

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-502985

(P2014-502985A)

(43) 公表日 平成26年2月6日 (2014. 2. 6)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 38/22 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 37/24	4 C 0 7 6
<b>A 6 1 K 47/02 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 47/02	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 K 47/42 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 47/42	
<b>A 6 1 K 47/36 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 47/36	
<b>A 6 1 P 3/10 (2006. 01)</b>	A 6 1 P 3/10	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 33 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-549807 (P2013-549807)	(71) 出願人	509091848
(86) (22) 出願日	平成24年1月19日 (2012. 1. 19)		ノヴォ ノルディスク アー/エス
(85) 翻訳文提出日	平成25年8月29日 (2013. 8. 29)		デンマーク、ハウスヴェア ディーケー
(86) 国際出願番号	PCT/EP2012/050785		2 8 8 0, ノヴォ アレー
(87) 国際公開番号	W02012/098188	(74) 代理人	100108453
(87) 国際公開日	平成24年7月26日 (2012. 7. 26)		弁理士 村山 靖彦
(31) 優先権主張番号	11151456.8	(74) 代理人	100064908
(32) 優先日	平成23年1月19日 (2011. 1. 19)		弁理士 志賀 正武
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100089037
(31) 優先権主張番号	61/436, 804		弁理士 渡邊 隆
(32) 優先日	平成23年1月27日 (2011. 1. 27)	(74) 代理人	100110364
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 実広 信哉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 GLP-1 粒子および組成物

## (57) 【要約】

本発明は、GLP-1化合物、二価金属およびポリカチオン性化合物を含む組成物および粒子に関する。本発明は、粒子がコアおよび周囲層を含み、コアがGLP-1化合物および二価金属を含み、周囲層がポリカチオン性化合物を含むことを特徴とする。本発明は、糖尿病を含めた代謝性疾患の治療に特に有用である。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

GLP-1化合物、二価金属およびポリカチオン性化合物を含む粒子であって、前記粒子がコアおよび周囲層を含み、前記コアが前記GLP-1化合物および前記二価金属を含み、前記周囲層が前記ポリカチオン性化合物を含む、粒子。

## 【請求項 2】

前記GLP-1化合物が、天然GLP-1、GLP-1のアナログ、GLP-1の誘導体、リラグルチド、セマグルチド、タスポグルチド、エクセナチド、リキシセナチド、アルビグルチド、デュラグルチド、または

N<sup>37</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Imp<sup>7</sup>,Glu<sup>22</sup>,Arg<sup>26</sup>,Arg<sup>34</sup>,Lys<sup>37</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチド、または

N<sup>26</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N<sup>37</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib<sup>8</sup>,Arg<sup>34</sup>,Lys<sup>37</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチド、または

N<sup>26</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(3-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N<sup>37</sup>-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(3-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib<sup>8</sup>,Arg<sup>34</sup>,Lys<sup>37</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチドを含む、請求項1に記載の粒子。

## 【請求項 3】

前記二価金属が、亜鉛(Zn)、カルシウム(Ca)、マンガン(Mn)またはマグネシウム(Mg)から選択される、請求項1または2に記載の粒子。

## 【請求項 4】

前記ポリカチオン性化合物が、プロタミン、キトサン、キトサン誘導体、ポリリシンおよびポリアルギニンから選択される、請求項1から3のいずれか一項に記載の粒子。

## 【請求項 5】

前記GLP-1化合物および前記二価金属が、均質な混合物を形成する、請求項1から4のいずれか一項に記載の粒子。

## 【請求項 6】

前記コアが、プロタミンを実質的に含まない、請求項1に記載の粒子。

## 【請求項 7】

水中に溶解もしくは懸濁したときに4と8.2との間のpHを有し、または、4と8.2との間のpHを有する組成物中に含まれる、請求項1から6のいずれか一項に記載の粒子。

## 【請求項 8】

請求項1から7のいずれか一項に記載の粒子を含む医薬組成物。

## 【請求項 9】

請求項1から7のいずれか一項に記載の粒子またはその医薬組成物を調製するための方法であって、GLP-1化合物の溶液を二価金属の溶液と混合する1つのステップ、およびポリカチオン性化合物の溶液をGLP-1化合物:金属混合物に加える1つのさらなるステップを含む、方法。

## 【請求項 10】

a) 懸濁液を形成するために、塩の形態である前記二価金属の水溶液を前記GLP-1化合物の水溶液と混合するステップ、

b) 塩の形態である前記ポリカチオン性化合物の水溶液、および水性緩衝溶液をステップa)から得た前記懸濁液に加えるステップであって、前記緩衝液は好ましくは前記ポリカチ

10

20

30

40

50

オン性化合物より前に加えられる、前記ポリカチオン性化合物の水溶液および水性緩衝溶液を加えるステップ、

c) ステップb) から得た混合物に水を加えるステップを含む、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記混合するステップa) において、前記GLP-1化合物の水溶液を前記金属塩の水溶液の水面下に加え、かつ/または、前記GLP-1化合物の水溶液がアルカリ性のpHを有し、前記金属塩の水溶液が酸性のpHを有する、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

医薬品として使用するための、請求項1から7のいずれか一項に記載の粒子または請求項8に記載の医薬組成物。 10

【請求項13】

代謝性疾患の治療における医薬品として使用するための、請求項1から7のいずれか一項に記載の粒子または請求項8に記載の医薬組成物。

【請求項14】

1日1回より少ない投与頻度で医薬品として使用するための、請求項1から7のいずれか一項に記載の粒子または請求項8に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、グルカゴン様ペプチド-1(GLP-1)化合物を含む医薬組成物、およびそれらを作製する方法の分野に関する。 20

【背景技術】

【0002】

グルカゴン様ペプチド(GLP-1)は、腸管L細胞により身体中で分泌される腸ホルモンである。天然活性型のGLP-1はGLP-1-(7-37)およびGLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub>である。GLP-1およびそのアナログは、それらの膵臓からのインスリン分泌を増大させる能力、細胞と細胞の両方におけるインスリン感受性、安全性、および膵臓からのグルカゴン分泌を低下させる能力のため、糖尿病の有望な治療剤である。

【0003】

大部分の医薬的関連があるタンパク質およびペプチドと同様に、GLP-1化合物は生体膜を介してあまり吸収されない。したがって、それらは非経口経路により、皮下注射により典型的に投与される。さらにGLP-1化合物は、水溶液中に製剤化されると、様々な水触媒反応に対する感受性のため不安定である。 30

【0004】

天然GLP-1は身体中で数分間の短い半減期を有するが、それは、酵素ジペプチジルペプチダーゼ-4によって急速に分解されるからである。この欠点を克服するため、徐放技術は多くの研究の主題である。一手法は、投与時にゆっくりと溶解し血流中に放出される、活性成分の懸濁液を調製することである。この展望で、天然GLP-1のアナログが開発されている。リラグルチド(Arg<sup>34</sup>, Lys<sup>26</sup>(N<sup>-</sup>-(<sup>-</sup>Glu(N<sup>-</sup>-ヘキサデカノイル))) -GLP-1(7-37))、またはN<sup>26</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-(ヘキサデカノイルアミノ)ブタノイル]-[Arg<sup>34</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチド)とも呼ばれるものは、それらの1つである。それは、一日一回の注射薬として、商品名Victoza(登録商標)の下で商品化されている。この製剤では、リラグルチドは、皮下投与時に1日続く薬物動態プロファイル(PK)を有する。これは大きな成功であるが、患者に対する注射の頻度を低下させることが依然として必要である。週に一回の注射薬の開発は別の大きな成功であり得る。 40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】 WO02/098348

【特許文献2】WO2006097537

【特許文献3】WO98/08871

【特許文献4】米国特許第6,451,762号

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Knudsen et.al.(2000)J Med Chem43、1664～1669頁

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

従来技術の幾つかの医薬組成物は、GLP-1化合物と、塩基性ポリペプチド、および亜鉛などの二価金属イオンを粒子に組み合わせて(WO02/098348)、薬剤放出を制御する。しかしながら、従来技術の組成物は依然として満足のいくものではなく、注射の頻度が少なく、関連副作用が少なく、有利な物理的性質を有するGLP-1製品が依然として必要とされる。

10

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明は、新たなGLP-1組成物に関する。

【0009】

本発明は、特定の形態を有するGLP-1粒子は、有利な性質を示すという認識に基づく。驚くことに、GLP-1および二価金属を含むコア周辺にポリカチオン性化合物が層を形成する形態は、GLP-1製剤が出くわす問題を少なく維持または最小限にしながら、身体中でのGLP-1化合物の作用時間の有意な増大と関係があることが分かっている。

20

【0010】

本発明はさらなる問題も解決することができ、それは例示的实施形態の開示から明らかである。

【0011】

一態様では、本発明は、GLP-1化合物、二価金属およびポリカチオン性化合物を含む粒子であって、粒子がコアおよび周囲層を含み、コアがGLP-1化合物および二価金属を含み、周囲層がポリカチオン性化合物を含む粒子に関する。

【0012】

別の態様では、本発明は、粒子を含む医薬組成物であって、粒子がコアおよび周囲層を含み、コアがGLP-1化合物および二価金属を含み、周囲層がポリカチオン性化合物を含む医薬組成物に関する。

30

【0013】

別の態様では、本発明は、このような粒子または組成物を調製するための方法に関する。

【0014】

別の態様では、本発明は、糖尿病を治療するための、このような粒子または組成物の使用に関する。

【0015】

一態様では、本発明は、GLP-1化合物の長い作用期間を伴う改良型徐放性GLP-1組成物を提供する。追加的または代替的に、別の態様では、本発明は、物理的安定性、微細な注射針を介したスムーズな注射、再懸濁のしやすさなどの改善された物理的性質を有する、徐放性GLP-1組成物を提供する。追加的または代替的に、別の態様では、本発明は、患者に利用可能な高濃度の活性成分、粒径の十分な制御、粒子からの遊離成分の放出の低下などの改善された化学的性質を有する、徐放性GLP-1組成物を提供する。追加的または代替的に、別の態様では、本発明は、突発的放出の低下、特に注射部位における組織反応の低下、ヒスタミン放出の低下などの改善された副作用を有する、徐放性GLP-1組成物を提供する。

40

【0016】

50

別の態様では、本発明は、GLP-1組成物を生成する改良法を提供する。追加的または代替的に、別の態様では、本発明は、外的介入がないか制限された、例えば最終pH調節が回避される、簡潔な方法を提供する。追加的または代替的に、別の態様では、本発明は、滅菌状態に適用可能な方法を提供する。

【0017】

別の態様では、本発明は、患者に対する注射頻度が低い治療を提供する。

【0018】

本発明はさらなる問題も解決することができ、それは例示的实施形態の開示から明らかである。

【図面の簡単な説明】

10

【0019】

【図1】様々な値の垂鉛：リラグルチドモル比および様々なpHでの、リラグルチドの垂鉛介在型沈殿を示す図である。

【図2】リラグルチド当たり様々なモル比のプロタミンでの、沈殿した垂鉛-リラグルチド複合体とのプロタミン結合の程度を示す図である。

【図3】様々なpH値での、沈殿した垂鉛-リラグルチド複合体とのプロタミン結合の程度を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0020】

本発明は、新規なGLP-1粒子および組成物に関する。本発明の新規な粒子および組成物は、2型糖尿病などの糖尿病の治療に使用することができる。粒子および組成物は、1日1回より少ない投与頻度での治療剤として有用である。

20

【0021】

本発明の粒子および組成物は、皮下投与時に適切な徐放性PKプロファイルをもたらし、適切で制御された径であり、保存時に容易に再懸濁可能であり、微細な注射針を介して注射可能である。GLP-1化合物を高濃度で製剤化することもでき、長い作用時間を可能にする。粒子のこの特定の形態は、望ましくない副作用も減らす。

【0022】

本発明の特徴は、以下の説明においてより良く理解される。

【0023】

一態様では、本発明は、GLP-1化合物、二価金属およびポリカチオン性化合物を含む粒子であって、粒子がコアおよび周囲層を含み、コアがGLP-1化合物および二価金属を含み、周囲層がポリカチオン性化合物を含む粒子に関する。

30

【0024】

本明細書中で使用する用語「粒子」は、GLP-1および二価金属コアを有し、コアの表面上に存在するポリカチオン性化合物を有する固形物質複合体を意味する。

【0025】

GLP-1化合物の非限定的な例には、天然GLP-1、GLP-1アナログ、またはGLP-1誘導体がある。

【0026】

その最も広い意味で、用語「天然GLP-1」は、ペプチドのグルカゴンファミリーまたはエキセンジンファミリーの天然に存在する分子を指す。ペプチドのグルカゴンファミリーはプレ-プログルカゴン遺伝子によってコードされ、高度の相同性で3個の小ペプチド、すなわちグルカゴン(1-29)、GLP-1(1-37)およびGLP-2(1-33)を包含する。用語「天然GLP-1」は、参照により本明細書に組み込まれているWO2006097537中に配列番号1としてその配列が開示されるヒトGLP-1(7-37)、およびヒトGLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>も指す。エキセンジンはトカゲにおいて発現されるペプチドであり、GLP-1と同様にインスリン親和性である。天然に存在するエキセンジンの例はエキセンジン-3およびエキセンジン-4である。

40

【0027】

特定の実施形態では、用語「天然GLP-1」は、グルカゴン(1-29)、GLP-1(1-37)およびGL

50

P-2(1-33)、ヒトGLP-1(7-37))、ヒトGLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>、エキセンジン-3およびエキセンジン-4を指す。

【0028】

特定の実施形態では、用語「GLP-1化合物」はヒトGLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>を含まない。特定の実施形態では、用語「GLP-1化合物」はヒトGLP-1(7-37)を含まない。

【0029】

特定の実施形態では、用語「GLP-1化合物」はグルカゴンを含まない。

【0030】

特定の実施形態では、用語「GLP-1化合物」はヒトGLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>およびグルカゴンを含まず、またはヒトGLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>、ヒトGLP-1(7-37)およびグルカゴンを含まない。

10

【0031】

さらに特定の実施形態では、用語「天然GLP-1」はヒトGLP-1(7-37)のみを指す。

【0032】

ペプチドを指す、本明細書中で使用する用語「アナログ」は、ペプチドの1つもしくは複数のアミノ酸残基が他のアミノ酸残基によって置換され、かつ/または1つもしくは複数のアミノ酸残基がペプチドから欠失し、かつ/または1つもしくは複数のアミノ酸残基がペプチドに付加されている修飾型ペプチドを意味する。アミノ酸残基のこのような付加または欠失は、ペプチドのN末端および/またはペプチドのC末端で起こり得る。

【0033】

その最も広い意味で、本明細書中で使用する用語「GLP-1アナログ」または「GLP-1のアナログ」は、天然GLP-1のアナログを指す。それは本明細書中で定義するような天然GLP-1は含まない。特に用語「GLP-1アナログ」は、グルカゴン(1-29)、GLP-1(1-37)およびGLP-2(1-33)、ヒトGLP-1(7-37))、ヒトGLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>、エキセンジン-3およびエキセンジン-4を含まない。

20

【0034】

特定の実施形態では、本明細書中で使用する用語「GLP-1アナログ」または「GLP-1のアナログ」は、ヒトGLP-1(7-37)またはGLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>のアナログを指す。

【0035】

GLP-1アナログの非限定的な例は、エクセナチドおよびタスボグルチドを含む。

【0036】

特定の実施形態では、「GLP-1アナログ」は、参照の天然GLP-1と比較して、または特にヒトGLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub>もしくはGLP-1(7-37)と比較して、最大17のアミノ酸修飾があるアナログを含む(すなわち、全体で最大17個のアミノ酸が修飾されており、その変化はアミノ酸置換、付加および/または欠失であってよい)。

30

【0037】

その光学異性体を言及していない全てのアミノ酸は、L-異性体を意味すると理解されたい。

【0038】

本発明の幾つかの実施形態では、参照の天然GLP-1と比較して、または特にヒトGLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub>もしくはGLP-1(7-37)と比較して、最大17個のアミノ酸が修飾されている(置換、欠失、付加、またはこれらの任意の組合せ)。本発明の幾つかの実施形態では、最大15個のアミノ酸が修飾されている。本発明の幾つかの実施形態では、最大10個のアミノ酸が修飾されている。本発明の幾つかの実施形態では、最大8個のアミノ酸が修飾されている。本発明の幾つかの実施形態では、最大7個のアミノ酸が修飾されている。本発明の幾つかの実施形態では、最大6個のアミノ酸が修飾されている。本発明の幾つかの実施形態では、最大5個のアミノ酸が修飾されている。本発明の幾つかの実施形態では、最大4個のアミノ酸が修飾されている。本発明の幾つかの実施形態では、最大3個のアミノ酸が修飾されている。本発明の幾つかの実施形態では、最大2個のアミノ酸が修飾されている。本発明の幾つかの実施形態では、参照の天然GLP-1と比較して、または特にヒトGLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub>もしくはGLP-1(7-37)と比較して、1個のアミノ酸が修飾されている。特定の実施形態では

40

50

、このパラグラフのアミノ酸修飾はヒトGLP-1(7-37)に関するものである。

【0039】

特定の実施形態では、GLP-1アナログは、GLP-1(7-37)またはGLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub>と比較して、位置34にLysからArgへのアミノ酸残基の置換、すなわちArg<sup>34</sup>を含む。特定の実施形態では、GLP-1アナログは、位置8にAlaからAib( -アミノ-イソ酪酸)へのアミノ酸残基の置換、すなわちAib<sup>8</sup>を含む。特定の実施形態では、GLP-1アナログは、GLP-1(7-37)またはGLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub>と比較して、Arg<sup>34</sup>置換、Aib<sup>8</sup>置換、またはArg<sup>34</sup>置換とAib<sup>8</sup>置換の両方、およびおそらくさらに1個のアミノ酸修飾を有する。特定の実施形態では、このパラグラフのアミノ酸修飾はヒトGLP-1(7-37)に関するものである。

【0040】

ペプチドに関して本明細書中で使用する用語「誘導体」は、少なくとも1個の置換基が非修飾ペプチドまたはそのアナログに結合した、化学的に修飾されたペプチドまたはそのアナログ、すなわち、共有結合修飾したペプチドを意味する。置換基は「側鎖」と呼ぶこともできる。置換基が結合したペプチドは「親」ペプチドと呼ぶこともできる。

【0041】

その最も広い意味で、本明細書中で使用する用語「GLP-1誘導体」または「GLP-1の誘導体」は、天然GLP-1またはそのアナログから選択される親ペプチドの誘導体を指す。それは本明細書中で定義するような天然GLP-1は含まない。特に用語「GLP-1誘導体」は、グルカゴン(1-29)、GLP-1(1-37)およびGLP-2(1-33)、ヒトGLP-1(7-37)、ヒトGLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>、エキセンジン-3およびエキセンジン-4を含まない。

【0042】

特定の実施形態では、用語「GLP-1誘導体」または「GLP-1の誘導体」は、ヒトGLP-1(7-37)またはGLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>またはそのアナログから選択される親ペプチドの誘導体を指す。

【0043】

特定の実施形態では、本明細書中で使用する用語「GLP-1誘導体」または「GLP-1の誘導体」は、GLP-1アナログから選択される親ペプチドの誘導体であって、前記アナログが、参照の天然GLP-1と比較して、または特にヒトGLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub>もしくはGLP-1(7-37)と比較して、または特にヒトGLP-1(7-37)と比較して、最大17個のアミノ酸修飾を含む誘導体を指す。一実施形態では、特にGLP-1(7-37)と比較して定義するとき、「GLP-1誘導体」はGLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>を含まない。

【0044】

典型的な修飾基は、親ペプチドのアミド、炭水化物、アルキル基、アシル基、エステル、ポリエチレングリコール(PEG)基、シアリル化基、グリコシル化基などである。一実施形態では、親ペプチドは前に定義したGLP-1アナログである。

【0045】

特定の実施形態では、側鎖は少なくとも10個の炭素原子、または少なくとも15、20、25、30、35、または少なくとも40個の炭素原子を有する。さらなる特定の実施形態では、側鎖は少なくとも5個のヘテロ原子、特にOおよびN、例えば少なくとも7、9、10、12、15、17、もしくは少なくとも20個のヘテロ原子、少なくとも1、2、もしくは3個のN-原子、および/または少なくとも3、6、9、12、もしくは15個のO-原子などをさらに含むことができる。

【0046】

一実施形態では、用語「GLP-1誘導体」はアシル化GLP-1親ペプチドを指す。特定の実施形態では、用語「GLP-1誘導体」は、参照の天然GLP-1と比較して、または特にヒトGLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub>もしくはGLP-1(7-37)と比較して、最大17個のアミノ酸修飾を含むGLP-1アナログから親ペプチドが選択される、アシル化GLP-1親ペプチドを指す。

【0047】

側鎖は、アシル化によりGLP-1親ペプチドのリシン残基に共有結合させることが可能である。追加的または代替的な化学結合には、アルキル化、エステル形成、またはアミド形

10

20

30

40

50

成、またはマレイミドまたはハロアセトアミド(プロモ-/フルオロ-/ヨード-などの)カップリングなどによるシステイン残基へのカップリングがある。

【0048】

調製用に、側鎖の活性エステルを、アミド結合の形成下で、リシン残基のアミノ基、好ましくはそのアミノ基と共有結合させる(このプロセスはアシル化と呼ばれる)。

【0049】

好ましい側鎖には、例えば脂肪酸および脂肪二酸がある。脂肪酸という用語は、4~28個の炭素原子を有する脂肪族モノカルボン酸を指す。脂肪酸は分岐状または非分岐状であってよい。脂肪酸は偶数であることが好ましい。脂肪酸は飽和または不飽和であってよい。脂肪二酸という用語は、前に定義した脂肪酸、ただしオメガの位置に追加的カルボン酸基を有する脂肪酸を指す。したがって、脂肪二酸はジカルボン酸である。

10

【0050】

特定の実施形態では、側鎖は、場合によってはスペーサーと共に、10~20個の炭素原子、および好ましくは14~20または16~18個の炭素原子を有する脂肪酸である。

【0051】

特定の実施形態では、側鎖は、 $m$ が8~18の整数であり、場合によってはリンカーを含む、化学式1:  $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_m\text{CO}$ の脂肪酸である。特定の実施形態では、 $m$ は12~18または14~16の整数である。

【0052】

特定の実施形態では、側鎖は、 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}-$ 、 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}-$ 、 $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{22}\text{CO}-$ 、 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}-$ 、 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}-$ および $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}-$ からなる群から選択される。

20

【0053】

一実施形態では、用語「GLP-1誘導体」は、モノアシル化GLP-1親ペプチド、すなわち前に定義したただ1個のアシル化を含むGLP-1親ペプチドを含むか、またはそれを指す。

【0054】

特定の実施形態では、側鎖は、酸性基が好ましくはスペーサーを介してGLP-1化合物中のリシン残基のアミノ基とアミド結合を形成する、脂肪酸または脂肪二酸である。一実施形態では、特に親ペプチドがヒトGLP-1(7-37)、GLP-1(7-36) $\text{NH}_2$ またはGLP-1アナログであるとき、前記リシン残基は $\text{Lys}^{26}$ である。

【0055】

特定の実施形態では、リンカーによって側鎖を親ペプチドに結合させる。特定の実施形態では、リンカーは -グルタミン酸(-Glu)および/または1、2もしくは3個のOEG分子を含む。Gluでは、アミノ酸グルタミン酸のカルボキシ基が、別のリンカーエレメント、またはリシンの -アミノ基との結合に利用される。OEG分子は8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸のジラジカルとも名付けられ、かつ/または化学式2:  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO}-$ によってそれを表すことができる。

30

【0056】

リンカーは1つもしくは複数の Glu、および/または1つもしくは複数のOEGを含むことができる。より詳細には、GluおよびOEGリンカーエレメントは独立に $p$ 回使用することができ、この場合 $p$ はゼロまたは1~3の範囲の整数である。好ましいリンカーの例は Glu、Glu-2xOEG、および Glu-3xOEGであり、いずれの場合も、Gluの -アミノ基は延長部分のカルボキシ基とアミド結合を形成する。

40

【0057】

特定の実施形態では、GLP-1誘導体は、ヒトGLP-1(7-37)、GLP-1(7-36) $\text{NH}_2$ と比較して $\text{Arg}^{34}$ 置換または $\text{Arg}^{34}$ および $\text{Aib}^8$ 置換を含み、 $\text{Lys}^{26}$ に結合した側鎖を含むGLP-1アナログの誘導体である。特定の実施形態では、前記側鎖は、前に定義した脂肪酸、特に $m$ が8~18の整数であり、Gluであるリンカーを場合によっては含む化学式1の脂肪酸である。

【0058】

一実施形態では、GLP-1誘導体は、参照により全容が本明細書に組み込まれている、特許出願WO98/08871およびWO06/097537中で定義されたのと同様のGLP-1誘導体である。モノ

50



アシル化GLP-1誘導体の非限定的な例は、これらの出願中に見ることができる。

【0059】

GLP-1誘導体の非限定的な例は、以下のものも含む：

N<sup>37</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Imp<sup>7</sup>,Glu<sup>22</sup>,Arg<sup>26</sup>,Arg<sup>34</sup>,Lys<sup>37</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチド

N<sup>26</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-(17-カルボキシヘプタデカノイルアミノ)ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib<sup>8</sup>,Arg<sup>34</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチド、セマグルチドとも呼ばれる、

N<sup>26</sup>-[(4S)-4-カルボキシ-4-(ヘキサデカノイルアミノ)ブタノイル]-[Arg<sup>34</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチド、リラグルチドとも呼ばれる、

N<sup>26</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N<sup>37</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib<sup>8</sup>,Arg<sup>34</sup>,Lys<sup>37</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチド、

N<sup>26</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(3-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N<sup>37</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[(4S)-4-カルボキシ-4-[12-(3-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib<sup>8</sup>,Arg<sup>34</sup>,Lys<sup>37</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチド、

リキシセナチド、

アルビグルチド、

デュラグルチド。

【0060】

特定の実施形態では、GLP-1誘導体はリラグルチドまたはセマグルチドである。

【0061】

一実施形態では、用語「GLP-1誘導体」はアルキル化GLP-1化合物を含むか、またはそれらを指す。

【0062】

天然GLP-1の化学的に修飾された誘導体は、例えば米国特許第6,451,762号またはKnudsen et.al.(2000)J Med Chem43、1664～1669頁中に記載されたように調製することができる。

【0063】

二価金属の非限定的な例には、亜鉛(Zn)、カルシウム(Ca)、マンガン(Mn)またはマグネシウム(Mg)がある。非限定的な例として、亜鉛の供給源は塩化亜鉛、酢酸亜鉛、硫化亜鉛または酸化亜鉛であってよい。特にこれらの中で、少なくとも酢酸亜鉛は溶液の容易な調製を可能にする。

【0064】

ポリカチオン性化合物の非限定的な例には、プロタミン、キトサン、キトサン誘導体、ポリリシンまたはポリアルギニンがある。非限定的な例として、ポリカチオン性化合物はプロタミンであり、塩化プロタミン、酢酸プロタミン、硫酸プロタミンに由来する。

【0065】

本発明の粒子はコアを含む。

【0066】

一実施形態では、本発明の粒子のコアは、GLP-1化合物および二価金属を含む。別の実施形態では、本発明の粒子のコアは、GLP-1化合物および二価金属からなる。

【0067】

コアにおいて、GLP-1と金属分子は同時に沈殿し、均質な混合物を形成する。本明細書

10

20

30

40

50

中で使用する用語「均質な混合物」は、コア中に存在するそれぞれの成分が均一に分布されることを意味する。一実施形態では、二価金属の溶液をGLP-1化合物の溶液に加え、GLP-1/金属粒子の沈殿をもたらす。別の実施形態では、GLP-1化合物の溶液を二価金属の溶液に加え、GLP-1/金属粒子の沈殿をもたらす。

【0068】

一実施形態では、GLP-1と金属の混合物は非晶質複合体を形成する。本明細書中で使用する用語「非晶質」は、分子がランダムに編成され結晶状態で存在しないことを意味する。別の実施形態では、GLP-1と金属の混合物は結晶質複合体を形成するか、または非晶質複合体と結晶質複合体の両方を含む。本明細書中で使用する用語「結晶質」は、偏光顕微鏡により決定して、分子が1個または数個の限定可能な形または構造に整列することを意味する。

10

【0069】

別の実施形態では、粒子のコアはポリカチオン性化合物を全くもしくは実質的に含まず、ポリカチオン性ペプチドを全くもしくは実質的に含まず、プロタミンを全くもしくは実質的に含まず、キトサンを全くもしくは実質的に含まず、ポリリシンを全くもしくは実質的に含まず、かつ/またはポリアルギニンを全くもしくは実質的に含まない。

【0070】

コア内にプロタミンなどのポリカチオン性化合物が存在しないことによって、GLP-1化合物とのゲルコンシステンシーの形成の予防を助長し、粒径の改善された制御を可能にする。実際、溶液中でのリラゲルチドおよびプロタミンなどのポリカチオン性化合物とGLP-1化合物の混合は、ゲルテクスチャーでの混合物の形成をもたらす、粒径の分布に影響を与えることが分かっている。

20

【0071】

粒子のコアでは、二価金属は粒子を安定化させ、粒子の可溶性を低下させる。二価金属はGLP-1化合物を沈殿させる。これは、注射前に、上清、即ち粒子を含む組成物への、粒子からの遊離GLP-1の放出を低下させる(図1および実施例1参照)。

【0072】

一実施形態では、粒子のコアにおけるGLP-1:二価金属のモル比は1: 2または1:>2である。これは、粒子のコアがGLP-1分子当たり少なくとも2個の二価金属分子(1: 2)、またはGLP-1分子当たり2個より多い二価金属分子(1:>2)を含むことを意味する。別の実施形態では、粒子のコアにおけるGLP-1:二価金属のモル比は1: 2.1または1:>2.1または1:2.1である。別の実施形態では、粒子のコアにおけるGLP-1:二価金属のモル比は1: 2.2または1:>2.2または1:2.2である。別の実施形態では、粒子のコアにおけるGLP-1:二価金属のモル比は1:2.0と1:5との間、1:2.1と1:5との間、1:2.0と1:4との間、1:2.1と1:4との間、1:2.0と1:3との間、1:2.1と1:3との間、1:2.0と1:2.4との間、1:2.1と1:2.4との間、または1:2.1と1:2.3との間である。これらの実施形態は過剰な二価金属分子を回避し、他の場合望ましくない組織反応をもたらす得る上清中の遊離二価金属分子の存在を制限する。これらの実施形態は有利なことに、上清中の遊離GLP-1の存在も制限する。

30

【0073】

前述の比は、粒子を含む組成物中への遊離GLP-1の望ましくない放出の、低下または全体的予防と関係がある(イソフェン比)。上清中の考えられる限り多くのGLP-1を回避するためのこの戦略は、突発的放出、および注射部位反応などの関連副作用を最小にする。それは、粒子およびGLP-1分子自体の、化学的および物理的安定性も高める。それは、身体への注射後のGLP-1化合物の徐放、および関連遅延作用の制御および増大も手助けする。

40

【0074】

本発明の粒子は、コア周囲に層も含む。この層は、粒子のコア周囲に存在し、それを覆う。言い換えると、層はコアの表面をコーティングし、粒子の一部である。周囲層を形成するポリカチオン性化合物は、粒子のコアの表面上に結合する。これは、上清中の遊離ポリカチオン性化合物の存在の制限に貢献する。特に用語「層」は、コアが単に懸濁し得る組成物は表さない。

50

## 【0075】

一実施形態では、この層はコアの大部分を覆い、したがってコアのごく一部分のみが、粒子を含む組成物などの外部環境と直接接触する。一実施形態では、この層はコアの外側表面全体を覆い、したがってコアのいずれの成分も、粒子を含む組成物などの外部環境と直接接触しない。一実施形態では、この周囲層が粒子の外側層である。それは、他の場合粒子を含む懸濁液の上清において見られ、注射部位における広範囲の組織学的反応と関係がある、遊離二価金属および遊離ポリカチオン性化合物の両方の相当濃度を回避する。

## 【0076】

前に記載したように、周囲層はポリカチオン性化合物を含むか、これらからなる。一実施形態では、粒子におけるGLP-1:ポリカチオン性化合物のモル比は1:>0.01である。別の実施形態では、GLP-1:ポリカチオン性化合物のモル比は1:0.01~1;1:>0.1;1:>0.11;1:0.11;1:0.12;1:>0.12;1:0.12~0.15;1:0.13;1:>0.13;1:0.13~0.15;1:0.13;1:0.14~1:0.15;1:0.14または1:0.15である。これらの実施形態は有利なことに、上清中の遊離ポリカチオン性化合物の存在を制限する。一実施形態では、本発明の粒子は200  $\mu\text{m}$ 未満の体積径を有する。本明細書中で使用する用語「直径」は、粒子全体の直径を表す。本発明の粒子を含む組成物の文脈では、「直径」は、粒子全体または一部分のいずれかの平均径を表す。一実施形態では、本発明の粒子の少なくとも50%が60  $\mu\text{m}$ 未満の体積径を有する。一実施形態では、本発明の粒子の50%が40  $\mu\text{m}$ 未満の体積径を有する。一実施形態では、本発明の粒子の50%が5~35  $\mu\text{m}$ の範囲の体積径を有する。体積径を含めた粒径分布は、レーザー回折センサーを使用するSympatecからのHelos粒子分析装置を使用して決定することができる。

10

20

## 【0077】

一実施形態では、本発明の粒子は医薬組成物中に含まれる。一実施形態では組成物は、水性媒体への前記粒子の懸濁液である。

## 【0078】

さらなる利点として、組成物中に取り込まれると、GLP-1化合物は化学的および物理的分解に対して安定状態になる。

## 【0079】

一実施形態では、本発明の医薬組成物は、前に記載した粒子の非水性懸濁液である。したがって、粒子は非水性媒体、例えばMCT(中鎖トリグリセリド)などの油に懸濁することができる。粒子と非水性媒体は、事前に混合しそれによって使用できる状態にする、または別々に保存することのいずれかが可能である。後者の場合、粒子と非水性媒体の混合は使用前に行わなければならない。

30

## 【0080】

別の実施形態では、粒子を、PLGA(ポリ(乳酸-co-グリコール酸))などの少なくとも1つの生分解性ポリマー中にさらに取り込むことが可能であり、最終的な組合せは球体またはロッドのいずれかとして存在する。粒子と少なくとも1つの生分解性ポリマーの両方からなる球体は、MCTなどの油に事前に混合しそれによって使用できる状態にする、または別々に保存することのいずれかが可能である。後者の場合、球体と媒体の混合は使用前に行わなければならない。さらに、得られた球体は水性媒体と別々に保存することが可能である。この場合、球体と水性媒体の混合は使用直前に、投与前に生分解性ポリマーが分解するのを回避しなければならない。

40

## 【0081】

医薬組成物が非水性懸濁液であるとき、粒子は、水性懸濁液からの単離および乾燥によって得られる、または適切な噴霧乾燥によって生成することが好ましい。

## 【0082】

別の実施形態では、本発明の医薬組成物は、前に記載したように粒子の水性懸濁液である。したがって粒子は、以下の1個または数個も含み得る水性懸濁液中に存在する:

張度調節剤(tonifer)または等張化剤、塩化ナトリウム、グリセロール、プロピレングリコール、マンニトール、スクロース、トレハロースなど、

50

おそらく例えば塩酸、水酸化ナトリウム、酢酸などのpH調節物質を伴う、例えばTRIS(トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン)、HEPES(4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸)、GlyGlyなどの緩衝液、

例えばフェノール、m-クレゾール、ベンジルアルコール、およびこれらの混合物などの防腐剤、

例えばアミノ酸、界面活性剤などの追加的安定剤。

【0083】

医薬組成物が水性懸濁液であるとき、粒子は然るべく使用し、水性媒体中でさらに処理する、または適切な噴霧乾燥によって生成し、次に新たな水性媒体中に再懸濁することが好ましい。

10

【0084】

本発明は、注射用として、例えば非限定的に、皮下、筋肉内または腹腔内投与経路に特に有用である。

【0085】

一実施形態では、水中に溶解もしくは懸濁したときの本発明の粒子、または、本発明の粒子を含む組成物は、4と8.2との間のpHを有する。別の実施形態では、前記pHは7.2と8.2との間、7.4と8.2との間、7.4と7.9との間、7.6と8.0との間、または7.7と7.9との間であり、または前記pHは7.4、7.6、7.8、8.0または8.2である。したがって、懸濁液の上清中にGLP-1が溶解していない、狭い範囲の粒径を伴う懸濁液を得ることができる。他に示さない限り、pH値は室温、例えば20~26 または23~25 近辺であると考える。

20

【0086】

一実施形態では、本発明の粒子または組成物は、24時間を超える、72時間を超える、最大3日間、4日間、5日間、7日間または最大8日間の、身体への注射後のGLP-1化合物のタイムリリース(in vivo血漿プロファイル)を可能にする。

【0087】

別の実施形態では、本発明の本発明の粒子または組成物は、7日を超える、8日を超える、9日を超える、10日を超える、14日を超える、15日を超える、20日を超える、21日を超える、29日を超える、30日を超える、31日を超える、または最大1カ月の、身体への注射後のGLP-1化合物のタイムリリース(in vivo血漿プロファイル)を可能にする。

【0088】

30

特に、非水性媒体または生分解性ポリマーの一方、または両方と粒子を組み合わせたとき、単に水性媒体に懸濁した粒子からのGLP-1の徐放プロファイルと比較して、より一層のGLP-1分子に関する徐放プロファイルをもたらすことができる。

【0089】

一実施形態では、本発明の粒子を含む組成物、特に粒子の懸濁液は、最大100mg/mLまたは0.1mg/mLと100mg/mLとの間の濃度のGLP-1化合物を含む。一実施形態では、組成物は35mg/mLと45mg/mLとの間、37mg/mLと43mg/mLとの間、または40mg/mLの濃度のGLP-1化合物を含む。例えば、最大40mg/mLのリラグルチドを含む粒子の医薬組成物を得ている。

【0090】

一実施形態では、本発明の粒子は、標的身体に注射すると突発的放出の低下を示す。

40

【0091】

一実施形態では、本発明の粒子は、懸濁液の形態であるとき低い沈降率を示す。例えば、本発明の粒子は、再懸濁後5分で80%より高い沈降率、90または95%などを有する可能性がある。5分で80%より高い沈降率は、この懸濁液中の固体がこの5分以内に(懸濁液全体の)20%未満沈殿することを意味する。

【0092】

一実施形態では、本発明の粒子は、それらを含む医薬組成物を、少なくとも50  $\mu$ L/秒の投与率において、例えば25N(ニュートン)より小さい投与力、すなわち注射力で、28G(ゲージ)以下の注射針または30Gレギュラーウォール針を介して容易に注射可能にする。

【0093】

50

別の実施形態では、Zn:GLP-1のモル比は、十分高いpH値で亜鉛が上清中に多量に存在し水酸化亜鉛( $\text{Zn}(\text{OH})_2$ )沈殿の形成を回避する場合の値を超えない。これらの $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 沈殿は、例えばコア中で亜鉛とGLP-1化合物が非晶質複合体の形態であるとき、高すぎるpH値で生成する場合に出現し得る。これらの水酸化亜鉛沈殿は、注射部位で重大な組織反応を引き起こす可能性がある。

【0094】

イソフェン滴定試験によって、二価金属、およびポリカチオン性化合物の必要とされる最小濃度を決定して、調査するpHで上清中の全3個の成分の量を最小にすることが可能となっている。

【0095】

10

図1中に示すように、組成物のpHは粒子の可溶性に影響を与える。例えば、室温およびpH7では、GLP-1分子当たり少なくとも1.3個の亜鉛が、遊離GLP-1を上清中に放出させないために必要とされ、室温およびpH7.8では、GLP-1分子当たり少なくとも2個の亜鉛が、上清中への遊離GLP-1の放出を完全に妨げるのに必要とされる。2.0:1と2.2:1との間、または2.0:1、2.1:1もしくは2.2:1のZn:GLP-1のモル比を使用して、医薬製剤において生じ得るpHの逸脱を補正して、製剤保存中のいかなる時間においても上清中に遊離GLP-1が放出されないことを確実にする。

【0096】

図2中に示すように、ポリカチオン性化合物とGLP-1化合物との間のモル比は、上清中に粒子から放出される遊離ポリカチオン性化合物の量に影響を与える。図3中に示すように、pHも遊離ポリカチオン性化合物の放出に影響を与える。例えば、pH7.8、コアにおいてリラグチド分子当たり0.11のプロタミン分子で、上清中に遊離プロタミンは存在しない。GLP-1化合物当たり0.13、0.14または0.15のポリカチオン性化合物のモル比で、7.7~7.9のpH範囲において、上清中のプロタミンを最小にすることは可能である。

20

【0097】

したがって、以下の実施形態も本発明の一部である：

GLP-1化合物、二価金属およびポリカチオン性化合物を含む粒子であって、前記粒子がコアおよび周囲層を含み、コアがGLP-1化合物および二価金属を含み、周囲層がポリカチオン性化合物を含み、以下の通りである粒子：

【0098】

30

1-GLP-1:二価金属のモル比が1:>2である。

【0099】

2-GLP-1化合物がGLP-1アナログおよびGLP-1誘導体からなる群から選択され、GLP-1:二価金属のモル比が1:>2である。

【0100】

3-GLP-1化合物がGLP-1アナログおよびGLP-1誘導体からなる群から選択され、GLP-1:二価金属のモル比が1:2.1~2.4である。

【0101】

4-GLP-1化合物がGLP-1アナログおよびGLP-1誘導体からなる群から選択され、7.4と8.0との間または7.7と8.0との間のpHを有する医薬組成物中に粒子が含まれる。

40

【0102】

5-GLP-1化合物がGLP-1アナログおよびGLP-1誘導体からなる群から選択され、GLP-1:二価金属のモル比が1:2.1~2.4であり、7.4と8.0との間または7.4と7.9との間のpHを有する医薬組成物中に粒子が含まれる。

【0103】

6-GLP-1化合物がGLP-1アナログおよびGLP-1誘導体からなる群から選択され、GLP-1:二価金属のモル比が1:2.1~2.4であり、7.7と8.0との間または7.7と7.9との間のpHを有する医薬組成物中に粒子が含まれる。

【0104】

7-GLP-1:二価金属のモル比が1:>2であり、GLP-1:ポリカチオン性化合物のモル比が1:0.

50

01～1である。

【0105】

8-GLP-1:二価金属のモル比が1:2.1～2.4であり、GLP-1:ポリカチオン性化合物のモル比が1:0.13～0.15である。

【0106】

9-GLP-1化合物がGLP-1アナログおよびGLP-1誘導体からなる群から選択され、GLP-1:二価金属のモル比が1:2.1～2.4であり、GLP-1:ポリカチオン性化合物のモル比が1:0.13～0.15である。

【0107】

10-GLP-1化合物がGLP-1アナログおよびGLP-1誘導体からなる群から選択され、GLP-1:二価金属のモル比が1:2.1～2.4であり、GLP-1:ポリカチオン性化合物のモル比が1:0.13～0.15であり、組成物において35mg/mlと45mg/mlとの間または40mg/mlのGLP-1濃度を有する医薬組成物中に粒子が含まれる。

10

【0108】

11-GLP-1化合物がGLP-1アナログおよびGLP-1誘導体からなる群から選択され、GLP-1:ポリカチオン性化合物のモル比が1:0.13～0.15であり、7.4と8.0との間または7.7と8.0との間のpHを有する医薬組成物中に粒子が含まれる。

【0109】

12-GLP-1化合物がGLP-1アナログおよびGLP-1誘導体からなる群から選択され、GLP-1:二価金属のモル比が1:2.1～2.4であり、GLP-1:ポリカチオン性化合物のモル比が1:0.13～0.15であり、7.4と8.0との間または7.4と7.9との間のpHを有する医薬組成物中に粒子が含まれる。

20

【0110】

13-GLP-1化合物がGLP-1アナログおよびGLP-1誘導体からなる群から選択され、GLP-1:二価金属のモル比が1:2.1～2.4であり、GLP-1:ポリカチオン性化合物のモル比が1:0.13～0.15であり、7.4と8.0との間または7.4と7.9との間のpHを有する医薬組成物中に粒子が含まれ、組成物におけるGLP-1濃度が35mg/mlと45mg/mlとの間または40mg/mlである。

【0111】

14-GLP-1化合物がGLP-1アナログおよびGLP-1誘導体からなる群から選択され、GLP-1:二価金属のモル比が1:2.1～2.4であり、GLP-1:ポリカチオン性化合物のモル比が1:0.13～0.15であり、7.7と8.0との間または7.7と7.9との間のpHを有する医薬組成物中に粒子が含まれる。

30

【0112】

15-GLP-1化合物がヒトGLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub>およびグルカゴンを含まず、またはヒトGLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub>、ヒトGLP-1(7-37)およびグルカゴンを含まない。

【0113】

16-GLP-1化合物がGLP-1アナログまたはGLP-1誘導体であり、GLP-1アナログが、ヒトGLP-1-(7-36)NH<sub>2</sub>またはGLP-1(7-37)と比較して最大17のアミノ酸修飾があるヒトGLP-1(7-37)またはGLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>のアナログからなる群から選択され、GLP-1誘導体が、最大17のアミノ酸修飾があるヒトGLP-1(7-37)、GLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>またはそれらのアナログの誘導体からなる群から選択される。

40

【0114】

17-GLP-1化合物がGLP-1誘導体である。

【0115】

18-GLP-1化合物が、最大17のアミノ酸修飾があるヒトGLP-1(7-37)、GLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>またはそれらのアナログのGLP-1誘導体である。

【0116】

19-GLP-1化合物が、アミド化親ペプチド、アルキル化親ペプチド、アシル化親ペプチド、エステル化親ペプチド、PEG化親ペプチドおよび/またはシアリル化親ペプチドからなる群から選択されるGLP-1誘導体であり、親ペプチドが最大17のアミノ酸修飾があるヒトGLP-

50

-1(7-37)、GLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>またはそれらのアナログである。

【0117】

20-GLP-1化合物が、アシル化GLP-1親ペプチドからなる群から選択されるGLP-1誘導体であり、親ペプチドが最大17のアミノ酸修飾があるヒトGLP-1(7-37)、GLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>またはそれらのアナログであり、4~28個の炭素原子を有する脂肪族モノカルボン酸またはジカルボン酸からなる群から選択される親油性置換基で親ペプチドがアシル化されている。

【0118】

21-GLP-1化合物が、アシル化GLP-1親ペプチドからなる群から選択されるGLP-1誘導体であり、親ペプチドが最大17のアミノ酸修飾があるヒトGLP-1(7-37)、GLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>またはそれらのアナログであり、14~20個の炭素原子を有する脂肪族モノカルボン酸またはジカルボン酸からなる群から選択される親油性置換基で親ペプチドがアシル化されている。

【0119】

22-GLP-1化合物が、リラグルチド、セマグルチド、タスボグルチド、エクセナチド、リキシセナチド、アルビグルチド、デュラグルチドまたは

N<sup>37</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-カルボキシ-4-[[4-[(19-カルボキシノナデカノイルアミノ)メチル]シクロヘキサンカルボニル]アミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Imp<sup>7</sup>,Glu<sup>22</sup>,Arg<sup>26</sup>,Arg<sup>34</sup>,Lys<sup>37</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチドまたは

N<sup>26</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N<sup>37</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-カルボキシ-4-[10-(4-カルボキシフェノキシ)デカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib<sup>8</sup>,Arg<sup>34</sup>,Lys<sup>37</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチドまたは

N<sup>26</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-カルボキシ-4-[12-(3-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル],N<sup>37</sup>-[2-[2-[2-[[2-[2-[2-[[4S)-4-カルボキシ-4-[12-(3-カルボキシフェノキシ)ドデカノイルアミノ]ブタノイル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]アミノ]エトキシ]エトキシ]アセチル]-[Aib<sup>8</sup>,Arg<sup>34</sup>,Lys<sup>37</sup>]-GLP-1-(7-37)-ペプチドからなる群から選択される。

【0120】

23-二価金属が亜鉛であり、ポリカチオン性化合物がプロタミンである、実施形態1から22のいずれか。

【0121】

24-粒径が直径200μm未満である、実施形態1から22のいずれか。

【0122】

25-二価金属が亜鉛であり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、粒径が直径200μm未満である、実施形態1から22のいずれか。

【0123】

26-少なくとも50%の粒子が60μm未満の体積径を有し、または50%もしくは少なくとも50%の粒子が40μm未満の体積径を有し、または50%もしくは少なくとも50%の粒子が5~35μmの範囲の体積径を有する、実施形態24または実施形態25。

【0124】

簡潔性のため、実施形態1から14のいずれか1つと実施形態15から26のいずれか1つの具体的な組合せは、ここでは文中に報告しないが、本開示の一部であると考えべきである。同じことが、実施形態23と実施形態1から14のいずれか1つ、および実施形態15から22のいずれか1つの具体的な組合せ、実施形態24と実施形態1から14のいずれか1つ、および実施形態15から22のいずれか1つの具体的な組合せ、実施形態25と実施形態1から14のいずれか1つ、および実施形態15から22のいずれか1つの具体的な組合せ、および実施形態26と実施形態1から14のいずれか1つ、および実施形態15から22のいずれか1つの具体的な組合せに当てはまる。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 2 5 】

27-GLP-1化合物がリラグルチドであり、二価金属が亜鉛であり、リラグルチド:亜鉛のモル比が1:2.0~2.4または1:2.1~2.4である。

## 【 0 1 2 6 】

28-GLP-1化合物がリラグルチドであり、二価金属が亜鉛であり、リラグルチド:亜鉛のモル比が1:>2であり、粒子が医薬組成物中に含まれ、組成物中のリラグルチド濃度が35mg/mlと45mg/mlとの間または40mg/mlである。

## 【 0 1 2 7 】

29-GLP-1化合物がリラグルチドであり、二価金属が亜鉛であり、リラグルチド:亜鉛のモル比が1:2.1~2.4であり、粒子が医薬組成物中に含まれ、組成物中のリラグルチド濃度が35mg/mlと45mg/mlとの間または40mg/mlである。

10

## 【 0 1 2 8 】

30-pH 7.7、pH 7.8、7.7と8.0との間のpH、7.7と7.9との間のpH、7.7のpH、7.8のpHまたは7.9のpHを有する組成物において、GLP-1化合物がリラグルチドであり、二価金属が亜鉛であり、リラグルチド:亜鉛のモル比が1:2.0~2.4、1.1:2.1~2.4または1:2.2である。

## 【 0 1 2 9 】

31-GLP-1化合物がリラグルチドであり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、リラグルチド:プロタミンのモル比が1:0.13~0.15である。

## 【 0 1 3 0 】

32-pH 7.7、pH 7.8、7.7と8.0との間のpH、7.7と7.9との間のpH、7.7のpH、7.8のpHまたは7.9のpHを有する組成物において、GLP-1化合物がリラグルチドであり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、リラグルチド:プロタミンのモル比が1:0.13~0.15である。

20

## 【 0 1 3 1 】

33-7.8のpHまたはpH 7.8を有する組成物において、GLP-1化合物がリラグルチドであり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、リラグルチド:プロタミンのモル比が1:0.11または1:>0.11または1:0.11である。

## 【 0 1 3 2 】

34-GLP-1化合物がリラグルチドであり、二価金属が亜鉛であり、リラグルチド:亜鉛のモル比が1:2.0~2.4または1:2.1~2.4であり、粒子のコアがポリカチオン性化合物を含まない。

30

## 【 0 1 3 3 】

35-pH 7.7、pH 7.8、7.7と8.0との間のpH、7.7と7.9との間のpH、7.7のpH、7.8のpHまたは7.9のpHを有する組成物において、GLP-1化合物がリラグルチドであり、二価金属が亜鉛であり、リラグルチド:亜鉛のモル比が1:2.0~2.4、1.1:2.1~2.4または1:2.2であり、粒子のコアがポリカチオン性化合物を含まない。

## 【 0 1 3 4 】

36-GLP-1化合物がリラグルチドであり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、リラグルチド:プロタミンのモル比が1:0.13~0.15であり、粒子のコアがポリカチオン性化合物を含まない。

40

## 【 0 1 3 5 】

37-pH 7.7、pH 7.8、7.7と8.0との間のpH、7.7と7.9との間のpH、7.7のpH、7.8のpHまたは7.9のpHを有する組成物において、GLP-1化合物がリラグルチドであり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、リラグルチド:プロタミンのモル比が1:0.13~0.15であり、粒子のコアがポリカチオン性化合物を含まない。

## 【 0 1 3 6 】

38-7.7のpHまたはpH 7.7を有する組成物において、GLP-1化合物がリラグルチドであり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、リラグルチド:プロタミンのモル比が1:0.11または1:>0.11であり、粒子のコアがポリカチオン性化合物を含まない。

50



## 【 0 1 3 7 】

39-GLP-1化合物がリラグルチドであり、二価金属が亜鉛であり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、リラグルチド:亜鉛:プロタミンのモル比が1:2.0~2.4:0.13~0.15または1:2.1~2.4:0.13~0.15である。

## 【 0 1 3 8 】

40-pH 7.7、pH 7.8、7.7と8.0との間のpH、7.7と7.9との間のpH、7.7のpH、7.8のpHまたは7.9のpHを有する組成物において、GLP-1化合物がリラグルチドであり、二価金属が亜鉛であり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、リラグルチド:亜鉛:プロタミンのモル比が1:2.0~2.4:0.13~0.15または1:2.1~2.4:0.13~0.15である。

## 【 0 1 3 9 】

41-GLP-1化合物がリラグルチドであり、二価金属が亜鉛であり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、リラグルチド:亜鉛:プロタミンのモル比が1:2.0~2.4:0.14~0.15または1:2.1~2.4:0.13~0.15であり、粒子のコアがポリカチオン性化合物を含まない。

10

## 【 0 1 4 0 】

42-pH 7.7、pH 7.8、7.7と8.0との間のpH、7.7と7.9との間のpH、7.7のpH、7.8のpHまたは7.9のpHを有する組成物において、GLP-1化合物がリラグルチドであり、二価金属が亜鉛であり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、リラグルチド:亜鉛:プロタミンのモル比が1:2.0~2.4:0.14~0.15または1:2.1~2.4:0.13~0.15であり、粒子のコアがポリカチオン性化合物を含まない。

## 【 0 1 4 1 】

43-pH 7.7、pH 7.8、7.7と8.0との間のpH、7.7と7.9との間のpH、7.7のpH、7.8のpHまたは7.9のpHを有する組成物において、GLP-1化合物がリラグルチドであり、二価金属が亜鉛であり、ポリカチオン性化合物がプロタミンであり、リラグルチド:亜鉛:プロタミンのモル比が1:2.2:0.13、1:2.2:0.14または1:2.2:0.15である。

20

## 【 0 1 4 2 】

44-GLP-1化合物と二価金属が非晶質複合体および/または結晶質複合体を形成する。

## 【 0 1 4 3 】

47-粒径が直径200 μm未満である、実施形態27から44のいずれか1つ。

## 【 0 1 4 4 】

48-少なくとも50%の粒子が60 μm未満の体積径を有する、実施形態27から44のいずれか1つ。

30

## 【 0 1 4 5 】

49-少なくとも50%の粒子が40 μm未満の体積径を有する、実施形態27から44のいずれか1つ。

## 【 0 1 4 6 】

50-少なくとも50%の粒子が5~35 μmの範囲の体積径を有する、実施形態27から44のいずれか1つ。

## 【 0 1 4 7 】

51-粒子のコアにおけるGLP-1:二価金属のモル比が1/2または1:>2である。

## 【 0 1 4 8 】

52-粒子におけるGLP-1:ポリカチオン性化合物のモル比が1:>0.01である。

40

## 【 0 1 4 9 】

53-医薬組成物中に粒子が含まれる、前述の実施形態のいずれか1つ。

## 【 0 1 5 0 】

54-水性媒体中、非水性媒体中に懸濁され、かつ/または少なくとも1つの生分解性ポリマー中に取り込まれた、前述の実施形態のいずれか1つの粒子を含む医薬組成物。

## 【 0 1 5 1 】

一態様では、本発明は、前に定義した粒子またはそれらを含む組成物を作製する方法に関する。

## 【 0 1 5 2 】

50

本発明者らは、2ステップの手法:二価金属塩とGLP-1化合物の初期混合、次にGLP-1化合物:二価金属混合物へのポリカチオン性化合物の塩の添加において、2つの重要成分と活性成分を注意深く組み合わせることにより、相当な高濃度で徐放性懸濁液に、GLP-1化合物を製剤化することができることを発見している。

【0153】

したがって一実施形態では、本発明の方法は、GLP-1化合物を二価金属と混合する1つのステップ、およびポリカチオン性化合物をGLP-1化合物:金属混合物に加える1つのさらなるステップを含む。

【0154】

一実施形態では、本発明の方法は、

a) 塩の形態である二価金属の水溶液をGLP-1化合物の水溶液と混合して懸濁液を形成するステップ、

b) 塩の形態であるポリカチオン性化合物の水溶液、および水性緩衝溶液をステップa)から得た懸濁液に加えるステップであって、好ましくはポリカチオン性化合物の添加より前に緩衝液を加えるステップを含む。

【0155】

一実施形態では、この方法は、ステップb)から得た混合物に水を加えて望ましい最終濃度を得るステップc)も含む。

【0156】

一実施形態では、ステップa)の目的で、GLP-1化合物を溶かして適切な濃度のストックを調製する。約8~9のpHを有するGLP-1ストック溶液の濃度は、30~90mg/mLの範囲であり得る。5~7のpHを有する二価金属のストック溶液を、対イオンに応じて、0.5~1.0M範囲の範囲であり得る濃度で調製する。酢酸亜鉛の場合、1M溶液は約6.6のpH値を有する。

【0157】

ステップa)の目的で、ストック溶液は直接混合する、または混合前に予め希釈することができる。それらは激しい振動下で混合する、または適切な混合容器と組み合わせて磁気攪拌機またはプロペラを使用して攪拌する。別の選択肢は、当業者に知られているように静的混合プロセスを使用することである。この混合ステップ中に、二価金属とGLP-1化合物が共沈殿し、マイクロメートルの大きさ範囲の微小粒子からなる非溶解非晶質複合体をもたらす。それは本発明の粒子のコアを形成する粒子の懸濁液である。

【0158】

一実施形態では、混合ステップa)中、GLP-1化合物の水溶液を金属塩の水溶液の水面下に加えて塊の形成を回避し、かつ/またはGLP-1化合物の水溶液がアルカリ性のpHを有し、金属塩の水溶液が酸性のpHを有する。一実施形態では、GLP-1の水溶液のpHは約9.0である。一実施形態では、金属塩の水溶液のpHは約6.6である。

【0159】

一実施形態では、混合ステップa)中、金属塩溶液をGLP-1溶液に加える。別の実施形態では、混合ステップa)中、GLP-1溶液を金属塩溶液に加える。この後者の実施形態は、特にGLP-1化合物の水溶液がアルカリ性のpHを有し、金属塩の水溶液が酸性のpHを有するとき、水酸化亜鉛の微小結晶粒子の形成を回避する。

【0160】

一実施形態では、トリス溶液、または少量の水酸化ナトリウムを含有するトリスなどの緩衝溶液を、ステップa)の混合後およびポリカチオン性化合物の添加前に加えて、最終製剤のpHを得る。リラグルチド溶液中での水酸化ナトリウム単独の使用は十分ではなく、製剤のpHは放置によって低下することが分かった。リラグルチド溶液中でのリン酸ナトリウムの使用は、放置中に製剤においてリン酸亜鉛結晶の形成をもたらす可能性がある。例えば、ポリカチオン性化合物の添加前に25mMの最終製剤濃度まで未調整トリス溶液を加えることによって、したがってごくわずかな最終pH調整が必要であるか、または全く必要ではない。

10

20

30

40

50

## 【0161】

一実施形態では、ステップb)の目的で、ポリカチオン性化合物の塩のストック溶液を調製する。ストック溶液の濃度は、選択するポリカチオン性化合物の対イオンに応じて、少なくとも20mg/mLであってよい。ポリカチオン性化合物は、ストック溶液またはストック溶液の事前希釈液から、非晶質GLP-1:金属粒子を含有する水性懸濁液に直接加えることができる。このステップは粒子を含む製剤をもたらし、粒子はコアを含み、コアはGLP-1と二価金属の非晶質かつ均質な複合体混合物を含むかそれらからなり、その上ではポリカチオン性化合物の層が非共有結合的複合体形成で層状になっている。

## 【0162】

一実施形態では、ポリカチオン性化合物のストック溶液をNaClで調製する。ポリカチオン性化合物の可溶性は、適切な温度でNaClを加えることにより、有意に増大することが分かっている。これは高濃度の保存および/または使用を可能にし、必要とされるポリカチオン性化合物ストック溶液の体積を減らす。これによって、GLP-1化合物ストック溶液または金属塩の溶液のいずれかにより多量の体積が利用可能になる。したがって、GLP-1化合物の水溶液および金属塩の水溶液に関する、混合プロセスを制御することは容易である。この結果として、コア沈殿の粒径を制御することは容易である。したがって、特に高温での保存後、最終製剤の注入性が改善される。例えば、0.3Mの濃度に相当する塩化ナトリウムを加えると30~60mg/mLの硫酸プロタミンストック溶液が21 で入手可能であり、0.5Mの濃度に相当する塩化ナトリウムを加えると30~80mg/mLの硫酸プロタミンストック溶液が21 で入手可能である。

10

20

## 【0163】

前述のように、緩衝溶液を、ステップa)の混合後およびポリカチオン性化合物の添加前に加えることによって、前述のストック溶液の混合物のpHを調整することもできる。緩衝液および水酸化ナトリウムの量を注意深く選択することにより、ポリカチオン性化合物の添加後のpHの最終調整を回避することができる。したがって、滅菌的に懸濁液のアリコートを得ること、pHを測定しおそらく標的pHに達するまでの水酸化ナトリウムおよび/または適切な酸の添加によるpH調整無しに、滅菌プロセスを首尾よく実施するのは非常に容易である。

## 【0164】

一実施形態では、さらなる賦形剤を加える。例えば、グリセロールまたは塩化ナトリウムなどの等張化剤を使用して、血清と等しいオスモル濃度を得る。等張化剤を最終賦形剤として加える必要はない。それは金属塩溶液への添加前に、例えばGLP-1溶液に都合よく加えることができる。

30

## 【0165】

このような粒子は、適切な噴霧乾燥プロセスを選択することによって得ることもできる。生成したGLP-1-二価金属-ポリカチオン性化合物含有粒子は、水性または非水性媒体に再懸濁することができる。

## 【0166】

したがって、別の実施形態では、本発明の方法は、  
a)二価金属およびGLP-1化合物を含む沈殿を調製するステップ、  
b)ステップa)の沈殿を噴霧乾燥して粉末を形成するステップ、  
c)水性媒体中または非水性媒体中でステップb)から得た粉末を再懸濁するステップ、  
d)ポリカチオン性化合物の塩の溶液および緩衝液をステップc)から得た懸濁液に加えるステップ  
を含む。

40

## 【0167】

以下のコメントは、前述の方法および以下の方法に当てはまる。

## 【0168】

ステップa)の調製は、前に記載した混合ステップa)と同様に行う。

## 【0169】

50

ステップb)の目的で、噴霧乾燥法が当業者に知られている。最適な粒径分布が得られる。

【0170】

ステップc)の目的で、水性媒体は当業者に知られている適切な等オスモル濃度培地であってよく、非水性媒体は当業者に知られている薬学的に許容される油であってよい。

【0171】

緩衝液およびポリカチオン性化合物は、単に最終水性製剤を得る目的でステップd)において加える。別の実施形態では、非水性組成物が望ましいとき、ステップd)におけるポリカチオン性化合物の塩の溶液および緩衝液の添加を、ステップc)から得る懸濁液よりステップb)の噴霧乾燥中に優先する。ステップb)の噴霧乾燥中のポリカチオン性化合物の添加も、最終水性製剤を調製するのに考えられる。緩衝液を加えて最終製剤に望ましいpHを得る。ステップb)の噴霧乾燥中に加えるとき、ポリカチオン性化合物は溶液として加える。

10

【0172】

一実施形態では、滅菌条件下で方法を実施する。

【0173】

別の実施形態では、本発明の方法は、

- a) 二価金属およびGLP-1化合物を含む沈殿を調製するステップ、
- b) 緩衝液のポリカチオン性化合物の塩の溶液をステップa)の沈殿に加えるステップ、
- c) ステップb)の沈殿を噴霧乾燥して粉末を形成するステップ
- d) 水性媒体中または非水性媒体中でステップb)から得た粉末を再懸濁するステップ

20

を含む。

【0174】

別の実施形態では、本発明の方法は、

- a) 二価金属およびGLP-1化合物を含む沈殿を調製するステップ、
- b) ステップa)の沈殿を高圧均質化および/または超音波処理するステップ、
- c) ポリカチオン性化合物の塩の水溶液および水性緩衝溶液をステップb)の沈殿に加えるステップ

を含む。

【0175】

ステップb)の目的では、高圧ホモジナイザー(例えば、Avestin(登録商標)Inc., Canadaから入手可能なEmulsiFlex-C5(登録商標))および標準型超音波システムが、当業者に知られている。

30

【0176】

医薬組成物が粒子の非水性懸濁液であるとき、粒子は、水性懸濁液からの単離および乾燥によって得られる、または適切な噴霧乾燥によって生成することが好ましい。

【0177】

医薬組成物が粒子の水性懸濁液であるとき、粒子は単離せずに使用する、または適切な噴霧乾燥によって生成することが好ましい。

【0178】

生成する組成物の薬物動態的および薬力学的性質は、動物または臨床試験によって評価することができる。組成物の放出特性は、適切なin vitro放出試験によって評価することもできる。

40

【0179】

生成する組成物の化学的および物理的安定性は、標準的な安定性試験を実施すること、GLP-1化合物または選択した賦形剤、および全体的に組成物を特徴付けるのに適した、適切な分析法を利用することによって評価することができる。

【0180】

別の態様では、本発明は、前に記載した方法によって得られる粒子および組成物に関する。

【0181】

50

一態様では、本発明は、前に記載した粒子を含む医薬組成物に関する。

【0182】

別の態様では、本発明は、医薬品 (medicament) として使用するための、粒子またはこのような粒子を含む医薬組成物に関する。

【0183】

別の態様では、本発明は、代謝性疾患の治療のために使用する、粒子またはこのような粒子を含む医薬組成物に関する。代謝性疾患の非限定的な例には、糖尿病および肥満症がある。

【0184】

別の態様では、本発明は、注射投与による治療剤として使用するための、粒子またはこのような粒子を含む医薬組成物に関する。

【0185】

別の態様では、本発明は、1日(24時間)当たりで1回より少ない投与頻度で医薬品として使用するための、粒子またはこのような粒子を含む医薬組成物に関する。

【0186】

一実施形態では、投与の頻度は、1日1回未満および1週間(7日)当たり最大1回、1週間に2回以下、1週間に3回以下、1週間に4回以下、1週間に5回以下、または1週間に6回以下である。

【0187】

一実施形態では、1日(24時間)当たりで1回より少なく、かつ1週間(7日)当たり最大1回、1週間に2回以下、1週間に3回以下、1週間に4回以下、1週間に5回以下、または1週間に6回以下の注射投与によって、治療、特に糖尿病の治療のため、それを使用する。

【0188】

一実施形態では、6日毎に1回、または5日毎に1回、または4日毎に1回、または3日毎に1回、または2日毎に1回、または1日毎に1回より低い頻度の注射投与によって、治療、特に糖尿病の治療のため、それを使用する。

【0189】

一実施形態では、2~3日毎に1回、3~4日毎に1回、4~5日毎に1回、5~6日毎に1回、6~7日毎に1回、5~7日毎に1回、4~7日毎に1回、3~7日毎に1回、または2~7日毎に1回の注射投与によって、治療、特に糖尿病の治療のため、それを使用する。

【0190】

一実施形態では、投与の頻度は、1週間(7日)に1回未満、1カ月に1回未満、または1カ月(28、29、30または31日)当たり最大1回、1カ月に2回以下、1カ月に3回以下、1カ月に4回以下、または1カ月に5回以下である。

【0191】

一実施形態では、1週間(7日)に1回未満、1カ月に1回未満、または1カ月(28、29、30または31日)当たり最大1回、1カ月に2回以下、1カ月に3回以下、1カ月に4回以下、または1カ月に5回以下の注射投与によって、治療、特に糖尿病の治療のため、それを使用する。

【0192】

一実施形態では、27~31日毎に1回、または22~27日毎に1回、または19~21日毎に1回、または15~20日毎に1回、または12~15日毎に1回、または8~12日毎に1回、または毎週1回より低い頻度の注射投与によって、治療、特に糖尿病の治療のため、それを使用する。

【0193】

一実施形態では、27~31日毎に1回、または22~27日毎に1回、または19~21日毎に1回、または15~20日毎に1回、または12~15日毎に1回、または8~12日毎に1回、または毎週1回より低い頻度の注射投与によって、治療、特に糖尿病の治療のため、それを使用する。

【0194】

(実施例)

10

20

30

40

50

## (a) 粒子の形態

本発明の粒子の特定の形態、すなわち亜鉛-リラグルチドコア、およびこのコアの表面を覆うプロタミンは、様々な分析技法によって実証されている(データ示さず):

【0195】

i. 偏光顕微鏡分析によって、最終懸濁液が非晶質であることを示す。

【0196】

ii. 共焦点ラマン分光法のデータは、プロタミンは主にリラグルチド-亜鉛粒子の表面またはその近辺に存在するという仮説を支持する。さらに、FTIR(フーリエ変換赤外)分光法のデータは、リラグルチドが粒子内に完全な状態、ヘプタマー型で保たれることを支持する。それ以外に、リラグルチドと亜鉛がコア内に均質な形式で存在する。

【0197】

iii. 40mMの塩酸溶液を用いた最終粒子懸濁液の処理によって、それは全て溶解する。3.2mMの塩酸溶液を用いた最終懸濁液の処理によって、リラグルチド-亜鉛粒子は依然存在し、最終粒子懸濁液中の全てのプロタミンは3.2mMの塩酸溶液中に溶解する。

【0198】

(b) プロタミンを含まないかまたは亜鉛を含まない組成物と比較したリラグルチド-亜鉛-プロタミン粒子

水性リラグルチドおよび亜鉛塩溶液の混合物の調製は、リラグルチド:亜鉛からなる非晶質粒子の懸濁液をもたらすことが分かっている。ブタへの皮下注射時に、リラグルチドの溶液と比較して、この懸濁液は有意な血漿中徐放プロファイルがないPKプロファイルをもたらす。

【0199】

リラグルチドとプロタミンの混合が、適切な生成物または懸濁液を生成しないことも分かっている。粒径制御がない非常に粘着質の混合物のみを得る。

【0200】

しかしながら、以下の設定は十分機能することが分かっている。亜鉛とリラグルチドの組合せは適切な大きさの粒子の懸濁液を確実にする。リラグルチド-亜鉛粒子懸濁液にプロタミンを後に加えることによって、リラグルチド-亜鉛粒子は十分なプロタミン層で覆われる。得られた懸濁液は、5 での長期保存または25 以上での短期保存において再懸濁可能である。それは30G(ゲージ)TW(シンウォール)ニードルなどの微細な注射針を介して、空気中と皮下組織中の両方に注射可能である。生成する産物は、皮下投与時に適切な徐放PKプロファイルをもたらす。

【0201】

(c) 本発明の医薬組成物:

一実施形態では、本発明の医薬組成物は以下のものを含む:

【0202】

10

20

30

【表 1】

濃度(mM)	品名	濃度(mg/mL)
10.7 または 10～11.5	リラグルチド	40mg/ml
23.5 または 22.5～24.5	酢酸亜鉛	4.3mg/ml
1.5 または 1.4～1.6	硫酸プロタミン	8.0mg/ml
25 または 24～26	トリス	3.0mg/mL
72 または 70～74	塩化ナトリウム	4.2mg/ml
pH7.8		
ここでリラグルチド:亜鉛:プロタミンのモル比は[1:2.2:0.14]である。		

10

## 【0203】

この医薬組成物は以下の有益な性質を示す：

- プタモデルにおける徐放PK-血漿中プロファイル、リラグルチドの突発的放出が最小；
- ラットモデルにおいてヒスタミン放出が最小；
- プタにおける組織学的試験によって示される許容される低い組織反応；
- 優れた化学的安定性；
- 許容される物理的懸濁安定性；
- 上清中にリラグルチドが存在しない：全体のリラグルチド濃度が0.1%よりはるかに低い

20

；

- 上清中の亜鉛およびプロタミンが最小；

- 許容される投与率で、空气中または皮下組織中のいずれかに30GTW注射針を介して注射可能である。

## 【0204】

別の実施形態では、本発明の医薬組成物は以下のものを含む：

30

リラグルチド	10～11.5mM
酢酸亜鉛	22.5～24.5mM
硫酸プロタミン	1.4～1.6mM
トリス	24～26mM
塩化ナトリウム	70～74mM
pH	7.7～7.9mM

## 【0205】

(d)本発明の方法：

2.35mlの0.5M  $\text{Zn}(\text{OAc})_2$  溶液および5.0mlの0.3M NaCl溶液を、磁気攪拌ピンを含有する100ml ビーカーに加える。80mg/mlリラグルチドの25ml水溶液を、表面下に薄層カニューラにより強振動で加える。5分間の振動後、625  $\mu\text{l}$ の2Mトリス溶液(トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン)および100  $\mu\text{l}$ の1M NaOHを加える。10分間のさらなる振動後、8.4mlの50mg/ml硫酸プロタミンの0.3M NaCl中溶液を加える。最後に水を50mlの製剤体積までq.s.(十分量)加える。リラグルチド:亜鉛:プロタミンの最終モル比は1:2.2:0.15である。最終製剤のpHは7.7～7.9である。

40

## 【0206】

(e)本発明の方法：

2.26グラムのリラグルチド(88.4%タンパク質)を23 において22mlの水に溶かし、1.20mlの3M NaClを加え、溶液は濾過によって滅菌する。1175  $\mu\text{l}$ の1M酢酸亜鉛を1.0mlの水と混合し、濾過によって滅菌し、磁気攪拌ピンを備える予め重量測定した100mlの滅菌ハウヅ

50

酸塩容器(BlueCap、Duran(登録商標))に加える。リラグルチド溶液を、可能な限り速く長い23Gカニューラを介して、容器壁における表面下で亜鉛溶液に激しい振動(約400rpm)下に加える。さらに2分間の振動後、1250  $\mu$ lの滅菌1Mトリス溶液、および次に20mlの滅菌2%硫酸プロタミン溶液を加える。滅菌水を50グラムの製剤重量まで加え、懸濁液は1時間ゆっくりと振動させる。最後に2MのNaOHでpHを7.8に調整する。容器を閉じ5 で一晩放置する。翌朝pHを23 で調べ、必要な場合7.8に再調整する。次いで懸濁液をインジェクションペン(Penfill(登録商標)カートリッジ)に充填する。リラグルチド:亜鉛:プロタミンの最終モル比は1:2.2:0.14である。

【0207】

(f) 様々なpH値でのリラグルチドの亜鉛介在型沈殿:

10

リラグルチドは、亜鉛イオンを含有する溶液から定量的に沈殿することが分かっている。図1は、高い値の亜鉛:リラグルチドモル比(x軸)および様々なpHに関する、上清1mL当たりのリラグルチドのmg数での遊離リラグルチドの濃度(y軸)を示す。遊離リラグルチドの低い濃度は亜鉛と共沈殿するリラグルチドの割合が高いことを示し、また逆もいえる。

【0208】

この試験では、リラグルチドのストック溶液は12.5mMのトリス緩衝液で作製し、50mMのリラグルチドを含有した。酢酸亜鉛ストック溶液(213.2mM)を調製した。

【0209】

それぞれのサンプルに関して、適量の酢酸亜鉛ストック溶液を0.4mLのリラグルチドストック溶液に加えた。0.5mLの最終体積に達するまでMilliQをそれぞれのサンプルに加えた。旋回-混合後、pHを7.8、8.0、または8.2に調整した。pH調整後、サンプルをもう一回旋回-混合した。粒子の沈降後、上清を回収し、(15,000Gで15分間)遠心分離し、上清中のリラグルチドの含有量をUV分光法により分析した。

20

【0210】

図1で報告した結果は、リラグルチド沈殿の割合は亜鉛:リラグルチドモル比に依存することを示す。pH7.8では、上清中に遊離リラグルチドが存在しない、すなわち100%のリラグルチドが沈殿するため2.0~2.2:1、または2.1:1の最小モル比が必要とされる。pH8.0では、最小モル比は2.1~2.2:1であり、pH8.2では、最小モル比は>3:1である。pH7.0では、100%リラグルチド沈殿を得るための亜鉛の最小モル比は1.3である(データ報告せず)。

【0211】

30

(g) 沈殿亜鉛-リラグルチド複合体とプロタミンの結合:

設定点として2.2:1の亜鉛:リラグルチドのモル比で、亜鉛-沈殿リラグルチドと結合したプロタミンのモル比を調べた。

【0212】

この試験では、共沈殿した亜鉛とリラグルチドの懸濁液を10mMのリラグルチド、22mMの $ZnCl_2$ (共沈殿中に $Zn^{2+}$ の形)を含むように調製し、これは亜鉛:リラグルチドモル比が2.2:1であることを意味する。最終懸濁液のpHは25 において7.8であった。

【0213】

したがって、(0.5モルに相当する)1.875グラムのリラグルチドに相当する量のリラグルチド塊物質を30mLの水に溶かした。濾過後、5.5mLの0.2M  $ZnCl_2$ を、激しい攪拌下でリラグルチドを含有する濾過物に加えた。後に、1mLの1Mトリス緩衝液、(pH7.8)を加えた。その後、約10  $\mu$ lの1M NaOHを加えることにより、pHをpH7.5から7.8に調整した。8容器のそれぞれの中に、10%の生成懸濁液を移した。激しい攪拌下で、特定部分の18mM塩化プロタミン溶液を加えた。

40

【0214】

第一の容器に0.10mLの18mM塩化プロタミン溶液を与え、次に0.2mLを第二の容器に与え、最終容器(ナンバー8)への0.8mLの添加で終了した。8容器のそれぞれに水を加えて合計5.0グラムの懸濁液を得た。1時間の保存後、約1mLをそれぞれの容器から回収し、高速で10分間遠心分離した。一部分の透明な上清をそれぞれの容器から回収し、遊離リラグルチドおよびプロタミンの量は標準的な液体クロマトグラフィー法によって測定した。

50



## 【0215】

図2は、pH7.8および25 で粒子に加えた高濃度のプロタミン、mM(x軸)に関する、溶液(すなわち上清)中の遊離プロタミンの濃度(y軸左)および遊離リラグルチドの濃度(y軸右)をmMで示す。遊離リラグルチドの低い濃度は粒子中に存在するリラグルチドの割合が高いことを示し、遊離プロタミンの低い濃度は粒子に存在するプロタミンの割合が高いことを示し、また逆もいえる。

## 【0216】

図2で報告した結果は、懸濁粒子と結合するプロタミンの最大量は、リラグルチド1モル当たり0.1モルのプロタミンであることを示す。懸濁液に加えるプロタミンの量が、遊離リラグルチドの可溶性に影響を与えることはない。

10

## 【0217】

リラグルチドの十分な徐放を確実にするため、わずかに過剰なプロタミンが好都合である。したがって、0.14または0.15モルのプロタミンと1モルのリラグルチドの比を選択する。

## 【0218】

pH7.8または7.7~7.9で、1:2.1:0.13または1:2.2:0.13、1:2.1:0.14または1:2.2:0.14または1:2.1:0.15または1:2.2:0.15のリラグルチド:亜鉛:プロタミンのモル比を選択する。

## 【0219】

(h)1:2.2:0.14のリラグルチド:亜鉛:プロタミンのモル比を有する懸濁剤における、異なるpH値での溶液中のリラグルチドおよびプロタミン:

20

亜鉛沈殿リラグルチドとプロタミンの結合は製剤のpH値に依存する。ここでは、溶液中に残存するプロタミンの量を異なるpH値での製剤において決定した。

## 【0220】

この試験では、共沈殿した亜鉛とリラグルチドの懸濁液を、10.7mMのリラグルチド、23.5mMの $ZnCl_2$ (共沈殿中に $Zn^{2+}$ の形)、1.5mMの硫酸プロタミン、40mMのトリス/HCl、60mMのNaClを含み、リラグルチド:亜鉛:プロタミンのモル比が1:2.2:0.14であるように調製した。最終pHを適切に調整することにより、最終懸濁液のpHは23 において7~8の範囲内で試験した。この実験に関する他の詳細は、実施例(g)中の方法と同様である。試験したそれぞれのpHに関して、上清中の遊離リラグルチドと遊離プロタミンの両方を、標準的な液体クロマトグラフィー法によって測定した。

30

## 【0221】

図3は、高いpH値に関する、溶液(すなわち上清)中の遊離プロタミンの濃度(y軸左)および遊離リラグルチドの濃度(y軸右)をmMで示す。遊離リラグルチドの低い濃度は粒子中に存在するリラグルチドの割合が高いことを示し、遊離プロタミンの低い濃度は粒子に存在するプロタミンの割合が高いことを示し、また逆もいえる。

## 【0222】

図3で報告した結果は、pH7.7~7.9で上清において最小プロタミン濃度が見られたことを示す。したがって、7.7~7.9または7.8のpH値を選択する。

## 【0223】

40

(i)リラグルチド濃度:

薬物動態試験(データ報告せず)は、40mg/ml(10.7mM)のリラグルチド濃度を有する本発明による製剤は、7日間続く血流中で許容されるレベルのリラグルチドを得るのに十分であることを示している。

## 【0224】

(j)リラグルチド-亜鉛-プロタミン懸濁液の形成:

リラグルチドは、単なる好都合なpH調整(等電点沈殿)によって、または亜鉛イオンおよび/またはプロタミン塩の添加によって、沈殿させることが可能である。pH調整のみによる高度に濃縮したストック溶液からのリラグルチドの沈殿は重大なゲル形成をもたらし、これは、プロタミン塩単独の添加、またはプロタミン塩と亜鉛塩の同時添加による沈殿時

50

にも当てはまる。

【0225】

亜鉛塩単独での沈殿によって、適切に粒径分布した容易に再懸濁可能な沈殿を得ることができる。亜鉛沈殿後にプロタミンを加えることによって、粒子のこれらの性質を維持することができ、プロタミンは粒子の外側部分に結合し、リラゲルチド粒子の溶解をさらに遅らせる表面カバーを形成する。

【0226】

(k) リラゲルチド-亜鉛-プロタミン懸濁液の製造プロセスに適した賦形剤ストック溶液：  
90mg/mlのリラゲルチド  
1Mの酢酸亜鉛  
1Mのトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン(トリス)  
20mg/mlの硫酸プロタミン  
3MのNaCl(等張化剤)  
2NのNaOH(pH調節物質)

10

【0227】

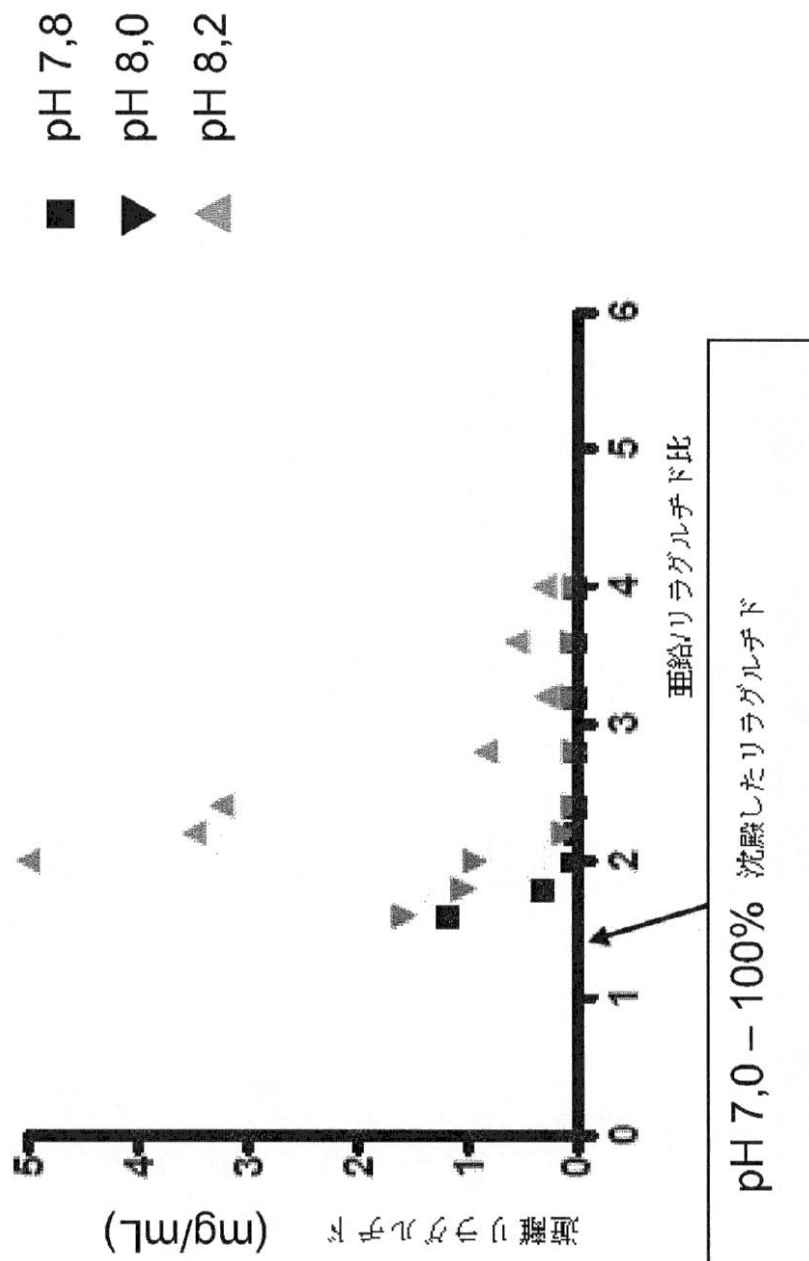
これらの溶液は滅菌状態であり、実施例(c)中に与えた製剤の週一回用リラゲルチド懸濁液を製造するのに利用することができる。

【0228】

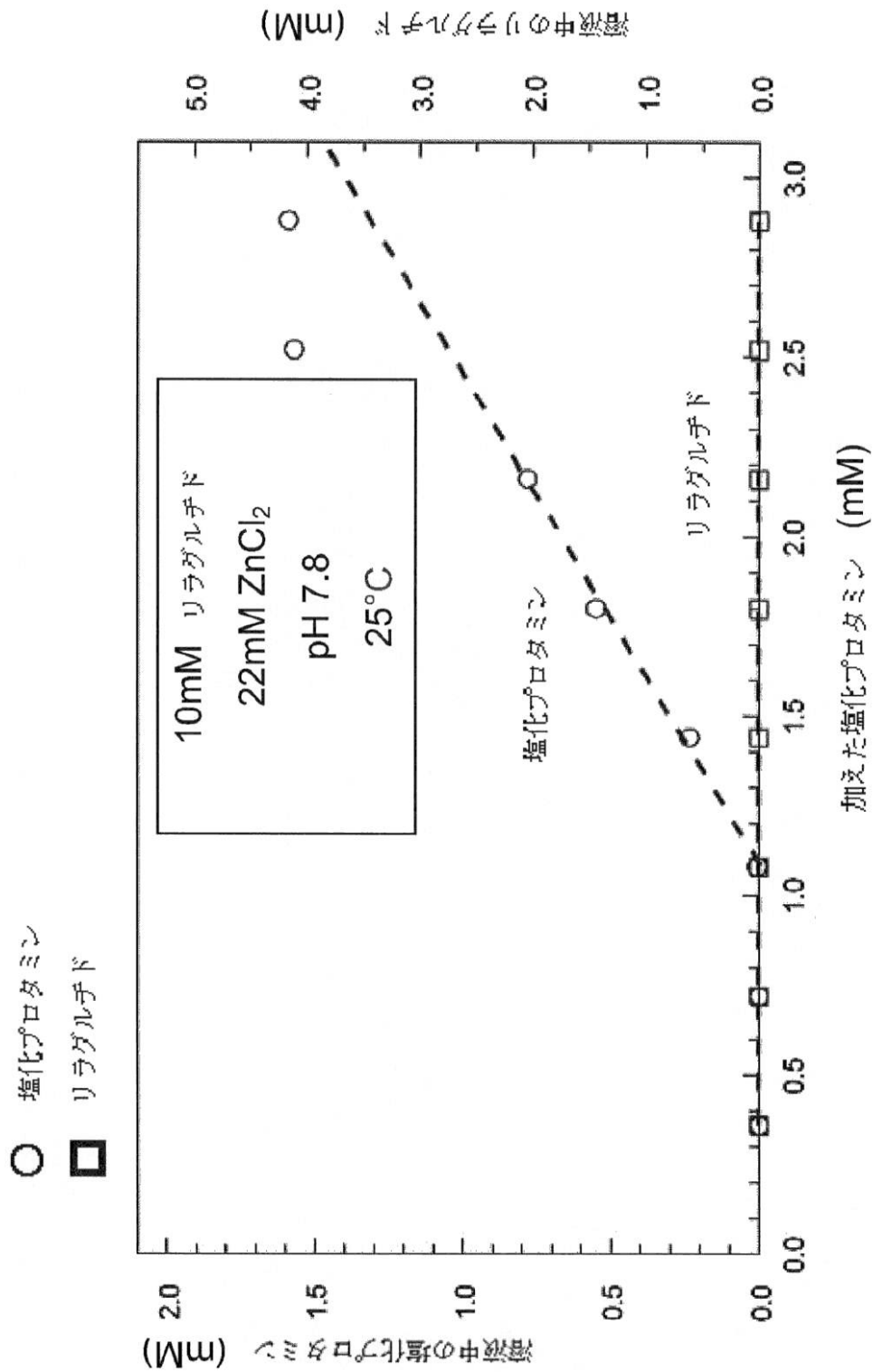
本発明の幾つの特徴を本明細書中に例示し記載してきたが、多くの改変、置換、変更、および均等物がここで当業者には思い浮かぶであろう。したがって、添付の特許請求の範囲は、本発明の真の精神の範疇に入るあらゆるこのような改変および変更を含むことを意図することを理解されたい。

20

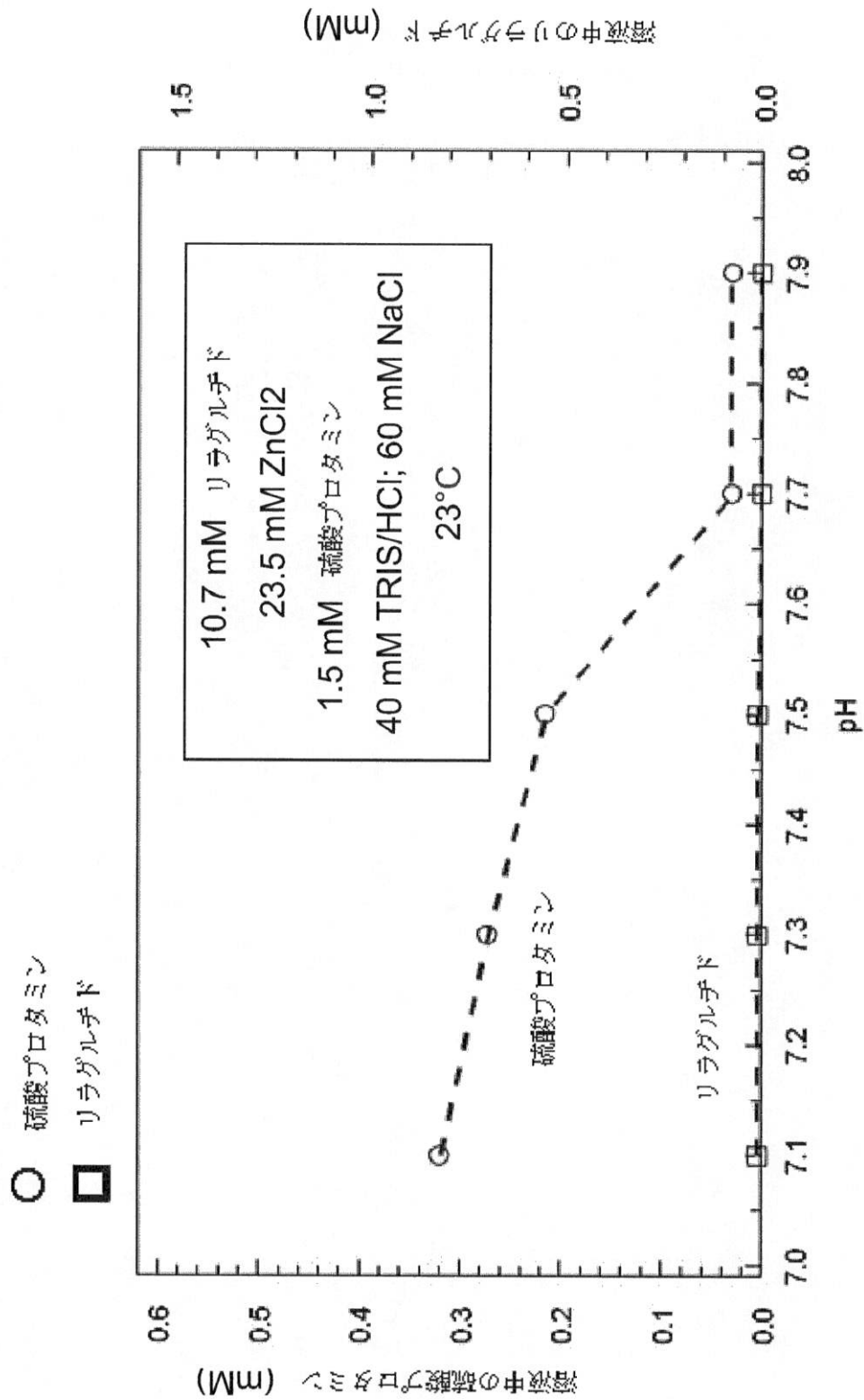
【図 1】



【図 2】



【図 3】



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/050785

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K9/50 A61K38/26 A61K9/00  
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>TRADING F ET AL: "Biological and chemical properties of two glucagon preparations with prolonged action", EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY, ELSEVIER BV, NL, vol. 7, no. 2, 1 August 1969 (1969-08-01), pages 206-210, XP025488727, ISSN: 0014-2999, DOI: DOI:10.1016/0014-2999(69)90012-0 [retrieved on 1969-08-01] page 206, right-hand column, lines 6-11 page 207, left-hand column, lines 9-11, 38-39 page 207, right-hand column, lines 3-4 page 210, left-hand column, lines 1-4 ----- -/--</p>	1-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 February 2012

Date of mailing of the international search report

02/03/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Schwald, Claudia

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/050785

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6 388 053 B1 (GALLOWAY JOHN A [US] ET AL) 14 May 2002 (2002-05-14) the whole document	1-14
A	----- WO 2008/117927 A1 (PEPTRON CO LTD [KR]; LEE HEE-YONG [KR]; SEOL EUN-YOUNG [KR]; KIM JOON-) 2 October 2008 (2008-10-02) the whole document -----	1-14

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2012/050785

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6388053	B1	14-05-2002	NONE	
-----				
WO 2008117927	A1	02-10-2008	AU 2008230297 A1	02-10-2008
			CA 2682499 A1	02-10-2008
			CN 101646424 A	10-02-2010
			EP 2134329 A1	23-12-2009
			JP 2010522743 A	08-07-2010
			KR 100805208 B1	21-02-2008
			RU 2009136655 A	10-05-2011
			US 2010136126 A1	03-06-2010
			WO 2008117927 A1	02-10-2008
-----				



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)  
**A 6 1 K 9/50 (2006.01)** A 6 1 K 9/50

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, T J, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, R O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, H U, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI , NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN

(72)発明者 ピア・バルスミト  
 デンマーク・D K - 2 8 8 0・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)・ノヴォ・ノルディ  
 スク・アーノエス

(72)発明者 ヤアン・ドルストロブ  
 デンマーク・D K - 2 8 8 0・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)・ノヴォ・ノルディ  
 スク・アーノエス

(72)発明者 カスパ・フース  
 デンマーク・D K - 2 8 8 0・バウスヴェア・ノヴォ・アレー・(番地なし)・ノヴォ・ノルディ  
 スク・アーノエス

F ターム(参考) 4C076 AA61 BB11 CC21 CC45 DD21 DD23 DD41 DD50 EE30 EE41  
 FF31 FF63 FF67 GG47  
 4C084 AA02 AA03 BA01 BA08 BA10 BA19 BA23 BA24 CA59 DB37  
 MA05 MA38 MA66 NA03 NA06 NA12 ZC35