

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202292492 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.01.12

(22) Дата подачи заявки
2021.03.16

(51) Int. Cl. *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61K 47/02 (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01)

(54) ЖИДКИЕ СОСТАВЫ АНАЛОГОВ ГЛЮКАГОНА

(31) 20163408.6

(32) 2020.03.16

(33) EP

(86) PCT/EP2021/056651

(87) WO 2021/185821 2021.09.23

(71) Заявитель:
ЗИЛЭНД ФАРМА А/С (DK)

(72) Изобретатель:
Вилладсен Йеспер Скодборг,
Готтшалк Бёвинг Тина Элизабет (DK)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Изобретение относится к составам аналогов глюкагона или его фармацевтически приемлемой соли и/или его производного; и их медицинскому применению, например, при лечении гипогликемии. В частности, настоящее изобретение относится к стабильным жидким водным составам аналогов глюкагона, которые содержат комбинации вспомогательных веществ, что делает их пригодными для длительного хранения в виде жидкостей, и которые можно применять в однократных (SD) или многократных (MD) составах.

A1

202292492

202292492

A1

ЖИДКИЕ СОСТАВЫ АНАЛОГОВ ГЛЮКАГОНА

Область техники

Настоящее изобретение относится к составам аналогов глюкагона и их медицинскому применению, например, при лечении гипогликемии. В частности, настоящее изобретение

5 относится к стабильным жидким водным составам аналогов глюкагона.

Уровень техники

Препроглюкагон человека представляет собой полипептид-предшественник из 158 аминокислот, который дифференциально процессируется в тканях с образованием ряда структурно родственных пептидов, происходящих от проглюкагона, включая глюкагон

10 (Glu), глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1), глюкагоноподобный пептид-2 (GLP-2) и оксинтомодулин (ОХМ). Указанные молекулы участвуют в широком спектре физиологических функций, включая гомеостаз глюкозы, секрецию инсулина, опорожнение желудка и рост кишечника, а также регуляцию потребления пищи.

Нативный глюкагон представляет собой пептид из 29 аминокислот, который

15 соответствует аминокислотам в положениях с 53 по 81 препроглюкагона. Глюкагон помогает поддерживать уровень глюкозы в крови путем связывания с рецепторами глюкагона на гепатоцитах, вызывая высвобождение печенью глюкозы, запасенной в форме гликогена, посредством гликогенолиза. По мере истощения этих запасов глюкагон также стимулирует синтез печенью дополнительной глюкозы посредством

20 глюконеогенеза. Эта глюкоза высвобождается в кровоток, препятствуя развитию гипогликемии. Это привело к разработке терапевтических составов глюкагона или аналогов глюкагона, которые предназначены для применения в «спасательных» ситуациях для облегчения острой гипогликемии у субъектов с сахарным диабетом, например, для лечения субъектов, которые получили чрезмерно высокую дозу инсулина. Однако из-за

25 относительно низкой физической и химической стабильности нативного глюкагона как такового большинство продуктов глюкагона, которые в настоящее время доступны коммерчески, обеспечены в виде лиофилизированных твердых препаратов, которые необходимо восстановить в соответствующей жидкой среде непосредственно перед использованием. Поскольку у субъектов с гипогликемией могут наблюдаться симптомы

30 головокружения и/или спутанности сознания, или в некоторых случаях они могут даже потерять сознание или могут быть в полубессознательном состоянии, это означает, что они могут быть не в состоянии осуществить или завершить требуемое первоначальное восстановление в жидкости и последующую инъекцию рассматриваемого состава глюкагона. В результате этого возможно, что восстановление и инъекция должны быть

выполнены другим человеком, который не имеет опыта обращения с продуктом в течение ограниченного времени, доступного до чрезмерной агрегации глюкагона.

Как следствие, в данной области были предприняты усилия для получения составов аналогов глюкагона, которые, в дополнение к наличию удовлетворительно высокой активности в отношении рецептора глюкагона, являются достаточно растворимыми (в частности, при физиологическом pH, тогда как нативный глюкагон по существу нерастворим при нейтральном pH) и физически и химически стабильными в жидких составах, которые могут быть немедленно использованы без необходимости восстановления. Эти аналоги (i) могут быть преимущественно обеспечены в форме готового к применению жидкого фармацевтического состава, адаптированного для немедленной инъекции, и (ii) могут храниться (в том числе переноситься рассматриваемым субъектом или пациентом в условиях окружающей среды) в течение достаточно длительного периода времени перед использованием.

В WO 2011/117417 (Novo Nordisk A/S) раскрыты модифицированные пептиды глюкагона, включающие мутацию в положении аминокислоты 25 глюкагона 1-29, которые устойчивы к агрегации в водных растворах.

В WO 2016/133863 (Eli Lilly and Company) описаны порошковые композиции глюкагона для назального введения, которые включают циклодекстрин и фосфолипидное поверхностно-активное вещество в фазе, характеризующейся мезопиком РПД.

WO 2019/110838 (Adocia) относится к составам глюкагона, карбоксилатных наполнителей, несущих сополиаминокислоты, и гидрофобных радикалов.

В WO 2008/084237 (Arecor Limited) описаны водные белковые композиции, в которых используют замещающий буфер, который имеет pKa, превышающую по меньшей мере на одну единицу pH, при котором белок стабилизирован.

В WO 2014/016300 (Zealand Pharma A/S) описаны аналоги глюкагона, подходящие для применения в жидких составах, причем указанные аналоги имеют улучшенную растворимость и/или стабильность по сравнению с нативным глюкагоном человека. Один из аналогов глюкагона, описанный в WO 2014/016300, называется дазиглюкагоном и проходит клинические исследования в качестве готового к применению лечения тяжелой гипогликемии для лечения диабета 1 типа и для лечения врожденного гиперинсулинизма. Фармакокинетические и фармакодинамические характеристики дазиглюкагона и сравнение с GlucaGen[®] раскрыты в Hövelmann et al, Diabetes Care, 2017 (<https://doi.org/10.2337/dc17-1402>).

В WO 2017/053822 (Xeris Pharmaceuticals, Inc.) раскрыты жидкие составы нативного пептида глюкагона, в которых в качестве системы апротонного полярного растворителя

используют диметилсульфоксид (ДМСО). Для улучшения солюбилизации также могут быть добавлены стабилизирующие ионизацию вспомогательные вещества. В WO 2014/124151 (Xeris Pharmaceuticals, Inc.) раскрыты жидкие составы пептида глюкагона в ДМСО, которые дополнительно включают криопротектор, такой как трегалоза, для защиты составов от циклов замораживания-оттаивания. Однако использование ДМСО в системе растворителей для этих составов имеет несколько существенных недостатков, поскольку это делает вязкость составов относительно высокой, что затрудняет инъекцию и приводит к нежелательным побочным эффектам, таким как кожные реакции, сухость кожи, головная боль, головокружение, сонливость, тошнота, рвота, диарея, запор, проблемы с дыханием, проблемы со зрением, проблемы с кровью и аллергические реакции. ДМСО также вызывает чесночный вкус, запах дыхания и тела. Кроме того, ДМСО растворяет пластмассы и каучук, что может быть недостатком при выполнении введения с помощью устройства для доставки, например, шприца-ручки, шприца или насосной системы. В некоторых случаях ДМСО используют в комбинации с 15-20% соразтворителя, такого как пропиленгликоль или этанол, чтобы избежать относительно высокой температуры замерзания составов, содержащих 80-100% ДМСО. Однако, если в составах с использованием ДМСО и соразтворителей содержится более 5% воды, это снижает химическую стабильность глюкагона в составе.

Таким образом, в данной области техники все еще существует проблема, касающаяся улучшения состава аналогов глюкагона, в частности, обеспечения стабильных жидких составов, которые способны храниться в течение длительного времени без чрезмерных уровней физического и химического разложения (деградации) активной мономерной формы пептида, и которые преодолевают некоторые недостатки, связанные с существующими составами глюкагона или аналогов глюкагона.

Краткое описание изобретения

В целом, настоящее изобретение основано на исследованиях, описанных в примерах, в которых изучены и идентифицированы вспомогательные вещества, подходящие для применения в жидких водных составах аналогов глюкагона, пригодных для длительного хранения в виде жидкостей, и подходящие для применения в однократных (SD) или многократных (MD) составах.

В этих исследованиях авторы настоящего изобретения обнаружили, что буферный агент, используемый в составах аналогов глюкагона, оказывает важный эффект на стабильность водных составов, содержащих аналоги глюкагона, в частности, дазиглюкагон.

Эксперименты, раскрытые в настоящей заявке, показывают, что буферы ТРИС, Бис-

ТРИС, ACES и MES и/или ацетатный, цитратный или сукцинатный буферы обеспечивают химическую стабильность составов аналогов глюкагона при слабокислом или нейтральном pH, о чем свидетельствует детектирование и количественное определение продуктов деградации. Сравнительный анализ профилей деградации показывает, что эти

5 буферы обеспечивают повышенную стабильность по сравнению с другими тестируемыми буферными системами, такими как гистидин или фосфат, даже если составы имели тот же pH, то есть стабильность, обеспечиваемая буферами, по меньшей мере частично не зависит от их pH-модулирующих свойств. Важно отметить, что в аспектах настоящего изобретения, в которых составы дополнительно содержат консервант, такой как мета-

10 крезол, указанные составы обладают долговременной стабильностью в жидкой форме и, следовательно, пригодны для многократного дозирования. Это позволяет обеспечить составы аналогов глюкагона в виде устройства для доставки лекарственного средства и, в частности, однократных или многократных устройств для доставки, таких как предварительно заполненный шприц, устройство для инъекций, шприц-ручка,

15 автоинъектор с корректируемой дозой, одноразовый автоинъектор, инъектор с возможностью ношения или инфузионный насос, обеспечивая посредством этого пациентам готовый к применению состав в более простом, более безопасном и более удобном для пациента устройстве.

Соответственно, согласно первому аспекту настоящего изобретения предложен

20 стабильный жидкий водный фармацевтический состав, содержащий аналог глюкагона, который представляет собой:

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное; причем указанный состав содержит:

25 (a) аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное, присутствующее в концентрации от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл;

(b) ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES, присутствующий в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 25 mM до приблизительно 75 mM;

30 (c) хлорид натрия, присутствующий в качестве модификатора тоничности; и в концентрации от приблизительно 50 mM до приблизительно 600 mM; и

(d) pH от приблизительно 5,6 до приблизительно 7,0.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложен стабильный жидкий водный фармацевтический состав, содержащий аналог глюкагона, который

35 представляет собой:

Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное;

причем указанный состав содержит:

- 5 (a) аналог глюкагона, присутствующий в концентрации от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл;
- (b) ТРИС, Бис-Трис, ACES или MES, присутствующий в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 75 мМ, и/или цитрат, ацетат или сукцинат, присутствующий в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 1 мМ до приблизительно 30 мМ;
- 10 (c) хлорид натрия, присутствующий в качестве модификатора тоничности и в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 600 мМ; и
- (d) pH от приблизительно 5,6 до приблизительно 7,0.

Согласно некоторым вариантам реализации состава, содержащего аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное, указанный состав содержит

- 15 аналог глюкагона, его фармацевтически приемлемую соль или его производное, присутствующие в концентрации от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 1,0 мг/мл, например, приблизительно 0,1 мг/мл, приблизительно 0,2 мг/мл, приблизительно 0,3 мг/мл, приблизительно 0,4 мг/мл, приблизительно 0,5 мг/мл, приблизительно 0,6 мг/мл, приблизительно 0,7 мг/мл, приблизительно 0,8 мг/мл, приблизительно 0,9 мг/мл
- 20 или приблизительно 1,0 мг/мл.

Согласно некоторым аспектам авторы настоящего изобретения обнаружили, что буферы ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES способны непосредственно химически стабилизировать аналог глюкагона независимо от pH состава, обеспечиваемого буфером. Факт непосредственного улучшения химической стабилизации может быть определен

25 относительно стабильности аналога глюкагона в соответствующем составе в фосфатном буфере и/или гистидиновом буфере в тех же тестовых условиях.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложены способы получения стабильных жидких водных фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению.

- 30 Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложено устройство для доставки, содержащее стабильный жидкий водный состав, содержащий аналог глюкагона согласно настоящему изобретению. В качестве примера, устройство для доставки включает предварительно заполненный шприц, устройство для инъекций, шприц-ручку, автоинъектор с корректируемой дозой, одноразовый автоинъектор, инъектор с
- 35 возможностью ношения или инфузионный насос.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложено промышленное изделие или набор, содержащие контейнер, вмещающий стабильную жидкую водную фармацевтическую композицию согласно настоящему изобретению.

5 Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложен стабильный жидкий водный состав аналога глюкагона согласно настоящему изобретению для применения в терапии.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложен стабильный жидкий водный состав аналога глюкагона согласно настоящему изобретению для применения при лечении заболевания или состояния, выбранного из гипогликемии (включая, но не ограничиваясь перечисленными, тяжелую гипогликемию, острую гипогликемию и хроническую гипогликемию), диабета 2 типа, нарушения толерантности к глюкозе, диабета 1 типа, ожирения, ишемической болезни сердца, атеросклероза, гипертензии, дислипидемии, стеатоза печени, отравления β -блокаторами, инсулиномы или болезни фон Гирке. В частности, состав можно применять для лечения форм гипогликемии, например, когда гипогликемия выбрана из группы, состоящей из диабетической гипогликемии, острой гипогликемии, индуцированной инсулином, гиперинсулинемической гипогликемии, недиабетической гипогликемии, реактивной гипогликемии, гипогликемии натошак, гипогликемии, индуцированной лекарственными средствами, врожденной гиперинсулинемической гипогликемии, гипогликемии, индуцированной алкоголем, гипогликемии, индуцированной желудочным шунтированием (включая, но не ограничиваясь этим, постпрандиальную гипогликемию после шунтирования желудка по Ру), постбариатрической гипогликемии или гипогликемии, возникающей во время беременности, причем указанный способ включает введение пациенту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества стабильного жидкого водного состава аналога глюкагона согласно настоящему изобретению.

Согласно некоторым вариантам реализации тяжелая гипогликемия характеризуется очень низким уровнем сахара в крови. Согласно некоторым вариантам реализации лечение острой гипогликемии включает лечение острого эпизода тяжелой гипогликемии, включая, но не ограничиваясь этим, эпизод тяжелой гипогликемии, характеризующийся очень низким уровнем сахара в крови.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложен способ лечения пациента, имеющего заболевание или состояние, выбранное из гипогликемии (включая, но не ограничиваясь перечисленными, тяжелую гипогликемию, острую гипогликемию и хроническую гипогликемию), диабета 2 типа, нарушения толерантности к глюкозе,

диабета 1 типа, ожирения, ишемической болезни сердца, атеросклероза, гипертензии, дислипидемии, стеатоза печени, отравления β -блокаторами, инсулиномы или болезни фон Гирке. В частности, состав можно применять для лечения форм гипогликемии, например, когда гипогликемия выбрана из группы, состоящей из: диабетической гипогликемии, острой гипогликемии, индуцированной инсулином, гиперинсулинемической гипогликемии, недиабетической гипогликемии, реактивной гипогликемии, гипогликемии натошак, гипогликемии, индуцированной лекарственными средствами, врожденной гиперинсулинемической гипогликемии, гипогликемии, индуцированной алкоголем, гипогликемии, индуцированной желудочным шунтированием, постбариатрической гипогликемии (включая, но не ограничиваясь этим, постпрандиальную гипогликемию после шунтирования желудка по Ру) или гипогликемии, возникающей во время беременности, причем указанный способ включает введение пациенту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества стабильного жидкого водного состава аналога глюкагона согласно настоящему изобретению.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложено применение стабильного жидкого водного состава аналога глюкагона согласно настоящему изобретению в изготовлении лекарственного средства для лечения заболевания или

состояния, выбранного из гипогликемии (включая, но не ограничиваясь перечисленными, 5 тяжелую гипогликемию, острую гипогликемию и хроническую гипогликемию), диабета 2 типа, нарушения толерантности к глюкозе, диабета 1 типа, ожирения, ишемической болезни сердца, атеросклероза, гипертензии, дислипидемии, стеатоза печени, отравления β -блокаторами, инсулиномы или болезни фон Гирке. В частности, состав можно

10 применять для лечения форм гипогликемии, например, когда гипогликемия выбрана из группы, состоящей из: диабетической гипогликемии, острой гипогликемии, индуцированной инсулином, гиперинсулинемической гипогликемии, недиабетической гипогликемии, реактивной гипогликемии, гипогликемии натошак, гипогликемии, индуцированной лекарственными средствами, врожденной гиперинсулинемической гипогликемии, гипогликемии, индуцированной алкоголем, гипогликемии,

15 индуцированной желудочным шунтированием (включая, но не ограничиваясь этим, постпрандиальную гипогликемию после шунтирования желудка по Ру), постбариатрической гипогликемии или гипогликемии, возникающей во время беременности, причем указанный способ включает введение пациенту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества стабильного жидкого водного состава

20 аналога глюкагона согласно настоящему изобретению.

Согласно некоторым вариантам реализации пациент, получающий лечение с применением

состава в соответствии с настоящим изобретением, не находится в состоянии голода, не имеет недостаточности надпочечников и/или не имеет хронической гипогликемии. Согласно некоторым вариантам реализации пациент, получающий лечение с применением состава в соответствии с настоящим изобретением, не испытывает снижения уровня печеночного гликогена. Согласно некоторым вариантам реализации пациент, получающий лечение с применением состава в соответствии с настоящим изобретением, не имеет опухоли в его или ее надпочечнике, включая феохромоцитому, но не ограничиваясь этим. Согласно некоторым вариантам реализации пациент, получающий лечение с применением состава в соответствии с настоящим изобретением, не имеет опухоли в его или ее поджелудочной железе, включая инсулиному, но не ограничиваясь этим.

Согласно некоторым вариантам реализации возраст пациента, получающего лечение с применением состава в соответствии с настоящим изобретением, составляет шесть лет или более.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложен способ получения стабильного жидкого водного фармацевтического состава, содержащего аналог глюкагона, который представляет собой:

Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное;

причем указанный способ включает включение в состав (а) аналога глюкагона или его фармацевтически приемлемой соли и/или производного, присутствующего в концентрации от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл; (b) ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES, присутствующего в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 75 мМ; (c) хлорида натрия, присутствующего в качестве модификатора тоничности; и в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 600 мМ; (d) pH от приблизительно 5,6 до приблизительно 7,0; и необязательно (e) мета-крезола в концентрации от приблизительно 1,0 мг/мл до приблизительно 5,0 мг/мл с получением стабильного жидкого водного фармацевтического состава. Согласно предпочтительным вариантам реализации способ обеспечивает стабильный жидкий водный фармацевтический состав, который способен стабильно храниться при 2-8°C в течение по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев или по меньшей мере 24 месяцев.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложен способ получения стабильного жидкого водного фармацевтического состава, содержащего аналог глюкагона, который представляет собой:

Hy-HSQTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное;

причем указанный способ включает включение в состав (а) аналога глюкагона или его фармацевтически приемлемой соли и/или производного, присутствующего в концентрации от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл; (b) ТРИС, Бис-

5 ТРИС, ACES или MES, присутствующего в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 75 мМ; (с) хлорида натрия, присутствующего в качестве модификатора тоничности; и в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 600 мМ; (d) pH от приблизительно 5,6 до приблизительно 7,0; и необязательно (е) мета-крезола в концентрации от приблизительно 1,0 мг/мл до
10 приблизительно 5,0 мг/мл с получением стабильного жидкого водного фармацевтического состава. Согласно предпочтительным вариантам реализации способ обеспечивает стабильный жидкий водный фармацевтический состав, который способен стабильно храниться при 2-8°C в течение по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев или по меньшей мере 24 месяцев.

15 Согласно некоторым вариантам реализации аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемая соль и/или его производное присутствует в концентрации от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 1,0 мг/мл, например, приблизительно 0,1 мг/мл, приблизительно 0,2 мг/мл, приблизительно 0,3 мг/мл, приблизительно 0,4 мг/мл, приблизительно 0,5 мг/мл, приблизительно 0,6 мг/мл, приблизительно 0,7 мг/мл,
20 приблизительно 0,8 мг/мл, приблизительно 0,9 мг/мл или приблизительно 1,0 мг/мл.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложено применение стабильного жидкого водного фармацевтического состава, содержащего аналог глюкагона, который представляет собой:

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

25 или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное;

для обеспечения жидкого водного фармацевтического состава, который стабилен в течение 24 месяцев при хранении при 2-8°C, причем указанный состав содержит:

(а) аналог глюкагона, присутствующий в концентрации от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл;

30 (b) ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES, присутствующий в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 75 мМ;

(с) хлорид натрия, присутствующий в качестве модификатора тоничности; и в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 600 мМ;

(d) pH от приблизительно 5,6 до приблизительно 7,0; и необязательно

35 (е) мета-крезол в концентрации от приблизительно 1,0 мг/мл до приблизительно 5,0 мг/мл

с получением стабильного жидкого водного фармацевтического состава.

Согласно некоторым вариантам реализации аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное присутствует в концентрации от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 1,0 мг/мл, например, приблизительно 0,1 мг/мл, приблизительно 0,2 мг/мл, приблизительно 0,3 мг/мл, приблизительно 0,4 мг/мл, приблизительно 0,5 мг/мл, приблизительно 0,6 мг/мл, приблизительно 0,7 мг/мл, приблизительно 0,8 мг/мл, приблизительно 0,9 мг/мл или приблизительно 1,0 мг/мл.

Согласно дополнительным аспектам настоящее изобретение относится к жидкому водному фармацевтическому составу, содержащему аналог глюкагона, который по существу состоит или состоит из аналога глюкагона и других компонентов состава, определенных в настоящей заявке.

Дополнительные аспекты и варианты реализации настоящего изобретения будут понятны специалистам в данной области техники с учетом настоящего раскрытия.

В настоящей заявке «и/или» следует рассматривать как конкретное описание каждого из двух указанных признаков или компонентов, включая другой или без него. Например, «А и/или В» следует рассматривать как конкретное описание каждого из (i) А, (ii) В и (iii) А и В, как если бы каждый из них был указан в настоящей заявке по отдельности.

Если контекст не требует иного, описания и определения признаков, изложенных выше, не ограничиваются каким-либо конкретным аспектом или вариантом реализации настоящего изобретения и в равной степени применимы ко всем аспектам и вариантам реализации, которые описаны.

Подробное описание изобретения

Определения

Если не указано иное, следующие определения предложены для конкретных терминов, которые используются в приведенном выше письменном описании.

Во всем описании и формуле изобретения для природных аминокислот используют обычные однобуквенные и трехбуквенные коды. Все аминокислотные остатки в пептидах согласно настоящему изобретению предпочтительно имеют L-конфигурацию, однако аминокислоты с D-конфигурацией также могут присутствовать. Aib означает α-аминоизомасляную кислоту.

Аналоги глюкагона

Термин «нативный глюкагон» относится к нативному глюкагону человека, имеющему последовательность H-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr-OH (SEQ ID NO: 1).

Предпочтительные соединения, применяемые в составах согласно настоящему

изобретению, обладают по меньшей мере активностью агонистов глюкагона. Это можно оценить в анализах *in vitro*, например, как описано в WO 2014/016300, в котором продуцирование клеточного циклического АМФ (цАМФ) используется для мониторинга активности рецептора глюкагона человека в присутствии аналогов глюкагона.

5 Среди последовательностей, раскрытых в настоящей заявке, есть последовательности, включающие фрагмент «Нy-» на аминоконце (N-конце) последовательности и фрагмент «-ОН» на карбоксиконце (С-конце) последовательности. В таких случаях и если не указано иное, фрагмент «Нy-» на N-конце рассматриваемой последовательности указывает на атом водорода, в то время как фрагмент «-ОН» на С-конце последовательности указывает на гидроксигруппу.

Аналоги глюкагона, присутствующие в составах согласно настоящему изобретению, имеют одну или более замен, делеций, инверсий или добавлений аминокислот по сравнению с нативным глюкагоном. Это определение также включает синонимические термины «миметики глюкагона» и/или «агонисты глюкагона». Кроме того, аналоги

15 согласно настоящему изобретению могут дополнительно иметь химическую модификацию одной или более из их боковых групп аминокислот, α -атомов углерода, концевой аминогруппы или концевой карбоксильной группы. Химическая модификация включает, но не ограничивается ими, добавление химических фрагментов, создание новых связей и удаление химических фрагментов. Модификации в боковых группах аминокислот включают, но не ограничиваются указанными, ацилирование ϵ -аминогрупп лизина, N-алкилирование аргинина, гистидина или лизина, алкилирование карбоксильных групп глутаминовой кислоты или аспарагиновой кислоты и дезамидирование глутамина или аспарагина. Модификации концевой аминогруппы включают но не ограничиваются ими, дезаминирование, N-низший алкил, N-ди-низший алкил и N-ацильные модификации.

25 Модификации концевой карбоксильной группы включают, но не ограничиваются ими, амидирование, такие модификации как низший алкиламид, диалкиламид и сложный эфир низшего алкила. Предпочтительно в настоящей заявке низший алкил представляет собой C₁-C₄ алкил. Кроме того, одна или более боковых групп, или концевых групп, могут быть защищены с помощью защитных групп, известных обычному специалисту по химии пептидов. α -Углерод аминокислоты может быть моно- или диметилированным.

Согласно некоторым аспектам в жидких составах согласно настоящему изобретению применяют аналог глюкагона, представленный формулой:

Нy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH (SEQ ID NO: 2),
соединение 1

35 или его фармацевтически приемлемую соль или производное;

В трехбуквенном аминокислотном коде этот аналог глюкагона (дазиглюкагон) представлен формулой:

H-His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Aib-Ala-Arg-Ala-Glu-Glu-Phe-Val-Lys-Trp-Leu-Glu-Ser-Thr-OH

- 5 Соединение 1 (SEQ ID NO: 2) демонстрирует агонистическую активность *in vitro* в отношении рецептора глюкагона человека со значениями ЭК₅₀ 0,0095 нМ и 0,030 нМ, соответственно, как сообщается в WO 2014/016300.

Следует понимать, что пептиды (лекарственные субстанции) согласно настоящему изобретению также могут быть обеспечены в виде соли или другого производного. Соли
10 включают фармацевтически приемлемые соли, как описано в определениях.

Другие производные аналогов глюкагона согласно настоящему изобретению включают координационные комплексы с ионами металлов, такими как Mn²⁺ и Zn²⁺, сложные эфиры, такие как гидролизуемые в условиях *in vivo* сложные эфиры, свободные кислоты или основания, гидраты, пролекарства или липиды. Сложные эфиры могут
15 образовываться между гидроксильными или карбоксильными группами, присутствующими в соединении, и подходящей карбоксильной кислотой или спиртовым реактивным партнером, используя методики, хорошо известные в данной области техники. Производные в виде пролекарств соединений могут быть превращены в одно из
20 исходных соединений в условиях *in vivo* или в условиях *in vitro*. Как правило, в пролекарственной форме соединения по меньшей мере один вид биологической активности соединения будет снижен и может быть активирован путем превращения пролекарства с высвобождением соединения или его метаболита. Примеры пролекарств включают применение защитных групп, которые могут быть удалены в условиях *in situ* с высвобождением активного соединения или могут служить для ингибирования клиренса
25 лекарственного средства в условиях *in vivo*.

Аналоги глюкагона, применяемые в составах согласно настоящему изобретению, могут быть синтезированы с использованием методик твердофазного пептидного синтеза, хорошо известных в данной области техники. В качестве примера, это может быть осуществлено на синтезаторе пептидов CEM Liberty с использованием смолы Tentagel S
30 PNB-Thr (tBu) (1,13 г, 0,24 ммоль/г), COMU в качестве связывающего реагента, ДМФА в качестве растворителя и Fmoc-химии, как описано выше. В последовательности использовали псевдопролины Fmoc-Phe-Thr (Ψ Me, Me pro)-OH (в положении 6/7) и Fmoc-Glu-Ser (Ψ, Me, Me pro)-OH (в положении 15/16). После синтеза аналог глюкагона может быть отщеплен от смолы, и очистку выполняли на колонке Gemini-NX (5 см, C18, 10
35 микрон) с потоком 35 мл/мин смеси буфера А (0,1% водный раствор ТФУ) и буфера В

(водный раствор, содержащий 0,1% ТФУ и 90% MeCN). Объединенные фракции могут быть лиофилизированы и повторно растворены в воде перед дальнейшей очисткой. Чистоту продукта можно определить с помощью аналитической ВЭЖХ, а моноизотопную массу можно определить с помощью МС.

5 Составы аналогов глюкагона

Как описано в настоящей заявке, стабильный жидкий водный фармацевтический состав в соответствии с настоящим изобретением содержит аналог глюкагона, буфер, модификатор тоничности и изготовлен таким образом, чтобы иметь pH, который физиологически совместим с введением пациенту. Согласно некоторым вариантам реализации составы
10 согласно настоящему изобретению дополнительно содержат консервант, например, позволяющий получать многодозовые составы. В приведенных ниже примерах авторы настоящего изобретения определили, что выбор буфера, используемого для изготовления композиций согласно настоящему изобретению, оказывает решающее влияние на их
15 долговременную стабильность и что многие обычно используемые буферы, включая фосфатный буфер, гистидиновый буфер, малеиновую кислоту и воду Milli-Q (MQW), не обеспечивали достаточной стабильности в жидком водном составе, например, для хранения в течение 13, 26 или 52 недель при 25°C. Однако другие типы буфера, в частности, буферы ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES, могли быть использованы для
20 изготовления стабильных жидких водных составов аналогов глюкагона. В экспериментах, описанных в настоящей заявке, также обнаружено, что стабильность, обеспечиваемая этими буферами, была способна непосредственно химически стабилизировать аналог глюкагона, т.е. таким образом, который не зависел от pH состава, обеспечиваемого буфером. Этот эффект может быть определен относительно фосфатного буфера и/или гистидинового буфера в тех же тестовых условиях.

25 ТРИС-буфер относится к (трис(гидроксиметил)аминометану или 2-амино-2-(гидроксиметил)пропан-1,3-диолу) по номенклатуре IUPAC.
Бис-ТРИС-буфер относится к (Бис-ТРИС метану или 2-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-2-(гидроксиметил)пропан-1,3-диолу) по номенклатуре IUPAC.
ACES-буфер относится к (N-(2-ацетамидо)-2-аминоэтансульфоновой кислоте или 2-
30 (карбамоилметиламино)этансульфоновой кислоте) по номенклатуре IUPAC.
MES-буфер относится к (2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоте или 2-морфолин-4-илэтансульфоновой кислоте по номенклатуре IUPAC.

Другие буферы, которые могут быть использованы в качестве альтернатив или в дополнение к этим буферам, включают цитрат, ацетат или сукцинат, например, в виде
35 цитрата натрия, ацетата натрия или сукцината натрия. Предпочтительно эти буферы

присутствуют в концентрации от приблизительно 1 мМ до приблизительно 30 мМ, более предпочтительно от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ и более предпочтительно в концентрации приблизительно 15 мМ. Фактическая используемая концентрация может учитывать, используются ли буферы по отдельности или в комбинации.

Экспериментальная работа, которая привела к настоящему изобретению, показывает, что в стабильных составах аналогов глюкогона можно избежать включения полярного апротонного растворителя в жидкий состав, например, использования диметилсульфоксида (ДМСО), который используется в WO 2017/053822 и WO 2014/124151, с недостатками, которые он придает используемым составам. Соответственно, предпочтительно составы согласно настоящему изобретению по существу не включают апротонный полярный растворитель, и более предпочтительно составы по существу не включают диметилсульфоксид (ДМСО). Согласно конкретным предпочтительным вариантам реализации вода представляет собой единственный растворитель, используемый для получения жидкого водного состава.

Работа, описанная в настоящей заявке, также показывает, что вопреки опыту, касающемуся составов, основанных на использовании ДМСО, необязательно в комбинации с сорастворителями, можно получать составы, в которых присутствует вода, без существенного влияния на химическую или физическую стабильность аналогов глюкогона в составах. Особенно полезными вариантами реализации жидких фармацевтических составов согласно настоящему изобретению являются водные составы, то есть составы, содержащие воду. Такие составы могут быть в форме водного раствора или водной суспензии. Предпочтительными вариантами реализации водных фармацевтических составов согласно настоящему изобретению являются водные растворы. В контексте настоящего изобретения термин «водный состав» обычно будет относиться к составу, содержащему по меньшей мере 50% по массе (50% масс./масс.) воды в качестве растворителя, более предпочтительно по меньшей мере 75% (масс./масс.) воды, более предпочтительно по меньшей мере 80% (масс./масс.) воды, более предпочтительно по меньшей мере 85% (масс./масс.) воды, более предпочтительно по меньшей мере 90% (масс./масс.) воды, наиболее предпочтительно по меньшей мере 95% (масс./масс.) воды. Аналогичным образом, термин «водный раствор» обычно будет относиться к раствору, содержащему по меньшей мере 50% (масс./масс.) воды, и термин «водная суспензия» будет относиться к суспензии, содержащей по меньшей мере 50% масс./масс. воды. Согласно определенным вариантам реализации водные составы согласно настоящему изобретению по существу не включают апротонные полярные

растворители, такие как диметилсульфоксид (ДМСО). «По существу» в этом смысле означает, что водные составы включают менее 5% по объему (об./об.) апротонного растворителя, более предпочтительно менее 2% по объему (об./об.) апротонного растворителя и еще более предпочтительно менее 1% по объему (об./об.) апротонного растворителя. Вода является единственным растворителем, используемым для получения жидких водных составов в соответствии с определенными вариантами реализации настоящего изобретения.

Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения стабильные жидкие водные составы аналога глюкагона, его фармацевтически приемлемой соли и/или производного содержат:

- (a) аналог глюкагона, присутствующий в концентрации от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл;
- (b) ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES, присутствующий в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 75 мМ;
- (c) хлорид натрия, присутствующий в качестве модификатора тоничности; и в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 600 мМ; и
- (d) pH от приблизительно 5,6 до приблизительно 7,0.

Согласно некоторым вариантам реализации состава, содержащего аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное, указанный состав содержит аналог глюкагона, его фармацевтически приемлемую соль или его производное, присутствующее в концентрации от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 1,0 мг/мл, например, приблизительно 0,1 мг/мл, приблизительно 0,2 мг/мл, приблизительно 0,3 мг/мл, приблизительно 0,4 мг/мл, приблизительно 0,5 мг/мл, приблизительно 0,6 мг/мл, приблизительно 0,7 мг/мл, приблизительно 0,8 мг/мл, приблизительно 0,9 мг/мл или приблизительно 1,0 мг/мл.

Термин «фармацевтически приемлемый носитель» включает любой из стандартных фармацевтических носителей или растворителей, таких как те, которые используют в композициях или составах, подходящих для перорального, легочного, ректального, назального, местного, подкожного, внутримышечного, внутривенного, внутривнутрибрюшинного, внутрикожного, трансдермального или вагинального введения. Фармацевтически приемлемые носители для терапевтического применения хорошо известны в фармацевтической области и описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). В жидких составах в качестве носителей часто применяют незабуференные или забуференные водные растворы.

Например, можно использовать стерильный солевой раствор или фосфатно-солевой

буферный раствор (ФСБ) при слабокислом, слабощелочном или физиологическом pH. Соответствующие pH-забуферивающие агенты включают трис(гидроксиметил)аминометан (ТРИС), 2-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-2-(гидроксиметил)пропан-1,3-диол (Бис-ТРИС), 2-(карбамоилметиламино)этансульфоновую кислоту (ACES), малеиновую кислоту, 2-морфолин-4-илэтансульфоновую кислоту (MES), а также их смеси. Термин дополнительно охватывает любые агенты, перечисленные в Фармакопее США для применения у животных или человека.

Термин «фармацевтически приемлемая соль» в контексте настоящего изобретения относится к соли, не являющейся вредной для пациента или субъекта, подлежащего лечению с ее использованием. Такие соли обычно представляют собой кислотно-аддитивные соли или основные соли. Кислотно-аддитивные соли включают соли неорганических кислот и соли органических кислот. Неограничивающие примеры подходящих кислотно-аддитивных солей включают гидрохлоридные соли, фосфатные соли, формиатные соли, ацетатные соли, трифторацетатные соли и цитратные соли. Примеры основных солей включают соли, в которых катион выбран из ионов щелочных металлов, таких как натрий и калий, ионов щелочноземельных металлов, таких как кальций, а также замещенных ионов аммония, например, типа $NR(R')_3^+$, где R и R' независимо обозначают необязательно замещенный C₁₋₆ алкил, необязательно замещенный C₂₋₆ алкенил, необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил. Другие примеры фармацевтически приемлемых солей описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th edition. Ed. Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mack Publishing Company, Easton, PA, U.S.A., 1985 и более поздних изданиях, а также в Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology.

Термин «лечение» (а также «осуществлять лечение» и другие его грамматические варианты), используемый в контексте настоящего изобретения, относится к подходу к получению благоприятных или целевых клинических результатов. Для целей настоящего изобретения благоприятные или целевые клинические результаты включают, но не ограничиваются перечисленными, облегчение симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизацию (то есть отсутствие ухудшения) болезненного состояния, отсрочку или замедление прогрессирования заболевания, уменьшение интенсивности или временное облегчение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), будь то детектируемые или недетектируемые. «Лечение» также может относиться к увеличению продолжительности выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью в отсутствие лечения. «Лечение» представляет собой вмешательство, выполняемое с намерением предотвратить развитие нарушения или изменить его

патологию. Соответственно, «лечение» относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или предупредительным мерам. При использовании в контексте профилактических или предупредительных мер фармацевтический состав не обязательно должен полностью предотвращать развитие заболевания или нарушения. Нуждающиеся в

5 лечении индивидуумы включают индивидуумов уже страдающих нарушением, а также индивидуумов, у которых необходимо предотвратить развитие нарушения. «Лечение» также означает ингибирование или снижение роста патологии или симптомов (например, увеличения массы тела или гипогликемии) по сравнению с отсутствием лечения и необязательно означает полное прекращение рассматриваемого состояния.

10 «Стабильный» состав представляет собой состав, в котором пептид по существу сохраняет свою физическую стабильность и/или химическую стабильность, и/или биологическую активность при хранении. Предпочтительно состав по существу сохраняет свою физическую и химическую стабильность, а также свою биологическую активность при хранении. Период хранения обычно выбран на основании предусмотренного срока

15 годности состава. Составы согласно настоящему изобретению обеспечены в виде стабильных жидких составов, например, стабильных жидких водных составов. В данной области техники доступны различные аналитические методики измерения стабильности белка, которые рассматриваются в *Peptide and Protein Drug Delivery*, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) и Jones, A. *Adv. Drug Delivery Rev.*

20 10: 29-90 (1993), например. Согласно настоящему изобретению «стабильные» составы включают составы, в которых по меньшей мере 80%, более предпочтительно по меньшей мере 85%, более предпочтительно по меньшей мере 90%, более предпочтительно по меньшей мере 95%, более предпочтительно по меньшей мере 96%, более предпочтительно по меньшей мере 97%, более предпочтительно по меньшей мере 98% и наиболее

25 предпочтительно по меньшей мере 99% аналога глюкагона не разлагается в составе после его хранения при 2-8°C в течение 18 месяцев. Также можно протестировать стабильность в условиях ускоренного исследования хранения, в которых обычно используют повышенную температуру хранения, чтобы оценить стабильность в течение сокращенных периодов времени. Например, для оценки стабильности в течение 13, 26, 39 или 52 недель

30 можно использовать хранение при 25°C, иногда называемое условиями ускоренного исследования. В качестве сравнения, использование других буферов, таких как фосфатный буфер или гистидиновый буфер, приводит к уровням стабильности, которые обычно составляют менее 80% после хранения в течение соответствующего периода.

Стабильность может быть измерена при выбранной температуре в течение выбранного

35 периода времени, например, используя повышенную температуру, чтобы уменьшить

период тестирования состава. Обычно хранение при температуре от 2 до 8°C означает хранение в нормальных условиях охлаждения. Согласно определенным вариантам реализации состав стабилен при таких условиях в течение по меньшей мере 6 месяцев, более предпочтительно по меньшей мере 12 месяцев, более предпочтительно по меньшей мере 18 месяцев, более предпочтительно по меньшей мере 24 месяцев. Стабильность можно оценить качественно и/или количественно множеством различных способов, включая оценку образования агрегатов (например, с использованием эксклюзионной хроматографии, рассеяния УФ-света, динамического рассеяния света, кругового дихроизма, путем измерения мутности и/или путем визуального осмотра); путем оценки гетерогенности заряда с использованием катионообменной хроматографии, визуализирующей капиллярной изоэлектрической фокусировки (icIEF) или капиллярного зонного электрофореза; анализ аминоконцевой или карбоксиконцевой последовательности; масс-спектрометрический анализ; анализ методом электрофореза в ДСН-ПААГ (SDS-PAGE) для сравнения восстановленного и интактного антитела; анализ пептидной карты (например, триптический или LYS-C); оценку биологической активности или антигенсвязывающей функции антитела; и т.д. Нестабильность может включать любое одно или более из: агрегации, дезамидирования (например, дезамидирования Asn), окисления (например, окисления Met), изомеризации (например, изомеризации Asp), расщепления связей (clipping)/гидролиза/фрагментации (например, фрагментации шарнирной области), образования сукцинимидов, неспаренного (ых) цистеина (ов), N-концевого удлинения, C-концевого процессинга, различий в гликозилировании, образования аддукта и т. д.

Пептид «сохраняет свою физическую стабильность» в фармацевтическом составе, если он не показывает признака (или показывает очень незначительный признак) агрегации, преципитации и/или денатурации, например, при визуальном осмотре цвета и/или прозрачности или при измерении с помощью рассеяния УФ-света, динамического рассеяния света, кругового дихроизма или эксклюзионной хроматографии, и считается, что он все еще сохраняет свою биологическую активность.

Пептид «сохраняет свою химическую стабильность» в фармацевтическом составе, если химическая стабильность в конкретный момент времени такова, что считается, что пептид все еще сохраняет свою биологическую активность, как определено ниже. Химическую стабильность можно оценить путем детектирования и количественного определения химически измененных форм пептида. Химическое изменение может включать изомеризацию, окисление, модификацию размера (например, расщепление связей), которые можно оценить с помощью ВЭЖХ или эксклюзионной хроматографии, SDS-

PAGE и/или масс-спектрометрии, например. Другие типы химического изменения включают изменение заряда (например, происходящее в результате дезамидирования), которое можно оценить с помощью ВЭЖХ или ионообменной хроматографии, или icIEF, например.

5 Как раскрыто в настоящей заявке, стабильные жидкие водные составы аналога глюкагона или его фармацевтически приемлемой соли или производного согласно настоящему изобретению обычно содержат:

(a) аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемую соль, или его производное, присутствующее в концентрации от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 10

10 мг/мл;

(b) ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES, присутствующий в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 75 мМ;

(c) хлорид натрия, присутствующий в качестве модификатора тоничности; и в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 200 мМ; и

15 (d) pH от приблизительно 5,6 до приблизительно 7,0.

Согласно некоторым вариантам реализации состава, содержащего аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное, указанный состав содержит аналог глюкагона, его фармацевтически приемлемую соль или его производное, присутствующее в концентрации от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 1,0

20 мг/мл, например, приблизительно 0,1 мг/мл, приблизительно 0,2 мг/мл, приблизительно 0,3 мг/мл, приблизительно 0,4 мг/мл, приблизительно 0,5 мг/мл, приблизительно 0,6 мг/мл, приблизительно 0,7 мг/мл, приблизительно 0,8 мг/мл, приблизительно 0,9 мг/мл или приблизительно 1,0 мг/мл.

В качестве примера, согласно некоторым вариантам реализации аналог глюкагона

25 присутствует в концентрации приблизительно 1,0 мг/мл или приблизительно 4,0 мг/мл.

Предпочтительно в стабильных жидких водных составах согласно настоящему изобретению ТРИС, Бис-ТРИС или ACES присутствует в качестве буфера в концентрации приблизительно 50 мМ.

Предпочтительно в стабильных жидких водных составах согласно настоящему изобретению хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в

30 концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 600 мМ, в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 500 мМ, в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 200 мМ или в концентрации от приблизительно 60 мМ до приблизительно 120 мМ.

35 Предпочтительно в стабильных жидких водных составах согласно настоящему

изобретению указанный состав имеет рН от приблизительно 5,8 до 6,7 или рН от приблизительно 6,0 до 7,0 и более предпочтительно рН приблизительно 6,0 или приблизительно 6,5. Согласно некоторым вариантам реализации, описанным в настоящей заявке, однодозовый (SD) состав имеет рН приблизительно 6,5, в то время как составы, предназначенные для многодозового применения, имеют рН приблизительно 6,0 или рН приблизительно 6,5.

Предпочтительно в стабильных жидких водных составах согласно настоящему изобретению указанный состав не включает стабилизирующее ионизацию вспомогательное вещество, выбранное из соляной кислоты, азотной кислоты, серной кислоты или их комбинации.

Предпочтительно в стабильных жидких водных составах согласно настоящему изобретению указанный состав представляет собой готовый к применению состав.

Предпочтительно в стабильных жидких водных составах согласно настоящему изобретению указанный состав стабилен при 2-8°C в течение по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев или по меньшей мере 24 месяцев. Предпочтительно в стабильных жидких водных составах согласно настоящему изобретению аналог глюкогона в составе сохраняет по меньшей мере приблизительно 90% своей биологической активности после 18 месяцев хранения при 2-8°C. Хотя хранение при температуре 2-8°C отражает хранение в условиях охлаждения от производства до конечного использования, жидкие составы согласно настоящему изобретению предпочтительно имеют долговременную стабильность при хранении в условиях окружающей среды, например, в течение времени между продажей конечному потребителю и введением.

Предпочтительно стабильные жидкие водные составы согласно настоящему изобретению являются стерильными.

Предпочтительно в стабильных жидких водных составах согласно настоящему изобретению указанный состав вводят субъекту путем инъекции, например, путем подкожной инъекции.

Предпочтительно в стабильных жидких водных составах согласно настоящему изобретению буфер представляет собой ТРИС или Бис-ТРИС.

Согласно некоторым аспектам стабильные жидкие водные составы согласно настоящему изобретению могут дополнительно содержать консервант. Предпочтительно консервант представляет собой мета-крезол, необязательно в концентрации от приблизительно 1,0 мг/мл до приблизительно 5,0 мг/мл.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложен стабильный жидкий водный

состав, в котором аналог глюкагона присутствует в концентрации от приблизительно 0,75 мг/мл до приблизительно 1,25 мг/мл, ТРИС присутствует в концентрации от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 200 мМ, и указанный состав имеет рН от приблизительно 6,0 до приблизительно 7,0. В этом аспекте предпочтительно стабильный жидкий водный состав содержит аналог глюкагона, присутствующий в концентрации приблизительно 1,0 мг/мл, ТРИС, присутствующий в концентрации приблизительно 50 мМ, хлорид натрия, присутствующий в качестве модификатора тоничности в концентрации приблизительно 175 мМ, и указанный состав имеет рН приблизительно 6,5. Этот состав обычно предусмотрен в виде однократного состава.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложен стабильный жидкий водный состав, в котором аналог глюкагона присутствует в концентрации от приблизительно 3,0 до 5,0 мг/мл, ТРИС присутствует в концентрации от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации от приблизительно 60 мМ до приблизительно 120 мМ, мета-крезол присутствует в качестве консерванта в концентрации от приблизительно 3,0 мг/мл до приблизительно 4,0 мг/мл, и указанный состав имеет рН от приблизительно 6,0 до приблизительно 7,0. Согласно этому аспекту предпочтительно аналог глюкагона присутствует в концентрации приблизительно 4 мг/мл, ТРИС присутствует в концентрации приблизительно 50 мМ, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации приблизительно 90 мМ, мета-крезол присутствует в качестве консерванта в концентрации от приблизительно 3,0 до приблизительно 4,0 мг/мл, и указанный состав имеет рН приблизительно 6,5. В этом аспекте состав обычно предусмотрен в виде многократного состава и, следовательно, включает консервант. Пример многократного состава имеет рН приблизительно 6,5, 4,0 мг/мл дазиглюкагона, ТРИС присутствует в концентрации приблизительно 50 мМ ТРИС, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации приблизительно 90 мМ и мета-крезол присутствует в качестве консерванта в концентрации приблизительно 3,15 мг/мл.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения предложен стабильный жидкий водный состав, в котором аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное присутствует в концентрации от приблизительно 3,0 до 5,0 мг/мл, ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES присутствует в качестве буфера в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 75 мМ, и/или цитрат, ацетат или сукцинат

присутствует в качестве буфера в концентрации от приблизительно 1 мМ до приблизительно 30 мМ, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 150 мМ, мета-крезол присутствует в качестве консерванта в концентрации от приблизительно 3,0 мг/мл до приблизительно 4,0 мг/мл, и указанный состав имеет рН от приблизительно 6,0 до 7,0. В этом аспекте предпочтительно аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное присутствует в концентрации приблизительно 4 мг/мл, буфер ТРИС, Бис-ТРИС, ACES, MES присутствует в концентрации приблизительно 50 мМ, или цитратный, ацетатный и/или сукцинатный буфер присутствует в концентрации приблизительно 15 мМ, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации приблизительно 90 мМ, мета-крезол присутствует в качестве консерванта в концентрации от приблизительно 3,0 до приблизительно 4,0 мг/мл, и указанный состав имеет рН приблизительно 6,5.

Термин «стабилизированный состав», применяемый в настоящей заявке, относится к составу, имеющему повышенную физическую стабильность, повышенную химическую стабильность или повышенную физическую и химическую стабильность.

Термин «физическая стабильность» в контексте настоящей заявки относится к измерению тенденции пептида (например, соединения согласно настоящему изобретению) к образованию растворимых или нерастворимых агрегатов пептида в результате воздействия на пептид стрессов и/или взаимодействия с границами фаз и поверхностями, которые являются дестабилизирующими, такими как гидрофобные поверхности и границы фаз. Физическую стабильность водных пептидных составов можно оценить с помощью визуального осмотра и/или измерений мутности после воздействия на состав, внесенный в подходящие контейнеры (например, картриджи или флаконы), механического/физического стресса (например, перемешивания) при различных температурах в течение различных периодов времени. Состав может быть классифицирован как физически нестабильный в отношении агрегации пептидов, когда в нем наблюдается визуальная мутность. В качестве альтернативы, мутность состава может быть оценена с помощью простых измерений мутности, хорошо известных специалисту.

Физическую стабильность водного пептидного состава также можно оценить с использованием агента, который функционирует как спектроскопический зонд конформационного статуса пептида. Зонд предпочтительно представляет собой малую молекулу, которая преимущественно связывается с ненативным конформером пептида. Одним из примеров такого низкомолекулярного спектроскопического зонда является тиофлавин Т, который представляет собой флуоресцентный краситель, широко

используемый для детектирования амилоидных фибрилл. В присутствии фибрилл и, возможно, других пептидных конфигураций тиофлавин Т приобретает новый максимум возбуждения при приблизительно 450 нм и усиленное испускание при приблизительно 482 нм при связывании с фибриллярной формой пептида. Несвязанный тиофлавин Т является по существу нефлуоресцентным при рассматриваемых длинах волн.

Термин «химическая стабильность» в контексте настоящей заявки относится к стабильности пептида в отношении ковалентных/хиральных химических изменений в пептидной структуре, которые приводят к образованию химических продуктов деградации с потенциально более низкой биологической активностью и/или потенциально повышенной иммуногенностью по сравнению с нативной пептидной структурой. Могут образовываться различные химические продукты деградации, в зависимости от типа и конкретной природы нативного пептида и среды, воздействию которой подвергается пептид. На практике в целом нельзя полностью избежать устранения химической деградации в пептидных составах, и образование растущих количеств продуктов химической деградации часто наблюдается во время хранения и применения таких составов, как хорошо известно специалисту в данной области техники. Многие пептиды подвержены процессу деградации, при котором амидная группа боковой цепи в глутаминильных или аспарагинильных остатках гидролизуетс^я с образованием свободной карбоновой кислоты. Другие пути деградации включают образование высокомолекулярных продуктов трансформации, при которой две или более молекул пептида ковалентно связываются друг с другом посредством трансамидирования и/или дисульфидных взаимодействий, что приводит к образованию ковалентно связанных олигомерных и полимерных продуктов деградации (см., например, Stability of Protein Pharmaceuticals, Ahern, T.J. and Manning M.C., Plenum Press, New York 1992). Кроме того, гидролиз пептидного остова, приводящий к пептидным фрагментам, хорошо известен. Окисление (например, остатков метионина) является еще одной формой химической деградации пептидов. Химическая стабильность пептидного состава может быть оценена путем измерения количества продуктов химической деградации в различные моменты времени после воздействия различных условий окружающей среды (например, образование продуктов деградации часто может быть ускорено повышением температуры). Количество каждого отдельного продукта деградации может быть определено путем разделения продуктов деградации для создания «профиля деградации». Разделение обычно проводят на основе молекулярного размера и/или заряда с использованием различных хроматографических методик (например, ЭХ-ВЭЖХ и/или ОФ-ВЭЖХ). Олигомеры могут представлять собой ковалентные олигомеры или

нековалентные олигомеры. Ковалентный олигомер представляет собой две или более молекул, которые связаны посредством ковалентной химической связи, и связь обычно является необратимой. Напротив, в нековалентных олигомерах одна или более молекул связаны друг с другом посредством взаимодействия, которое не является ковалентной химической связью, например, ионного взаимодействия, гидрофобного взаимодействия и т.д. Хотя в некоторых случаях это может быть обратимым, обычно взаимодействия настолько сильны, что они практически необратимы и, как и в случае с ковалентными олигомерами, приводят к тому, что активное лекарственное вещество не является фармацевтически доступным.

Химическая нестабильность глюкагона как такового при низком pH в основном обусловлена изомеризацией и расщеплением остатков аспарагиновой кислоты, дезамидированием остатков глутамина и окислением метионина. В целом, дезамидирование Asn и Gln происходит при высоком pH, со значительными скоростями при физиологическом pH приблизительно pH 7,4, за счет циклического промежуточного соединения с имидным кольцом, которое может открываться с образованием L-Asp и L-изоAsp или L-Glu и L-изоGlu, соответственно. Циклическое промежуточное соединение с имидным кольцом также может приводить к образованию небольших количеств соответствующих D-изомеров, что указывает на медленную рацемизацию циклического имида.

При значениях pH ниже физиологического pH скорость дезамидирования Asn и Gln снижается, но скорость образования циклического имида из Asp и Glu, и, следовательно, изомеризации, увеличивается с уменьшением pH. Образование циклического имида является наибольшим между pH 4 и pH 6. Образование циклического имидного промежуточного соединения также может привести к расщеплению пептидной последовательности.

Как указано выше, «стабилизированный состав» может, таким образом, относиться к составу с повышенной физической стабильностью или повышенной химической стабильностью, или повышенной физической и химической стабильностью. Обычно состав должен быть стабильным во время использования и хранения (в соответствии с рекомендованными условиями использования и хранения) по меньшей мере до достижения указанного срока годности.

Согласно определенным вариантам реализации жидких фармацевтических составов согласно настоящему изобретению состав стабилен в течение по меньшей мере 2 недель применения и по меньшей мере 6 месяцев хранения. Согласно дополнительным вариантам реализации состав стабилен в течение по меньшей мере 2 недель применения и по

меньшей мере одного года хранения. Согласно дополнительным вариантам реализации состав стабилен в течение по меньшей мере 2 недель применения и по меньшей мере двух лет хранения. Согласно другим вариантам реализации состав стабилен в течение по меньшей мере 4 недель применения и по меньшей мере двух лет хранения или даже по меньшей мере 4 недель применения и более 3 лет хранения. Особенно подходящие варианты реализации таких фармацевтических составов согласно настоящему изобретению стабильны в течение по меньшей мере 6 недель применения и по меньшей мере 3 лет хранения. В этой связи термин «применение» для целей настоящего пункта относится к извлечению фармацевтического состава из хранения с целью применения состава в терапевтических целях, что подвергает его воздействию различных условий окружающей среды (условий света, темноты, температуры, перемешивания и т. д.), в то время как термин «хранение» для целей настоящего пункта относится к хранению в условиях без перемешивания в холодильнике или морозильной камере при температуре, не превышающей приблизительно 5°C. Квалифицированный работник поймет типичный диапазон условий применения и хранения, которым могут подвергаться эти фармацевтические составы.

Как описано в настоящей заявке, стабильные жидкие водные составы аналогов глюкагона согласно настоящему изобретению включают буфер для обеспечения pH и модификатор тоничности. В соответствии с обычной фармацевтической практикой составы согласно настоящему изобретению стерильны и/или не содержат восстанавливающего агента. Жидкие составы согласно настоящему изобретению представляют собой жидкие водные составы.

Термин «буфер» в контексте настоящей заявки обозначает фармацевтически приемлемый агент, который стабилизирует pH фармацевтического состава. Подходящие буферы хорошо известны в данной области техники и могут быть найдены в литературе. Согласно предпочтительным вариантам реализации буфер выбран из группы, состоящей из ТРИС-буфера, Бис-ТРИС-буфера, ACES-буфера или MES-буфера и/или цитратного, ацетатного или сукцинатного буферов, поскольку эти буферы обеспечивают стабильные составы, в которых аналоги глюкагона растворялись и не становились вязкими, мутными или не осаждали пептидное лекарственное средство. Согласно предпочтительным вариантам реализации буфер представляет собой ТРИС или Бис-ТРИС. Обычно буфер будет присутствовать в концентрации от приблизительно 25 mM до приблизительно 75 mM. Согласно определенным вариантам реализации буфер будет присутствовать в концентрации приблизительно 50 mM. Согласно определенным вариантам реализации буфер ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES обеспечивает непосредственную химическую

стабилизацию аналога глюкагона независимо от pH состава. Согласно другим вариантам реализации буфер ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES обеспечивает улучшенную непосредственную химическую стабилизацию, как определено по сравнению с фосфатным буфером и/или гистидиновым буфером в тех же тестовых условиях. Согласно другим вариантам реализации, в частности, тем, которые относятся к многодозовым составам, в которых присутствует консервант, такой как мета-крезол, буферы также включают применение цитрата, ацетата или сукцината в концентрации от приблизительно 1 мМ до приблизительно 30 мМ. Согласно некоторым вариантам реализации состав обеспечивает улучшенную химическую стабилизацию по сравнению с составом, в котором буфер ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES заменен фосфатным буфером и/или гистидиновым буфером той же концентрации и pH, согласно оценке в тех же тестовых условиях. Например, состав может иметь профиль деградации после 52 недель хранения при 25°C, после которых состав содержит одно или более из менее 5% Pyro-Glu 4-29, менее 7% окисления Trp/Тур, менее 4% кинуренина, менее 5% F-4-29 + F5-29 и/или менее 2% F3.29 после хранения в течение 52 недель при 25°C, при этом все процентные значения определяют с помощью ВЭЖХ.

Термин «модификатор тоничности» в контексте настоящей заявки обозначает фармацевтически приемлемые агенты для контроля тоничности, которые используются для модулирования тоничности состава. Составы согласно настоящему изобретению предпочтительно являются изотоническими, то есть они имеют осмотическое давление, которое по существу аналогично таковому сыворотки крови человека. Модификатор тоничности, используемый в составах, предпочтительно представляет собой хлорид натрия. Концентрация модификатора тоничности будет зависеть от концентрации других компонентов состава, в частности, если предусмотрено, что состав должен быть изотоническим. Как правило, хлорид натрия будет применяться в качестве модификатора тоничности в концентрации от приблизительно 50 мМ до 600 мМ. Согласно определенным вариантам реализации концентрация хлорида натрия, присутствующего в качестве модификатора тоничности в составах согласно настоящему изобретению, может составлять от приблизительно 10 мМ до приблизительно 150 мМ, например, от приблизительно 20 мМ до приблизительно 130 мМ, от приблизительно 50 мМ до приблизительно 125 мМ, от приблизительно 75 мМ до приблизительно 120 мМ, от приблизительно 90 мМ до приблизительно 115 мМ или приблизительно 110 мМ. Согласно определенным вариантам реализации концентрация хлорида натрия, присутствующего в качестве модификатора тоничности в составах согласно настоящему изобретению, может составлять от приблизительно 150 мМ до приблизительно 200 мМ, необязательно

приблизительно 175 мМ. Согласно предпочтительному варианту реализации хлорид натрия может присутствовать в качестве модификатора тоничности в составах, содержащих консервант, в концентрациях от приблизительно 50 мМ до приблизительно 150 мМ и наиболее предпочтительно в концентрации приблизительно 90 мМ или

5 приблизительно 75 мМ, или приблизительно 125 мМ.

Обычно компоненты и количества жидких составов согласно настоящему изобретению выбраны так, чтобы обеспечить состав с рН приблизительно 5,6 или рН от приблизительно 6,0 до приблизительно 7,0. Согласно предпочтительному варианту реализации составы могут иметь рН от приблизительно 6,2 до приблизительно 6,8. Более

10 предпочтительно составы могут иметь рН от приблизительно 6,3 до приблизительно 6,7. Более предпочтительно составы могут иметь рН от приблизительно 6,4 до приблизительно 6,6. В качестве альтернативы или дополнительно, составы могут иметь рН приблизительно 6,5 как для однократных, так и для многократных составов.

Согласно определенным вариантам реализации составы согласно настоящему

15 изобретению дополнительно содержат консервант. Согласно предпочтительным вариантам реализации консервант представляет собой мета-крезол, присутствующий в концентрации от приблизительно 1,0 мг/мл до приблизительно 5,0 мг/мл, более предпочтительно от приблизительно 2,0 мг/мл до приблизительно 4,0 мг/мл и наиболее предпочтительно в концентрации от приблизительно 3,0 мг/мл до приблизительно 4,0

20 мг/мл. Количество консерванта зависит от необходимости иметь возможность эффективно уничтожать ряд типов бактерий, если это требуется для одобрения регуляторными органами.

Составы согласно настоящему изобретению имеют профиль деградации, определенный с помощью хроматографического разделения (например, с помощью эксклюзионной

25 хроматографии (ЭХ) и/или хроматографии с обращенной фазой (RPC)). В частности, дополнительный вывод экспериментов, описанных в настоящей заявке, заключается в том, что профиль продуктов деградации буферов, которые позволили получить стабильные составы в соответствии с настоящим изобретением, был очень сходным после хранения в течение 52 недель при 25°C, в то время как профили продуктов деградации

30 буферов, которые не позволили получить стабильные составы, отличались. В таблице ниже % продуктов деградации измеряли с использованием ВЭЖХ.

Руго-Glu(4-29) представляет собой продукт, в котором азот Gln остова в положении 4 реагирует с амидом боковой цепи и образует внутреннее лактамное кольцо. Последующий гидролиз амидной связи между Ser в положении 3 и лактамизированным фрагментом Glu

35 приводит к продукту деградации, в котором первые три аминокислоты были отщеплены, и

на N-конце присутствует фрагмент пироглутаминовой кислоты. Окисление Тир/Трип приводит к включению гидроксильной группы в ароматические кольца Тир и Трип. Кинуренин является хорошо известным продуктом окисления остатков Трип. Добавление янтарной кислоты относится к добавлению дазиглюкагона к двойной связи в малеиновой кислоте буфера. FX^1-X^2 представляет собой фрагмент, содержащий аминокислоты от X^1 до X^2 .

Буфер	Основной продукт деградации и сравнение с ТРИС, Бис-ТРИС и MES	Путь деградации
Фосфат	ВУ 1,35, Руго-Glu(4-29): 7,5% в сравнении с 0,4%	Гидролиз
Гистидин	ОВУ 0,22, окисление Тир/Трип, +16 Да, 9,9% в сравнении с 0,3% ОВУ 0,75, кинуренин, +4 Да: 4,7% в сравнении с 0,2%	Окисление
Малеиновая кислота	ОВУ 1,02, добавление янтарной кислоты, +116 Да: 12,5% в сравнении с 0,0% ОВУ 1,23, F-4-29 + F5-29: 6,3% в сравнении с 0,6% ОВУ 1,13, F-3,29: 2,6% в сравнении с 0,2%	Добавление янтарной кислоты (добавление к двойной связи в малеиновой кислоте) Гидролиз

Таким образом, ТРИС, Бис-ТРИС, MES и ACES защищают дазиглюкагон от гидролиза и окисления по сравнению с фосфатом, гистидином и малеиновой кислотой, и между ТРИС, Бис-ТРИС, MES и дазиглюкагоном нет значимых реакций. Небольшое количество (0,9% через 52 недели при 25°C) дазиглюкагона, конденсированного с ACES (+165 Да), образуется в течение 52 недель.

Соответственно, в некоторых аспектах составы согласно настоящему изобретению будут иметь менее 5% Руго-Glu 4-29 после хранения в течение 52 недель при 25°C, как определено с помощью ВЭЖХ, более предпочтительно менее 4%, более предпочтительно менее 3%, более предпочтительно менее 2%, более предпочтительно менее 1% и наиболее предпочтительно менее 0,5%.

Соответственно, в некоторых случаях составы согласно настоящему изобретению будут иметь менее 7% окисления Трип/Тир после хранения в течение 52 недель при 25°C, как определено с помощью ВЭЖХ, более предпочтительно менее 5%, более предпочтительно менее 4%, более предпочтительно менее 3%, более предпочтительно менее 2%, более

предпочтительно менее 1% и наиболее предпочтительно менее 0,5%.

Соответственно, в некоторых случаях составы согласно настоящему изобретению будут иметь менее 4% кинуренина после хранения в течение 52 недель при 25°C, как определено с помощью ВЭЖХ; более предпочтительно менее 3%, более предпочтительно менее 2%,

5 более предпочтительно менее 1% и наиболее предпочтительно менее 0,5%.

Соответственно, в некоторых случаях составы согласно настоящему изобретению будут иметь менее 5% F-4-29 + F5-29 после хранения в течение 52 недель при 25°C, как определено с помощью ВЭЖХ, более предпочтительно менее 4%, более предпочтительно менее 3%, более предпочтительно менее 2%, более предпочтительно менее 1% и наиболее

10 предпочтительно менее 0,5%.

Соответственно, в некоторых случаях составы согласно настоящему изобретению будут иметь менее 2% F3.29 после хранения в течение 52 недель при 25°C, как определено с помощью ВЭЖХ, более предпочтительно менее 1% и наиболее предпочтительно менее 0,5%.

15 Согласно одному аспекту стабильный жидкий водный состав содержит аналог глюкагона в концентрации от приблизительно 0,75 мг/мл до приблизительно 1,25 мг/мл, ТРИС в концентрации от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ, хлорид натрия в качестве модификатора тоничности в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 200 мМ и указанный состав имеет рН от приблизительно 6,2 до

20 приблизительно 6,8.

Согласно другому аспекту стабильный жидкий водный состав содержит аналог глюкагона в концентрации от приблизительно 3,0 до 5,0 мг/мл, ТРИС в концентрации от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ, хлорид натрия в качестве модификатора тоничности в концентрации от приблизительно 60 мМ до приблизительно

25 120 мМ, мета-крезол в качестве консерванта в концентрации от приблизительно 3,0 мг/мл до приблизительно 4,0 мг/мл, и указанный состав имеет рН приблизительно 6,0.

Согласно определенным вариантам реализации стабильный жидкий состав аналогов глюкагона представляет собой готовый к применению состав. Термин «готовый к применению» в контексте настоящей заявки относится к составу, который не требует

30 восстановления или разбавления назначенным количеством разбавителя, например, водой для инъекций или другим подходящим разбавителем, перед использованием с помощью предусмотренного пути введения.

Медицинские показания

Фармацевтические составы аналога глюкагона согласно настоящему изобретению можно

35 применять при лечении или предотвращении различных состояний или нарушений.

Необязательно составы можно применять в комбинации с одним или более дополнительными терапевтически активными веществами. Таким образом, соответствующие варианты терапевтического применения включают: лечение или предотвращение гипогликемии (включая, но не ограничиваясь перечисленными, острую гипогликемию, хроническую гипогликемию или тяжелую гипогликемию), диабета 2 типа (включая прогрессирование заболевания при диабете 2 типа), нарушения толерантности к глюкозе, диабета 1 типа, ожирения (включая заболевания или состояния, связанные с избыточным весом или ожирением), ишемической болезни сердца, атеросклероза, гипертензии, дислипидемии, стеатоза печени, отравления β -блокаторами, инсулиномы и болезни фон Гирке; предотвращение возникновения избыточной массы тела у субъекта; снижение массы тела; снижение потребления пищи; увеличение затрат энергии; отсрочку прогрессирования от нарушения толерантности к глюкозе (IGT) до диабета 2 типа; отсрочку прогрессирования от диабета 2 типа до диабета, требующего инсулина; регуляцию аппетита или индукцию насыщения (включая лечение булимии и лечение компульсивного переедания); и предотвращение повторного увеличения массы тела после успешной потери массы тела. В качестве общего принципа, фармацевтические составы согласно настоящему изобретению можно применять для контроля уровней глюкозы в крови.

Формы гипогликемии, которые можно лечить или предотвращать в соответствии с настоящим изобретением, представляют собой диабетическую гипогликемию, острую гипогликемию, индуцированную инсулином, гиперинсулинемическую гипогликемию, тяжелую гипогликемию, недиабетическую гипогликемию, реактивную гипогликемию, гипогликемию натошак, гипогликемию, индуцированную лекарственными средствами, врожденную гиперинсулинемическую гипогликемию, гипогликемию, индуцированную алкоголем, гипогликемию, индуцированную желудочным шунтированием (включая, но не ограничиваясь этим, постпрандиальную гипогликемию после шунтирования желудка по Ру), постбариатрическую гипогликемию или гипогликемию, возникающую во время беременности.

Согласно дополнительному варианту реализации жидкий состав, содержащий аналог глюкагона согласно настоящему изобретению, содержится в устройстве для доставки. Согласно некоторым вариантам реализации устройство для доставки представляет собой предварительно заполненный шприц, устройство для инъекций, шприц-ручку, автоинъектор с корректируемой дозой, одноразовый автоинъектор, инъектор с возможностью ношения или инфузионный насос.

Составы согласно настоящему изобретению можно вводить в различных лекарственных формах, например, в виде растворов, суспензий или эмульсий, и их можно применять в составе систем для доставки лекарственных средств с контролируемым, замедленным, пролонгированным, задержанным или медленным высвобождением. Более конкретно, но не исключительно, фармацевтические составы согласно настоящему изобретению можно применять в сочетании с парентеральными системами с контролируемым высвобождением и замедленным высвобождением, хорошо известным специалистам в данной области техники. В этой связи можно сделать общую ссылку на Handbook of Pharmaceutical Controlled Release (Wise, D.L., ed., Marcel Dekker, New York, 2000) и Drugs and the Pharmaceutical Sciences vol. 99: Protein Formulation and Delivery (MacNally, E.J., ed., Marcel Dekker, New York, 2000).

Парентеральное введение (жидкого фармацевтического состава согласно настоящему изобретению) может быть выполнено, например, путем подкожной, внутримышечной, внутрибрюшинной или внутривенной инъекции с использованием шприца, такого как шприц-ручка и/или предварительно заполненный шприц. Парентеральное введение (жидкого фармацевтического состава согласно настоящему изобретению) может быть выполнено, например, путем подкожной, внутримышечной, внутрибрюшинной или внутривенной инъекции с использованием автоинъектора, такого как автоинъектор, содержащий шприц. Автоинъектор может быть одноразовым или многоразовым и может обеспечивать (и/или может быть выполнен с возможностью обеспечения) одну или более доз жидкого фармацевтического состава. Согласно некоторым вариантам реализации парентеральное введение выполняют путем инъекции состава согласно настоящему изобретению в нижнюю часть живота, ягодицы, бедро или верхнюю часть руки (включая, но не ограничиваясь этим, внешнюю часть верхней части руки) пациента. В качестве альтернативы, парентеральное введение может быть осуществлено с использованием инфузионного насоса, например, в виде устройства или системы, которые несет субъект или пациент и которые содержат резервуар, содержащий жидкий состав согласно настоящему изобретению, и инфузионного насоса для доставки/введения состава субъекту или пациенту, или в виде соответствующего миниатюрного устройства, подходящего для имплантации в организм субъекта или пациента.

В некоторых случаях пациента можно лечить путем введения указанному пациенту однократной дозы состава или путем введения указанному пациенту многократных доз. В некоторых случаях пациенту можно ввести первую дозу состава, а затем ввести вторую дозу состава. В некоторых случаях пациенту можно ввести первую дозу состава и впоследствии ввести вторую дозу состава и впоследствии ввести одну или более

дополнительных доз состава (например, третью дозу и, возможно, четвертую или дополнительную дозу).

Примеры

Следующие примеры приведены для иллюстрации предпочтительных аспектов настоящего изобретения и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

Пример 1

Материалы и методы

Синтез дазиглюкагона

10 Дазиглюкагон был синтезирован компанией Bachem AG. Составы дазиглюкагона готовили и анализировали в компании Zealand Pharma, A/S, Дания. В качестве альтернативы, аналоги глюкагона могут быть синтезированы, как описано в WO 2014/016300 (Zealand Pharma A/S), содержание которого полностью включено посредством ссылки.

15 *Эксперименты по химической стабильности*

Дазиглюкагон растворяли в воде MilliQ для достижения исходной концентрации 25 мг/мл. Составы готовили путем аликвотирования исходного раствора пептида (937 мкл) в пробирки с последующим добавлением исходного раствора буферного компонента, а затем добавлением воды MiliQ до 90% от объема. Измеряли pH и при необходимости
20 корректировали перед добавлением воды MiliQ с получением конечного объема. Затем все составы фильтровали с использованием высокопоточного фильтра Minisart с размером пор 0,2 мкм. Профильтрованный раствор барботировали азотом и аликвотировали во флаконы по 1,0 мл в каждом флаконе. Флаконы обжимали и помещали в камеры для исследования стабильности.

25 Составы тестировали в условиях ускоренного исследования при 5°C и 25°C и тестировали через 0, 9, 13, 26, 34, 39 и 52 недели. Чистоту составов определяли с помощью ВЭЖХ, а профиль продуктов деградации определяли с помощью анализа методом ЖХ-МС.

Композиция однодозовых (SD) составов согласно настоящему изобретению представлена в **Таблице 1** и **Таблице 5**. Все составы содержат дазиглюкагон в мг/мл и были
30 изготовлены при pH 6,5. В составах 1-3 изучали эффект изменения количества хлорида натрия в составах, в то время как в составах 4-10 изучали эффект буфера, использованного для получения составов. Состав 11 представляет собой контрольный состав в воде Milli-Q, и состав 12 разработан в виде многодозового состава, включенного в это исследование в целях сравнения с однодозовыми составами. Композиция состава 12 (MD состав)
35 представляет собой pH 6,5, 4,0 мг/мл аналога глюкагона, 50 mM ТРИС, 90 mM NaCl и 3,15

мг/мл мета-крезола.

Композиция многодозовых составов согласно настоящему изобретению представлена в **Таблицах 2-4** и **6**. Все составы включают мета-крезол и 4 мг/мл дазиглюкагона и были изготовлены при pH 6,0 или pH 6,5. В **Таблицах 2а, 3а и 4а** представлены результаты анализов методом ВЭЖХ. В **Таблицах 2b, 3b и 4b** представлены результаты анализов методом ЭХ.

В составах в **Таблице 2** изучали эффект использования различных буферов (Трис, Бис-ТРИС, MES, цитрат натрия, ацетат натрия и сукцинат натрия) на стабильность составов при pH 6,0 и pH 6,5 и двух концентраций хлорида натрия (90 мМ и 125 мМ) в качестве модификатора изотоничности.

Составы в **Таблице 3, Таблице 4 и Таблице 6** сходны с составами, изложенными в Таблице 2, и в них изучали эффект применения комбинаций буферов на стабильность составов при pH 6,0 и pH 6,5 и при одной концентрации хлорида натрия (75 мМ) в качестве модификатора изотоничности.

ВЭЖХ

Чистоту образцов дазиглюкагона определяли с помощью ВЭЖХ. Образцы анализировали на системе для ВЭЖХ Dionex Ultimate 3000. В качестве аналитического программного обеспечения использовали Chromeleon. Дазиглюкагон отделяли от продуктов деградации с помощью колонки Kinetex C8 (150 мм x 4,6 мм, 2,6 мкм). Подвижная фаза состояла из А: 0,45% ТФУ (об./об.) в воде MilliQ (MQW) и В: 0,45% ТФУ (об./об.) в MeCN/MQW (90:10). Градиент составлял от 35 до 38 %В в течение 40 минут при потоке 0,5 мл/мин. Температуру печи колонки устанавливали на 30°C, длину волны детектора устанавливали на 220 нм и впрыскивали 2 мкл.

ЭХ

Эксперименты с помощью эксклюзионной хроматографии (ЭХ) проводили на системе для ВЭЖХ Dionex Ultimate 3000 (Thermo Fisher), используя изократическое элюирование со скоростью потока 0,5 мл/мин для анализа составов на наличие олигомеров. Подвижная фаза состояла из 0,1% ТФУ, 45% ацетонитрила в MQW. Для детектирования использовали длину волны 215 нм. Впрыскиваемое количество составило 2 мкг пептида. Колонка, использованная для анализа методом ЭХ, представляла собой TSKgel SuperSW2000 (TOSOH Corporation), 4 мкм, 30 x 4,6 мм, а температура колонки составляла 25°C. Время анализа составило 12 минут.

Результаты

После 52 недель хранения в условиях ускоренного исследования при 25°C получили следующие результаты для % чистоты дазиглюкагона, оставшегося в составах.

Исследования стабильности показали, что все буферы ТРИС, Бис-ТРИС, ACES и MES обеспечивали приемлемые уровни стабильности после хранения в течение 52 недель при 25°C, при этом 80% или более дазиглюкагона оставались интактными, несмотря на стрессовые условия ускоренного исследования, использованные для экспериментов, по сравнению с другими буферами и контролями (вода Milli-Q), с учетом хранения в условиях ускоренного исследования, использованных в экспериментах.

Для многодозовых составов включение мета-крезола, ТРИС, Бис-ТРИС, ACES или MES, а также цитратного, ацетатного или сукцинатного буфера обеспечивало составы с хорошими уровнями стабильности, согласно оценке с помощью ВЭЖХ и ЭХ.

10 **Таблица 5**

		Время, недели при 25°C, ускоренное исследование хранения, % оставшегося дазиглюкагона		
Состав №:	Композиция	0	13	52
1	ТРИС, 175 мМ NaCl	100	96	83
2	ТРИС, 500 мМ NaCl	100	95	84
3	ТРИС, 90 мМ NaCl	100	96	83
4	ТРИС, 0 мМ NaCl	100	95	84
5	Фосфат	100	93	76
6	Гистидин	100	90	69
7	Бис-ТРИС	100	95	81
8	ACES	100	96	83
9	Малеиновая кислота	100	91	57
10	MES	100	90	85
11	MQW, pH 6,5	100	74	н.о.
12	Многодозовый прототип	100	н.о.	83

Таблица 5b

		Время, недели при 25°C, ускоренное
--	--	---

		исследование хранения, % олигомеров		
Состав №:	Композиция	0	13	52
1	ТРИС, 175 мМ NaCl	0,13	0,31	0,61
2	ТРИС, 500 мМ NaCl	0,13	0,36	0,74
3	ТРИС, 90 мМ NaCl	0,17	0,3	0,57
4	ТРИС, 0 мМ NaCl	0,14	0,24	0,51
5	Фосфат	0,15	0,59	0,73
6	Гистидин	0,12	0,42	0,84
7	Бис-ТРИС	0,12	0,53	2,81
8	ACES	0,16	0,19	0,46
9	Малеиновая кислота	0,16	0,55	4,75
10	MES	0,14	0,43	0,74
11	MQW, pH 6,5	0,05	0,26	0,26
12	Многодозовый прототип	0,19	н.о.	1,4

Наблюдения являются неожиданными, учитывая проблемы, о которых сообщалось в предшествующем уровне техники в отношении стабилизации составов глюкагона, включающих воду.

- 5 Результаты также являются неожиданными, поскольку в то время как ТРИС и Бис-ТРИС имеют одинаковые химические структуры, структуры ACES и MES различаются.

Эксперименты также показали, что буферы, обычно используемые в жидких пептидных составах, а именно фосфат, гистидин и малеиновая кислота, не обеспечивали составы, которые были бы способны к долговременному хранению (75%, 68% и 57%)

- 10 дазиглюкагона, остающегося интактным, соответственно.

Эксперименты дополнительно демонстрируют, что можно включать подходящие количества NaCl в качестве модификатора тоничности, не влияя на стабильность, обеспечиваемую четырьмя буферами.

Данные показывают сходную тенденцию потери дазиглюкагона между однодозовыми (SD) составами (0,31% в неделю, состав 1) и многодозовыми (MS) составами (0,32% в

15 неделю, состав 12).

Эксперименты также демонстрируют возможность включения консерванта (мета-крезола) в составы при сохранении стабильности при хранении, что позволяет разрабатывать многодозовые составы и составы для применения в сочетании с устройствами для доставки.

5 **Пример 2 - Дазиглюкагон уменьшает постпрандиальную гипогликемию после шунтирования желудка по Ру**

Постпрандиальная гипогликемия является частым и изнурительным осложнением после шунтирования желудка по Ру (RYGB), и эффективного лечения не существует. В исследовании по проверке концепции мы изучали эффект дазиглюкагона, нового стабильного аналога глюкагона, на постпрандиальную гипогликемию после RYGB. Основная цель настоящего исследования заключалась в изучении эффектов двух доз дазиглюкагона на максимальное снижение постпрандиальной концентрации глюкозы в плазме (ПГ) и время, проведенное в условиях гипогликемии ($<3,9$ ммоль/л), у пациентов после RYGB-операции с подтвержденной постпрандиальной гипогликемией.

15 Материал и методы

Десять индивидуумов после RYGB-операции (два субъекта мужского пола, восемь субъектов женского пола; ИМТ $34,6$ ($21,8$ – $39,0$) $\text{кг}/\text{м}^2$; возраст 46 (29 – 67) лет; HbA_{1c} 32 (29 – 42) ммоль/моль; время после операции $9,3$ (6 – $11,5$) лет; потеря массы тела после операции $53,9$ ($25,1$ – $92,0$ кг)) с подтвержденной симптоматической постпрандиальной гипогликемией (ПГ $<3,5$ ммоль/л, подтвержденная 6-дневным непрерывным мониторингом глюкозы), завершили двойное слепое, рандомизированное, перекрестное исследование, включающее три отдельных дня лечения, каждый из которых включал тестирование стандартизированной жидкой смешанной пищи (25 кДж на кг массы тела; 50 Е% углеводов, 35 Е% жира и 15 Е% белка). Подкожную инъекцию плацебо, 80 или 200 мкг дазиглюкагона ($D_{80 \text{ мкг}}$ и $D_{200 \text{ мкг}}$) вводили после постпрандиального пика ПГ приблизительно за 10 минут до временной точки, когда ПГ вернется к уровням натошак, прогнозируемой с использованием специфичной для субъекта модели линейной регрессии. Отбор образцов крови и оценку гипогликемических симптомов по Эдинбургской шкале симптомов гипогликемии выполняли с фиксированными временными интервалами. Данные анализировали с использованием линейных смешанных моделей и модели корректировок Тьюки для множественных сравнений.

Результаты

По сравнению с плацебо лечение как $D_{80 \text{ мкг}}$, так и $D_{200 \text{ мкг}}$ значительно повышало максимальное снижение ПГ (плацебо: $3,0 \pm 0,2$ ммоль/л; $D_{80 \text{ мкг}}$: $3,9 \pm 0,3$ ммоль/л; $D_{200 \text{ мкг}}$: $4,5 \pm 0,2$ ммоль/л; $p=0,002$ и $p=0,0002$) и приращение AUC ПГ ($i\text{AUC}_{70-240 \text{ мин}}$) после

введения лекарственного средства (плацебо: 752 ± 19 мин $\times$ ммоль/л; $D_{80 \text{ мкг}}$: 917 ± 22 мин $\times$ ммоль/л; $D_{200 \text{ мкг}}$: 992 ± 28 мин $\times$ ммоль/л; $p < 0,0001$ и $p < 0,0001$). Кроме того, обе дозы уменьшали время, проведенное в условиях гипогликемии, по сравнению с плацебо ($< 3,9$ ммоль/л) (плацебо: $62,0 \pm 8$ мин; $D_{80 \text{ мкг}}$: $27,5 \pm 12$ мин; $D_{200 \text{ мкг}}$: $14,0 \pm 9$ мин; $p = 0,05$ и $p = 0,003$). Пять участников испытали гипогликемию 2 уровня ($< 3,1$ ммоль/л) после введения плацебо, в то время как ни один из участников не испытал этого после введения $D_{200 \text{ мкг}}$ (время, проведенное в условиях гипогликемии 2 уровня ($n=5$): плацебо: $31,0 \pm 5$ мин; $D_{80 \text{ мкг}}$: 7 ± 5 мин; $D_{200 \text{ мкг}}$: $0,0 \pm 0$ мин; $p > 0,05$ и $p = 0,01$). Отсутствовали значимые изменения гипогликемических симптомов между тремя днями исследования.

10 Заключение

Введение однократной дозы дазиглюкагона эффективно уменьшает постпрандиальную гипогликемию и представляет собой перспективный новый терапевтический вариант для лечения постпрандиальной гипогликемии после RYGB.

Список литературы

- 15 Все ссылки, упомянутые в настоящей заявке, полностью включены посредством ссылки.
WO 2014/016300 (Zealand Pharma A/S)
Hövelmann et al, Diabetes Care, 2017 (<https://doi.org/10.2337/dc17-1402>).
WO 2017/053822 (Xeris Pharmaceuticals, Inc.)
WO 2014/124151 (Xeris Pharmaceuticals, Inc.)
- 20 WO 2016/133863 (Eli Lilly and Company)
WO 2019/110838 (Adocia)
WO 2008/084237 (Arecor Limited)

Таблица 1

Состав #	Концент рация пептида	pH	Вспомогат. вещество А	Вспомогат. вещество В	Вспомогат. вещество С	Вспомогат. вещество D	Вспомогат. вещество E	Вспомогат. вещество F	Вспомогат. вещество G	Вспомогат. вещество H
	[мг/мл]		ТРИС	Фосфат	Гистидин	БИС-ТРИС	ACES	Малеиновая кислота	MES	NaCl
			[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]
1	1	6,5	50							175
2	1	6,5	50							500
3	1	6,5	50							90
4	1	6,5	50							
5	1	6,5		50						
6	1	6,5			50					
7	1	6,5				50				
8	1	6,5					50			
9	1	6,5						50		
10	1	6,5							50	
11	1	6,5								

Состав 12 (MD состав) представляет собой pH 6,5, 4,0 мг/мл дазиглюкагона, 50 мМ ТРИС, 90 мМ NaCl и 3,15 мг/мл мета-крезола.

Таблица 2

Состав #	Концент рация пептида [мг/мл]	pH	Вспомогат. вещество А	Вспомогат. вещество В	Вспомогат. вещество С	Вспомогат. вещество D	Вспомогат. вещество Е	Вспомогат. вещество F	Вспомогат. вещество G	Вспомогат. вещество H
			Трис	Бис-Трис	MES	Цитрат Na	Ацетат Na	Сукцинат Na	м-крезол	NaCl
			[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мг/мл]	[мМ]
1	4	6,5	50						3,15	90
2	4	6,0	50						3,15	90
3	4	6,5		50					3,15	90
4	4	6,0		50					3,15	90
5	4	6,5			50				3,15	90
6	4	6,0			50				3,15	90
7	4	6,5				15			3,15	125
8	4	6,0				15			3,15	125
9	4	6,5					15		3,15	125
10	4	6,0					15		3,15	125
11	4	6,5						15	3,15	125
12	4	6,0						15	3,15	125

Таблица 2а

	Анализ методом ВЭЖХ	Время, недели при 5°C, % оставшегося дазиглюкагона		
Состав №:	Композиция	0	26	52
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5 (референсный состав)	100	99,75	98,29
2	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0 (референсный состав, рН 6,0)	100	99,54	98,54
3	Бис-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	99,30	97,64
4	Бис-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	*	*
5	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	99,43	98,40
6	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	*	*
7	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	99,64	98,07
8	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	*	*
9	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	99,11	97,15
10	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	*	*
11	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	99,56	98,61
12	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	*	*

*Осаждение при 5°C

Таблица 2b

	Анализ методом ЭХ	Время, недели при 5°C, % олигомеров		
Состав №:	Композиция	0	26	52
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,16	0,25	0,26
2	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,16	0,25	0,27
3	Бис-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,16	0,37	0,52
4	Бис-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	*	*
5	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,27	0,26
6	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	*	*
7	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,19	0,17
8	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	*	*
9	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,24	0,24
10	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	*	*
11	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,28	0,33
12	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	*	*

*Осаждение при 5°C

Таблица 2с

	Анализ методом ВЭЖХ	Время, недели при 25°C, ускоренное исследование хранения, % оставшегося дазиглюкагона		
Состав №:	Композиция	0	13	26
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5 (контрольный состав)	100	95,39	91,35
2	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0 (контрольный состав, рН 6,0)	100	96,11	92,17
3	Бис-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	94,54	89,19
4	Бис-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	95,46	91,47
5	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	95,98	92,10
6	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	96,11	92,46
7	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	95,42	91,89
8	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	95,66	91,56
9	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	94,89	90,15
10	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	95,91	91,81
11	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,5	100	95,51	91,42
12	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, рН 6,0	100	96,22	92,18

Таблица 2d

	Анализ методом ЭХ	Время, недели при 25°С, ускоренное исследование хранения, % олигомеров		
Состав №:	Композиция	0	13	26
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,16	0,40	0,62
2	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,16	0,41	0,59
3	Бис-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,16	1,16	2,98
4	Бис-Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,77	1,52
5	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,42	0,64
6	MES 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,45	0,68
7	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,26	0,35
8	цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	0,26	0,35
9	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,38	0,64
10	ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,50	0,76
11	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,52	0,86
12	сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,56	1,02

Таблица 3

Состав #	Концентрация пептида	pH	Вспомогат. вещество А	Вспомогат. вещество В	Вспомогат. вещество D	Вспомогат. вещество Е	Вспомогат. вещество F	Вспомогат. вещество G	Вспомогат. вещество H
	[мг/мл]		Трис	Бис-Трис	Цитрат Na	Ацетат Na	Сукцинат Na	м-крезол	NaCl
			[mM]	[mM]	[mM]	[mM]	[mM]	[мг/мл]	[mM]
1	4	6,5	50		15			3,15	75
2	4	6,0	50		15			3,15	75
3	4	6,5	50			15		3,15	75
4	4	6,0	50			15		3,15	75
5	4	6,5	50				15	3,15	75
6	4	6,0	50				15	3,15	75
7	4	6,5		50	15			3,15	75
8	4	6,0		50	15			3,15	75
9	4	6,5		50		15		3,15	75
10	4	6,0		50		15		3,15	75
11	4	6,5		50			15	3,15	75
12	4	6,0		50			15	3,15	75

Таблица 3а

	Анализ методом ВЭЖХ	Время, недели при 5°C, % оставшегося дазиглюкагона		
Состав №:	Композиция	0	26	52
1	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,17	98,43
2	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
3	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,06	98,38
4	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
5	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,17	98,13
6	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
7	Бис-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,06	98,09
8	Бис-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
9	Бис-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,15	97,55
10	Бис-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
11	Бис-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,03	98,03
12	Бис-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*

*Осаждение при 5°C

Таблица 3b

Состав №:	Анализ методом ЭХ Композиция	Время, недели при 5°C, % олигомеров		
		0	26	52
1	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,18	0,16
2	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	*	*
3	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,25	0,27
4	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	*	*
5	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,25	0,25
6	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	*	*
7	Бис-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,32	0,35
8	Бис-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	*	*
9	Бис-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,35	0,51
10	Бис-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	*	*
11	Бис-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,37	0,55
12	Бис-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,16	*	*

*Осаждение при 5°C

Таблица 3с

	Анализ методом ВЭЖХ	Время, недели при 25°С, ускоренное исследование хранения, % оставшегося дазиглюкагона		
Состав №:	Композиция	0	13	26
1	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,22	90,56
2	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,36	90,07
3	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,55	91,03
4	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,81	91,42
5	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,05	91,20
6	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,59	90,96
7	Бис-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,14	90,43
8	Бис-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,05	90,31
9	Бис-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	93,86	н.о.
10	Бис-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,24	н.о.
11	Бис-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	93,97	н.о.
12	Бис-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,00	н.о.

Таблица 3d

	Анализ методом ЭХ	Время, недели при 25°C, ускоренное исследование хранения, % олигомеров		
Состав №:	Композиция	0	13	26
1	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,23	0,32
2	Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,25	0,34
3	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,38	0,60
4	Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	0,29	0,47
5	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,39	0,62
6	Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	0,27	0,38
7	Бис-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	0,73	1,83
8	Бис-Трис 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	0,57	1,10
9	Бис-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	1,40	3,75
10	Бис-Трис 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,15	0,83	1,64
11	Бис-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,15	1,50	4,50
12	Бис-Трис 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,16	0,89	1,85

Таблица 4

Состав #	Концентрация пептида	pH	Вспомогат. вещество А	Вспомогат. вещество В	Вспомогат. вещество С	Вспомогат. вещество D	Вспомогат. вещество E	Вспомогат. вещество F
	[мг/мл]		MES	Цитрат Na	Ацетат Na	Сукцинат Na	м-крезол	NaCl
			[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]
1	4	6,5	50	15			3,15	75
2	4	6,0	50	15			3,15	75
3	4	6,5	50		15		3,15	75
4	4	6,0	50		15		3,15	75
5	4	6,5	50			15	3,15	75
6	4	6,0	50			15	3,15	75

Таблица 4а

	Анализ методом ВЭЖХ	Время, недели при 5°C, % оставшегося дазиглюкагона		
Состав №:	Композиция	0	26	52
1	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,86	99,44
2	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
3	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,65	99,65
4	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*
5	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	99,72	99,60
6	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	*	*

*Осаждение при 5°C

Таблица 4б

	Анализ методом ЭХ	Время, недели при 5°C, % олигомеров		
Состав №:	Композиция	0	26	52
1	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,19	0,24
2	MES 50 мМ, цитрат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	*	*
3	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,22	0,25
4	MES 50 мМ, ацетат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,08	*	*
5	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,23	0,26
6	MES 50 мМ, сукцинат Na 15 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,13	*	*

*Осаждение при 5°C

DLS и поглощение были приемлемыми для всех составов, содержащих ацетат, по сравнению с контрольными составами.

Таблица 4с

	Анализ методом ВЭЖХ	Время, недели при 25°C, ускоренное исследование хранения, % оставшегося дазиглюкагона		
Состав №:	Композиция	0	13	26
1	MES 50 mM, цитрат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,90	92,18
2	MES 50 mM, цитрат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,62	91,20
3	MES 50 mM, ацетат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	95,92	92,36
4	MES 50 mM, ацетат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,78	92,55
5	MES 50 mM, сукцинат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	96,10	92,39
6	MES 50 mM, сукцинат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	100	95,85	92,22

5

Таблица 4d

	Анализ методом ЭХ	Время, недели при 25°C, ускоренное исследование хранения, % олигомеров		
Состав №:	Композиция	0	13	26
1	MES 50 mM, цитрат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,28	0,36
2	MES 50 mM, цитрат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,14	0,29	0,38
3	MES 50 mM, ацетат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,38	0,59
4	MES 50 mM, ацетат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-	0,08	0,38	0,62

	крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0			
5	MES 50 mM, сукцинат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,14	0,40	0,60
6	MES 50 mM, сукцинат Na 15 mM, NaCl 90 mM, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,0	0,13	0,44	0,68

Таблица 6

Состав #	Концентрация пептида	рН	Вспомогательное вещество А	Вспомогательное вещество В	Вспомогательное вещество С	Вспомогательное вещество D	Вспомогательное вещество Е
	[мг/мл]		Трис	Фосфат	Гистидин	NaCl	м-крезол
			[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мМ]	[мг/мл]
1	4	6,5	50			90	3,15
2	4	6,5		50		90	3,15
3	4	6,5			25	90	3,15
4	4	6,5	50	50		90	3,15
5	4	6,5	50		25	90	3,15
6	4	6,5		50	25	90	3,15

Таблица 6а

	Анализ методом ВЭЖХ	Время, дни при 40°С, ускоренное исследование хранения, % оставшегося дазиглюкагона			
Состав №:	Композиция	0	7	14	18
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5 (референсный состав)	100	97,4	95,8	95,0
2	Фосфат 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	96,6	94,4	92,9
3	Гистидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	97,5	94,1	92,7
4	Трис 50 мМ, фосфат 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	97,5	94,5	92,6
5	Трис 50 мМ, гистидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	97,5	94,1	92,7
6	Фосфат 50 мМ, гистидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	100	97,6	94,2	92,2

Таблица 6б

	Анализ методом ЭХ	Время, дни при 40°С, ускоренное исследование хранения, % олигомеров			
Состав №:	Композиция	0	7	14	18
1	Трис 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5 (референсный состав)	0,11	0,30	0,38	0,43
2	Фосфат 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-крезол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,12	0,24	0,30	0,31
3	Гистидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-	0,1	0,44	0,85	0,93

	кресол 3,15 мг/мл, pH 6,5				
4	Трис 50 мМ, фосфат 50 мМ, NaCl 90 мМ, м-кресол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,12	0,21	0,27	0,29
5	Трис 50 мМ, гистидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-кресол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,11	0,35	0,75	0,85
6	Фосфат 50 мМ, гистидин 25 мМ, NaCl 90 мМ, м-кресол 3,15 мг/мл, pH 6,5	0,1	0,18	0,28	0,29

Формула изобретения

1. Стабильный жидкий водный фармацевтический состав, содержащий аналог глюкагона, который представляет собой:

Hy-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

5 или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное;

причем указанный состав содержит:

(а) указанный аналог глюкагона, присутствующий в концентрации от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл;

10 (b) ТРИС, ACES или MES, присутствующий в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 75 мМ, и/или цитрат, ацетат или сукцинат, присутствующий в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 1 мМ до приблизительно 30 мМ;

(с) хлорид натрия, присутствующий в качестве модификатора тоничности и в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 600 мМ; и

15 (d) pH от приблизительно 5,6 до приблизительно 7,0.

2. Стабильный жидкий водный состав по п. 1, отличающийся тем, что указанный буфер ТРИС, ACES или MES непосредственно химически стабилизирует указанный аналог глюкагона, независимо от pH состава, обеспечиваемого указанным буфером.

20

3. Стабильный жидкий водный состав по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что указанный состав обеспечивает улучшенную химическую стабилизацию по сравнению с составом, в котором буфер ТРИС, ACES или MES заменен фосфатным буфером и/или гистидиновым буфером той же концентрации и pH, согласно оценке в тех же тестовых

25

условиях.

4. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный состав имеет профиль деградации после 52 недель хранения при 25°C, после которых указанный состав содержит одно или более из менее

30

5% Pyro-Glu 4-29, менее 7% окисления Trp/Тур, менее 4% кинуренина, менее 5% F-4-29 + F5-29 и/или менее 2% F3.29 после хранения в течение 52 недель при 25°C, причем все процентные значения определены с помощью ВЭЖХ.

5. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов,

35

отличающийся тем, что указанный состав имеет профиль деградации, в котором

указанный аналог глюкагона не содержит добавления янтарной кислоты в дополнение к малеиновой кислоте.

5 6. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный состав по существу не включает апротонный полярный растворитель.

10 7. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный состав по существу не содержит диметилсульфоксид (ДМСО).

15 8. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что вода представляет собой единственный растворитель, используемый для получения указанного жидкого водного состава.

20 9. Состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное присутствует в концентрации приблизительно 0,5 мг/мл, 0,6 мг/мл, 0,7 мг/мл, 1,0 мг/мл или приблизительно 4,0 мг/мл.

10. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный буфер ТРИС, ACES или MES присутствует в качестве буфера в концентрации приблизительно 50 мМ.

25 11. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 200 мМ или в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 150 мМ.

30 12. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный состав имеет рН от приблизительно 5,8 до 6,7, причем необязательно указанный состав имеет рН приблизительно 6,5.

35 13. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный состав не содержит стабилизирующее ионизацию

вспомогательное вещество, выбранное из соляной кислоты, азотной кислоты, серной кислоты или их комбинации.

14. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный состав представляет собой готовый к применению состав.

15. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный состав стабилен при 2-8°C в течение по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев или по меньшей мере 24 месяцев.

16. Стабильный жидкий водный состав по п. 15, отличающийся тем, что указанный аналог глюкагона в указанном составе сохраняет по меньшей мере приблизительно 90% своей биологической активности после 18 месяцев хранения при 2-8°C.

17. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный состав является стерильным и/или не содержит восстанавливающего агента.

18. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный состав приготовлен для введения субъекту путем инъекции.

19. Стабильный жидкий водный состав по п. 18, отличающийся тем, что указанная инъекция представляет собой подкожную инъекцию.

20. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный буфер представляет собой ТРИС.

21. Стабильный жидкий водный состав по любому из предшествующих пунктов, дополнительно содержащий консервант.

22. Стабильный жидкий водный состав по п. 21, отличающийся тем, что указанный консервант представляет собой мета-крезол, необязательно в концентрации от

приблизительно 1,0 мг/мл до приблизительно 5,0 мг/мл.

23. Стабильный жидкий водный состав по любому из пп. 1-19, отличающийся тем, что указанный аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное присутствует в концентрации от приблизительно 0,75 мг/мл до приблизительно 1,25 мг/мл, указанный буфер ТРИС, ACES или MES присутствует в концентрации от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 200 мМ, и указанный состав имеет рН от приблизительно 6,0 до приблизительно 6,8.

24. Стабильный жидкий водный состав по п. 23, отличающийся тем, что указанный аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное присутствует в концентрации приблизительно 1,0 мг/мл, ТРИС присутствует в концентрации приблизительно 50 мМ, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации приблизительно 175 мМ, и указанный состав имеет рН приблизительно 6,5.

25. Стабильный жидкий водный состав по любому из пп. 1-22, отличающийся тем, что указанный аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное присутствует в концентрации от приблизительно 3,0 до 5,0 мг/мл, буфер ТРИС, ACES или MES присутствует в концентрации от приблизительно 40 мМ до приблизительно 60 мМ, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 150 мМ, мета-крезол присутствует в качестве консерванта в концентрации от приблизительно 3,0 мг/мл до приблизительно 4,0 мг/мл, и указанный состав имеет рН от приблизительно 6,0 до 7,0.

26. Стабильный жидкий водный состав по п. 25, отличающийся тем, что указанный аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное присутствует в концентрации приблизительно 4 мг/мл, ТРИС присутствует в концентрации приблизительно 50 мМ, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации приблизительно 90 мМ, мета-крезол присутствует в качестве консерванта в концентрации от приблизительно 3,0 до приблизительно 4,0 мг/мл, и указанный состав имеет рН приблизительно 6,5.

35

27. Стабильный жидкий водный состав по любому из пп. 1-22, отличающийся тем, что указанный аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное присутствует в концентрации от приблизительно 3,0 до 5,0 мг/мл, ТРИС, ACES или MES присутствует в качестве буфера в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 75 мМ, и/или цитрат, ацетат или сукцинат присутствует в качестве буфера в концентрации от приблизительно 1 мМ до приблизительно 30 мМ, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 150 мМ, мета-крезол присутствует в качестве консерванта в концентрации от приблизительно 3,0 мг/мл до приблизительно 4,0 мг/мл, и указанный состав имеет рН от приблизительно 6,0 до 7,0.

28. Стабильный жидкий водный состав по п. 27, отличающийся тем, что указанный аналог глюкагона или его фармацевтически приемлемая соль и/или производное присутствует в концентрации приблизительно 4 мг/мл, буфер ТРИС, ACES, MES присутствует в концентрации приблизительно 50 мМ или цитратный, ацетатный и/или сукцинатный буфер присутствует в концентрации приблизительно 15 мМ, хлорид натрия присутствует в качестве модификатора тоничности в концентрации приблизительно 90 мМ, мета-крезол присутствует в качестве консерванта в концентрации от приблизительно 3,0 до приблизительно 4,0 мг/мл, и указанный состав имеет рН приблизительно 6,5.

29. Стабильный жидкий водный состав по любому из пп. 1-28, отличающийся тем, что указанный буфер дополнительно содержит цитрат, ацетат или сукцинат.

30. Стабильный жидкий водный состав по любому из пп. 1-29, отличающийся тем, что указанный цитрат, ацетат или сукцинат присутствует в указанном составе в концентрации от 10 мМ до 30 мМ.

31. Устройство для доставки, содержащее жидкий состав по любому из пп. 1-30.

32. Устройство для доставки по п. 30, отличающееся тем, что указанное устройство для доставки представляет собой предварительно заполненный шприц, устройство для инъекций, шприц-ручку, автоинъектор с корректируемой дозой, одноразовый автоинъектор, инъектор с возможностью ношения или инфузионный насос.

33. Состав аналога глюкагона по любому из пп. 1-30 для применения в терапии.

34. Состав аналога глюкагона по любому из пп. 1-30 для применения при лечении заболевания или состояния, выбранного из гипогликемии (включая, но не ограничиваясь перечисленными, тяжелую гипогликемию, острую гипогликемию, хроническую гипогликемию), диабета 2 типа, нарушения толерантности к глюкозе, диабета 1 типа, ожирения, ишемической болезни сердца, атеросклероза, гипертензии, дислипидемии, стеатоза печени, отравления β -блокаторами, инсулиномы или болезни фон Гирке.
35. Состав аналога глюкагона для применения в способе лечения по п. 33 или п. 34, отличающийся тем, что указанное заболевание или состояние представляет собой гипогликемию.
36. Состав аналога глюкагона для применения в способе лечения по п. 35, отличающийся тем, что указанная гипогликемия выбрана из группы, состоящей из: диабетической гипогликемии, острой гипогликемии, индуцированной инсулином, тяжелой гипогликемии, недиабетической гипогликемии, реактивной гипогликемии, гипогликемии натошак, гипогликемии, индуцированной лекарственными средствами, гипогликемии, индуцированной алкоголем, гипогликемии, индуцированной шунтированием желудка (включая, но не ограничиваясь перечисленным, постпрандиальную гипогликемию после шунтирования желудка по Ру), или гипогликемии, возникающей во время беременности.
37. Состав аналога глюкагона для применения в способе лечения по любому из пп. 33-36, отличающийся тем, что указанный аналог глюкагона применяют для лечения пациента, представляющего собой человека.
38. Способ лечения пациента, причем указанный способ включает введение состава по любому из пп. 1-30 пациенту, нуждающемуся в этом.
39. Способ лечения заболевания или состояния, выбранного из гипогликемии (включая, но не ограничиваясь перечисленными, тяжелую гипогликемию, острую гипогликемию, хроническую гипогликемию), диабета 2 типа, нарушения толерантности к глюкозе, диабета 1 типа, ожирения, ишемической болезни сердца, атеросклероза, гипертензии, дислипидемии, стеатоза печени, отравления β -блокаторами, инсулиномы или болезни фон Гирке, у пациента, причем указанный способ включает введение состава по

любому из пп. 1-30 пациенту, нуждающемуся в этом.

40. Способ по п. 39, отличающийся тем, что указанное заболевание или состояние представляет собой гипогликемию.

5

41. Способ по п. 40, отличающийся тем, что указанная гипогликемия выбрана из группы, состоящей из: диабетической гипогликемии, острой гипогликемии, индуцированной инсулином, тяжелой гипогликемии, недиабетической гипогликемии, реактивной гипогликемии, гипогликемии натошак, гипогликемии, индуцированной
10 лекарственными средствами, гипогликемии, индуцированной алкоголем, гипогликемии, индуцированной шунтированием желудка (включая, но не ограничиваясь этим, постпрандиальную гипогликемию после шунтирования желудка по Ру), или гипогликемии, возникающей во время беременности.

15 42. Способ по любому из пп. 38-41, отличающийся тем, что указанный пациент представляет собой человека.

43. Способ получения стабильного жидкого водного фармацевтического состава, содержащего аналог глюкагона, который представляет собой:

20 Ну-HSQGTFTSDYSKYLD-Aib-ARAEFVKWLEST-OH

или его фармацевтически приемлемую соль и/или производное;

причем указанный способ включает включение в состав (a) указанного аналога глюкагона или его фармацевтически приемлемой соли и/или производного, присутствующего в концентрации от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл; (b) ТРИС, ACES
25 или MES, присутствующего в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 25 mM до приблизительно 75 mM, и/или цитрата, ацетата или сукцината, присутствующего в качестве буфера, в концентрации от приблизительно 1 mM до приблизительно 30 mM; (c) хлорида натрия, присутствующего в качестве модификатора тоничности и в концентрации от приблизительно 50 mM до приблизительно 600 mM; (d) pH от приблизительно 6,0 до
30 приблизительно 7,0; и необязательно (e) мета-крезола в концентрации от приблизительно 1,0 мг/мл до приблизительно 5,0 мг/мл с получением указанного стабильного жидкого водного фармацевтического состава.

44. Состав, полученный способом по п. 43, причем указанный состав представляет
35 собой стабильный жидкий водный состав по любому из пп. 1-30.