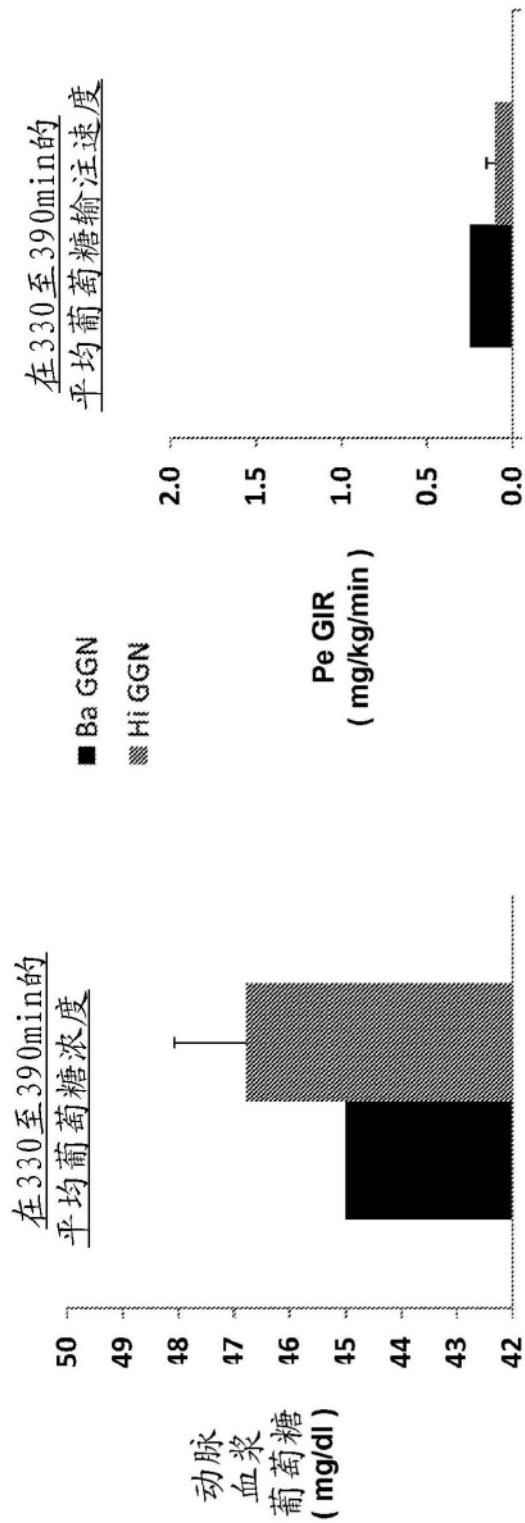


图 69C

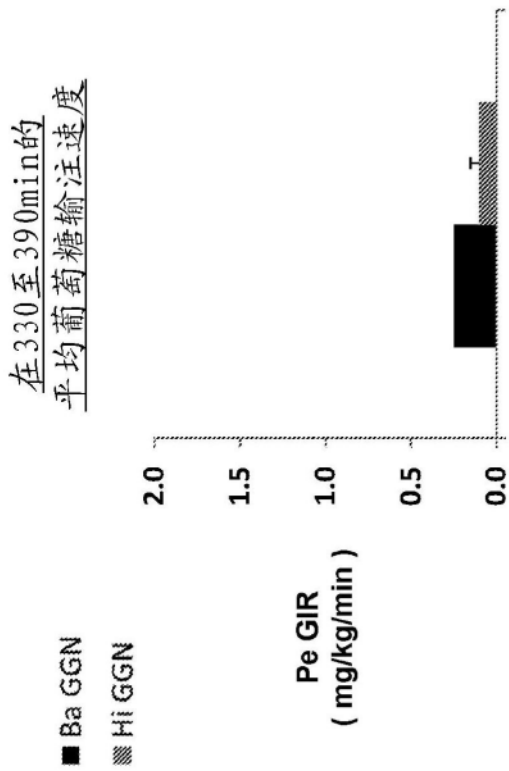
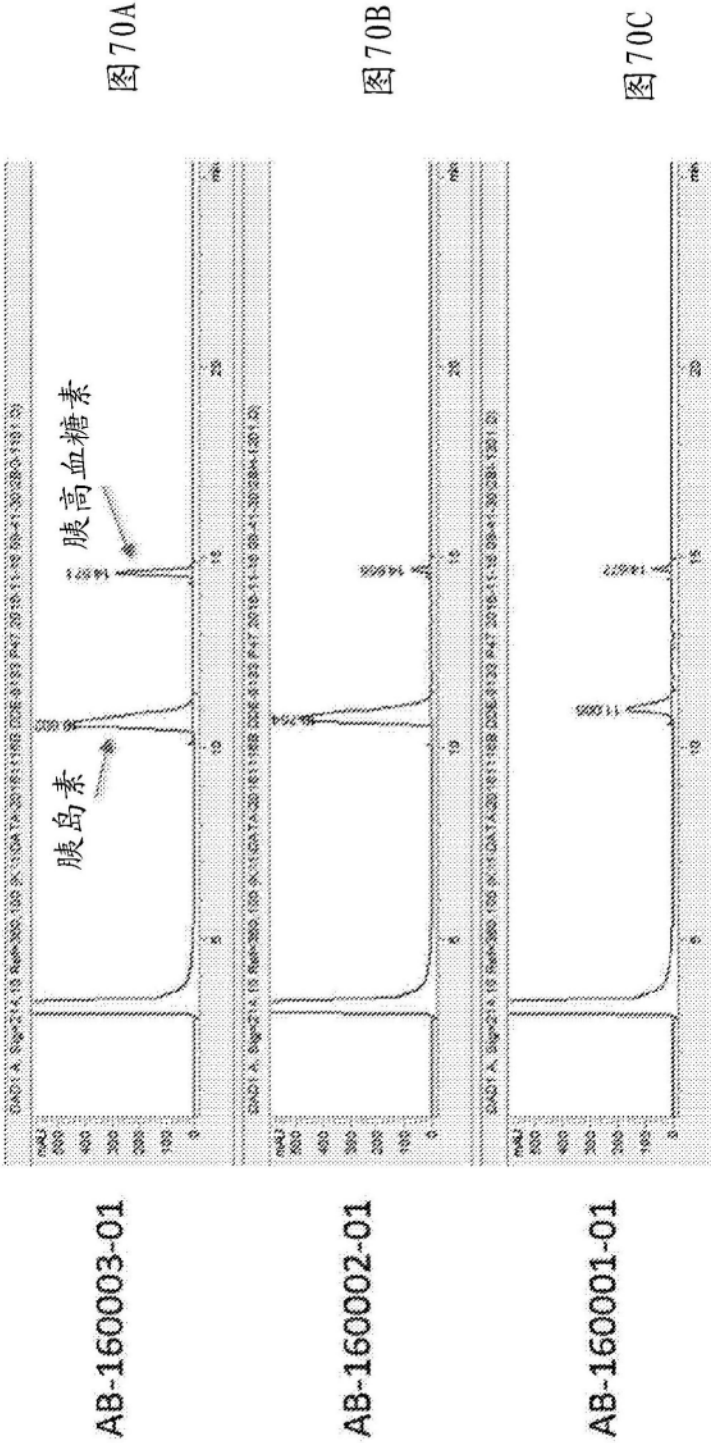


图 69D

批次编号	胰岛素 (mg/mL)	胰高血糖素 (mg/mL)
AB-160003-01	4.48	0.83
AB-160002-01	4.48	0.21
AB-160001-01	1.08	0.21

图70



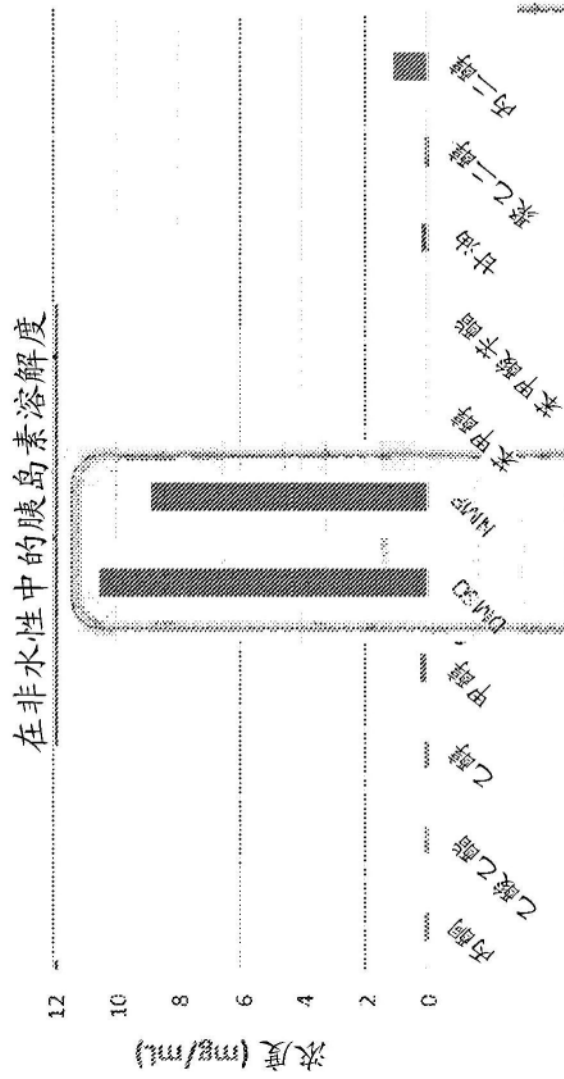


图 71A

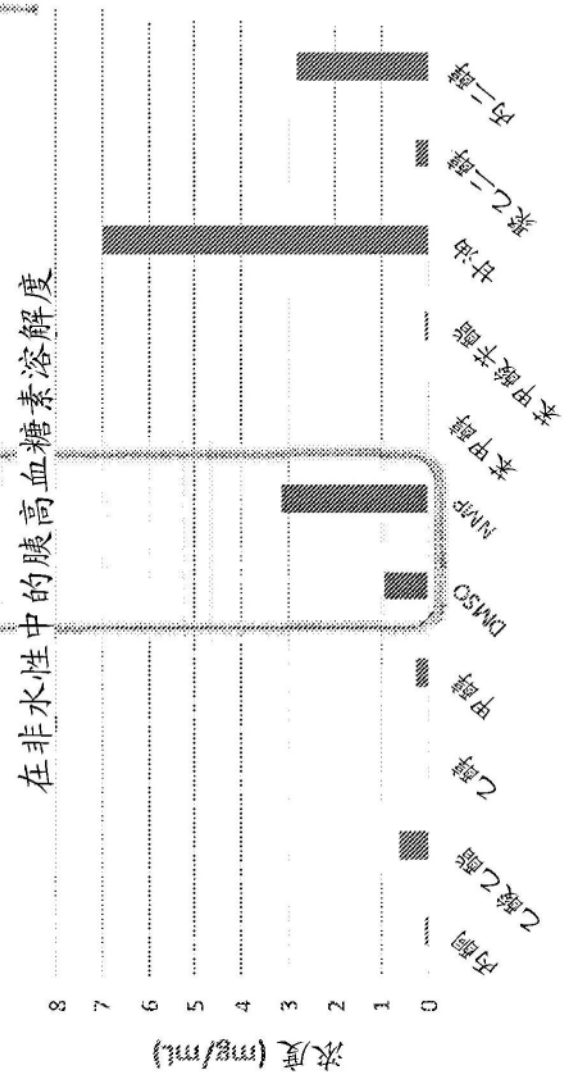


图 71B

75 – 95% (v/v) 水性							
缓冲液	共溶剂					胰岛素 (mg/mL)	胰高糖素 (mg/mL)
	5% TPGS	10% DMSO	10% NMP	10% PG	10% 甘油		
PBS 7.8	X					1.38*	0.25*
PBS 7.8	X		X	X		3.3	0.07
PBS 7.8	X	X		X		0.7	0.11
PBS 7.8	X			X		1	0.25
PBS 7.8		X			X	1.3	0.02

图72A

34.5 – 35.5 % (v/v) 水性

34.5-35.5% 缓冲液 (20 mM)	溶剂 (v/v/v)						胰岛素 (mg/mL)	胰高 血糖素 (mg/mL)
	4.5% TPGS	30% DMSO	30% NMP	30% PG	30% 甘油	1% EDTA		
PB 7.8	X		X	X			≥ 6.55	0.30
PB 7.8	X		X		X		≥ 6.26	0.07
PB 7.8	X	X		X			≥ 4.46	0.57
PB 7.8	X	X			X		3.83	0.72
PB 7.8	X	X		X		X	3.33	0.30
PB 7.8	X		X		X	X	≥ 4.25	0.06

图72B

30 – 40% (v/v) 磷酸盐缓冲液

ID	溶液组成	胰岛素 (mg/mL)	胰高 血糖素 (mg/mL)
6	20 mM PB, 和 30% NMP, 30% PG	5.48	0.32
7	20 mM PB, 和 33% NMP, 33% 甘油	5.62	0.21
9	20 mM PB, 和 30% DMSO, 30% PG	5.79	0.19
10	20 mM PB, 和 30% DMSO, 30% 甘油	5.72	0.11
11	20 mM PB, 和 50% DMSO, 20% PG	5.53	0.36
12	20 mM PB, 和 40% DMSO, 20% PG	4.15	0.33

图73

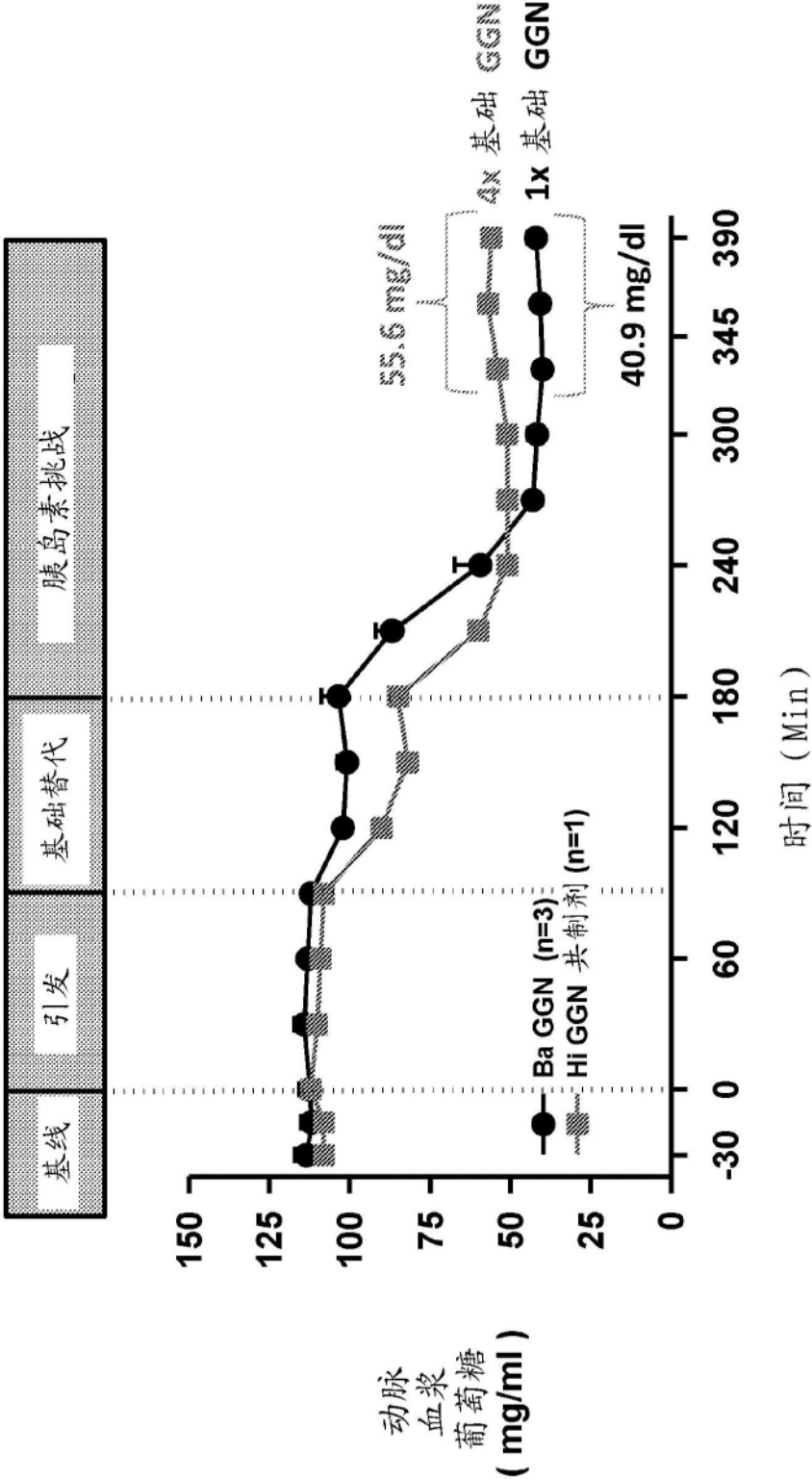


图74

