



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0028335

(51)⁷ A61K 9/14; A61P 3/00; A61K 38/26

(13) B

(21) 1-2017-03144

(22) 16/02/2016

(86) PCT/US2016/018003 16/02/2016

(87) WO2016/133863 25/08/2016

(30) 62/117,031 17/02/2015 US

(45) 25/05/2021 398

(43) 26/02/2018 359A

(73) ELI LILLY AND COMPANY (US)

Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, United States of America

(72) MANTRIPRAGADA, Sankaram B. (US); PICHE, Claude A. (US); VAN
BETSBRUGGE, Jo Jan Filip (US).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẾ PHẨM DẠNG BỘT DÙNG ĐƯỜNG MŨI ĐỂ ĐIỀU TRỊ CHỨNG HẠ
ĐƯỜNG HUYẾT, PHƯƠNG PHÁP BẢO CHẾ VÀ DỤNG CỤ ĐỂ SỬ DỤNG
CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm dạng bột chứa glucagon hoặc chất tương tự glucagon để dùng đường mũi, hữu dụng trong điều trị chứng hạ đường huyết, và cụ thể là trong điều trị chứng hạ đường huyết nghiêm trọng. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp bào chế chế phẩm dạng bột này, và dụng cụ để sử dụng chế phẩm dạng bột này.

Lĩnh vực kĩ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm dạng bột chứa glucagon hoặc chất tương tự glucagon để dùng đường mũi, hữu dụng trong điều trị chứng hạ đường huyết, và cụ thể là trong điều trị chứng hạ đường huyết nghiêm trọng. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp bào chế chế phẩm dạng bột này, và dụng cụ để sử dụng chế phẩm dạng bột này.

Tình trạng kĩ thuật của sáng chế

Bệnh tiểu đường đã đạt tới mức đại dịch ở nhiều nước phương tây và là vấn đề nghiêm trọng và ngày càng lớn về sức khỏe cộng đồng ở nhiều nền kinh tế phát triển. Trên toàn cầu, có khoảng 285 triệu người mắc bệnh tiểu đường và con số đó được ước tính đạt tới 438 triệu vào năm 2030 (IDF Diabetes Atlas, 2009).

Các biến chứng bệnh tiểu đường thường có liên quan đến mức glucoza huyết gia tăng mạn tính (tăng đường huyết), mà gây ra các bệnh tim, thận và mắt, cắt cụt bộ phận cơ thể và suy giảm thần kinh. Không may là, có các biến chứng có thật và nghiêm trọng liên quan đến các thuốc dùng để điều trị chứng tăng đường huyết có liên quan đến bệnh tiểu đường. Một trong số những biến chứng phổ biến nhất của các phép điều trị dùng để giảm mức đường huyết là chứng hạ đường huyết (đường huyết thấp), được phát hiện phổ biến nhất ở các bệnh nhân được điều trị bằng insulin (tức là, tất cả những người mắc bệnh tiểu đường typ 1 và khoảng 30% bệnh nhân mắc bệnh tiểu đường typ 2) và cả các bệnh nhân mắc bệnh tiểu đường typ 2 được điều trị bằng sulfonylure. Trên thực tế, nếu không có sự cản trở của chứng hạ đường huyết, người mắc bệnh tiểu đường có thể có mức glucoza huyết bình thường và do đó tránh được các biến chứng liên quan đến chứng tăng đường huyết (Cryer, 2002).

Phụ thuộc vào mức độ nghiêm trọng của cơn bệnh, chứng hạ đường huyết gây ra nhiều vấn đề về cho cơ thể từ ốm yếu, chóng mặt, vã mồ hôi, ớn lạnh và đôi đến các triệu chứng nghiêm trọng hơn bao gồm nhìn mờ, thay đổi tập tính, động kinh, hôn mê và thậm chí tử vong. Ngoài các ảnh hưởng đến cơ thể của chứng hạ đường huyết, còn có các ảnh hưởng tâm thần đáng kể bao gồm lúng túng, sợ đến cơn bệnh khác, lo âu ở

mức cao và ít vui vẻ mà ảnh hưởng đến việc kiểm soát glucoza và chất lượng cuộc sống (Deary, 2008).

Chứng hạ đường huyết nghiêm trọng ở người tỉnh táo cần được điều trị bằng việc ăn uống carbohydrat, tốt hơn là dưới dạng các viên nén glucoza hoặc tương đương. Đối với chứng hạ đường huyết nghiêm trọng ở cá thể không tỉnh táo ngoài cơ sở y tế, cách điều trị được khuyến nghị là tiêm 1 mg glucagon trong bắp (intramuscular - IM) hoặc dưới da (subcutaneous- SC). Đối với chứng hạ đường huyết nghiêm trọng ở cá thể không tỉnh táo với sự có mặt của trang thiết bị hỗ trợ y tế chuyên nghiệp và dụng cụ tiếp cận tĩnh mạch, dextroza dùng trong tĩnh mạch được khuyến nghị. Trong mọi trường hợp, khi chứng hạ đường huyết đã bị đẩy lùi, bệnh nhân cần được cho dùng đường miệng các carbohydrat để hoàn toàn hồi phục và ngăn chứng hạ đường huyết tái phát.

Glucagon, chất điều trị rất hữu hiệu đối với chứng hạ đường huyết nghiêm trọng cả trong và ngoài cơ sở y tế, hiện chỉ khả dụng dưới dạng bột mà cần phải được trộn với chất pha loãng ngay trước khi dùng bằng cách tiêm. Mặc dù quy trình này có thể là tương đối dễ đối với người mắc bệnh tiểu đường, những người tiêm insulin, họ không tự điều trị cho mình được, ví dụ như đã xác định, chứng hạ đường huyết nghiêm trọng là cơn hạ đường huyết trong đó bệnh nhân cần sự hỗ trợ của người khác (Cryer, 2009). Đối với người không làm trong lĩnh vực y tế bất kỳ, người mà gặp khó khăn với các tình huống khẩn cấp trong đó bệnh nhân tiểu đường bị hôn mê do hạ đường huyết hoặc co giật do hạ đường huyết, việc hoàn nguyên và tiêm glucagon tiêm được là quy trình phức tạp và làm nản lòng với khả năng sai sót cao.

Trên thực tế, các nhà nghiên cứu Úc đã công bố một nghiên cứu trong đó cha mẹ của trẻ nhỏ và thiếu niên mắc bệnh tiểu đường sử dụng một trong số các kit glucagon hiện có (GlucoGen Hypokit, Novo Nordisk) trong tình huống khẩn cấp mô phỏng (Harris et al, 2001). Mỗi cha mẹ được yêu cầu giả định lúc đó là 3:00 giờ sáng và con họ đang không tỉnh táo. Sau đó, họ được giao cho một kit glucagon khẩn cấp chưa mở và được yêu cầu tiêm thuốc vào một miếng thịt gói kín để mô phỏng bắp đùi. Một nhóm nhỏ gồm 11 chuyên gia y tế về bệnh tiểu đường (năm bác sĩ nội tiết và sáu giảng viên về bệnh tiểu đường) tham gia giám sát.

Trong số 136 bố mẹ tham gia vào nghiên cứu, 106 người là bố mẹ của các thiếu niên với khoảng thời gian mắc bệnh tiểu đường trung bình là 4,7 năm và 30 người là bố

mẹ của các trẻ nhỏ hơn với khoảng thời gian mắc bệnh tiểu đường trung bình là 2,4 năm. Trên 90% báo cáo là đã được huấn luyện để sử dụng glucagon trước đó. 69% các bố mẹ gặp khó khăn trong việc thao tác với kit glucagon khẩn cấp hiện có. Các khó khăn bao gồm khó khăn trong việc mở gói, tháo vỏ kim, trộn các thành phần và uốn cong kim. Trung bình, các bố mẹ này cần 2 phút và 30 giây để hoàn thành quy trình (từ 30 giây đến > 12 phút). Ngoài ra, 6% từ bỏ hoàn toàn việc tiêm và 4% người tham gia chỉ tiêm không khí hoặc chỉ tiêm chất pha loãng. Trái lại, chuyên gia về bệnh tiểu đường thực hiện quy trình trong 1 phút và 17 giây (từ 1-1,75 phút). Số lỗi quan sát được trong các mẫu bố mẹ này gây lúng túng đặc biệt với thực tế đó chỉ là sự mô phỏng về thời gian và không phải tình huống khẩn cấp thật.

Các khó khăn có liên quan đến việc sử dụng kit glucagon càng được khẳng định trong báo cáo gần đây của tổ chức Institute for Safe Medication Practices (ISMP) Canada (ISMP Canada Safety Bulletin, 2010). Báo cáo của ISMP tháng 9 năm 2010 dẫn chứng ba sự việc riêng rẽ trong đó chất pha loãng được sử dụng mà không có bột glucagon hoàn nguyên bằng chất pha loãng trước khi dùng. Điều này dẫn đến sai lầm hoàn toàn khi phân phối liều glucagon đã định cho các cá thể trải qua cơn hạ đường huyết nghiêm trọng và, theo báo cáo, gây tổn hại đến bệnh nhân trong một trường hợp.

Một cuộc điều tra qua điện thoại đã được tiến hành với 102 bệnh nhân mắc bệnh tiểu đường typ 1 để xác định quan điểm của họ về các kit glucagon khẩn cấp hiện có (Yanai, 1997). Hầu hết bệnh nhân (67%) nói rằng họ sẽ ưu tiên glucagon dùng đường mũi nếu có sẵn và toàn bộ 82% số bệnh nhân này thừa nhận rằng người nhà, giáo viên và đồng nghiệp của họ sẽ ưu tiên dùng liệu pháp khẩn cấp bằng đường mũi. Tương tự, trong các chuyên gia chăm sóc khẩn cấp những người thường được gọi đầu tiên để điều trị cho bệnh nhân mắc cơn hạ đường huyết nghiêm trọng, có mối quan tâm đáng kể đến đường dùng tiêm. Một đặc điểm cố hữu của việc sử dụng các vật sắc nhọn là có nguy cơ thực tế khi phơi nhiễm với máu và đầu kim do tai nạn và khả năng mắc các bệnh nhiễm trùng có thể gây tử vong có liên quan (Leiss J 2006). Trong ngữ cảnh này, một số chuyên gia xử lý tình huống khẩn cấp chủ động tìm kiếm các đường dùng không xâm lấn, bao gồm đường trong mũi, để tăng cường khả năng chăm sóc bệnh nhân trong tình huống khẩn cấp, tăng độ an toàn cho bệnh nhân và nhân viên chăm sóc trong khi tăng đội ngũ nhà cung cấp dịch vụ chăm sóc những người phản ứng hiệu quả trong tình huống khẩn cấp (Curran, 2007).

Những xem xét này cho thấy rõ ràng rằng cách tiếp cận hiện thời để sử dụng glucagon trong các tình huống khẩn cấp là chưa đủ, và còn tồn tại nhu cầu thực sự về các cách khác để phân phối glucagon để điều trị chứng hạ đường huyết nghiêm trọng.

Các cách khác nhau để phân phối glucagon qua đường trong mũi đã được đề xuất nhưng chúng không đưa đến một phương pháp khả dụng thay thế cho glucagon tiêm được chấp thuận. Nhìn chung, các phương pháp này có thể được chia thành hai nhóm, nhóm sử dụng dạng bào chế lỏng, và nhóm sử dụng một số loại dạng bào chế khô.

Trong các nhóm chế phẩm dạng lỏng, các chế phẩm được sử dụng theo Pontiroli (1983), Pontiroli (1985), Freychet (1988), Pontiroli (1989), Pontiroli (1993) và Pacchioni (1995) là tất cả các chế phẩm mà cần được phun vào mũi. Gần đây hơn, Sibley và các đồng tác giả, 2013, báo cáo về việc sử dụng thành công chế phẩm đã dự định là glucagon tiêm bằng cách phun dung dịch glucagon đã hoàn nguyên trong mũi ở bệnh nhân ngoài cơ sở y tế.

Vì glucagon không ổn định ở trạng thái lỏng, các chế phẩm dạng lỏng được dùng trong các nghiên cứu này cần được hoàn nguyên ngay trước khi sử dụng và do đó không lý tưởng để dùng trong tình huống khẩn cấp để điều trị chứng hạ đường huyết nghiêm trọng. Hơn nữa, trong nhiều nghiên cứu như vậy, bệnh nhân cần hít sâu ngay sau khi sử dụng liều bằng các chế phẩm này. Vì bệnh nhân mắc chứng hạ đường huyết nghiêm trọng thường không tỉnh táo hoặc thậm chí hôn mê, không thể yêu cầu họ hít sâu được. Như vậy, các chế phẩm này không lý tưởng để phân phối trong mũi để điều trị chứng hạ đường huyết nghiêm trọng, và không khắc phục được các nhược điểm của dạng bào chế tiêm mà liên quan đến việc sử dụng kim bởi người không phải chuyên gia y tế và cần được bào chế trước khi dùng.

Trong nhóm thứ hai, bằng Mỹ số 5,059,587 mô tả các bột dùng đường mũi chứa các peptit có hoạt tính sinh lý, bao gồm glucagon. Các bột này bao gồm axit hữu cơ tan trong nước làm chất thúc đẩy sự hấp thu.

Jorgensen và các đồng tác giả, 1991 mô tả “chế phẩm dạng bột chứa glucagon để phân phối đường mũi”. Chế phẩm này được mô tả là chứa glucagon, didexyl phosphatidylcholin (DDPC) và α -cyclodextrin (α -CD), và được báo cáo là tạo ra đáp ứng phụ thuộc liều với sự gia tăng glucoza trong huyết tương và glucagon trong huyết

tương. Lượng chế phẩm hoặc phương pháp bào chế chế phẩm được bộc lộ trong tài liệu này.

Chế phẩm của Jorgensen 1991 hay chế phẩm HypoGon® Nasal (NovoNordisk) được xem là nguyên liệu sử dụng trong một số nghiên cứu sau đó, và trong một báo cáo như vậy chế phẩm này được cho là có thành phần glucagon:DDPC: α -CD theo tỷ lệ khối lượng 5:10:85. Trong các nghiên cứu này, việc sử dụng chế phẩm dạng bột của Jorgensen 1991 đường trong mũi ở người lớn được báo cáo là thể hiện sự gia tăng nồng độ glucoza trong huyết tương ở người lớn mắc chứng hạ đường huyết. Trong các nghiên cứu này, mức glucoza tăng sau khi sử dụng liều để đạt ổn định ở khoảng 30 phút sau khi sử dụng liều. Trái lại, việc điều trị bằng glucagon tiêm trong những nghiên cứu này dẫn đến mức glucoza tiếp tục tăng từ thời điểm sử dụng đến ít nhất 90 phút (Hvidberg, 1994; Rosenfalck, 1992). Việc dùng chế phẩm dạng bột của Jorgensen 1991 trong mũi ở trẻ mắc chứng hạ đường huyết được báo cáo là làm tăng nồng độ glucoza trong huyết tương ngay sau khi sử dụng liều đến mức đỉnh trong 25-30 phút sau khi sử dụng liều sau đó mức glucoza giảm. Trái lại, việc điều trị cho trẻ bằng glucagon tiêm làm cho mức glucoza huyết tương tiếp tục tăng trong ít nhất 45 phút (Stenninger, 1993).

Sakr, 1996 báo cáo về việc so sánh chế phẩm phun và chế phẩm dạng bột chứa glucagon và dimetyl- β -xyclodextrin (DM β CD). Dạng phụ mũi được bào chế bằng cách hòa tan glucagon thương mại trong “dung môi của nhà sản xuất” chứa 2 hoặc 5% khối lượng/thể tích DM β CD. Các bột này được bằng cách đông khô dung dịch phun.

Teshima và các đồng tác giả (2002) phát hiện rằng sự gia tăng glucoza huyết tương cao nhất là 1,56 mmol/L (28,08 mg/dL) ở người tình nguyện khỏe mạnh khi dùng trong mũi bột chứa glucagon và xenluloza vi tinh thể theo tỷ lệ 1:69. Họ cũng báo cáo rằng dạng bột là ổn định ở 5 và 25 °C trong ít nhất 84 ngày. Đối với sản phẩm dùng trong mũi ở bệnh nhân mắc chứng hạ đường huyết do insulin gây ra, mức tăng chỉ 1,5 mmol/L có thể là đủ để đưa bệnh nhân trở lại mức glucoza huyết bình thường. Ngoài ra, thể tích bột (tức là, 70 mg đối với chế phẩm theo tỷ lệ 1:69) là đáng kể và có thể là thừa để sử dụng bằng các dụng cụ sẵn có.

Matilainen và các đồng tác giả (2008, 2009) nghiên cứu độ ổn định của trạng thái rắn và sự hòa tan bột glucagon/ γ -CD và glucagon/lactoza ở nhiệt độ và/hoặc độ ẩm tăng

cao trong tới 39 tuần, với độ ổn định ở trạng thái rắn của bột glucagon/ γ -CD là tốt hơn. Bột này không được sử dụng để cấp đường mũi.

Endo và các đồng tác giả (2005) báo cáo về việc sử dụng erythritol làm cá tá được và chất mang trong dụng cụ hít bột khô chứa glucagon để dùng đường phổi. Bột này được bào chế bằng cách trộn các hạt glucagon đã micro hóa và tá được với các hạt chất mang lớn hơn. Để đạt được sự lắng đọng ở phế nang để hấp thu toàn thân sau đó, chế phẩm hít dạng bột khô (dry powder inhalant - DPI) chứa glucagon được làm giảm kích cỡ đến đường kính trung bình khối lượng từ 1 đến 6 micromet, như được xác định bằng phương pháp phân tích nhiễu xạ laze.

Onoue và các đồng tác giả (2009) báo cáo rằng việc bổ sung axit xitric trong dụng cụ hít bột khô glucagon để hít vào đường phổi cải thiện đặc tính hòa tan, và không làm giảm độ ổn định ở trạng thái rắn. Việc sử dụng dụng cụ hít bột khô glucagon (50 μ g/kg ở chuột cống) chứa axit xitric dẫn đến hiệu quả tăng đường huyết cao gấp 2,9-lần ở chuột cống, so với glucagon được hít không có axit xitric. Cả Endo (2005) và Onoue (2009) đều bộc lộ cách phân phối glucagon qua đường phổi hiện thời. Vì các bệnh nhân mắc chứng hạ đường huyết nghiêm trọng có thể không tỉnh táo hoặc mất phương hướng nghiêm trọng, họ không thể hít sâu để đảm bảo phân phối qua phổi. Như vậy, việc phân phối glucagon đường phổi là không thích hợp để điều trị chứng hạ đường huyết nghiêm trọng.

Bất kể các nỗ lực này, không có sản phẩm dùng cho bệnh nhân hiện có nào sử dụng bột dùng đường mũi để cấp glucagon cho việc điều trị chứng hạ đường huyết nghiêm trọng.

Bản chất kĩ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là cung cấp chế phẩm dạng bột dùng đường mũi như vậy.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất chế phẩm dạng bột chứa glucagon hoặc chất tương tự glucagon. Chế phẩm dạng bột này chứa glucagon hoặc chất tương tự glucagon, xyclodextrin, và chất hoạt động bề mặt phospholipit, và được bào chế sao cho ít nhất một phần của bột này có mặt ở pha đặc trung bởi đỉnh trung gian (mesopeak) XRPD như được xác định bằng phương pháp nhiễu xạ bột tia X. Theo các phương án cụ thể khác, chế phẩm dạng bột bao gồm:

- (a) 5 đến 15% khối lượng glucagon hoặc chất tương tự glucagon;
- (b) 5 đến 51% khối lượng chất hoạt động bề mặt phospholipit;
- (c) 44 đến 90% khối lượng cyclodextrin và
- (d) tùy ý, không quá 10% khối lượng axit hữu cơ có phân tử lượng thấp, hoặc muối tan trong nước được dùng của este của nó.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất dụng cụ áp dụng để đưa chế phẩm dạng bột này vào mũi. Dụng cụ áp dụng này bao gồm khoang chứa chế phẩm dạng bột, và chế phẩm dạng bột theo sáng chế chứa trong khoang này

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm dạng bột theo sáng chế. Phương pháp này bao gồm các bước:

- (a) điều chế hỗn hợp thứ nhất chứa glucagon và chất hoạt động bề mặt trong chất mang nước, trong đó chất hoạt động bề mặt có mặt với nồng độ lớn hơn so với hoặc bằng nồng độ tới hạn mixen;
- (b) bổ sung cyclodextrin vào hỗn hợp thứ nhất để tạo ra hỗn hợp thứ hai;
- (c) làm khô hỗn hợp thứ hai để tạo ra chế phẩm dạng rắn; và
- (d) xử lý chế phẩm dạng rắn để tạo ra bột đồng nhất, bột đồng nhất này bao gồm ít nhất một phần bột ở pha đặc trung bởi đỉnh trung gian XRPD. Theo các khía cạnh cụ thể, việc làm khô hỗn hợp thứ hai có thể được thực hiện bằng cách đông khô hoặc sấy phun hỗn hợp thứ hai.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1: Nồng độ glucoza trong huyết tương theo mmol/L theo thời gian khi cho chó sử dụng trong mũi với liều 1 mg glucagon thông qua chế phẩm dạng bột với tỷ lệ khối lượng glucagon:DPC: β -CD là 10:10:80.

Fig. 2: Nồng độ glucoza trong huyết tương theo mmol/L theo thời gian khi cho chó sử dụng trong mũi với liều 1 mg glucagon thông qua chế phẩm dạng bột với tỷ lệ khối lượng glucagon:DDPC: β -CD là 10:10:80.

Fig. 3: Nồng độ glucoza trong huyết tương theo mmol/L theo thời gian khi cho chó sử dụng trong mũi với liều 1 mg glucagon thông qua chế phẩm dạng bột với tỷ lệ khối lượng glucagon:LLPC: β -CD là 10:10:80.

Fig. 4: Nồng độ glucoza trong huyết tương theo mmol/L theo thời gian khi cho chó sử dụng trong mũi với liều 750 μ g glucagon thông qua chế phẩm dạng bột với tỷ lệ khối lượng glucagon:D8PC: β -CD là 10:10:80.

Fig. 5: Nồng độ glucoza trong huyết tương theo mmol/L theo thời gian khi cho chó sử dụng trong mũi vào một bên lỗ mũi với liều 750 μ g glucagon thông qua chế phẩm dạng bột với tỷ lệ khối lượng glucagon:DLPG: α -CD là 5:25:70.

Fig. 6: Nhiễu xạ đồ bột tia X của các chế phẩm dạng bột chứa glucagon: DPC: β -CD và chứa glucagon-DDPC- β -CD với tỷ lệ khối lượng 10:10:80.

Fig. 7: Nồng độ glucoza trong huyết tương trung bình ở người lớn mắc bệnh tiểu đường typ 1 và mắc chứng hạ đường huyết do insulin gây ra được điều trị bằng glucagon trong mũi và tiêm.

Fig. 8A: Nồng độ glucagon trong huyết tương trung bình ở trẻ em trong độ tuổi 12-17, mắc bệnh tiểu đường typ 1 được điều trị bằng glucagon trong mũi và tiêm. Dòng đầu là trong bắp, dòng cuối là trong mũi.

Fig. 8B: Nồng độ glucoza trong huyết tương trung bình ở trẻ em trong độ tuổi 12-17, mắc bệnh tiểu đường typ 1 được điều trị bằng glucagon trong mũi và tiêm. Dòng đầu là trong bắp, dòng cuối là trong mũi.

Fig. 9A: Nồng độ glucagon trong huyết tương trung bình ở người lớn mắc (đường trên) và không mắc chứng nghẹt mũi (đường dưới), và mắc chứng nghẹt mũi và được điều trị trước đó bằng thuốc chống nghẹt mũi (đường giữa).

Fig. 9B: Nồng độ glucoza trong huyết tương trung bình ở người lớn mắc (đường trên) và không mắc chứng nghẹt mũi (đường dưới), và mắc chứng nghẹt mũi và được điều trị trước đó bằng thuốc chống nghẹt mũi (đường giữa).

Fig. 10: Dụng cụ áp dụng làm ví dụ dùng cho các chế phẩm dạng bột dùng ở mũi (dụng cụ Aptar).

Mô tả chi tiết sáng chế

Một số thuộc tính mong muốn của chế phẩm dạng bột dùng trong mũi với tiềm năng thương mại được liệt kê dưới đây.

- Khả năng phân phối liều đồng đều bởi dụng cụ để dùng trong mũi

- Không có phân đoạn đáng kể chứa các hạt nhỏ để ngăn ngừa khả năng vô ý sử dụng cho phổi
- Hàm lượng thuốc đủ để tạo ra liều thuốc tổng cần để đạt được hiệu quả điều trị dưới dạng liều đơn vào một bên lỗ mũi
- Hàm lượng thuốc đủ để phân phối liều tổng vài chục miligam, hoặc liều tối đa được phép của dụng cụ phân phối
- Hàm lượng thuốc và các đặc tính hấp thu đủ để có hiệu quả bất kể bệnh nhân bị nghẹt mũi có thể có liên quan đến dị ứng hoặc cảm lạnh
- Độ ổn định trong quá trình bảo quản trong các điều kiện môi trường trong khoảng thời gian dài, tốt hơn là ít nhất 18 tháng
- Profin độ an toàn và độ dung nạp tốt

Các nỗ lực trước đây trong phát triển chế phẩm dạng bột dùng cho mũi không có đủ một hoặc một số thuộc tính mong muốn này.

Các chế phẩm được mô tả trong sáng chế được thiết kế để đáp ứng một số và tốt hơn là tất cả các thuộc tính mong muốn trong chế phẩm có ba thành phần cần thiết: glucagon hoặc chất tương tự glucagon, xyclodextrin, và chất hoạt động bề mặt phospholipit.

Glucagon và các chất tương tự glucagon

Được sử dụng trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ của sáng chế, “glucagon” chỉ polypeptit có trình tự

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 (SEQ ID NO: 1).

Glucagon có thể được tổng hợp hóa học, sản xuất bằng công nghệ ADN tái tổ hợp hoặc chiết từ các nguồn tự nhiên. Thuật ngữ “chất tương tự glucagon” chỉ các biến thể của trình tự này mà vẫn giữ được khả năng mô phỏng sự gia tăng glucoza huyết *in vivo* nhưng có thể tạo ra các lợi ích trong việc sử dụng trong lĩnh vực được như hoạt tính cao hơn, độ hòa tan cao hơn hoặc độ ổn định cao hơn.

Ví dụ về các chất tương tự glucagon trong đó một axit amin của trình tự tự nhiên được thay thế bằng alanin cũng như các chất tương tự với nhiều vị trí thế được bộc lộ

trong tài liệu của Chabenne và các đồng tác giả (2014), tài liệu này được kết hợp bằng cách viện dẫn. Một chất tương tự làm ví dụ trong đó ba axit amin được thay đổi để tạo ra chất tương tự glucagon với hoạt tính sinh học tăng cường là [Lys^{17,18}, Glu²¹] glucagon. Zealand Pharma đã bộc lộ vô số các chất tương tự glucagon chẳng hạn trong công bố đơn Mỹ số 20140080757, 2014001733, 20130316941, 20130157935, 20130157929, 20120178670, 20110293586, 20110286982, 20110286981, và 20100204105 được kết hợp bằng cách viện dẫn. Các chất tương tự này được báo cáo là có ái lực liên kết lớn hơn đối với thụ thể GLP do với thụ thể glucagon, nhưng dù sao vẫn giữ được hoạt tính của glucagon. Zealand Pharma cũng đã bắt đầu các thử nghiệm lâm sàng đối với chất tương tự glucagon để điều trị chứng hạ đường huyết gọi là ZP4207. Công bố đơn Mỹ số 20130053310, mà được kết hợp bằng cách viện dẫn, bộc lộ các chất tương tự glucagon khác hữu dụng trong điều trị chứng hạ đường huyết.

Chất hoạt động bề mặt phospholipit

Các phospholipit là các thành phần thường gặp của các màng sinh học mà là một phần của tế bào và mô trong cơ thể người, bao gồm niêm mạc mũi. Các chất hoạt động bề mặt phospholipit phổ biến trong tế bào là phosphatidylcholin và phosphocholin (PC), mặc dù các phosphatidylglycerol (PG) là thành phần đáng kể của các màng sinh học.

Các PC và PG có thể được sử dụng trong các chế phẩm theo sáng chế. Các lysophospholipit thu được từ diacyl PC hoặc PG bằng cách loại bỏ một trong số các nhóm axyl cũng có thể được sử dụng. Các phospholipit được ưu tiên hòa tan trong nước hoặc nước đã axit hóa, mặc dù đồng dung môi được dùng như etanol, dimethylsulfoxit hoặc N-methylpyrrolidon có thể được sử dụng nếu cần để tăng cường độ hòa tan của phospholipit.

Theo sáng chế, các chất hoạt động bề mặt phospholipit làm ví dụ nà có thể được sử dụng trong chế phẩm dạng bột là dodexylphosphocholine(DPC), 1,2-didexyl-*sn*-glyxero-3-phosphocholin (DDPC hoặc “didexylphosphatidylcholin”), 1-didecanoyl-*sn*-glyxero-3-phosphocholin (LLPC hoặc “lysolauroylphosphatidylcholin”), 1,2-diocanoyl-*sn*-glyxero-3-phosphocholin (D8PC hoặc “dioctanoylphosphatidylcholin”) và 1,2-dilauroyl-*sn*-glyxero-3-phospho(1'-rac-glyxerol) (DLPG hoặc “dilauroylphosphatidylglyxerol”).

Các chất hoạt động bề mặt phospholipit được ưu tiên là các chất mà tạo mixen, hơn là các lớp đôi ở nồng độ được sử dụng trong quá trình sản xuất chế phẩm dạng bột. Các chất này bao gồm DPC, DDPC, LLPC, và D8PC, nhưng không phải là DLPG.

Nhìn chung, sự tạo thành mixen trái với các lớp đôi có thể được dự đoán dựa trên cấu trúc của các chất hoạt động bề mặt phospholipit, mà được tạo ra gồm hai hoặc ba phần: cholin chứa phospho hoặc nhóm đầu glyxerol, khung glyxerol tùy ý và một hoặc hai chuỗi axyl. Độ dài của chuỗi axyl và số các chuỗi axyl trong mỗi phân tử là quan trọng trong việc xác định xem một phospholipit nhất định tạo mixen hay lớp đôi. Khi chỉ có một chuỗi axyl có mặt, như trong DPC và LLPC mà có 12 cacbon trong chuỗi axyl đơn của chúng, các mixen dễ được tạo thành so với các lớp đôi miễn là độ dài chuỗi axyl là nhỏ hơn 14. Các diaxyl phospholipit chứa hai chuỗi axyl trong mỗi phân tử. Khi chiều dài chuỗi của từng chuỗi nhỏ hơn 12, chúng có xu hướng tạo mixen. DLPG, DDPC và D8PC là các diaxyl phospholipit. DLPG chứa 12 cacbon trong mỗi chuỗi axyl và tạo ra các lớp đôi. DDPC chứa 10 cacbon trong mỗi chuỗi axyl. Nó tạo ra các lớp đôi hoặc các mixen tùy thuộc vào nồng độ (Marsh, 1990). D8PC chứa 8 cacbon trong mỗi chuỗi axyl, và chủ yếu tạo ra mixen.

Theo các phương án cụ thể của sáng chế, chế phẩm chứa một loại chất hoạt động bề mặt phospholipit. Theo các phương án khác, thành phần chất hoạt động bề mặt phospholipit của chế phẩm có thể được tạo ra từ hỗn hợp của các chất hoạt động bề mặt phospholipit, bao gồm chẳng hạn, tổ hợp của hai, ba hoặc bốn chất hoạt động bề mặt bất kỳ được xác định trên đây.

Xyclodextrin

Xyclodextrin dưới dạng lớp gồm 5 hoặc nhiều đơn vị α -D-glucopyranosit liên kết 1- $\rightarrow$ 4, như trong amyloza (tinh bột). Tuy nhiên, như được sử dụng trong đơn này, thuật ngữ “xyclodextrin” chỉ các xyclodextrin phổ biến và điển hình hơn chứa sáu, bảy hoặc tám gốc glucoza trong vòng tạo ra hình nón, tức là:

- α (alpha)-xyclodextrin: phân tử đường dạng vòng 6 cạnh
- β (beta)-xyclodextrin: phân tử đường dạng vòng 7 cạnh
- γ (gamma)-xyclodextrin: phân tử đường dạng vòng 8 cạnh

α -CD được sử dụng trong chế phẩm dạng bột (HypoGon® Nasal) bởi Novo Nordisk trong các thử nghiệm lâm sàng (Stenniger and Aman, 1993; Rosenfalck, 1992). Độ tan trong nước của α -CD được báo cáo là khoảng 5% khối lượng.

Hai cyclodextrin khác, một có độ hòa tan trong nước nhỏ hơn độ hòa tan của α -CD (β -CD, 1,85% khối lượng) và một có độ hòa tan trong nước cao hơn so với α -CD (HP- β -CD) cũng thích hợp để dùng trong chế phẩm theo sáng chế, như γ (gama)-cyclodextrin mà hòa tan tự do trong nước.

Các cyclodextrin trong chế phẩm theo sáng chế hoạt động dưới dạng chất độn, và cả bám dính và bề mặt niêm mạc mũi và hỗ trợ hấp thu glucagon. Khi phân phối vào lỗ mũi, thành phần chính (90% đến 70% khối lượng) tức là, cyclodextrin giúp cho bột bám dính vào bề mặt niêm mạc. Cyclodextrin càng ít tan, bột càng được dự đoán là bám dính về mặt vật lý vào niêm mạc lâu hơn. Dựa trên các đặc tính về độ hòa tan của các cyclodextrin, độ bám dính vào niêm mạc được dự đoán là giảm theo trật tự β -CD > α -CD > HP- β -CD. Vì lý do này, chất độn được ưu tiên nhất là β -CD.

Các cyclodextrin theo sáng chế có thể được sử dụng riêng rẽ, hoặc dưới dạng hỗn hợp của hai hay nhiều cyclodextrin.

Chế phẩm dạng bột

Chế phẩm dạng bột theo sáng chế chứa ba thành phần, glucagon hoặc chất tương tự glucagon, chất hoạt động bề mặt phospholipit và cyclodextrin với lượng hữu hiệu để tạo ra lượng glucagon hoặc chất tương tự glucagon điều trị trong lượng bột mà có thể dùng được với liều đơn trong một bên lỗ mũi. Theo các phương án cụ thể khác, chế phẩm dạng bột bao gồm:

- (a) 5 đến 15% khối lượng glucagon hoặc chất tương tự glucagon;
- (b) 5 đến 51% khối lượng chất hoạt động bề mặt phospholipit;
- (c) 44 đến 90% khối lượng cyclodextrin và
- (d) tùy ý, không quá 10% khối lượng axit hữu cơ có phân tử lượng thấp, hoặc muối tan trong nước được dùng của este của nó.

Như được thể hiện trong các ví dụ dưới đây, các chế phẩm dạng bột thuộc loại này có các đặc tính tuyệt vời khi được dùng để cấp glucagon trong mũi, tập hợp các thành phần trong sản phẩm của Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992/HypoGon® Nasal không tạo

ra được các kết quả tương đương và rõ ràng là đã bị từ bỏ sau thử nghiệm ban đầu trên đối tượng người.

Dựa trên các mô tả trong lĩnh vực này, đã cho rằng sản phẩm của Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992/HypoGon® Nasal chứa glucagon, DDPC và alpha-CD với tỷ lệ khối lượng 5:10:85. Không có thông tin nào được đưa ra về cách mà các thành phần này được kết hợp. Do đó, việc so sánh trực tiếp chế phẩm này với chế phẩm theo sáng chế là điều không thể. Tuy nhiên, dữ liệu có được về từng chế phẩm minh họa thực tế rằng các chế phẩm này là khác nhau. Quan trọng là, chế phẩm được mô tả bởi Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992 được dùng với liều chia nhỏ với một nửa liều được dùng cho mỗi bên lỗ mũi. Trong khi điều này có thể tương đối dễ thực hiện trong cơ sở nghiên cứu lâm sàng, trong các điều kiện sử dụng thực tế, điều này làm phức tạp hóa đáng kể việc điều trị cứu chữa đối với người không phải nhân viên chăm sóc y tế trong điều trị cơn hạ đường huyết nghiêm trọng, vì nó có thể đòi hỏi việc dùng hai liều thuốc. Các tác giả này cũng báo cáo về việc hắt hơi trong 50% số bệnh nhân được điều trị, tỷ lệ này cao hơn nhiều so với tỷ lệ quan sát được (nhỏ hơn 2%) với chế phẩm được mô tả trong sáng chế.

Việc sử dụng chế phẩm dạng bột của Jorgensen 1991 đường trong mũi ở người lớn được báo cáo là thể hiện sự gia tăng nồng độ glucoza trong huyết tương ở người lớn mắc chứng hạ đường huyết. Ở người lớn khỏe mạnh này mắc chứng hạ đường huyết do insulin gây ra, mức glucoza tăng sau khi sử dụng liều để đạt ổn định ở khoảng 45 phút sau khi sử dụng liều. Trái lại, việc điều trị bằng glucagon tiêm trong nghiên cứu này dẫn đến mức glucoza tiếp tục tăng từ thời điểm sử dụng đến ít nhất 90 phút (Hvidberg, 1994). Trong một nghiên cứu khác được tiến hành trên người lớn mắc bệnh tiểu đường typ 1 và chứng hạ đường huyết do insulin gây ra, mức glucoza tăng sau khi sử dụng liều để đạt mức ổn định vào khoảng 30 phút sau khi sử dụng liều trong mũi, so với ít nhất 90 phút đối với glucagon tiêm (Rosenfalck, 1992).

Trái với profin glucoza quan sát được đối với chế phẩm của Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992, dữ liệu được tạo ra với chế phẩm dạng bột được mô tả trong sáng chế thể hiện rằng nồng độ glucoza trong huyết tương tiếp tục tăng trong ít nhất 90 phút sau khi sử dụng liều (Fig. 7, dòng cuối). Như đã thể hiện, kết quả này là tương đương với kết quả thu được với glucagon dùng trong bắp trong vùng khoảng thời gian (Fig. 7, dòng đầu).

Việc sử dụng chế phẩm dạng bột của Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992 trong mũi cho trẻ em mắc bệnh tiểu đường typ 1 với chứng hạ đường huyết được báo cáo là làm tăng nồng độ glucoza trong huyết tương ngay sau khi sử dụng liều đến mức đỉnh sau khi sử dụng liều 25-30 phút sau đó mức glucoza giảm, so với mức glucoza trong huyết tương mà tiếp tục tăng trong ít nhất 45 phút sau khi tiêm SC (Stenninger, 1993). Các giá trị glucagon đỉnh sau điều trị xuất hiện ở khoảng 10 phút sau khi dùng liều trong mũi (Rosenfalck 1992; Stenninger 1993). Trái với profin glucoza quan sát được đối với chế phẩm của Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992, dữ liệu được tạo ra với chế phẩm dạng bột được mô tả trong sáng chế ở trẻ em (12-17 tuổi) thể hiện rằng nồng độ glucoza trong huyết tương tiếp tục tăng trong ít nhất 60 phút sau khi sử dụng liều (Fig. 8B). Ngoài ra, nồng độ glucagon đỉnh trong huyết tương không xuất hiện cho đến khoảng 20 phút sau khi sử dụng liều (Fig. 8A).

Vì cơn hạ đường huyết nghiêm trọng là không đoán trước được và có thể xảy ra ở người sử dụng insulin đã bị nhiễm chứng nghẹt mũi, một nghiên cứu được tiến hành để đánh giá PK và PD của chế phẩm dạng bột theo sáng chế trong tình huống này. Như được mô tả trong ví dụ thử nghiệm 11 và được thể hiện trên Fig. 9A và Fig. 9B, được động học và được lực học thu được từ việc điều trị bằng bột dùng đường mũi theo sáng chế không bị ảnh hưởng bất lợi bởi chứng nghẹt mũi. Điều này củng cố việc sử dụng sáng chế để điều trị cơn hạ đường huyết nghiêm trọng ở người có thể mắc chứng nghẹt mũi. Như quan sát thấy ở những người không mắc chứng nghẹt mũi, thời gian đạt mức glucagon huyết tương đỉnh là khoảng 20 phút sau khi sử dụng liều. Chưa có báo cáo về dữ liệu chỉ ra việc chế phẩm của Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992 có thể được dùng trong điều trị cho người mắc chứng nghẹt mũi mà có thể thấy ở những người bị cảm lạnh hoặc viêm mũi dị ứng theo mùa hay không.

Các tác giả sáng chế tin rằng sự khác biệt trong kết quả xuất phát từ sự khác biệt về kết cấu giữa chế phẩm dạng bột theo sáng chế và bột theo Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992. Như sẽ thảo luận sau đây, việc hòa tan đồng thời các thành phần phospholipit và cyclodextrin sau đó làm khô và tạo bột dẫn đến việc tạo ra một số cấu trúc có đỉnh XRPD đặc trưng mà không có ở các nguyên liệu riêng rẽ. Đỉnh này được duy trì khi glucagon được bổ sung vào chế phẩm. Không bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể bất kỳ, đã cho rằng glucagon hoặc chất tương tự glucagon liên hợp với phospholipit mixen trong dung dịch và duy trì một số liên hợp này sau khi làm khô, dù không phá vỡ kết cấu được

tạo ra bởi phospholipit và xyclodextrin, và sự liên hợp này bọc lộ glucagon tốt hơn để hấp thu đường mũi. Do đó, chế phẩm dạng bột được yêu cầu bảo hộ không đơn giản là hỗn hợp của ba thành phần, mà còn chứa kết cấu vật lý đặc biệt phát hiện được thông qua các kỹ thuật nhiễu xạ bột tia X.

Hiểu biết này về kết cấu của chế phẩm theo sáng chế phù hợp với thông tin đã biết về tương tác giữa glucagon với các chất hoạt động bề mặt phospholipit. Glucagon tạo cấu trúc phức ở tỷ lệ mol khoảng 55:1 phospholipit:glucagon (Epand & Sturtevant, 1982). Cũng đã thấy rằng glucagon có thể liên kết với 50 phân tử phospholipit, và 20 trong số đó được liên kết chặt chẽ (Epand & Sturtevant, 1981). Boesch và các đồng tác giả (1980) và Brown và các đồng tác giả (1981) báo cáo rằng cấu trúc glucagon liên kết với các lipit mixen khác nhau, bao gồm DPC, rất không phụ thuộc vào loại lipit. Cấu trúc này được mô tả là xác định, và chủ yếu là mở rộng. Hóa học lượng pháp của phức DPC:glucagon được báo cáo là 40:1. Các tác giả này cũng đưa ra giả thuyết là cấu trúc glucagon liên kết với các mixen rất tương tự với cấu trúc glucagon liên kết với các lớp lipit kép.

Tỷ lệ mol của phospholipit (DPC, DDPC, LLPC, D8PC hoặc DLPG): glucagon ở tỷ lệ 10:10 theo khối lượng như trong một số chế phẩm được ưu tiên theo sáng chế là từ 6:1 đến 10:1, cho thấy rằng các phospholipit có thể chủ yếu liên kết chặt chẽ với glucagon trong các chế phẩm dạng bột dùng trong mũi.

Các nghiên cứu nhiễu xạ bột tia X trên chế phẩm dạng bột theo sáng chế thể hiện rõ ràng sự có mặt của các đỉnh nhiễu xạ có liên quan đến cấu trúc mixen hoặc pha trung gian rong chế phẩm. Các đỉnh này đặc trưng bởi các góc nhiễu xạ thấp ($6,6^\circ 2\theta$ đối với DPC và $7,3^\circ 2\theta$ đối với DDPC). (Fig. 6) Cùng các đỉnh này được thấy ở các mẫu trong đó không có glucagon, và trong bản mô tả này được gọi là “đỉnh trung gian XRPD.” Đỉnh trung gian XRPD là đặc trưng của các chế phẩm dạng bột theo sáng chế.

Fig. 6 thể hiện kết quả nhiễu xạ bột tia X chồng lên nhau đối với các chế phẩm glucagon-DPC- β -cyclodextrin (hồ sơ 474320) và glucagon-DDPC- β -cyclodextrin (hồ sơ 407476). Mẫu nhiễu xạ duy trì các đỉnh ở góc lớn phù hợp với sự có mặt của tinh thể xyclodextrin (ví dụ, đỉnh 61 ở khoảng $18-20^\circ 2\theta$), các đỉnh này không được dự đoán trước vì xyclodextrin có mặt với lượng dư đáng kể so với phospholipit và glucagon. Ngoài ra, mỗi mẫu có đỉnh nhiễu xạ góc nhỏ lần lượt ở $6,6^\circ$ và $7,3^\circ 2\theta$. Các đỉnh này

cũng có trong các mẫu không chứa glucagon được tạo ra bằng cách hòa tan phospholipit ở nồng độ tạo mixen, bổ sung xyclodextrin và sau đó làm khô dung dịch thu được. Như được sử dụng trong bản mô tả, việc nêu “ít nhất một phần của bột theo sáng chế có mặt ở pha đặc trưng bởi đỉnh trung gian XRPD như xác định bằng phương pháp nhiễu xạ bột tia X” chỉ ra rằng các đỉnh ở góc nhỏ phát hiện được trong nhiễu xạ đồ tia X trên mẫu bột, và phân biệt được rõ ràng so với nhiễu của phép đo. Theo các phương án được ưu tiên, kích cỡ của đỉnh trung gian XRPD (như được xác định bằng chiều cao đỉnh) là khoảng 30% chiều cao của đỉnh ở khoảng $18-20^\circ 2\theta$ (như trong mẫu đối với hồ sơ 407476 trên Fig. 6) hoặc lớn hơn, và có thể khoảng bằng chiều cao của đỉnh này (như trong mẫu đối với hồ sơ 474320 trên Fig. 6) .

Sự hình thành pha đặc trưng bởi đỉnh trung gian XRPD được quan sát thấy ở các mẫu có và không có glucagon, và bằng cách sử dụng các chế phẩm khác nhau và các kỹ thuật làm khô khác nhau. Đã thấy rằng một số thay đổi về hình dạng và vị trí đỉnh trung gian XRPD có thể xảy ra tùy thuộc vào điều kiện làm khô. Chẳng hạn, đông khô lượng lớn hơn dẫn đến lớp lạnh đông dày hơn và thời gian làm khô dài hơn quan sát được trong một thử nghiệm là dẫn đến sự tạo thành hai đỉnh trung gian XRPD mở rộng và gối lên nhau.

Lợi ích tiếp theo của sáng chế là tính hữu dụng của nó trong điều trị khẩn cấp, ngay cả trong điều kiện môi trường khắc nghiệt, cụ thể là điều kiện lạnh. Chế phẩm theo sáng chế vẫn dùng được trực tiếp ngay khi nhiệt độ dưới mức băng giá và các phép thử đã thể hiện rằng bột được bảo quản ở -20°C có thể dùng được trực tiếp với mức phân phối và hấp thu glucagon chấp nhận được. Trái lại, các kit khẩn cấp chứa chất mang lỏng để hoàn nguyên glucagon trước khi dùng phải được giữ ở trên điểm đóng băng của chất mang. Tương tự, các dung dịch cũng phải được giữ ở trên điểm đóng băng của dung dịch, mà sẽ ở nhiệt độ cao hơn nếu dung môi như DMSO được sử dụng để tạo ra độ ổn định cho dung dịch.

Phương pháp bào chế các chế phẩm theo sáng chế

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp bào chế chế phẩm dạng bột có hoạt tính glucagon chứa glucagon hoặc chất tương tự glucagon, xyclodextrin, và chất hoạt động bề mặt phospholipit trong đó ít nhất một phần bột có mặt ở pha đặc

trung bởi đỉnh trung gian XRPD như được xác định bằng phương pháp nhiễu xạ bột tia X. Phương pháp này bao gồm các bước

- a. điều chế hỗn hợp thứ nhất chứa glucagon và chất hoạt động bề mặt trong chất mang nước, trong đó chất hoạt động bề mặt có mặt với nồng độ lớn hơn so với hoặc bằng nồng độ tới hạn mixen;
- b. bổ sung xyclodextrin vào hỗn hợp thứ nhất để tạo ra hỗn hợp thứ hai;
- c. làm khô hỗn hợp thứ hai để tạo ra chế phẩm dạng rắn; và
- d. xử lý chế phẩm dạng rắn để tạo ra bột đồng nhất, bột đồng nhất này bao gồm ít nhất một phần bột ở pha đặc trưng bởi đỉnh trung gian XRPD.

Bước a, điều chế hỗn hợp thứ nhất, có thể được thực hiện bằng cách bổ sung glucagon hoặc chất tương tự glucagon vào dung môi, ví dụ nước, và sau đó bổ sung chất hoạt động bề mặt. Theo cách khác, chất hoạt động bề mặt có thể được hòa tan trước sau đó bổ sung glucagon hoặc chất tương tự glucagon. Hai thành phần của hỗn hợp này cũng có thể được hòa tan riêng rẽ và sau đó kết hợp lại để tạo ra hỗn hợp thứ nhất.

Tốt hơn, nếu dung môi được axit hóa đến độ pH = 4 hoặc nhỏ hơn để tăng cường độ hòa tan của glucagon. Việc axit hóa có thể thực hiện được bằng axit vô cơ, như HCl, axit phosphoric hoặc axit sulfuric, hoặc axit hữu cơ như axit axetic, axit xitric, axit glycolic hoặc axit lactic, hoặc sử dụng axit vô cơ và axit hữu cơ kết hợp. Trong các chế phẩm được ưu tiên, axit là axit axetic.

Lượng dung môi được sử dụng để tạo ra hỗn hợp thứ nhất là đủ để hòa tan glucagon và chất hoạt động bề mặt phospholipid trong hỗn hợp thứ nhất. Có thể sử dụng dư dung môi, mặc dù lượng dư lớn làm tăng thời gian và năng lượng cần trong bước làm khô và do đó không được ưu tiên.

Xyclodextrin có thể được bổ sung vào hỗn hợp thứ nhất ở dạng rắn, hoặc trong dung môi, như nước để tạo ra hỗn hợp thứ hai. Việc trộn có thể được tiến hành bằng các phương pháp bao gồm trộn tĩnh và trộn bằng động lực. Việc trộn bằng động lực có thể được thực hiện bằng cách sử dụng dao trộn đưa vào phần chất lỏng, dao này gắn với trục và quay bằng động cơ. Việc trộn tĩnh có thể thực hiện bằng cách cho chất lỏng chảy qua đường quanh co trong máy trộn tĩnh. Sự có mặt của giao diện không khí-nước trong quá trình trộn trong điều kiện trộn tốc độ cao có thể tạo ra bọt. Việc trộn tốc độ cao cũng

có thể gây ra mất ổn định protein do ứng suất cắt. Để giảm thiểu sự tạo bọt, và tốt hơn là loại bỏ sự tạo bọt, các điều kiện trộn tốc độ thấp được ưu tiên. Trong trường hợp trộn bằng động lực, tốc độ được xác định bằng số vòng quay của máy khuấy trong một phút (revolutions-per-minute - rpm). Giá trị rpm tốt hơn là nằm trong khoảng từ 100 đến 1000. Trong trường hợp trộn tĩnh, các điều kiện cắt thấp đạt được bằng cách chọn bơm mà tạo ra dòng không chảy tầng.

Hỗn hợp thứ hai được làm khô để loại bỏ dung môi (ví dụ, nước) và để lại sản phẩm rắn. Việc làm khô có thể được thực hiện bằng cách đông khô, sấy phun, sấy khay hoặc các kỹ thuật khác. Các đặc tính vật lý thô của sản phẩm sẽ thay đổi tùy theo kỹ thuật làm khô, và có thể ở dạng chất rắn dạng vảy khi sấy phun hoặc bánh chất rắn khô. Bất kể phương pháp được sử dụng để làm khô, việc loại bỏ nước khỏi chế phẩm có các ảnh hưởng quan trọng đến đặc tính và độ ổn định của bột.

Các bột với lượng ẩm dư có thể dính và bột bị vón cục khó thao tác để nạp vào dụng cụ áp dụng. Quan trọng là, mức nước còn lại có ảnh hưởng trực tiếp đến độ ổn định. Trong trường hợp glucagon, đã hiểu rõ rằng độ ổn định và các đặc tính vật lý bị ảnh hưởng bất lợi bởi nước. Đặc biệt, với sự có mặt của nước dư, glucagon tạo ra các sợi tinh bột mà ảnh hưởng bất lợi đến độ ổn định và profin độc tính của glucagon. (Pederson 2010). Do xu hướng tạo sợi tinh bột này, các sản phẩm glucagon hiện có được cung cấp dưới dạng bột để hòa tan trong nước ngay trước khi sử dụng. Nước cũng có thể ảnh hưởng bất lợi đến độ ổn định của glucagon qua phản ứng thủy phân, oxy hóa và khử amit hóa. Với mục đích này, dữ liệu được tạo ra với chế phẩm theo sáng chế cho thấy rằng hàm lượng ẩm còn lại quá 5% trong khối bột sẽ làm độ ổn định giảm so với bột với hàm lượng nước còn lại dưới 5%. Các bột thích hợp để dùng đường mũi do đó thường hàm lượng nước còn lại là dưới 5%.

Các bột thích hợp để dùng đường mũi thường phân bố cỡ hạt sao cho hầu hết các hạt lớn hơn khoảng 10 micromet và nhỏ hơn khoảng 1000 μm . Tốt hơn, nếu phân bố cỡ hạt sao cho D10 nằm trong khoảng 3-75 μm , D50 nằm trong khoảng 15 đến 450 μm , và D90 nằm trong khoảng 80-1000 μm , với chiều dài từ 1,5 đến 15.

Các bột thích hợp để dùng đường mũi cần có các đặc tính vật lý cho phép độ chảy đủ để nạp chúng vào dụng cụ áp dụng đường mũi. Độ chảy được xác định bằng cách thông số khác nhau bao gồm kích cỡ, hình dạng, mật độ, kết cấu bề mặt, diện tích bề

mặt, tỷ trọng, lực liên kết, độ bám dính, độ đàn hồi, độ xốp, độ hút ẩm, và tính dễ vỡ vụn của hạt.

Các bột với cỡ hạt và các đặc tính chảy thích hợp có thể được tạo ra bằng cách xử lý khối bột để loại bỏ các hạt quá nhỏ hoặc quá to. Các phương pháp xử lý khối bột để loại bỏ các hạt quá nhỏ hoặc quá to có thể bao gồm nghiền khối bột để phá vỡ các hạt lớn và sàng để tách các hạt trong khoảng kích cỡ mong muốn. Các phương pháp sàng có thể được thực hiện bao gồm sàng quăng (throw-action sieving), sàng ngang (horizontal sieving), sàng dọc ngang kết hợp (tapping sieving), sàng siêu âm (super-sonic sieving) và sàng tia không khí tròn (air circular jet sieving). Các sàng có thể được sử dụng làm sàng đơn có lỗ sàng cố định hoặc khối bột có thể được xử lý qua dãy các sàng với lỗ nhỏ hơn tăng dần để thu được phân bố cỡ hạt mong muốn. Các sàng có thể là sàng rây sợi dệt với lỗ sàng nằm trong khoảng 25 – 1000 μm .

Mẫu phun và hình học chùm từ việc sử dụng bột bằng dụng cụ dùng bột đường mũi là các đặc tính quan trọng quyết định diện tích bề mặt mà bột lắng đọng trên đó trong khoang mũi. Các đặc tính về mẫu phun thích hợp cho sáng chế bao gồm đường kính nhỏ nhất ($D_{\min}$) 5 – 25 mm, đường kính lớn nhất ($D_{\max}$) 10 đến 60 mm, và tỷ lệ ô van là 0,5 đến 6. Các mẫu phụ cụ thể quan sát thấy đối với các chế phẩm theo sáng chế được tổng hợp trong bảng sau

Mẫu phun					
$D_{\min}$ (mm)		$D_{\max}$ (mm)		Tỷ lệ ô van	
(nhỏ nhất/lớn nhất)	(trung bình)	(nhỏ nhất/lớn nhất)	(trung bình)	(nhỏ nhất/lớn nhất)	(trung bình)
10,7-21,9	13,9	14,5-42,9	23,6	1,1-3,6	1,7

Các đặc tính hình học chùm phun thích hợp cho sáng chế bao gồm góc phun nằm trong khoảng từ 20 đến 75° và độ rộng chùm nằm trong khoảng từ 10 đến 50 mm. Bảng sau đây tổng hợp thông tin hình học chùm phun đối với nhiều mẻ bột theo sáng chế.

Hình học chùm phun			
Góc phun (°)		Độ rộng chùm (mm)	
(nhỏ nhất/lớn nhất)	(trung bình)	(nhỏ nhất/lớn nhất)	(trung bình)
28,31-65,2	44,8	15,2-38,4	25,0

Sử dụng và các dụng cụ áp dụng dùng cho chế phẩm theo sáng chế

Trong khi có thể sử dụng phương pháp bất kỳ để đưa bột vào mũi người dùng, trong phương pháp theo sáng chế, chế phẩm dạng bột theo sáng chế được cung cấp theo cách thích hợp trong dụng cụ áp dụng đường mũi được thiết kế có mục đích mà giữ cho bột ở trạng thái sạch, khô và dùng được cho đến khi sử dụng, và sau đó phân phối bột vào niêm mạc mũi người dùng. Các dụng cụ áp dụng như vậy đã biết trong lĩnh vực này, và thường có khoang chứa chế phẩm dạng bột, và chế phẩm dạng bột chứa trong khoang này, và cơ cấu để đẩy chế phẩm dạng bột từ khoang chứa qua vòi phun để nhận được trong mũi.

Dụng cụ áp dụng được chọn để có thể cung cấp đủ chế phẩm dạng bột trong một lần bơm/sử dụng để tạo ra liều điều trị. Các khoang chứa và dung tích phân phối lớn hơn là cần thiết đối với các bột với tỷ lệ phần trăm glucagon hoặc chất tương tự glucagon trong chế phẩm nhỏ hơn, trong khi các khoang chứa và dung tích phân phối nhỏ hơn có thể được sử dụng với chế phẩm có tỷ lệ phần trăm glucagon cao.

Các dụng cụ phân phối thích hợp cụ thể được mô tả trong bằng Mỹ số 6,398,074 và 6,938,798, được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn. Fig. 10 được lấy từ tài liệu sáng chế '074 để minh họa dụng cụ thích hợp. Trong Fig. 10, khoang chứa 810 chứa liều đơn chế phẩm theo sáng chế. Khoang chứa 810 có đường không khí vào 811 và đường sản phẩm ra 815. Dụng cụ giữ sản phẩm 812 và/hoặc 813 được bố trí ở đường không khí vào 811 để giữ sản phẩm trong khoang chứa 810 đến khi phân phối sản phẩm. Đường sản phẩm ra 815 bị chặn, tốt hơn theo cách bịt kín lại, bằng bóng bịt 816 mà được đẩy ra khỏi vị trí bịt của nó bằng luồng khí khi sản phẩm được phân phối.

Khi người sử dụng phát động dụng cụ, họ đã tác dụng một lực lên pittông 825 theo cách để cho van đẩy 821 ép lên không khí chứa trong khoang 822 của luồng khí 820. Vì lưới 812 cho không khí thấm qua được, lực ép của không khí trong khoang 822 được truyền đến khoang chứa 810 và sau đó được áp lên bóng bịt 816 đang bịt đường sản phẩm ra 815. Kích thước của bóng bịt 816 và việc cố định nó ở đường sản phẩm ra khỏi khoang chứa 815 là sao cho bóng 816 bị đẩy khỏi vị trí bịt, khi áp lực nhỏ nhất định trước được tạo ra qua khoang chứa 810 trong luồng không khí 820 này. Do đó, khi đạt tới áp lực nhỏ nhất này, bóng đột ngột bị dịch chuyển về phía đường ra 840 của dụng cụ và dòng khí được tạo ra bởi luồng khí 820 đẩy toàn bộ liều chứa trong dụng cụ chứa

810 ra ngoài. Lực nén trước do bóng bịt 816 này tạo ra đảm bảo rằng khi nó dịch chuyển khỏi vị trí bịt, năng lượng tích tụ trong tay người dùng sao cho van đẩy 821 hợp lại với pittông 825 bị đẩy trong khoang 822 nhờ đó tạo ra luồng khí mạnh, đó là luồng khí thích hợp để phun mịn liều sản phẩm và đáng kể để loại bỏ các đám kết tụ sản phẩm bất kỳ nếu đó là sản phẩm dạng bột.

Một ví dụ khác về dụng cụ áp dụng thích hợp để sử dụng với chế phẩm dạng bột theo sáng chế là dụng cụ được bộc lộ trong công bố đơn Mỹ số 20110045088, được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn. Dụng cụ được thể hiện trong bằng Mỹ số 7,722,566 cũng có thể được sử dụng, cụ thể như được thể hiện trên Fig. 1 và Fig. 7 của tài liệu này, vì việc sử dụng vào cả hai lỗ mũi là không cần thiết khi dùng bột theo sáng chế.

Các ví dụ khác về dụng cụ áp dụng để dùng chế phẩm dạng bột đường mũi đã là đã biết qua WO2014004400, và bằng Mỹ số 5,702,362, được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Glucagon, DPC và α -CD, β -CD, hoặc HP- β -CD được hòa tan trong dung dịch HCl 0,01 N hoặc 0,1 N. Các chế phẩm cũng được bào chế với axit axetic 1 M hoặc axit axetic 0,5 M. Tỷ lệ khối lượng của glucagon:DPC:xyclodextrin nằm trong khoảng từ 5:10:75 đến 10:20:70. Trong hai thử nghiệm riêng rẽ, natri xitrat hoặc axit xitric được bổ sung vào làm chất phụ trợ. Bộ đã đông khô được đóng vào thiết bị để phân phối vào mũi. Bột này được dùng cho chó Beagle theo đường trong mũi với liều 500 μ g, 750 μ g hoặc 1000 μ g. Bột được sử dụng cho 3 hoặc 6 chó trong mỗi nhóm. Nồng độ glucoza huyết tương được xác định bằng cách sử dụng đường kế. Nồng độ glucoza huyết tương trước khi sử dụng (0 phút), và 5, 10, 20, 30, 40 và 60 phút sau khi dùng đường mũi được thể hiện trong bảng 1. Trong bảng 1, tỷ lệ chỉ tỷ lệ glucagon:DPC:xyclodextrin, hoặc tỷ lệ glucagon:DPC:xyclodextrin:chất phụ trợ.

Bảng 1. Nồng độ glucoza huyết tương trung bình (mmol/L) ở chó Beagle sau khi dùng trong mũi các chế phẩm chứa glucagon:DPC:CD.

Tỷ lệ	CD	Liều trên mỗi lỗ mũi (µg)	Lỗ mũi	Axit	Chất phụ gia	Nồng độ glucoza huyết tương (mmol/L)						
						0 phút	5 phút	10 phút	20 phút	30 phút	40 phút	60 phút
5:25:70	α-CD	500	1	HCl 0,1N	Không	3,7	3,4	6,1	6,3	3,6	2,4	3,4
5:25:70	α-CD	750	1	HCl 0,1N	Không	3,7	3,7	4,4	4,7	6,9	5,0	3,8
5:25:70	α-CD	1000	1	HCl 0,1N	Không	3,7	3,9	4,8	7,9	5,8	3,5	3,2
5:25:70	α-CD	500	2	HCl 0,1N	Không	3,3	3,3	3,7	4,1	4,0	3,2	3,5
5:40:55 SA	α-CD	500	1	HCl 0,1N	Không	3,7	3,6	3,8	3,8	3,5	4,2	4,2
5:40:55 SA	α-CD	1000	1	HCl 0,1N	Không	3,6	3,6	4,3	6,7	5,1	3,8	3,2
5:25:70	α-CD	750	1	HCl 0,1N	Không	3,7	3,5	4,2	4,3	4,3	4,1	4,0
10:30 SA:60	HP-β-CD	750	1	HCl 0,1N	Không	3,7	4,2	5,2	5,4	5,0	4,4	3,9
10:30 SA:60	HP-β-CD	750	1	HCl 0,1N	Không	3,4	4,2	5,2	5,1	4,9	4,0	3,7
10:70:10 :10	α-CD	750	1	HCl 0,1N	Axit xitric	3,6	5,2	6,0	6,2	5,9	4,5	3,3
10:70:10 :10	α-CD	750	1	HCl 0,1N	Natri xitrat	3,7	5,4	6,6	6,3	5,5	4,4	3,9
10:10 SA:80	α-CD	750	1	HCl 0,1N	Không	3,8	5,6	7,3	9,0	8,0	6,0	3,1
10:10 SA:80	α-CD	750	1	HCl 0,1N	Không	4,0	4,1	5,1	5,6	6,1	6,1	5,7
5:10 SA:85	α-CD	750	1	HCl 0,1N	Không	3,9	3,8	4,4	4,2	4,1	4,0	4,0
10:10 SA:80	β-CD	750	1	HCl 0,1N	Không	3,8	4,7	7,0	7,7	8,1	6,7	5,2
10:10 SA:80	α-CD	600	1	HCl 0,01N	Không	4,0	4,3	5,7	5,6	5,5	4,6	4,0
10:10 SA:80	β-CD	750	1	HCl 0,01N	Không	4,5	5,1	6,6	7,2	6,8	5,5	4,8
10:10 SA:80	β-CD	600	1	HCl 0,01N	Không	4,0	4,3	5,4	4,9	4,9	3,6	3,7
10:10 SA:80	β-CD	1000	1	HCl 0,01N	Không	4,4	7,4	8,7	8,8	8,1	5,9	4,6

Tỷ lệ	CD	Liều trên mỗi lỗ mũi (μg)	Lỗ mũi	Axit	Chất phụ gia	Nồng độ glucoza huyết tương (mmol/L)						
						0 phút	5 phút	10 phút	20 phút	30 phút	40 phút	60 phút
10:10 SA:80	β -CD	750	1	HCl 0,01 N	Không	4,4	5,4	6,8	6,1	5,1	4,0	4,0
10:10 SA:80	β -CD	500	1	HCl 0,01 N	Không	4,4	5,4	7,3	6,6	6,1	4,9	4,3
10:10 SA:80	β -CD	500	1	Axit axetic 1M	Không	4,40	5,08	6,00	5,80	5,17	4,65	4,53
10:10 SA:80	β -CD	1000	1	Axit axetic 1M	Không	3,80	5,08	8,22	9,74	10,0	7,96	6,44
10:10 SA:80	β -CD	2000	1	Axit axetic 1M	Không	4,23	6,50	10,2	12,3	12,7	11,2	8,85

Tất cả các chế phẩm (được bào chế với các nồng độ axit khác nhau, các axit khác nhau, các tỷ lệ ba thành phần khác nhau, với sự có mặt của axit xitric hoặc natri xitrat, các liều khác nhau, được phân phối vào một bên lỗ mũi hoặc cả hai bên lỗ mũi) thể hiện sự gia tăng về nồng độ glucoza huyết tương trong không quá từ 10 đến 30 phút, tiếp theo là giảm ở 40 phút, và tiếp theo là giảm tiếp ở 60 phút. Ví dụ, kết quả từ chế phẩm 10:10:80 với β -CD và HCl 0,01 N được sử dụng với liều 1000 μg vào một bên lỗ mũi được thể hiện trên Fig. 1.

Ví dụ 2

Glucagon, DDPC, và α -CD, β -CD, hoặc hydroxylpropyl- β -CD được hòa tan trong dung dịch HCl 0,01 N hoặc 0,1 N. Tỷ lệ khối lượng của glucagon:DDPC:cyclodextrin nằm trong khoảng từ 5:10:75 đến 10:20:70. Trong một thử nghiệm, natri xitrat cũng được bổ sung vào. Bột được đóng vào thiết bị để phân phối vào mũi. Bột này được dùng cho chó Beagle theo đường trong mũi với liều 500 μg , 750 μg hoặc 1000 μg . Bột được sử dụng cho 3 hoặc 6 chó trong mỗi nhóm. Nồng độ glucoza huyết tương được xác định bằng cách sử dụng đường kế. Kết quả được thể hiện trong bảng sau. Nồng độ glucoza huyết tương trước khi sử dụng (0 phút), và 5, 10, 20, 30, 40 và 60 phút sau khi dùng

đường mũi được thể hiện trong bảng 2. Trong bảng 2, tỷ lệ chỉ tỷ lệ glucagon:DDPC:xyclodextrin, hoặc tỷ lệ glucagon:DDPC:xyclodextrin:chất phụ trợ.

Bảng 2. Nồng độ glucoza huyết tương trung bình (mmol/L) ở chó Beagle sau khi dùng trong mũi các chế phẩm chứa glucagon:DDPC: CD.

Tỷ lệ	CD	Liều trên mỗi lỗ mũi (µg)	Lỗ mũi	Axit	Chất phụ gia	Nồng độ glucoza huyết tương (mmol/L)							
							0 phút	5 phút	10 phút	20 phút	30 phút	40 phút	60 phút
5:10 SA:85	α-CD	500	1	HCl 0,1 N	Không	5:10:85, α-CD, 500 µg, 1 bên lỗ mũi	3,8	3,7	4,6	6,0	6,3	4,3	3,4
5:10 SA:85	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Không	5:10:85, α-CD, 750 µg, 1 bên lỗ mũi	3,6	3,8	7,8	7,6	8,3	4,7	3,3
5:10 SA:85	α-CD	1000	1	HCl 0,1 N	Không	5:10:85, α-CD, 1000 µg, 1 bên lỗ mũi	3,8	4,0	4,7	7,4	7,1	4,3	3,8
5:10 SA:85	α-CD	500	2	HCl 0,1 N	Không	5:10:85, α-CD, 500 µg mỗi bên lỗ mũi, 2 bên lỗ mũi	3,4	3,1	3,4	5,3	5,0	3,2	3,2
5:51:44 SA	α-CD	500	1	HCl 0,1 N	Không	5:51:44, α-CD, 500 µg, 1 bên lỗ mũi	3,3	3,2	4,0	4,6	4,3	3,6	3,9
5:51:44 SA	α-CD	500	2	HCl 0,1 N	Không	5:51:44, α-CD, 500 µg mỗi bên lỗ mũi, 2 bên lỗ mũi	3,4	2,8	4,0	4,8	3,8	3,6	3,7
5:10 SA:85	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Không	5:10:85, α-CD, 750 µg, 1 bên lỗ mũi	3,7	5,1	6,4	7,5	7,9	7,3	6,3
10:41:49 SA	HP-β-CD	750	1	HCl 0,1 N	Không	10:41:49, HP-β-CD, 750 µg, 1 bên lỗ mũi	3,7	3,5	4,1	4,0	4,0	3,8	3,9
10:41:49 SA	HP-β-CD	750	1	HCl 0,1 N	Không	10:41:49, HP-β-CD,	3,7	4,6	5,6	5,5	4,9	4,1	3,7

Tỷ lệ	CD	Liều trên mỗi lỗ mũi (μg)	Lỗ mũi	Axit	Chất phụ gia	Nồng độ glucoza huyết tương (mmol/L)							
							0 phút	5 phút	10 phút	20 phút	30 phút	40 phút	60 phút
						750 μg , 1 bên lỗ mũi							
10:25:5 5 SA:10	α -CD	750	1	HCl 0,1 N	Natri xitrat	10:25:55:10, α -CD, natri xitrat, 750 μg , 1 bên lỗ mũi	3,6	4,8	6,3	6,3	5,5	4,6	4,0
10:20 SA:70	α -CD	750	1	HCl 0,1 N	Không	10:20 SA:70, α -CD, 750 μg , 1 bên lỗ mũi	3,5	3,9	4,4	4,3	4,4	4,0	3,9
10:10 SA:80	α -CD	750	1	HCl 0,1 N	Không	10:10 SA:80, α -CD, 750 μg , 1 bên lỗ mũi	3,5	5,3	6,7	7,8	6,7	5,3	3,7
10:10 SA:80	α -CD	750	1	HCl 0,1 N	Không	10:10 SA:80, α -CD, 750 μg , 1 bên lỗ mũi	3,8	4,9	5,5	6,9	5,6	4,4	4,0
5:10 SA:85	α -CD	750	1	HCl 0,1 N	Không	5:10:85, α -CD, 750 μg , 1 bên lỗ mũi	4,0	4,3	5,2	5,6	5,6	5,6	5,2
10:10 SA:80	β -CD	750	1	HCl 0,1 N	Không	10:10:80, β -CD, 750 μg , 1 bên lỗ mũi	3,6	4,7	6,8	6,5	6,1	4,6	4,0
10:10 SA:80	β -CD	700	1	HCl 0,1 N	Không	10:10:80, β -CD, 700 μg , 1 bên lỗ mũi	4,0	5,5	7,1	6,9	7,0	5,2	4,3
10:10 SA:80	α -CD	750	1	HCl 0,01 N	Không	10:10:80, α -CD, 750 μg , 1 bên lỗ mũi, HCl 0,01 N	4,3	4,7	6,0	6,4	6,5	5,1	4,5
10:10 SA:80	β -CD	1000	1	HCl 0,01 N	Không	10:10:80, β -CD, 1000 μg , 1 bên lỗ mũi, HCl 0,01 N	4,2	6,4	8,7	8,5	7,5	4,6	3,6

Tỷ lệ	CD	Liều trên mỗi lỗ mũi (μg)	Lỗ mũi	Axit	Chất phụ gia	Nồng độ glucoza huyết tương (mmol/L)							
							0 phút	5 phút	10 phút	20 phút	30 phút	40 phút	60 phút
10:10 SA:80	β-CD	750	1	HCl 0,01 N	Không	10:10:80, β-CD, 750 μg, 1 bên lỗ mũi, HCl 0,01 N	4,5	6,1	6,4	6,4	5,8	4,4	3,9
10:10 SA:80	β-CD	500	1	HCl 0,01 N	Không	10:10:80, β-CD, 500 μg, 1 bên lỗ mũi, HCl 0,01 N	4,4	5,8	6,8	5,4	4,6	4,0	4,1

Tất cả các chế phẩm (được bào chế với các nồng độ axit khác nhau, các cyclodextrin khác nhau, các tỷ lệ khác nhau, các liều khác nhau, được phân phối vào một bên lỗ mũi hoặc cả hai bên lỗ mũi) thể hiện sự gia tăng về nồng độ glucoza huyết tương trong không quá 10 đến 30 phút, tiếp theo là giảm ở 40 phút, và tiếp theo là giảm thêm ở 60 phút. Ví dụ, kết quả từ chế phẩm 10:10:80 với β -CD được sử dụng với liều 1000 μg phân phối vào một bên lỗ mũi được thể hiện trên Fig. 2.

Ví dụ 3

Glucagon, LLPC và β -CD được hòa tan trong dung dịch HCl 0,01 N hoặc 0,1 N. Tỷ lệ khối lượng glucagon:LLPC: β -CD là 10:10:80. Bột được đóng vào thiết bị để phân phối vào một bên lỗ mũi. Bột này được dùng cho chó Beagle theo đường trong mũi với liều 750 μg hoặc 1000 μg . Bột được sử dụng cho 6 chó trong mỗi nhóm. Nồng độ glucoza huyết tương được xác định bằng cách sử dụng que thử glucoza. Nồng độ glucoza huyết tương trước khi sử dụng (0 phút), và 5, 10, 20, 30, 40 và 60 phút sau khi dùng đường mũi được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Nồng độ glucoza huyết tương trung bình (mmol/L) ở chó Beagle sau khi dùng trong mũi các chế phẩm chứa glucagon:LLPC: CD.

Liều tính theo μg	Axit	Nồng độ glucoza huyết tương (mmol/L)						
		0 phút	5 phút	10 phút	20 phút	30 phút	40 phút	60 phút
750	HCl 0,1 N	3,8	4,8	6,6	6,9	6,1	4,4	4,0
750	HCl 0,1 N	4,2	4,5	5,8	5,7	5,7	5,2	4,6
1000	HCl 0,01 N	4,5	6,6	7,6	7,3	7,4	5,4	4,2

Tất cả các chế phẩm (liều khác nhau, được phân phối vào một bên lỗ mũi) thể hiện sự gia tăng về nồng độ glucoza huyết tương trong không quá từ 10 đến 20 phút, tiếp theo là giảm ở 30 hoặc 40 phút, và tiếp theo là giảm thêm ở 40 hoặc 60 phút. Ví dụ, kết quả từ chế phẩm 10:10:80 với β -CD được sử dụng với liều 1000 vào một bên lỗ mũi được thể hiện trên Fig. 3.

Ví dụ 4

Glucagon, D8PC và β -CD được hòa tan trong dung dịch HCl 0,01 N hoặc 0,1 N. Tỷ lệ khối lượng glucagon:D8PC: β -CD là 10:10:80. Bột được đóng vào thiết bị để phân phối vào lỗ mũi. Bột này được dùng cho chó Beagle theo đường trong mũi. Bột được sử dụng cho 6 chó trong mỗi nhóm. Nồng độ glucoza huyết tương được xác định bằng cách sử dụng que thử glucoza. Nồng độ glucoza huyết tương trước khi sử dụng (0 phút), và 5, 10, 20, 30, 40 và 60 phút sau khi dùng đường mũi được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Nồng độ glucoza huyết tương trung bình (mmol/L) ở chó Beagle sau khi dùng trong mũi các chế phẩm chứa glucagon:D8PC: CD.

Axit	Nồng độ glucoza huyết tương (mmol/L)						
	0 phút	5 phút	10 phút	20 phút	30 phút	40 phút	60 phút
HCl 0,1 N	4,0	5,4	7,4	7,7	7,4	6,0	4,8
HCl 0,01 N	3,5	4,0	4,8	4,5	4,3	4,0	3,9
HCl 0,01 N	4,1	4,7	6,3	5,7	5,0	3,9	3,9
HCl 0,01 N	3,7	4,3	5,4	5,4	5,3	4,7	4,4

Tất cả các chế phẩm (được bào chế với các nồng độ axit khác nhau, được phân phối vào một bên lỗ mũi) thể hiện sự gia tăng về nồng độ glucoza huyết tương trong không quá từ 10 đến 20 phút, tiếp theo là giảm ở 30 hoặc 40 phút, và tiếp theo là giảm thêm ở 40 hoặc 60 phút. Ví dụ, kết quả từ chế phẩm 10:10:80 với β -CD được sử dụng với liều 750 μ g vào một bên lỗ mũi được thể hiện trên Fig. 4.

Ví dụ 5

Glucagon, DLPG và α -CD được hòa tan trong dung dịch HCl 0,1 N. Tỷ lệ khối lượng glucagon:DLPG: α -CD là 5:25:70 hoặc 5:54:41. Theo cách riêng rẽ, glucagon, DLPG và β -CD được hòa tan trong dung dịch HCl 0,1 N với tỷ lệ khối lượng 10:10:80. Các dung dịch thu được được đông khô để tạo ra bột. Bột được đóng vào thiết bị để phân phối vào lỗ mũi. Bột này được phân phối vào một bên lỗ mũi hoặc cả hai bên lỗ mũi của chó Beagle. Bột được sử dụng cho 3 hoặc 6 chó. Nồng độ glucoza huyết tương được xác định bằng cách sử dụng que thử glucoza. Kết quả được thể hiện trong bảng sau. Tỷ lệ khối lượng glucagon:DLPG: α -CD (hoặc β -CD), liều glucagon mỗi bên lỗ mũi, việc bột được phân phối vào một hoặc cả hai bên lỗ mũi được thể hiện trong bảng sau. Nồng độ glucoza huyết tương trước khi sử dụng (0 phút), và 5, 10, 20, 30, 40 và 60 phút sau khi dùng đường mũi được thể hiện trong bảng 5.

Bảng 5. Nồng độ glucoza huyết tương trung bình (mmol/L) ở chó Beagle sau khi dùng trong mũi các chế phẩm chứa glucagon:DLPG: CD.

Tỷ lệ	CD	Liều trên mỗi lỗ mũi (μ g)	Lỗ mũi	Nồng độ glucoza huyết tương (mmol/L)						
				0 phút	5 phút	10 phút	20 phút	30 phút	40 phút	60 phút
5:25:70	α -CD	500	1	3,9	3,9	4,1	4,0	4,6	4,4	4,1
5:25:70	α -CD	750	1	3,8	3,5	5,3	6,6	7,2	4,6	3,6
5:25:70	α -CD	1000	1	3,4	4,0	4,4	5,7	4,4	3,7	4,3
5:25:70	α -CD	500	2	3,8	3,1	3,1	3,2	4,3	4,1	4,0
5:54:41 SA	α -CD	500	1	3,4	3,0	3,2	4,2	3,2	4,3	4,0
10:10 SA:80	β -CD	750	1	4,2	4,7	6,1	6,0	5,5	4,6	4,0

Tất cả các chế phẩm (được bào chế với các cyclodextrin khác nhau, các tỷ lệ khác nhau, các liều khác nhau, được phân phối vào một bên lỗ mũi hoặc cả hai bên lỗ mũi)

thể hiện sự gia tăng về nồng độ glucoza huyết tương trong không quá từ 10 đến 30 phút, tiếp theo là giảm ở 40 phút, và tiếp theo là giảm thêm ở 60 phút. Ví dụ, kết quả từ chế phẩm 5:25:70 với α -CD được sử dụng với liều 750 μ g vào một bên lỗ mũi, mà tạo ra nồng độ glucoza huyết tương cao nhất, được thể hiện trên Fig. 5.

Ví dụ 6

Phương pháp nhiễu xạ bột tia X được sử dụng để xác định cấu trúc của các chế phẩm glucagon-DPC- β -xyclodextrin và glucagon-DDPC- β -xyclodextrin. Các chế phẩm này thể hiện đỉnh ở các góc nhỏ ($6,6^\circ 2\theta$ đối với DPC và $7,3^\circ 2\theta$ đối với DDPC) chỉ thị pha trung gian (Fig. 6). Các đỉnh này không có đối với glucagon vì nó là bột vô định hình. Các đỉnh cũng không có trong β -xyclodextrin, chất mà thể hiện dạng tinh thể đặc trưng. Hơn nữa, chúng không có mặt trong chất hoạt động bề mặt, DPC. Các đỉnh có trong hỗn hợp của DDPC (hoặc DPC) và β -xyclodextrin, không có mặt glucagon. Các chế phẩm theo sáng chế đặc trưng bởi pha trung gian phát hiện được qua các đỉnh nhiễu xạ ở góc nhỏ này.

Ví dụ 7

Profin phân bố thể tích có trọng số được dùng để tính toán D_{10} , D_{50} , và D_{90} được thể hiện trên bảng 6.

Bảng 6. Đường kính của 10% số hạt (D_{10}), 50% số hạt (D_{50}), và 90% số hạt (D_{90}).

Chất hoạt động bề mặt	Axit	D_{10} (μ m)	D_{50} (μ m)	D_{90} (μ m)
DDPC	HCl 0,1 N	6,063	11,77	21,86
DPC	HCl 0,1 N	6,63	66,51	426
DPC có siêu âm	HCl 0,1 N	3,6	10,68	21,77
D8PC	HCl 0,1 N	7,926	17,97	35,34
LLPC	HCl 0,1 N	8,031	15,31	28,89
DPC	Axit axetic 1M	6,867	92,480	537,471

Phép phân tích cỡ hạt thể hiện rằng phần nhỏ các hạt trong sáu chế phẩm dạng bột khác nhau có đường kính hữu hiệu trong khoảng từ 3,6 đến 8,031 μ m. Kết quả D_{10} thể hiện rằng trên 90% số hạt trong bột được phân phối vào lỗ mũi không thể được hít vào.

Ví dụ 8

Chế phẩm dạng bột được bào chế bằng các phương pháp được mô tả trong mục Phương pháp bào chế. Chế phẩm này là chế phẩm glucagon:DPC: β -cyclodextrin 10:10:80 được bào chế bằng cách sử dụng axit axetic 1 M. Mười miligam bột chứa 1 mg glucagon. Mười miligam chế phẩm dạng bột được đóng vào mỗi dụng cụ trong số mười dụng cụ. Bột phân phối khi phát động dụng cụ được thu gom lại. Khối lượng bột được phân phối từ bởi mười dụng cụ được thể hiện trong bảng 7, dưới dạng liều được phân phối (mg). Độ đồng đều của liều được phân phối (%) từ mười dụng cụ, cũng được thể hiện trên bảng 7, được tính toán bằng cách nhân với 100 tỷ lệ giữa lượng glucagon trong mỗi bột trong số mười bột được phân phối so với lượng glucagon trong 10 miligam bột trước khi nó được nạp vào từng dụng cụ trong số mười dụng cụ này.

Bảng 7. Liều được phân phối và độ đồng đều của liều được phân phối.

Dụng cụ số	Độ đồng đều của liều được phân phối (%)	Liều được phân phối mg
1	97,5	9,3
2	97,0	9,2
3	98,9	9,7
4	102,7	9,8
5	100,3	9,7
6	92,3	9,0
7	100,2	9,6
8	96,9	9,2
9	94,8	9,2
10	96,8	9,2

Ví dụ 9

Một nghiên cứu giao nhau giai đoạn III, đa trung tâm, hai chiều, ngẫu nhiên trong đó các bệnh nhân mắc bệnh tiểu đường typ 1 (T1D, n=75) được thu nhận để đánh giá độ hữu hiệu và độ ổn định của liều đơn glucagon dùng trong mũi (bột này là đối tượng của sáng chế) so với glucagon dùng bằng cách tiêm IM được tiến hành sau khi gây ra chứng hạ đường huyết do insulin. Điểm nút chính của nghiên cứu là tỷ lệ bệnh nhân có

sự gia tăng mức glucoza huyết đến ≥ 70 mg/dL trong vòng 30 phút điều trị bằng glucagon hoặc lượng tăng mức glucoza huyết 20 mg/mL trong 30 phút điều trị bằng glucagon. Quy trình này sử dụng insulin để làm giảm mức glucoza huyết đến khoảng hạ đường huyết (điểm mục tiêu thấp nhất là <50 mg/dL).

Phân tích thống kê đáp ứng đường huyết với điều trị bằng bột dùng đường mũi thể hiện rằng bột dùng đường mũi không kém hơn glucagon tiêm trong điều trị chứng hạ đường huyết do insulin gây ra. Đường cong đáp ứng glucoza, được thể hiện trên Fig. 7, thể hiện rằng mức glucoza tăng đáng kể ở cả hai nhóm điều trị đường mũi và tiêm và mức glucoza huyết tăng đến khoảng bình thường ở hầu hết các đối tượng ở cả hai nhóm khoảng 15 phút sau khi sử dụng liều.

Ví dụ 10 – AMG103

AMG 103 được nghiên cứu ở trẻ em mắc bệnh tiểu đường typ 1, trong độ tuổi 4- <17 tuổi. Việc gây ra chứng hạ đường huyết nghiêm trọng trong quần thể này không được phép của tổ chức IRBs trẻ em nhưng insulin được dùng nếu cần để chuẩn hóa mức glucoza huyết đến mục tiêu là <80 mg/dL (4,4 mmol/L) trước khi sử dụng liều glucagon.

Các trẻ đến cơ sở nghiên cứu hai lần. Ở lần thăm thứ nhất, 12 trẻ trong độ tuổi 12 đến <17 tuổi được chia ngẫu nhiên thành nhóm dùng glucagon đường tiêm IM (tỷ lệ liều theo nhãn hướng dẫn của nhà sản xuất) hoặc nhóm sử dụng chế phẩm glucagon dạng bột là đối tượng của sáng chế (10:10:80 theo khối lượng). Ở lần thăm thứ hai, các đối tượng được điều trị thay thế. Đối với trẻ trong các nhóm tuổi từ 4 đến <8 tuổi và từ 8 đến <12 tuổi, có 18 trẻ mỗi nhóm. Trong từng nhóm tuổi này, trẻ được chia ngẫu nhiên 2:1 để cho dùng hai liều glucagon trong mũi hoặc một lần tiêm glucagon IM. Đối với các trẻ được dùng glucagon IN, chúng được chia ngẫu nhiên để nhận 2 hoặc 3 mg vào lần thăm đầu tiên và mức liều thay đổi vào lần thăm thứ hai. Các đối tượng tham gia nghiên cứu và địa điểm nghiên cứu là mù với mức liều.

Kết quả từ các trẻ trong độ tuổi 12- <17 được đưa ra làm ví dụ về kết quả quan sát được ở trẻ được cho dùng liều bột glucagon đường mũi. Fig. 8A cung cấp đường cong glucagon PK trong khi Fig. 8B cung cấp profin glucoza. Dữ liệu được tạo ra trong nghiên cứu này cho thấy rằng glucagon dạng bột dùng đường mũi tạo ra đáp ứng glucoza không khác biệt so với đáp ứng quan sát được sau khi tiêm glucagon.

Ví dụ 11. – Ảnh hưởng của chứng nghẹt mũi

Bột theo sáng chế bao gồm glucagon:DPC và beta xyclodextrin theo tỷ lệ 10:10:80 khối lượng, được thử nghiệm trên các đối tượng bị cảm lạnh và không đồng thời sử dụng thuốc chống nghẹt mũi trong nghiên cứu để kiểm tra độ an toàn và PK/PD của liều 3 mg glucagon trong mũi trên đối tượng đàn ông và phụ nữ. Nghiên cứu này là nghiên cứu thiết kế song song một trung tâm, liều đơn, nhãn mở, phương pháp lặp. Tất cả ba mươi sáu (36) đối tượng đều dùng liều đơn 3 mg glucagon theo đường trong mũi, vào buổi sáng sau 10 giờ nhịn đói qua đêm. Nhóm 1 (18 đối tượng) được lên lịch cho hai giai đoạn. Trong giai đoạn 1, các đối tượng bị nghẹt mũi và/hoặc sổ mũi có liên quan đến cảm lạnh và trong giai đoạn 2, các đối tượng đã khỏi cảm lạnh và không có triệu chứng trong ít nhất 2 ngày. Trong nhóm 2 (các đối tượng #019 đến 036), các đối tượng chỉ được lên lịch cho giai đoạn 1. Sau khi thể hiện là mắc chứng nghẹt mũi và/hoặc sổ mũi có liên quan đến cảm lạnh, các đối tượng này được điều trị bằng thuốc chống nghẹt mũi trước khi dùng liều đơn glucagon trong mũi.

Các phép đo luồng khí đỉnh hít vào mũi cung cấp số đo khách quan về chứng nghẹt mũi và khẳng định chứng nghẹt mũi có liên quan đến cảm lạnh cũng như tác dụng điều trị dự định của oxymetazolin.

Thuốc thử nghiệm được dung nạp tốt và không có biến cố bất lợi nghiêm trọng hay tử vong trong suốt nghiên cứu.

Các đáp ứng glucagon và glucoza sau khi dùng bột được thể hiện trong Fig. 9A và Fig. 9B. Nồng độ glucagon huyết tương (Fig. 9A) tăng đáng kể trên mức cơ sở với nồng độ đỉnh trung bình (C_{max}) là 1198,4, 868,0 và 801,5 pg/mL lần lượt đối với các nhóm “AMG504-1 + cảm lạnh”, “cảm lạnh + chống nghẹt mũi”, và “không có triệu chứng cảm lạnh”. Thời gian trung bình đạt nồng độ đỉnh (t_{max}) là 20 phút sau khi sử dụng liều đối với tất cả các nhóm điều trị. AUC_{0-t} ước lượng đối với nhóm ‘AMG504-1 + cảm lạnh’ là cao hơn hai nhóm điều trị kia (1198,4 so với 1038,0 và 797,5).

Mức glucoza huyết (Fig. 9B) trong cả ba nhóm bắt đầu tăng ở 5 phút sau khi sử dụng liều cho thấy chứng nghẹt mũi, có hoặc không dùng đồng thời thuốc chống nghẹt mũi, không có ảnh hưởng đến sự khởi phát đáp ứng đường huyết. Nói chung, profin glucoza sau khi sử dụng glucagon trong mũi là tương đương bất kể sự có mặt của chứng cảm lạnh hay việc sử dụng thuốc chống nghẹt mũi ở các đối tượng mắc chứng cảm lạnh.

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy rằng PK hoặc PD của bột được dùng trong mũi không bị ảnh hưởng đáng kể bởi chứng nghẹt mũi có liên quan đến cảm lạnh, có hoặc không dùng đồng thời thuốc chống nghẹt mũi. Điều này là rất quan trọng vì người mắc bệnh tiểu đường dùng insulin với nguy cơ gặp phải chứng hạ đường huyết nghiêm trọng ở thời điểm bất kỳ, bao gồm khi mắc các bệnh dị ứng hoặc cảm lạnh. Như vậy, glucagon dùng trong mũi được dự định để điều trị chứng hạ đường huyết nghiêm trọng cũng cần phải hữu hiệu khi có mặt chứng nghẹt mũi.

Ví dụ 12

Độ sinh khả dụng, độ an toàn và độ dung nạp của chế phẩm theo sáng chế được đánh giá trong hàng loạt nghiên cứu tiến hành trên chuột cống, chó và thỏ. Độc tính bán mạn tính và cấp tính được đánh giá. Bảng 8 thể hiện các phát hiện từ những nghiên cứu này. Những nghiên cứu này thể hiện rằng các chế phẩm theo sáng chế được dung nạp tốt mà không có các tác dụng phụ bất lợi.

Bảng 8. Các nghiên cứu độc tính bán mạn tính và cấp tính ở chuột cống, chó và thỏ.

Loại nghiên cứu	Loài	Mẫu nghiên cứu & liều lượng	Các phát hiện chính
Độc tố học bán mạn tính 28 ngày	Chó	Nước muối, bột giả dược, AMG504-1 với liều 2 và 4 mg/chó/ngày trong 28 ngày	Ngoài sự khụt khịt nhất thời (tức là, < 30 giây) và tiết nước bọt ngay sau khi sử dụng liều, không có các dấu hiệu lâm sàng bất lợi. Không có phát hiện bất lợi khi khám nghiệm tử thi tổng thể hay các ảnh bất lợi hưởng liên quan đến điều trị đến thể trọng, khả năng tiêu thụ thức ăn, hóa học lâm sàng, huyết học, điện tâm đồ EKG hoặc khối lượng cơ quan. Phì đại/thoái hóa biểu mô khứu giác tối thiểu/vừa phải hoàn toàn có thể khắc phục được. Không phát hiện gì liên quan đến thử nghiệm mẫu hiển vi khi kiểm tra mô học tất cả các mô.
Độc tố học bán mạn tính 28 ngày	Chuột cống	Nước muối, chất lỏng giả dược, AMG504-1 trong dung dịch với liều 0,1 và 0,2 mg/chuột cống/ngày trong 28 ngày	Không có các dấu hiệu lâm sàng bất lợi hoặc không phát hiện gì khi khám nghiệm tử thi tổng thể. Không có các ảnh bất lợi hưởng liên quan đến điều trị đến thể trọng, khả năng tiêu thụ thức ăn, hóa học lâm sàng, huyết học, điện tâm đồ EKG hoặc khối lượng cơ quan. Trót/loét biểu mô khứu giác tối thiểu đến vừa phải hoàn toàn có thể khắc phục được ở nhóm dùng liều cao. Không phát hiện gì liên quan đến thử nghiệm mẫu hiển vi khi kiểm tra mô học tất cả các mô.
Độc học cấp	Chuột cống	Đối chứng không khí giả dược, AMG504-1 với liều 0,5 mg trong khí quản	Không có phát hiện lâm sàng bất lợi thô hoặc hiển vi
Độc học cấp	Thỏ	Sản phẩm thuốc 30 mg được dùng trực tiếp vào mắt	Dung nạp tốt, với kích ứng mắt tối thiểu hạn chế ở ban đỏ nhẹ và phù cục bộ ở kết mạc và màng mí mắt.

Tài liệu tham khảo (toàn bộ các tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn)

C. Boesch, L.R. Brown, and K. Wuethrich. Physicochemical characterization of glucagon-containing lipid micelles. *Biochim. Biophys. Acta* 603: 298-312, 1980.

L.R. Brown, C. Boesch and K. Wuthrich. Location and orientation relative to the micelle surface for glucagon in mixed micelles with dodexylphosphocholine: EPR and NMR studies. *Biochim. Biophys. Acta* 642: 296, 1981

S. Carstens and M. Sprehn. Prehospital treatment of severe hypoglycaemia: A comparison of intramuscular glucagon and intravenous glucose. *Prehospital and Disaster Medicine* 13: 44-50, 1998

Chabenne et al., *MOLECULAR METABOLISM* 3 (2014) 293–300.

P.E. Cryer. Hypoglycaemia: The limiting factor in the glycaemic management of type I and type II diabetes. *Diabetologia* 45: 937-948, 2002.

P.E. Cryer. Hypoglycemia in diabetes. American Diabetes Association. 2009.

R. Curran. A milestone change in practice. A call for widespread application of intranasal medication delivery in the prehospital environment. www.emsworld.com. 2007

I.J. Deary. Symptoms of hypoglycaemia and effects on mental performance and emotions. In: *Hypoglycaemia in Clinical Diabetes*. Second Edition. Eds. B.M. Frier and M. Fisher. 2007.

H. Dodziuk. *Cyclodextrins and their complexes*. Wiley-VCH Verlag, Berlin, 2006.

K. Endo, S. Amikawa, A. Matsumoto, N. Sahashi and S. Onoue. Erythritol-based dry powder of glucagon for pulmonary administration. *Int. J. Pharm.* 290: 63-71, 2005.

R. M. Epand and J.M. Sturtevant. A calorimetric study of peptide-phospholipid interactions: The glucagon-dimyristoylphosphatidylcholine complex. *Biochemistry* 20: 4603-4606, 1981.

R.M. Epand and J.M. Sturtevant. Studies on the interaction of glucagon with phospholipids. *Biophys. J.* 37: 163-164, 1982.

- J. Filipovic-Grcic and A. Hafner. Nasal powder drug delivery. Chapter 5.7, p. 651-681, In: *Pharmaceutical Manufacturing Handbook: Production and Processes*, Edited by S.C. Gad, Wiley-Interscience, New York, 2008, pp. 1384.
- L. Freychet, N. Desplanque, P. Zirinis, S.W. Rizkalla, A. Basdevant, G. Tchobroutsky and G. Slama. Effect of intranasal glucagon on blood glucose levels in healthy subjects and hypoglycaemic patients with insulin-dependent diabetes. *The Lancet*. pp. 1364-1366, June 18, 1988
- Glucagon for injection (rDNA origin). Package Insert. Eli Lilly & Co. 2005.
- G. Harris, A. Diment, M. Sulway and M. Wilkinson. Glucagon administration – underevaluated and undertaught. *Practical Diabetes Int.* 18: 22-25, 2001.
- M.A. Howell and H.R. Guly. A comparison of glucagon and glucose in prehospital hypoglycaemia. *J. Accid. Emerg. Med.* 14: 30-32 (1997).
- A. Hvidberg, R. Djurup and J. Hilsted. Glucose recovery after intranasal glucagon during hypoglycaemia in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 46: 15-17, 1994.
- IDF Diabetes Atlas, International Diabetes Foundation, Fourth Edition, 2009.
- ISMP Canada Safety Bulletin. Administration of product-specific diluent without medication. Institute for Safe Medication Practices Canada. 10(7): 1-3, 2010.
- K.K. Jain. Drug Delivery Systems. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 437. pp. 8-9, Humana Press, Totowa, NJ, 2008.
- S. Jorgensen, A.R. Sorensen, L.L. Kimer and N. Mygind. A powdery formulation of glucagon for nasal delivery- a phase 1 study. *Diabetes* 40 [Suppl A]:2190, 1991
- N.C. Kaarsholm. Stabilized aqueous glucagon solutions comprising detergents. Patent numbers WO9947160, EP19990906095, 1999.
- N.C. Kaarsholm. Stabilized aqueous peptide solutions. U.S. Patent No. 6,384,016, 1999a.
- D. Lichtenberg. Liposomes as a model for solubilization and reconstitution of membranes. Chapter 13. pp. 199-218. In: *Handbook of nonmedical applications of liposomes. Models for biological phenomena*. Vol II, Ed. Y. Barelholz and D.D. Lasic, CRC Press, Boca Raton FL. pp. 379, 1996

- Marsh, D. Handbook of lipid bilayers. CRC Press, Boca Raton, FL, 387pp., 1990.
- L. Matilainen, K.L. Larsen, R. Wimmer, P. Keski-Rahkonen, S. Auriola, T. Jarvinen and P. Jarho. The effect of cyclodextrins on chemical and physical stability of glucagon and characterization of glucagon/gamma-CD inclusion complexes. *J. Pharm. Sci.* 97: 2720-2729, 2008.
- L. Matilainen, S. L.. Maunu, J. Pajander, S. Auriola. I. Laaskelainen, K.L. Larsen, T. Jarvinen and P. Jarho. The stability and dissolution properties of solid glucagon/gamma-cyclodextrin powder. *Eur. J. Pharm. Sci.* 36: 412-420, 2009.
- S. Onoue, K. Yamamoto, Y. Kawabata, M. Hirose, T. Mizumoto and S. Yamada. Novel dry powder inhaler formulation of glucagon with addition of citric acid for enhanced pulmonary delivery. *Int. J. Pharm.* 382: 144-150, 2009.
- R.P. Oomen and H. Kaplan. Binding of glucagon to lipid bilayers. *Biochem. Cell Biol.* 68: 284-291, 1990.
- J.E. Sondergaard Pederson. The nature of amyloid-like glucagon fibrils. *J. Diab. Science Tech.* 4: 1357-1367 làm thành phần hoạt tính. 2010.
- A.E. Pontiroli, M. Alberetto and G. Pozza. *British Medical Journal.* 287: 462-463, 1983.
- A.E. Pontiroli, M. Alberetto, A. Calderara, E. Pajetta and G. Pozza. Nasal administration of glucagon and human calcitonin to healthy subjects: a comparison of powders and spray solutions and of different enhancing agents. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 37: 427-430, 1989.
- A.M. Rosenfalck, I. Bendtson, S. Jorgensen and C. Binder. Nasal glucagon in the treatment of hypoglycaemia in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 17: 43-50, 1992.
- F.M. Sakr. Nasal administration of glucagon combined with dimethyl- β -cyclodextrin: comparison of pharmacokinetics and pharmacodynamics of spray and powder formulations. *Int. J. Pharmaceutics* 132: 189-194, 1996.
- Sibley et al. *Prehosp. Emer. Care.* Vol. 17: 98-102, 2013.

E. Stenninger and J. Aman. Intranasal glucagon treatment relieves hypoglycaemia in children with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 36: 931-935, 1993.

D. Teshima, A. Yamauchi, K. Makino, Y. Kataoka, Y. Arita, H. Nawata and R. Oishi. Nasal glucagon delivery using microcrystalline cellulose in healthy volunteers. *Int. J. Pharm.* 233: 61-66, 2002.

D. P. Tieleman, D. van der Spoel and H.J.C. Berendsen. Molecular dynamics simulations of dodecyl phosphocholine micelles at three different aggregate sizes: micellar structure and lipid chain relaxation. *J. Phys. Chem. B* 104:6380-6388, 2000

O. Yanai, D. Pilpel, I. Harman, E. Elitzur-Leiberman and M. Philip. IDDM patients' opinions on the use of Glucagon Emergency Kit in severe episodes of hypoglycaemia. *Practical Diabetes Int.* 14: 40-42, 1997.

Trình tự

(SEQ ID NO: 1)

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

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm dạng bột chứa glucagon (SEQ ID NO: 1), phospholipit, và β -xyclodextrin, trong đó tỷ lệ glucagon so với phospholipit so với β -xyclodextrin là 1:1:8 theo khối lượng.
2. Chế phẩm dạng bột theo điểm 1, trong đó phospholipit là ít nhất một trong số các thành phần được chọn từ nhóm gồm dodexylphosphocholin, didexylphosphatidylcholin, lysolauroylphosphatidylcholin, dioctanoylphosphatidylcholin, dilauroylphosphatidylglyxerol hoặc hỗn hợp của chúng.
3. Chế phẩm dạng bột theo điểm 2, trong đó phospholipit là dodexylphosphocholin.
4. Chế phẩm dạng bột theo điểm 2, trong đó phospholipit là didexylphosphatidylcholin.
5. Chế phẩm dạng bột theo điểm 2, trong đó phospholipit là lysolauroylphosphatidylcholin.
6. Chế phẩm dạng bột theo điểm 2, trong đó phospholipit là dioctanoylphosphatidylcholin.
7. Chế phẩm dạng bột theo điểm 2, trong đó phospholipit là dilauroylphosphatidylglyxerol.
8. Chế phẩm dạng bột bao gồm glucagon (SEQ ID NO: 1), dodexylphosphocholin, và β -xyclodextrin, trong đó tỷ lệ glucagon so với dodexylphosphocholin so với β -xyclodextrin là 1:1:8 theo khối lượng.
9. Chế phẩm dạng bột theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa natri xitrat hoặc axit xitric.
10. Chế phẩm dạng bột theo điểm 9, trong đó lượng natri xitrat hoặc axit xitric là không quá 10% khối lượng so với tổng khối lượng của chế phẩm.
11. Chế phẩm dạng bột theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa nước.
12. Chế phẩm dạng bột theo điểm 11, trong đó hàm lượng nước trong chế phẩm là nhỏ hơn 5% khối lượng so với tổng khối lượng của chế phẩm.

13. Dụng cụ áp dụng đường mũi dùng cho chế phẩm dạng bột, dụng cụ áp dụng này gồm có khoang chứa chế phẩm dạng bột, và chế phẩm dạng bột chứa trong khoang này, trong đó chế phẩm dạng bột là chế phẩm theo điểm 1.
14. Phương pháp bào chế chế phẩm dạng bột theo điểm 1, trong đó ít nhất một phần bột có mặt ở pha đặc trưng bởi đỉnh trung gian XRPD như được xác định bằng phương pháp nhiễu xạ bột tia X, phương pháp này bao gồm các bước:
 - a. điều chế dung dịch thứ nhất chứa glucagon (SEQ ID NO. 1) và phospholipit trong chất mang nước, trong đó phospholipit có mặt với nồng độ lớn hơn hoặc bằng nồng độ tới hạn mixen;
 - b. bổ sung β -cyclodextrin vào hỗn hợp thứ nhất để tạo ra hỗn hợp thứ hai;
 - c. làm khô hỗn hợp thứ hai để tạo ra chế phẩm dạng rắn; và
 - d. xử lý chế phẩm dạng rắn để tạo ra bột đồng nhất, bột đồng nhất này bao gồm ít nhất một phần bột ở pha đặc trưng bởi đỉnh trung gian XRPD.
15. Phương pháp bào chế chế phẩm dạng bột theo điểm 1, phương pháp này bao gồm các bước:
 - a. điều chế dung dịch thứ nhất chứa glucagon (SEQ ID NO. 1) và phospholipit trong chất mang nước, trong đó phospholipit có mặt với nồng độ lớn hơn hoặc bằng nồng độ tới hạn mixen;
 - b. bổ sung β -cyclodextrin vào hỗn hợp thứ nhất để tạo ra hỗn hợp thứ hai;
 - c. làm khô hỗn hợp thứ hai để tạo ra chế phẩm dạng rắn; và
 - d. xử lý chế phẩm dạng rắn để tạo ra bột đồng nhất.
16. Phương pháp theo điểm 14, trong đó bước làm khô hỗn hợp thứ hai được thực hiện bằng cách đông khô hoặc sấy phun hỗn hợp thứ hai.
17. Phương pháp theo điểm 15, trong đó bước làm khô hỗn hợp thứ hai được thực hiện bằng cách đông khô hoặc sấy phun hỗn hợp thứ hai.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Eli Lilly and Company

<120> CHẾ PHẨM DẠNG BỘT DÙNG ĐƯỜNG MŨI ĐỂ ĐIỀU TRỊ CHỨNG HẠ ĐƯỜNG HUYẾT, PHƯƠNG PHÁP BẢO CHẾ VÀ DỤNG CỤ ĐỂ SỬ DỤNG CHẾ PHẨM NÀY

<130> X20946

<150> 62/117031

<151> 2015-02-17

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 29

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 1

His	Ser	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ser	Lys	Tyr	Leu	Asp	Ser
1				5					10					15	

Arg	Arg	Ala	Gln	Asp	Phe	Val	Gln	Trp	Leu	Met	Asn	Thr
			20					25				

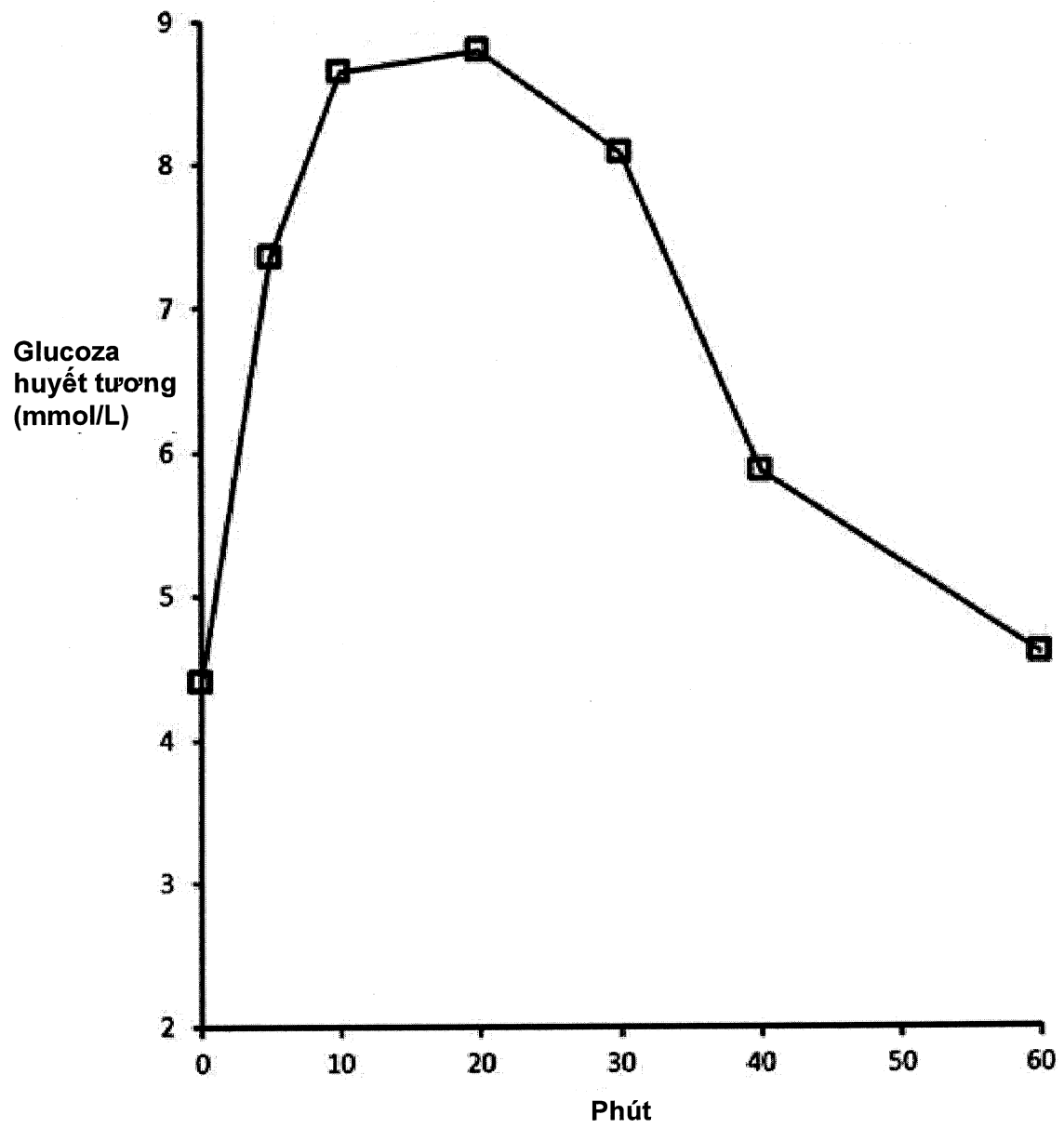


Fig. 1

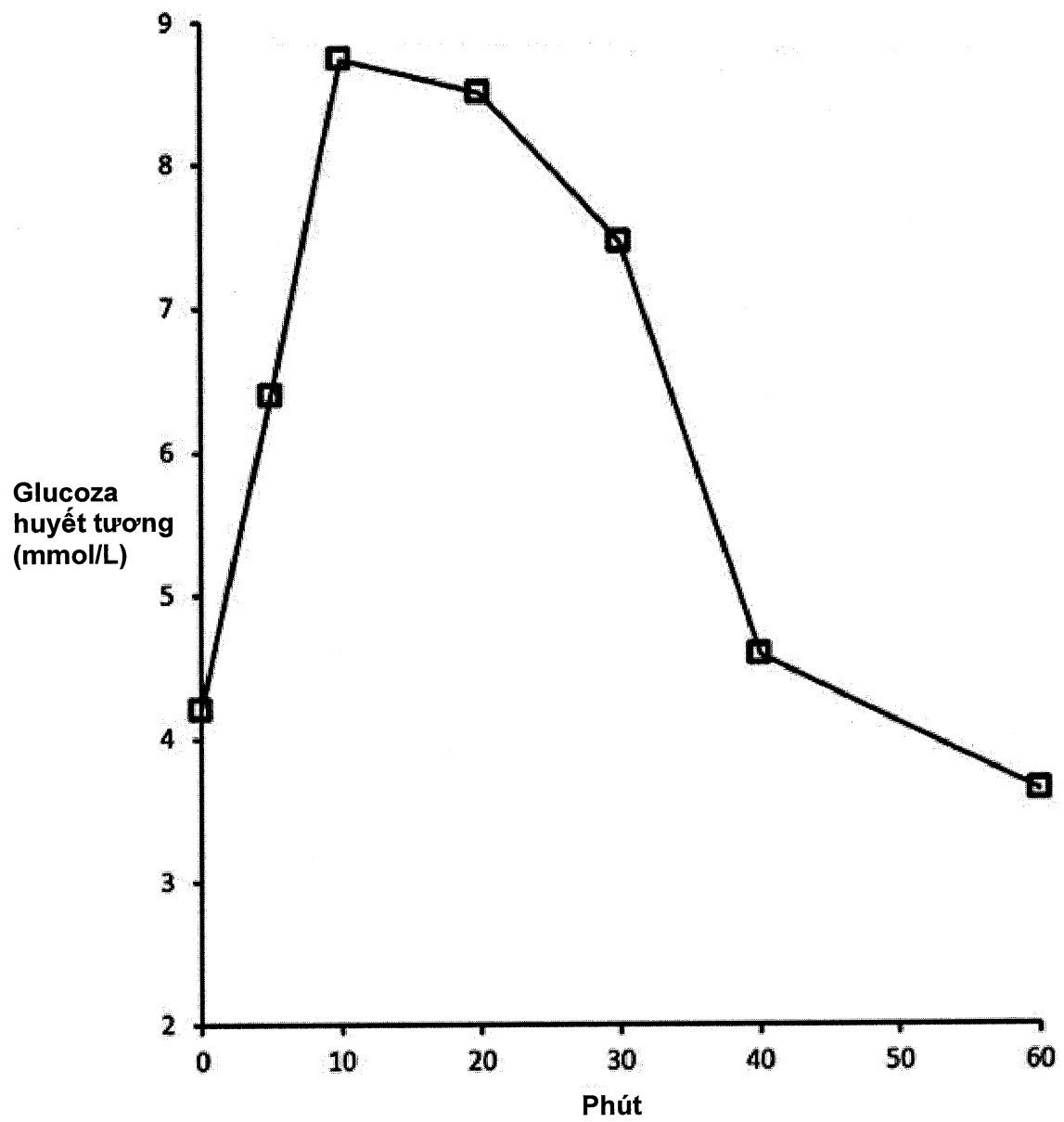


Fig. 2

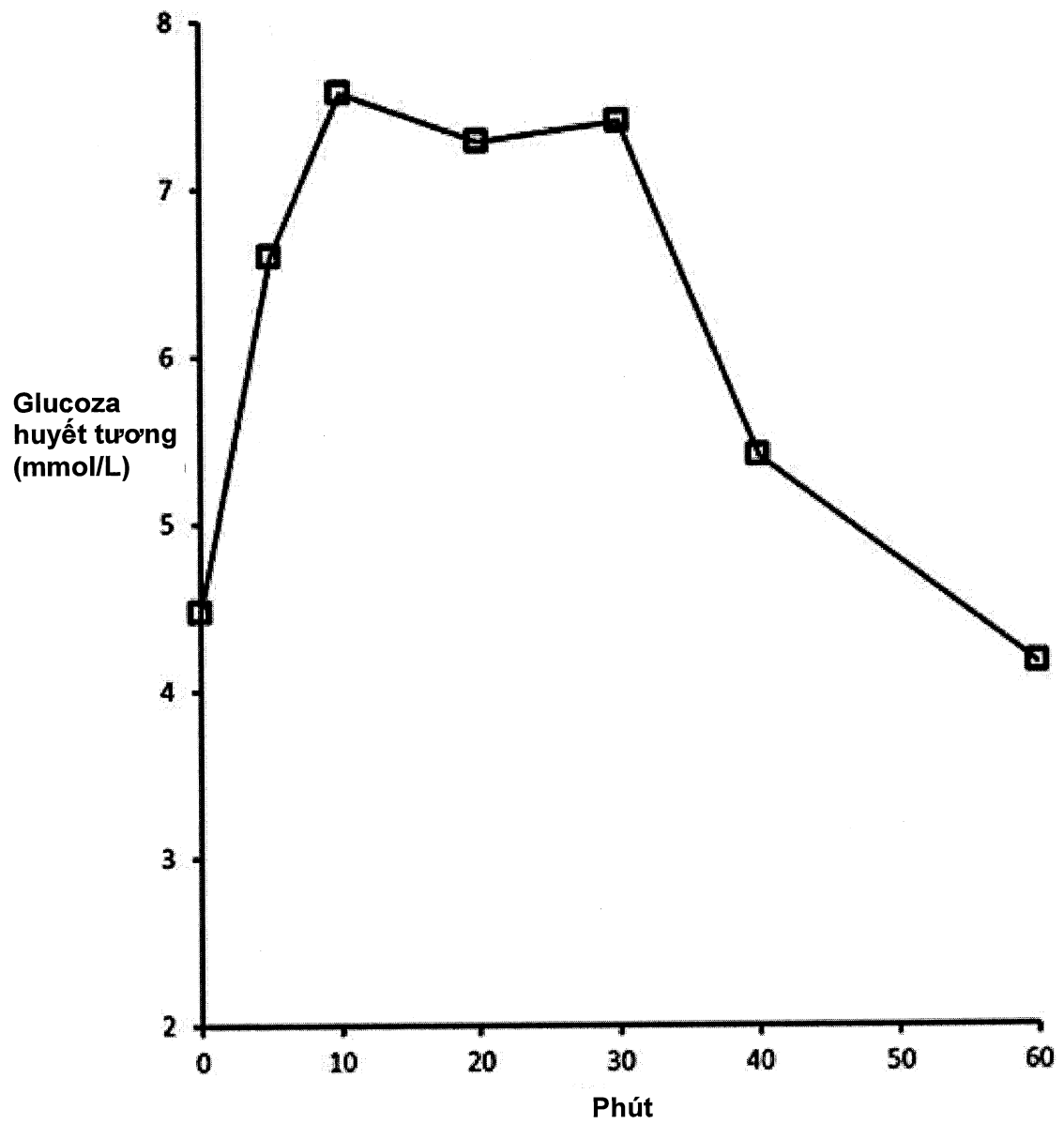


Fig. 3

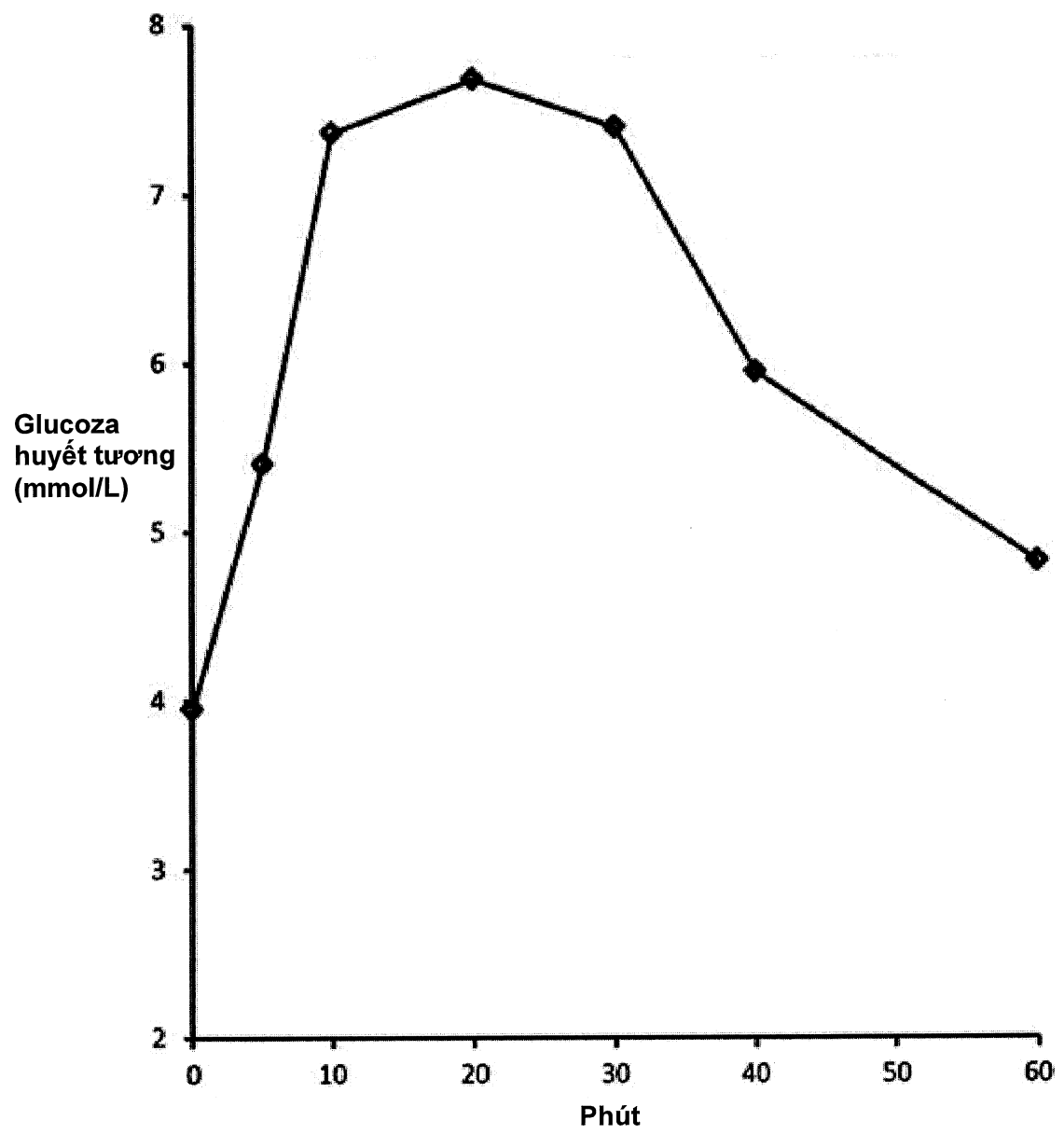


Fig. 4

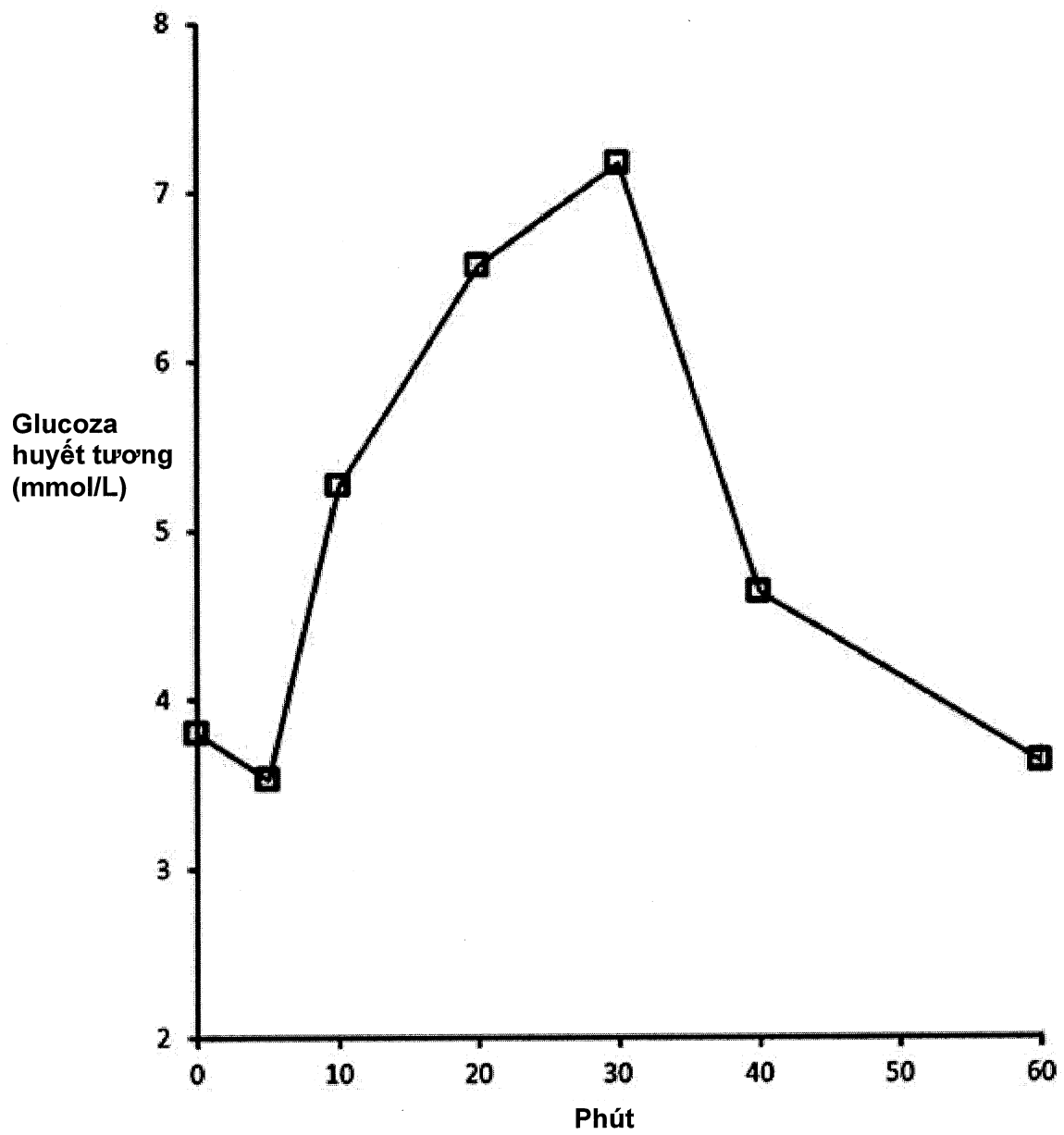


Fig. 5

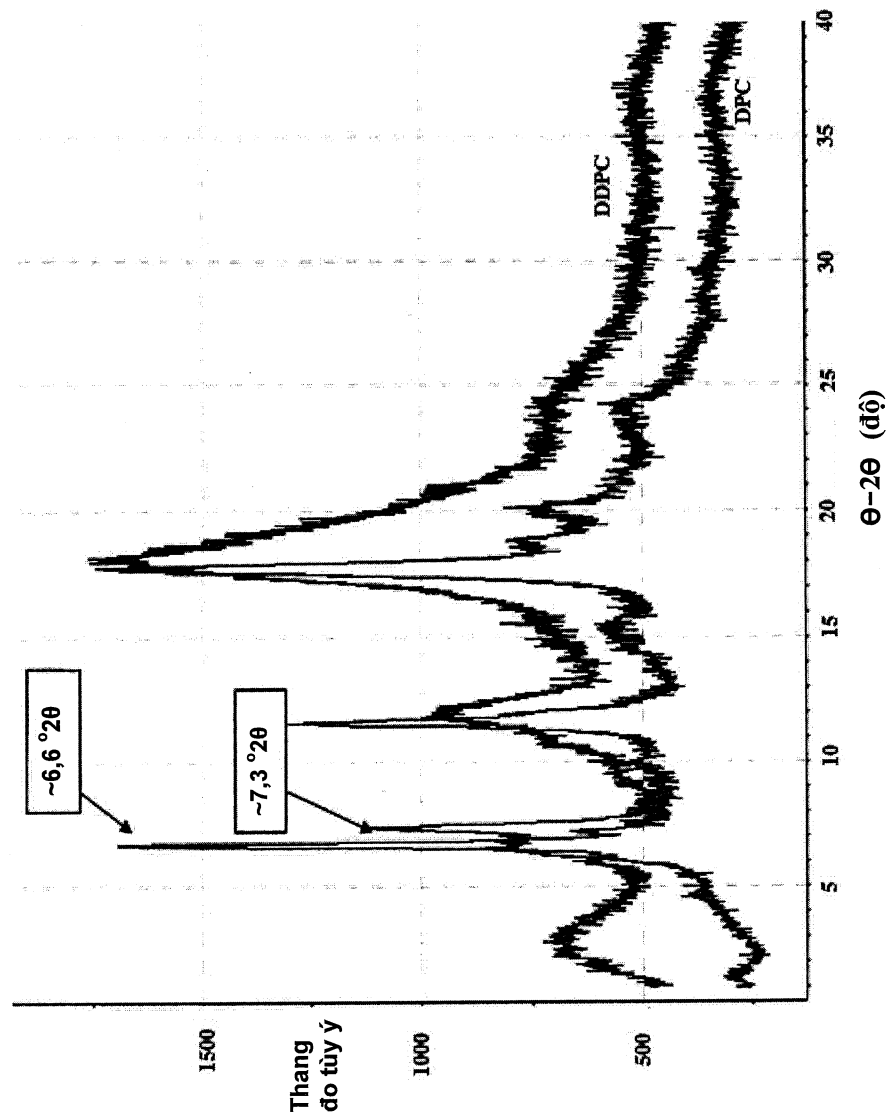


Fig. 6

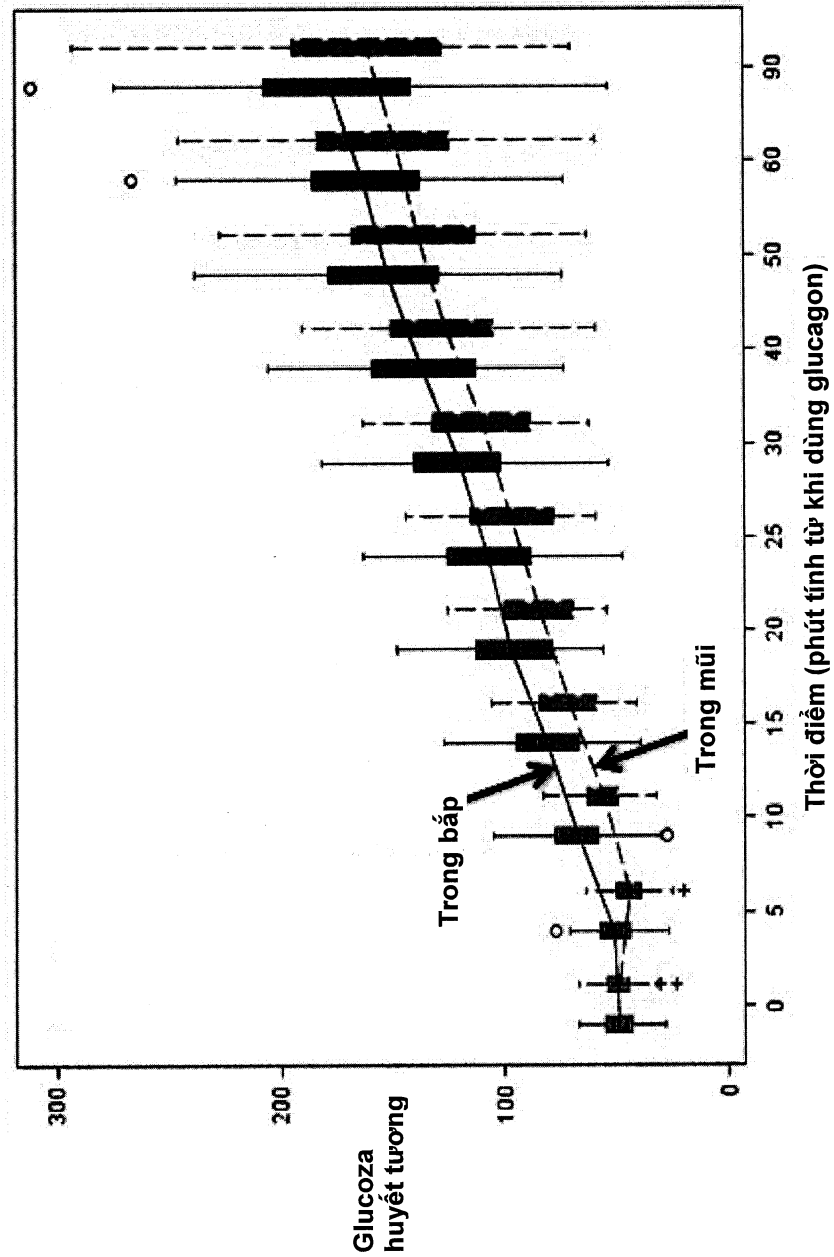


Fig. 7

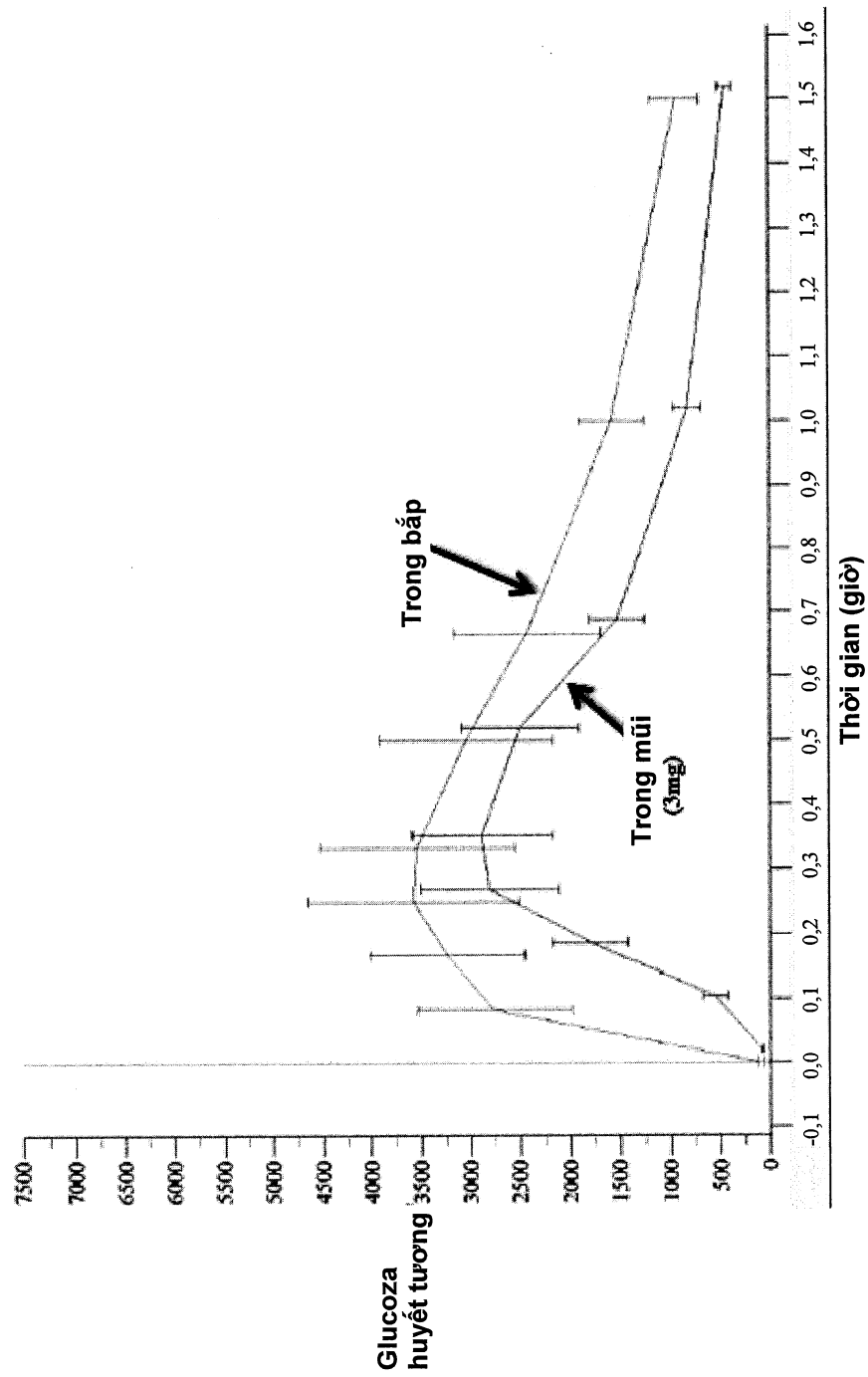


Fig. 8A

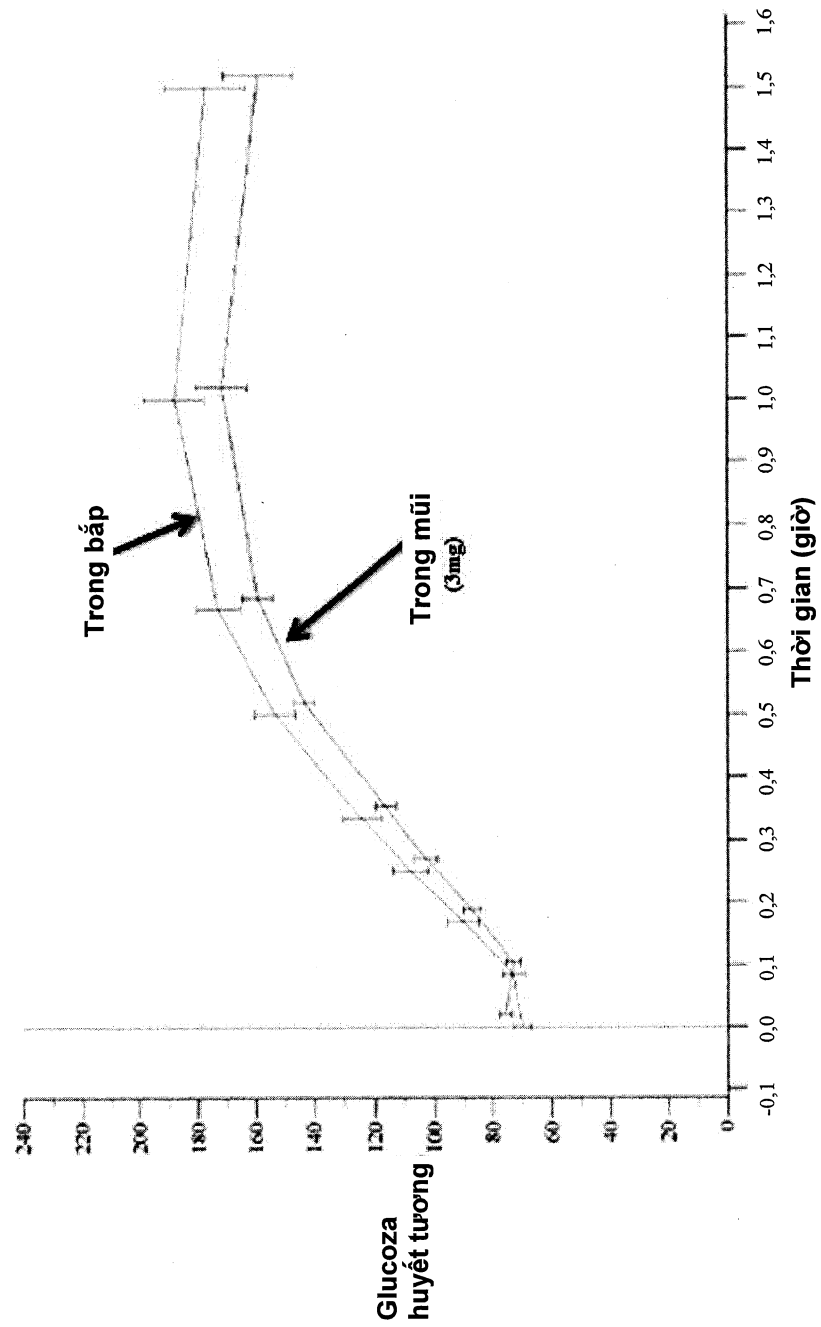


Fig. 8B

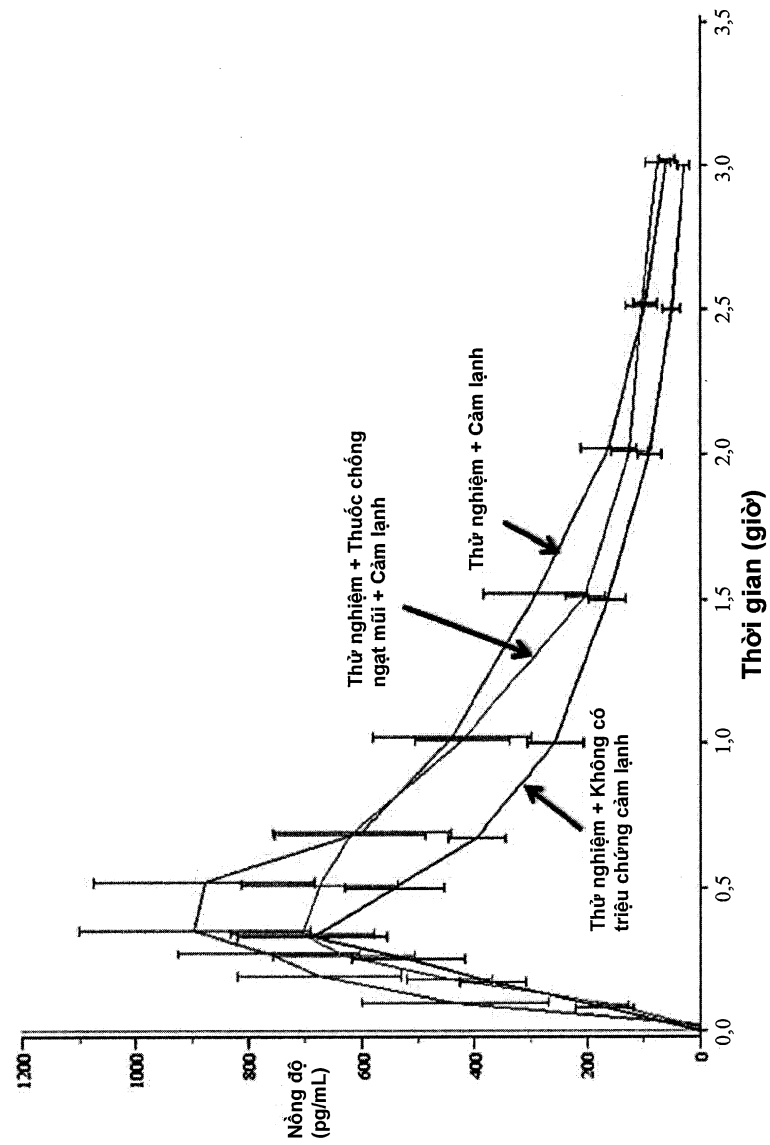


Fig.9A

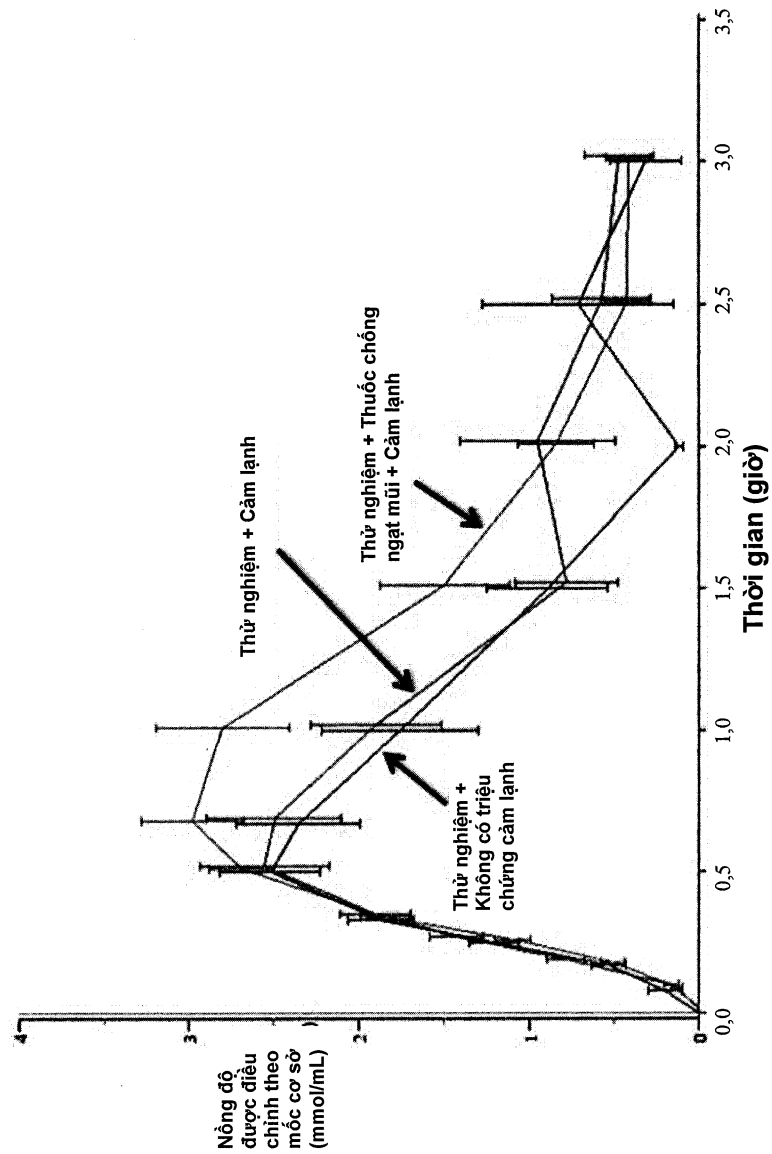


Fig.9B

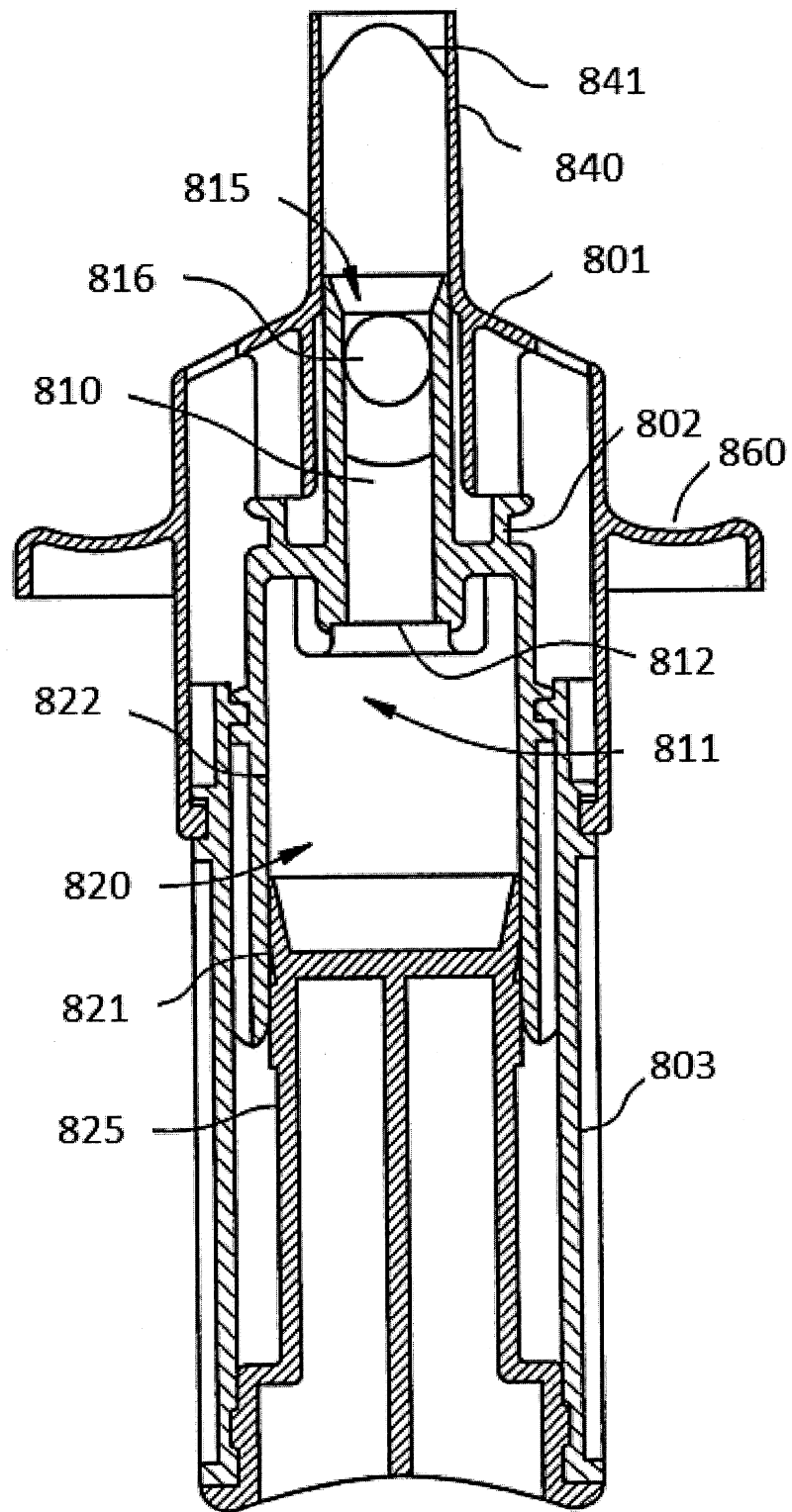


Fig. 10