



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0033638

(51)⁸ A61K 9/00; A61K 38/28; A61K 47/12; (13) B
A61K 31/557; A61K 47/02

(21) 1-2018-00955

(22) 19/08/2016

(86) PCT/US2016/047723 19/08/2016

(87) WO2017/034956 02/03/2017

(30) 62/210,469 27/08/2015 US

(45) 25/10/2022 415

(43) 25/07/2018 364A

(73) ELI LILLY AND COMPANY (US)

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

(72) AKERS, Michael Patrick (US); CHRISTE, Michael Edward (US); HARDY, Thomas Andrew (US); MAJUMDAR, Ranajoy (IN); NGUYEN, Chi A. (US); PAAVOLA, Chad D. (US); SARIN, Virender Kumar (US); SCHULTE, Nanette Elizabeth (US).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) DƯỢC PHẨM CHỨA INSULIN TÁC DỤNG NHANH VÀ VẬT PHẨM SẢN XUẤT CHỨA DƯỢC PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa insulin người hoặc chất tương tự insulin, chứa xitrat, treprostinil và các chất ổn định, mà có tác dụng dược động học và/hoặc dược lực học nhanh hơn so với chế phẩm thương mại của các sản phẩm chứa chất tương tự insulin hiện có và ổn định để sử dụng trong thương mại. Sáng chế cũng đề cập đến vật phẩm sản xuất chứa dược phẩm này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến được phẩm chứa insulin để sử dụng trong điều trị bệnh tiểu đường để chống lại sự sai lệch về mức glucoza huyết sau bữa ăn và điều trị cấp chứng tăng đường huyết. Được phẩm chứa insulin người hoặc chất tương tự insulin, xitrat, treprostinil và chất ổn định, có tốc độ hấp thu insulin từ vị trí tiêm nhanh hơn so với các được phẩm chứa insulin thương mại hiện có và ổn định hơn để sử dụng trong thương mại. Được phẩm này hữu dụng để tạo ra hoạt tính insulin trong bữa ăn, để dùng trong việc truyền insulin dưới da liên tục (continuous subcutaneous insulin infusion - CSII) hoặc điều trị cấp chứng tăng đường huyết khi cần insulin.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Profin tác dụng theo thời gian của insulin là quan trọng để kiểm soát mức glucoza huyết sau bữa ăn. Ở các cá thể khỏe mạnh, tuyến tụy tiết ra nhiều insulin để đáp ứng với thức ăn được hấp thu, điều này dẫn đến mức insulin huyết tương tăng trong vài phút. Ở các cá thể mắc bệnh tiểu đường typ 1 và ở các cá thể mắc bệnh tiểu đường typ 2 nhất định, cần phải sử dụng insulin; tuy nhiên insulin được sử dụng từ khoang dưới da đi vào máu chậm. Sự giải phóng chậm insulin và khởi phát tác dụng quá chậm khi bắt đầu bữa ăn dẫn đến sự tăng đường huyết trong hoặc ngay sau bữa ăn. Khoảng thời gian tác dụng kéo dài từ khoang dưới da dẫn đến insulin dư thừa giữa các bữa ăn mà có thể gây ra chứng hạ đường huyết sau bữa ăn.

Đã có những nỗ lực đẩy nhanh tác dụng theo thời gian của các sản phẩm insulin. Các nỗ lực trước đây để phát triển các sản phẩm như vậy bao gồm phát triển các chất tương tự insulin tác dụng nhanh mới, như insulin lispro (HUMALOG®), insulin aspart (NOVOLOG®), và insulin glulisine (APIDRA®). Insulin lispro và insulin aspart đạt được tác dụng nhanh thông qua các thay đổi về trình tự axit amin từ insulin người mà làm yếu đi giao diện dime-dime và thay đổi độ ổn định hexame trong điều kiện dưới da. Insulin glulisine cũng bao gồm các thay đổi về trình tự của các chuỗi axit amin trong insulin người; tuy nhiên, chế phẩm thương mại của nó thiếu kẽm và không tạo ra các hexame ổn định. Chất tương tự insulin khác cũng được tuyên bố là

tác dụng nhanh, nhưng vẫn đang trong quá trình phát triển, Fluorolog, bao gồm nguyên tử flo đơn gắn với gốc Phe ở vị trí 24 của chuỗi B insulin.

Các chất tương tự insulin tác dụng nhanh insulin lispro, aspart và glulisine có bán từ những năm 1990 và đầu những năm 2000. Tuy nhiên, ngay cả với các chất gọi là chất tương tự insulin tác dụng nhanh, không đạt được mức insulin huyết tương tối đa cho đến 50-90 phút sau khi tiêm dưới da. Việc này chậm hơn so với sự giải phóng insulin nội sinh từ tuyến tụy có chức năng bình thường và không phải lúc nào cũng phù hợp với profin hấp thu glucoza.

Cách khác để đạt được tác dụng nhanh đã được khám phá là việc sử dụng những thành phần hoặc tá dược cải thiện profin hoạt động theo thời gian của insulin khi được cung cấp cùng với insulin. Ví dụ, tài liệu U.S. 8,324,157 tuyên bố rằng có thể đạt được sự khởi đầu tác dụng nhanh hơn so với các liệu pháp insulin đã có bằng cách bổ sung hợp chất nicotin, như nicotinamit, và axit amin arginin, và tùy ý axit glutamic. US2013/0231281 bộc lộ các chế phẩm chứa insulin và các oligosacarit, đơn độc hoặc kết hợp với hợp chất polyanion và tuyên bố rằng các chế phẩm như vậy tác dụng nhanh. US2014/0113856 bộc lộ các chế phẩm chứa insulin kết hợp với chất tạo chelat kẽm, như axit etylenđiamintetraaxetic (EDTA), một tá dược khác được mô tả trong công bố này dưới dạng chất “hòa tan/ổn định”, như axit xitric hoặc natri xitrat, và hợp chất chứa magie, và tuyên bố rằng các chế phẩm như vậy có tốc độ hấp thu nhanh hơn và giảm dần từ nồng độ đỉnh. US2015/0065423 mô tả các chế phẩm chứa peptit và chất giãn mạch, bộc lộ danh mục các chất giãn mạch thuộc ba loại khác nhau, và đưa ra các dữ liệu về chế phẩm chứa insulin lispro và nitroglycerin và tuyên bố rằng các chế phẩm như vậy tác dụng nhanh.

Bất kể có những nỗ lực này những nỗ lực khác, vẫn còn nhu cầu về chế phẩm chứa insulin mà có tốc độ hấp thu insulin vào máu từ vị trí tiêm nhanh hơn, khởi đầu và/hoặc bù tác dụng nhanh hơn so với các sản phẩm insulin hiện có, và có độ ổn định hóa học và vật lý trong quá trình bảo quản và trong điều kiện sử dụng. Sáng chế hướng đến việc cung cấp các chế phẩm đáp ứng được một hoặc nhiều nhu cầu này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm chứa nồng độ nhất định của cả xitrat và treprostinil có profin tác dụng theo thời gian nhanh hơn so với các chế phẩm insulin hiện có bán trên thị trường, và độ ổn định hóa học và vật lý của các chế phẩm

chứa các nồng độ đó của cả xitrat và treprostinil có thể được duy trì mà không làm mất những cải thiện về tác dụng theo thời gian, bằng cách đưa vào chế phẩm kẽm và một hoặc nhiều chất ổn định như chất hoạt động bề mặt, magie clorua hoặc natri clorua.

Theo đó, sáng chế đề xuất được phẩm chứa: insulin; xitrat, với nồng độ từ khoảng 5 đến khoảng 25 mM; treprostinil, với nồng độ từ khoảng 0,04 đến khoảng 20 µg/mL; kẽm, với nồng độ đủ để tạo ra ít nhất 2 ion kẽm trên sáu phân tử insulin; chất bảo quản; và một hoặc nhiều chất ổn định bổ sung; và có độ pH khoảng 7,0 đến khoảng 7,8 ở nhiệt độ trong phòng.

Theo các phương án nhất định, được phẩm này chứa insulin lispro, với nồng độ từ khoảng 100 đến khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ từ khoảng 15 đến khoảng 25 mM; treprostinil, với nồng độ từ khoảng 0,5 đến khoảng 2 µg/mL; kẽm, với nồng độ từ khoảng 0,2 đến khoảng 1 mM; m-cresol, với nồng độ từ khoảng 2,5 đến khoảng 3,8 mg/mL; poloxamer 188, với nồng độ từ khoảng 0,03 đến khoảng 0,12% khối lượng/thể tích; magie clorua, với nồng độ đủ tạo ra tỷ lệ mol magie clorua so với xitrat khoảng 1:3; glyxerol, với nồng độ từ khoảng 1 đến khoảng 2 mg/mL; và có độ pH từ khoảng 7,0 đến khoảng 7,8 ở nhiệt độ trong phòng.

Theo các phương án nhất định, được phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 100 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostinil, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,6 mM; poloxamer 188, với nồng độ khoảng 0,09% khối lượng/thể tích; magie clorua, với nồng độ khoảng 5 mM; m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL; glyxerol, với nồng độ khoảng 1,61 mg/mL; và có độ pH khoảng 7,4.

Theo các phương án nhất định, được phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostinil, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,8 mM; poloxame 188, với nồng độ khoảng 0,06 đến 0,12% khối lượng/thể tích; magie clorua, với nồng độ khoảng 5 mM; m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL; glyxerol, với nồng độ khoảng 1,61 mg/mL; và có độ pH khoảng 7,4.

Theo các phương án nhất định, được phẩm này chứa insulin lispro, với nồng độ từ khoảng 100 đến khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ từ khoảng 15 đến khoảng 25 mM; treprostinil, với nồng độ từ khoảng 0,5 đến khoảng 2 µg/mL; và kẽm, với nồng độ từ khoảng 0,2 đến khoảng 2 mM.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa insulin lispro, với nồng độ từ khoảng 100 đến khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ từ khoảng 15 đến khoảng 25 mM; treprostinil, với nồng độ từ khoảng 0,5 đến khoảng 2 µg/mL; kẽm, với nồng độ từ khoảng 0,2 đến khoảng 2 mM; và magie, với nồng độ đủ tạo ra tỷ lệ mol magie so với xitrat từ khoảng 1:1 đến khoảng 1:5.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 100 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostinil, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,6 mM; và magie, với nồng độ khoảng 5 mM.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 100 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostinil, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,6 mM; magie, với nồng độ khoảng 5 mM; và m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 100 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostinil, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,6 mM; magie, với nồng độ khoảng 5 mM; m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL; và glyxerol, với nồng độ khoảng 12 mg/mL.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 100 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostinil, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,6 mM; magie, với nồng độ khoảng 5 mM; m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL; và tổng nồng độ clorua khoảng 10 đến khoảng 50 mM; và có độ pH khoảng 7,4

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 100 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostinil, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,6 mM; magie, với nồng độ khoảng 5 mM; m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL; glyxerol, với nồng độ khoảng 12 mg/mL; và tổng nồng độ clorua khoảng 10 đến khoảng 50 mM.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 100 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostinil, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,6 mM; magie, với nồng độ khoảng 5 mM; m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL; glyxerol, với nồng độ khoảng 12

mg/mL; và tổng nồng độ clorua khoảng 10 đến khoảng 50 mM; và có độ pH khoảng 7,4.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa insulin lispro, với nồng độ khoảng 100 U/mL; xitrat, với nồng độ 15 mM; treprostini, với nồng độ 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,3 mM; phosphat, với nồng độ khoảng 7mM; glyxerol, với nồng độ khoảng 16 mg/mL ở độ pH 7,4.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; và kẽm, với nồng độ khoảng 0,7 đến khoảng 1,7 mM.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,8 mM; và magie với nồng độ khoảng 5 đến khoảng 10 mM.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,8 mM; và magie với nồng độ khoảng 5 mM.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,8 mM; magie với nồng độ khoảng 5 đến khoảng 10 mM; và tổng nồng độ clorua khoảng 10 đến khoảng 50 mM.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,8 mM; magie với nồng độ khoảng 5 đến khoảng 10 mM; và glyxerol với nồng độ khoảng 12 mg/mL.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,8 mM; magie với nồng độ khoảng 5 đến khoảng 10 mM; glyxerol với nồng độ khoảng 12 mg/mL; và tổng nồng độ clorua khoảng 10 đến khoảng 50 mM.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ

khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,7 đến khoảng 1,7 mM; và m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,8 mM; magie với nồng độ khoảng 5 đến khoảng 10 mM; và m-cresol với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,8 mM; magie với nồng độ khoảng 5 đến khoảng 10 mM; tổng nồng độ clorua khoảng 10 đến khoảng 50 mM; và m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,8 mM; magie với nồng độ khoảng 5 đến khoảng 10 mM; glyxerol với nồng độ khoảng 12 mg/mL; và m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,8 mM; magie với nồng độ khoảng 5 đến khoảng 10 mM; glyxerol với nồng độ khoảng 12 mg/mL; và tổng nồng độ clorua khoảng 10 đến khoảng 50 mM; và m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm này chứa: insulin lispro, với nồng độ khoảng 200 U/mL; xitrat, với nồng độ khoảng 15 mM; treprostini, với nồng độ khoảng 1 µg/mL; kẽm, với nồng độ khoảng 0,8 mM; magie với nồng độ khoảng 5 mM; glyxerol với nồng độ khoảng 12 mg/mL; và tổng nồng độ clorua khoảng 10 đến khoảng 50 mM; và m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL.

Bản mô tả bộc lộ phương pháp điều trị bệnh tiểu đường bao gồm việc cho người cần điều trị sử dụng liều hữu hiệu dược phẩm theo sáng chế.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất dược phẩm: để sử dụng trong điều trị. Cụ thể hơn, sáng chế đề xuất dược phẩm để sử dụng trong điều trị bệnh tiểu đường. Sáng chế cũng đề xuất việc sử dụng dược phẩm để sản xuất thuốc để điều trị bệnh tiểu đường.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất vật phẩm sản xuất chứa được phẩm. Cụ thể hơn, theo các khía cạnh nhất định, vật phẩm sản xuất là lọ dùng nhiều lần, ống, bút tiêm tái sử dụng được, dụng cụ dạng bút dùng một lần, bơm để truyền insulin dưới da liên tục hoặc hệ nắp đậy cho vật chứa để dùng cho bơm truyền insulin dưới da liên tục.

Mô tả chi tiết sáng chế

Khi được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “chế phẩm” chỉ tổ hợp insulin và các thành phần hoặc tá dược khác trong đó insulin và các thành phần hoặc tá dược khác nằm trong dạng bào chế kết hợp duy nhất, thường là chế phẩm dạng nước.

Như được sử dụng ở đây, “insulin” chỉ insulin người hoặc biến thể cấu trúc, protein đột biến, hoặc dạng tương tự tác dụng nhanh của insulin người mà có hoạt tính chức năng của insulin người nhưng khởi đầu tác dụng nhanh hơn. Các dạng tương tự tác dụng nhanh cụ thể của insulin người là insulin lispro, insulin aspart, và insulin glulisine. Insulin dùng trong các sản phẩm thương mại có thể được sản xuất bằng các phương pháp ADN tái tổ hợp hoặc bằng cách tổng hợp hóa học. Các phương pháp tái tổ hợp là đã biết rõ và rất được ưu tiên. Phân tử insulin người (CAS No. 11061-68-0) gồm hai chuỗi axit amin, A và B, trình tự của chúng là đã biết rõ.

Chuỗi A của insulin người có trình tự axit amin như sau:

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Asn (SEQ ID NO: 1).

Chuỗi B của insulin người có trình tự axit amin như sau:

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr (SEQ ID NO: 2).

Các chuỗi này được nối bằng hai liên kết disulfua: CysA7-CysB7 và CysA20-CysB19. Chuỗi A có một liên kết disulfua nội chuỗi ở CysA6-CysA11. Insulin người có công thức thực nghiệm C257H383N65O77S6 và phân tử lượng 5808.

Insulin lispro, được chất trong HUMALOG®, giống với insulin người ở trình tự axit amin chính của nó trừ sự đảo ngược trình tự prolin-lysin tự nhiên trên chuỗi B ở các vị trí 28 và 29 (insulin người 28B-L-Lysin-29B-L-prolin). Insulin lispro (CAS No. 133107-64-9) đã thể hiện là có hiệu lực ngang bằng với insulin người trên cơ sở phân tử gam nhưng hiệu quả của nó sau khi tiêm dưới da là nhanh hơn và trong khoảng thời gian ngắn hơn so với của insulin người hòa tan được tiêm. HUMALOG® chứa m-

cresol làm chất bảo quản và chất ổn định, chất tạo trương lực (glyxerol), tác nhân đệm (natri phosphat dibazơ), chất ổn định (kẽm oxit) và điều chỉnh độ pH cho chất dẫn.

Phân tử insulin lispro bao gồm chuỗi A insulin người (SEQ ID NO. 1) được liên kết ngang với chuỗi B insulin lispro, trình tự axit amin của nó được đưa ra trong SEQ ID NO:3, sau đây:

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly
Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Lys Pro Thr (SEQ ID NO: 3).

Công thức hóa học của insulin lispro là C257H383N65O77S6 và phân tử lượng của nó là khoảng 5808. Một đơn vị insulin lispro tương đương với 0,0347 mg insulin lispro.

Insulin aspart (CAS No. 116094-23-6), được chứa trong NOVOLOG®, là một dạng tương tự insulin khởi đầu nhanh khác. Cấu trúc của nó gồm chuỗi A của insulin người (SEQ ID NO: 1) và chuỗi B trong đó Pro ở vị trí B28 được thay bằng Asp (insulin người Pro-B28-Asp), như theo trình tự axit amin sau:

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly
Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Asp Lys Thr (SEQ ID NO: 4).

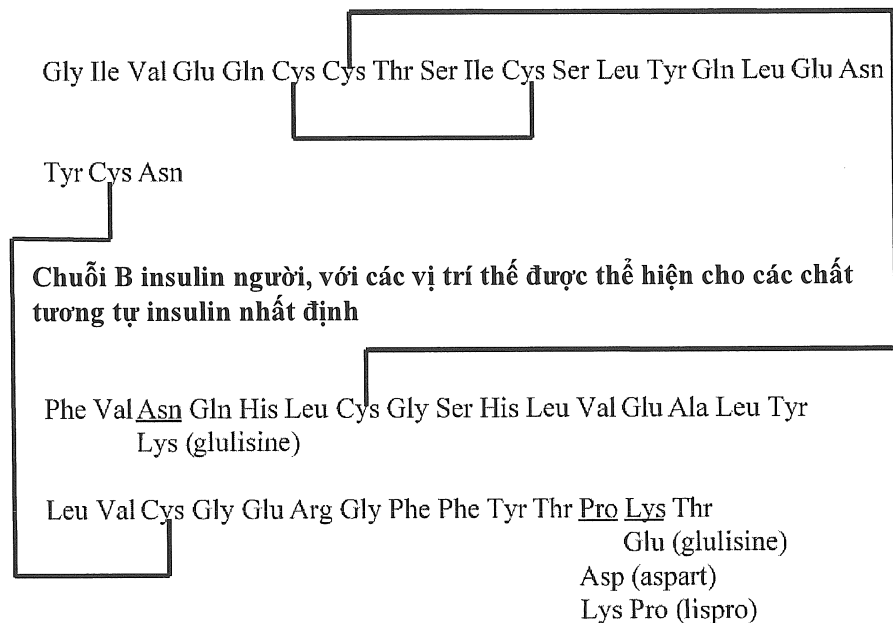
Insulin aspart (insulin người 28B axit aspartic) có công thức thực nghiệm C256H381N65O79S6 và phân tử lượng khoảng 5826. Một đơn vị insulin aspart tương ứng với 6 nmol, tương ứng với 0,035 mg insulin aspart khan không chứa muối.

Insulin glulisine (CAS No. 207748-29-6), được chứa trong APIDRA®, là một dạng tương tự insulin khởi đầu nhanh khác nữa. Phân tử insulin glulisine gồm chuỗi A của insulin người (SEQ ID NO: 1) và chuỗi B cải biến (Asn-B3-Lys, Lys-B29-Glu) so với insulin người, theo trình tự axit amin sau đây:

Phe Val Lys Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly
Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Glu Thr (SEQ ID NO: 5).

Insulin glulisine (insulin người 3B-lysin-29B-axit glutamic) có công thức thực nghiệm C258H384N64O78S6 và phân tử lượng 5823. Một đơn vị insulin glulisine tương ứng với khoảng 0,0349 mg insulin glulisine.

Sơ đồ sau đây mô tả trình tự axit amin và các liên kết disulfua của insulin người và của các chất tương tự insulin tác dụng nhanh mà đã được phê duyệt để sử dụng trong điều trị sự lệch lạc mức glucoza huyết trong bữa ăn:

Chuỗi A insulin người

Theo các phương án nhất định, chế phẩm theo sáng chế có nồng độ insulin từ khoảng 40 đến khoảng 500 U/mL. Theo các phương án nhất định, chế phẩm theo sáng chế có nồng độ insulin từ khoảng 100 đến khoảng 500 U/mL. Theo các phương án nhất định, chế phẩm theo sáng chế có nồng độ insulin từ khoảng 100 đến khoảng 300 U/mL. Theo các phương án nhất định, chế phẩm theo sáng chế có nồng độ insulin từ khoảng 100 đến khoảng 200 U/mL. Theo các phương án ưu tiên nhất định, chế phẩm này chứa khoảng 100 U/mL hoặc khoảng 200 U/mL.

Theo một phương án, insulin được chọn từ nhóm gồm insulin người, hoặc biến thể cấu trúc, protein đột biến, hoặc dạng tương tự tác dụng nhanh của insulin người, như insulin lispro, insulin aspart hoặc insulin glulisine. Theo một phương án được ưu tiên, insulin là insulin lispro.

Các cải thiện về profin tác dụng theo thời gian của insulin được chứng tỏ trong sáng chế đạt được thông qua việc sử dụng các nồng độ cụ thể nhất định của xitrat và treprostini.

Thuật ngữ “xitrat” chỉ hợp chất bất kỳ chứa ion xitrat, mà có tên hóa học 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylat, công thức phân tử $C_6H_5O_7^{3-}$, và phân tử lượng 189. Ion xitrat được phân bố rộng rãi ở thực vật và động vật và là thành phần có trong tự nhiên của chế độ dinh dưỡng. Ion này là chất chuyển hóa thông thường trong

chuyển hóa oxy hóa và là thành phần quan trọng của xương. Một số xitrat được coi là an toàn (GRAS - generally regarded as safe) bởi FDA Mỹ (the U.S. Food and Drug Administration) để sử dụng trong thực phẩm, bao gồm các xitrat sau:

Chất GRAS	Công thức (phân tử lượng)	CAS No.	21 CFR
Axit xitric	$C_6H_8O_7$ (192,12)	77-92-9	184.1033
Natri xitrat	$C_6H_5Na_3O_7$ (258,07)	68-04-2	184.1751
Kali xitrat monohydrat	$C_6H_5O_7K_3$ (324,41)	6100-05-6	184.1625

Nhiều hợp chất chứa xitrat khác nhau cũng có trong các dược phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa theo cơ sở dữ liệu U.S. Food and Drug Administration Inactive Ingredients, bao gồm chẳng hạn, axit xitric, axit xitric monohydrat, axit xitric khan, natri xitrat, trinatri xitrat khan, trinatri xitrat dihydrat. Hợp chất xitrat cụ thể được sử dụng trong các chế phẩm theo sáng chế có thể ở dạng axit hoặc các dạng muối khác nhau, đặc biệt là muối kim loại kiềm (ví dụ, natri và kali) và/hoặc mono hoặc dihydrat của chúng. Trong số này, natri xitrat được ưu tiên.

Đã phát hiện rằng nồng độ xitrat mà có thể được sử dụng trong các chế phẩm vừa tác dụng nhanh và vừa ổn định nằm trong khoảng từ khoảng 5 đến khoảng 25 mM. Các chế phẩm nhất định có nồng độ xitrat khoảng 15, khoảng 20 hoặc khoảng 25 mM. Đã phát hiện rằng nồng độ xitrat cao hơn có thể tạo ra nhiều cải thiện hơn về tác dụng theo thời gian, nhưng cũng có thể dẫn đến nguy cơ lớn hơn trên quan điểm độ ổn định. Do đó, các chế phẩm với nồng độ xitrat ở cận trên của khoảng cần có các chất ổn định bổ sung để có độ ổn định hóa học và vật lý trong thời gian bảo quản và sử dụng dài, như được mô tả chi tiết hơn sau đây.

Treprostinil là chất tương tự tổng hợp của prostacyclin, và có tên hóa học axit (1R,2R,3aS,9aS)-[[2,3,3a,4,9,9a-Hexahydro-2-hydroxy-1-[(3S)-3-hydroxyoctyl]-1H-benz[f]inden-5-yl]oxy]acetic (CAS No. 81846-19-7), phân tử lượng 390,52 và công thức phân tử $C_{23}H_{34}O_5$. Treprostinil là thành phần hoạt tính của dược phẩm thương mại có bán với tên thương mại Remodulin®, Tyvaso® và Orenitran™, mà được chỉ định để điều trị bệnh tăng huyết áp động mạch phổi để loại bỏ các triệu chứng có liên quan đến luyện tập (Remodulin®) và để cải thiện khả năng luyện tập (Tyvaso® và Orenitran™). Tyvaso® và Orenitran™ lần lượt có dạng liều hít và dạng liều dùng đường uống, và Remodulin® được chỉ định để dùng dưới da hoặc trong tĩnh mạch như

truyền liên tục. Remodulin® hiện có nồng độ liều 1, 2,5, 5 và 10 mg/mL, và mỗi mL chứa 3 mg m-cresol, 6,3 mg natri xitrat, 5,3 mg (nồng độ 1, 2,5 và 5 mg/mL) hoặc 4,0 mg (nồng độ 10 mg/mL) natri clorua, và nước để tiêm.

Giống như xitrat, treprostinil được đưa vào để góp phần cải thiện profin tác dụng theo thời gian của insulin. Tuy nhiên, không giống như xitrat, việc tăng nồng độ treprostinil không được thấy là có ảnh hưởng tiêu cực đến độ ổn định. Tuy nhiên, nhờ hiệu quả giãn mạch tốt của treprostinil, nồng độ treprostinil trong các chế phẩm theo sáng chế không được quá cao vì sẽ gây ra các tác dụng hệ thống không mong muốn.

Hơn nữa, lượng insulin, và do đó thể tích chế phẩm, được sử dụng cho đối tượng nhất định ở thời điểm nhất định được chuẩn độ dựa trên mức glucoza huyết của đối tượng và/hoặc mức hấp thu carbohydrat dự liệu. Kết quả là, tổng lượng treprostinil cấp sẽ thay đổi theo lần tiêm. Chẳng hạn, trong một số trường hợp bệnh nhân tiểu đường có thể chỉ muốn sử dụng 1 đơn vị insulin, mà có thể tổng thể tích tiêm chỉ là 10 µL từ chế phẩm insulin lispro 100 U/mL. Mặt khác, các dụng cụ tiêm hiện có tạo ra liều cao đến 80 U trong một lần tiêm — tổng thể tích tiêm của liều như vậy từ chế phẩm 100 U/mL sẽ cao hơn trên một bậc về độ lớn so với 1 đơn vị liều, và một số bệnh nhân tiểu đường typ 2 có thể cần liều trên 100 đơn vị insulin, thường cần nhiều hơn một lần tiêm.

Do đó, trong các chế phẩm trong đó insulin và treprostinil đều có mặt trong dạng bào chế kết hợp duy nhất, nồng độ treprostinil cần phải đủ để góp phần cải thiện tác dụng theo thời gian, ngay cả khi cần liều insulin tương đối nhỏ, nhưng phải không quá cao để gây ra tác dụng hệ thống không mong muốn khi cần liều insulin tương đối cao. Theo các phương án nhất định, chế phẩm này chứa treprostinil với nồng độ từ khoảng 0,1 đến khoảng 50 µM, hoặc khoảng 0,04 đến khoảng 20 µg/mL. Theo các phương án nhất định, chế phẩm này chứa treprostinil với nồng độ từ khoảng 0,04 đến khoảng 10 µg/mL. Nồng độ treprostinil được ưu tiên trong các chế phẩm insulin có nồng độ insulin nằm trong khoảng từ khoảng 100 đến khoảng 200 U/mL là từ khoảng 0,5 đến khoảng 2 µg/mL. Theo các phương án nhất định, nồng độ treprostinil là khoảng 1 µg/mL.

Như được mô tả trên đây, trong khi việc bổ sung xitrat dẫn đến cải thiện về tác dụng theo thời gian, điều này cũng có thể góp phần vào nguy cơ cao hơn từ quan điểm độ ổn định. Do đó, các chế phẩm theo sáng chế cần có một hoặc nhiều chất ổn định

trên đây và vượt ra ngoài những chất được đưa vào trong các chế phẩm hiện có bán trên thị trường của các chất tương tự insulin tác dụng nhanh, như kẽm dư, chất hoạt động bề mặt, các hợp chất chứa magie, như magie clorua, và các hợp chất chứa clorua, như magie clorua và/hoặc natri clorua.

Đối với kẽm, các chế phẩm theo sáng chế cần phải chứa kẽm, tối thiểu với nồng độ tạo ra ít nhất lượng ion kẽm đủ để các phân tử insulin tạo ra hexame ổn định, mà có 2 vị trí liên kết kẽm đặc hiệu, ái lực cao. Xem, ví dụ, *BioMetals* 18:295-303 (2005), có trên <http://rd.springer.com/article/10.1007/s10534-005-3685-y>. Các ion kẽm được kết hợp vào các hexame insulin như vậy đôi khi được gọi là kẽm “liên kết”. Do đó, các chế phẩm theo sáng chế cần phải chứa đủ kẽm để tạo ra ít nhất 2 ion kẽm trên một hexame của insulin. Theo các phương án nhất định của sáng chế có, chẳng hạn, nồng độ insulin khoảng 100 U/mL, khoảng 200 U/mL, khoảng 300 U/mL hoặc khoảng 500 U/mL, nồng độ kẽm tối thiểu cần để tạo ra 2 ion kẽm trên một hexame insulin có thể lần lượt là khoảng 0,2 mM, khoảng 0,4 mM, khoảng 0,6 mM hoặc khoảng 1 mM.

Tuy nhiên, việc đưa kẽm dư – tức là nhiều kẽm hơn có thể được liên kết ở 2 vị trí liên kết kẽm đặc hiệu, ái lực cao trong các hexame insulin được mô tả trên đây – có thể được sử dụng để làm ổn định thêm chế phẩm. Kẽm như vậy đôi khi được gọi là kẽm “tự do” hoặc “không liên kết”. Các chế phẩm chứa kẽm hiện có gồm từ khoảng 2 đến 4 ion kẽm trên một hexame của insulin. Ví dụ, các chế phẩm insulin lispro (HUMALOG®) và insulin aspart (NOVOLOG®) 100 U/mL có khoảng 3 ion kẽm trên sáu phân tử insulin, tương ứng với nồng độ khoảng 0,3 mM. Chế phẩm HUMALOG® 200 U/mL hiện có có khoảng 3,5 ion kẽm trên sáu phân tử insulin, tương ứng với nồng độ kẽm khoảng 0,7 mM. Chế phẩm insulin người 100 U/mL hiện có của hãng Eli Lilly and Company (HUMULIN® R) chứa khoảng 2,3 ion kẽm trên sáu phân tử insulin, tương ứng với nồng độ kẽm khoảng 0,23 mM.

Trong các chế phẩm nhất định theo sáng chế, việc đưa vào kẽm dư tự do hoặc không liên kết – tức là, kẽm không được liên kết ở 2 vị trí liên kết kẽm đặc hiệu, ái lực cao trong các hexame insulin được mô tả trên đây – đã được phát hiện là có hiệu quả ổn định. Các chế phẩm có khoảng 100 U/mL insulin lispro và nồng độ kẽm không quá khoảng 1 mM – mà sẽ tạo ra khoảng 0,2 mM kẽm liên kết và khoảng 0,8 mM kẽm không liên kết hoặc tự do – đã được phát hiện là vừa tác dụng nhanh và vừa ổn định. Tuy nhiên, việc đưa quá nhiều kẽm tự do hoặc không liên kết vào có thể làm giảm sự

cải thiện tác dụng theo thời gian. Chẳng hạn, chế phẩm chứa khoảng 100 U/mL insulin lispro với nồng độ kẽm khoảng 5 mM – mà có thể tạo ra khoảng 4,8 mM kẽm không liên kết – được phát hiện là không có những cải thiện về tác dụng theo thời gian quan sát được ở các chế phẩm với nồng độ kẽm thấp hơn. Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm nằm trong khoảng từ khoảng 0,2 đến khoảng 2 mM, khoảng 0,3 đến khoảng 1,7 mM, khoảng 0,7 đến khoảng 1,7 mM, khoảng 0,4 đến khoảng 1 mM, khoảng 0,4 đến khoảng 0,8 mM hoặc khoảng 0,6 đến khoảng 0,9 mM. Theo các phương án nhất định thành phần kẽm là khoảng 0,3, khoảng 0,4, khoảng 0,5, khoảng 0,6, khoảng 0,7, khoảng 0,8, khoảng 0,9, khoảng 1, khoảng 1,25 hoặc khoảng 1,7 mM. Theo các phương án nhất định chứa khoảng 100 U/mL insulin lispro, nồng độ kẽm là khoảng 0,6 mM. Theo các phương án nhất định chứa khoảng 200 U/mL insulin lispro, nồng độ kẽm là khoảng 0,8 mM.

Một chất ổn định khác có thể được sử dụng là chất hoạt động bề mặt. Ví dụ về các chất hoạt động bề mặt được bộc lộ để sử dụng trong các dược phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm polysorbat, như polysorbat 20 (TWEEN® 20), polyetylen glycol như PEG 400, PEG 3000, TRITON™ X-100, polyetylen glycol như polyoxyetylen (23) lauryl ete (số CAS: 9002-92-0, được bán với tên thương mại BRIJ®), các axit béo alkoxyl hóa, như MYRJ™, polypropylen glycol, copolyme khối như poloxame 188 (số CAS 9003-11-6, được bán với tên thương mại PLURONIC® F-68) và poloxame 407 (PLURONIC® F127), các este sorbitan alkyl (ví dụ, SPAN®), dầu thầu dầu polyetoxy hóa (ví dụ, KOLLIPHOR®, CREMOPHOR®) và trehaloza và các dẫn xuất của chúng, như este trehaloza laurat. Theo các phương án nhất định, chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm gồm polyoxyetylen (23) lauryl ete, poloxame 188 và este trehaloza laurat. Poloxame 188 được ưu tiên nhất. Theo các phương án nhất định, nồng độ chất hoạt động bề mặt nằm trong khoảng từ khoảng 0,003 đến khoảng 2% khối lượng/thể tích, khoảng 0,003 đến khoảng 0,3% khối lượng/thể tích hoặc khoảng 0,01 đến khoảng 0,2% khối lượng/thể tích. Theo các phương án được ưu tiên trong đó chất hoạt động bề mặt là poloxame 188, nồng độ poloxame 188 nằm trong khoảng từ khoảng 0,06 đến khoảng 0,12% khối lượng/thể tích. Theo các phương án nhất định, nồng độ poloxame 188 là khoảng 0,06% khối lượng/thể tích. Theo các phương án khác, nồng độ poloxame 188 là khoảng 0,09% khối lượng/thể tích. Theo các phương án khác, nồng độ poloxame 188 là khoảng 0,12% khối lượng/thể tích.

Một chất ổn định khác mà có thể được sử dụng trong các chế phẩm theo sáng chế là magie, mà có thể được cung cấp ví dụ bằng cách bổ sung hợp chất chứa magie như magie clorua, có công thức phân tử MgCl_2 và phân tử lượng 95,211. Trong khi MgCl_2 có thể có tác dụng ổn định trong các chế phẩm nhất định, nồng độ ion clorua (Cl^-) cao có thể dẫn đến kết tủa insulin ở nhiệt độ thấp, và nồng độ magie (Mg^{+2}) vượt quá nồng độ xitrat sẽ dẫn đến kết tủa insulin. Do đó, lượng magie clorua tối đa mà có thể đưa vào bị giới hạn bởi lượng xitrat được đưa vào. Theo các phương án nhất định, khi MgCl_2 được sử dụng để tạo ra magie làm chất ổn định trong các chế phẩm theo sáng chế, tỷ lệ mol magie clorua so với xitrat nằm trong khoảng từ khoảng 1:2 đến khoảng 1:10. Theo các phương án nhất định tỷ lệ magie nằm trong khoảng từ khoảng 1:1 đến khoảng 1:5. Tốt hơn nếu tỷ lệ mol magie clorua so với xitrat nằm trong khoảng từ khoảng 1:3 đến khoảng 1:5. Theo các phương án nhất định, nồng độ magie nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 15 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ magie nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 5 mM, khoảng 5 đến khoảng 10 mM hoặc khoảng 10 đến khoảng 15 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ magie là khoảng 2,5, khoảng 5, khoảng 7,5 hoặc khoảng 10 mM.

Một chất ổn định khác mà có thể được sử dụng trong các chế phẩm theo sáng chế là hợp chất chứa clorua, như natri clorua, có công thức phân tử NaCl và phân tử lượng 58,44. Natri clorua được sử dụng trong một số chế phẩm hiện có của chất tương tự insulin tác dụng nhanh, như APIDRA® (insulin glulisine), mà chứa 5 mg/mL natri clorua và NOVOLOG® (insulin aspart), chứa 0,58 mg/mL natri clorua. Theo các phương án nhất định của sáng chế trong đó natri clorua được sử dụng làm chất ổn định, nồng độ natri clorua nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 50 mM. Theo các phương án nhất định của sáng chế trong đó natri clorua được sử dụng làm chất ổn định, nồng độ natri clorua nằm trong khoảng từ khoảng 10 đến khoảng 40 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ natri clorua nằm trong khoảng từ khoảng 15 đến khoảng 25 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ natri clorua là khoảng 1, khoảng 2, khoảng 3, khoảng 4, khoảng 5, khoảng 6, khoảng 7, khoảng 8, khoảng 9, khoảng 10, khoảng 11, khoảng 12, khoảng 13, khoảng 14, khoảng 15, khoảng 16, khoảng 17, khoảng 18, khoảng 19 hoặc khoảng 20 mM.

Cả MgCl_2 và NaCl dẫn đến sự bổ sung ion clorua (Cl^-), và nếu tổng hàm lượng clorua của chế phẩm quá cao, insulin trong chế phẩm có thể kết tủa ở nhiệt độ thấp và

cũng có thể dẫn đến mất ổn định ở nhiệt độ cao. Do đó, nếu MgCl_2 và/hoặc NaCl được sử dụng làm chất ổn định, tổng hàm lượng clorua của chế phẩm cần phải được xem xét. Việc xác định tổng lượng clorua có trong chế phẩm nếu MgCl_2 và/hoặc NaCl được sử dụng làm chất ổn định cũng phải xem xét thực tế rằng các ion clorua cũng có thể được bổ sung vào chế phẩm qua việc bổ sung các thành phần khác, ví dụ với thành phần dược tính (active pharmaceutical ingredient API) insulin lượng lớn, qua việc bổ sung lượng nhỏ HCl mà có thể cần để điều chỉnh độ pH, và/hoặc liên quan đến việc cung cấp Zn, mà có thể được bổ sung vào ở dạng dung dịch được điều chế bằng cách hòa tan kẽm oxit (ZnO) bằng HCl . Do đó, tổng nồng độ clorua từ tất cả các nguồn cần phải được xem xét nếu MgCl_2 và/hoặc NaCl được sử dụng làm chất ổn định. Về mặt nồng độ, đã quan sát thấy sự kết tinh insulin ở nhiệt độ thấp trong các chế phẩm chứa khoảng 100 mM NaCl , nhưng không quan sát thấy vấn đề như vậy trong các chế phẩm chứa tổng lượng clorua không quá khoảng 30 mM. Ngoài ra, các vấn đề kết tinh ở nhiệt độ thấp có liên quan đến nồng độ clorua tương đối cao cũng đã được phát hiện là nhạy với nồng độ xitrat. Do đó, các chế phẩm theo sáng chế có nồng độ xitrat ở cận dưới của khoảng đã đưa ra trong bản mô tả có thể dễ dung hòa nồng độ clorua tương đối cao hơn so với các chế phẩm có nồng độ xitrat ở cận trên của khoảng đã đưa ra trong bản mô tả. Chẳng hạn, việc bổ sung nồng độ natri clorua cao ở mức 50-75 mM vào chế phẩm chứa 25 mM xitrat đã được thấy là dẫn đến các vấn đề kết tinh ở nhiệt độ thấp, nhưng các vấn đề như vậy không quan sát thấy liên tục khi 50 mM natri clorua được bổ sung vào chế phẩm chứa 15 mM xitrat hoặc khi 25 mM natri clorua được bổ sung vào chế phẩm chứa 25 mM xitrat. Tổng lượng clorua được bổ sung vào qua việc sử dụng NaCl và/hoặc MgCl_2 làm chất ổn định cần không quá khoảng 50 mM. Theo các phương án nhất định của sáng chế, tổng nồng độ clorua, từ tất cả các nguồn, nằm trong khoảng từ khoảng 10 đến khoảng 50 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 13 đến khoảng 45 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 20 đến khoảng 25 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 15 đến khoảng 35 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 20 đến khoảng 25 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua là khoảng 15 mM, khoảng 16 mM, khoảng 17 mM, khoảng 18

mM, khoảng 19 mM, khoảng 20 mM, khoảng 21 mM, khoảng 22 mM, khoảng 23 mM, khoảng 24 mM hoặc khoảng 25 mM.

Theo các phương án nhất định, chế phẩm này có thể bao gồm nhiều hơn một chất ổn định bổ sung để đảm bảo chế phẩm duy trì được profile ổn định chấp nhận được về mặt thương mại. Tổ hợp các chất ổn định được ưu tiên mà có thể được sử dụng trong các chế phẩm theo sáng chế bao gồm kẽm dư và magie. Tổ hợp các chất ổn định được ưu tiên khác mà có thể được sử dụng trong các chế phẩm theo sáng chế bao gồm kẽm, chất hoạt động bề mặt, như poloxame 188, và magie clorua hoặc natri clorua.

Các chế phẩm theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều chất bảo quản, mà tạo ra đặc tính kháng vi sinh vật và có thể cũng tạo ra lợi ích về độ ổn định. Tuy nhiên, các chế phẩm là vô trùng khi mới được tạo ra, khi chế phẩm được cung cấp trong lọ hoặc ống dùng nhiều lần, chất hoặc hỗn hợp các chất bảo quản kháng vi sinh vật mà tương thích với các thành phần khác của dạng bào chế thường được bổ sung với nồng độ đủ để đáp ứng các yêu cầu theo quy định và yêu cầu về bảo quản chống vi sinh vật trong được điển. Xem U.S. Pharmacopeia Monographs. Insulin lispro injection. USP29-NF24; British Pharmacopeia Monographs 2008 Volume III: Insulin aspart injection; U.S. Pharmacopeia Monographs. Insulin assays; và U.S. Pharmacopeia general chapters. USP29-NF24. Rockville, MD: U.S. Pharmacopeial Convention; 2005. Antimicrobial effectiveness testing; pp. 2499–2500. Các chất bảo quản được ưu tiên là các axit aryl và các hợp chất phenol, hoặc hỗn hợp các chất này. Nồng độ hữu hiệu có thể xác định được dễ dàng bằng các phương pháp nêu trên. Các chất bảo quản thường dùng trong các sản phẩm insulin bao gồm phenol (CAS No. 108-95-2, công thức phân tử C_6H_5OH , phân tử lượng 94,11), và m-cresol (CAS No. 108-39-4, công thức phân tử C_7H_8O , phân tử lượng 108,14). Các chế phẩm thương mại hiện có, chẳng hạn, chứa 3,15 mg/mL m-cresol (HUMALOG® và APIDRA®), 1,72 mg/mL m-cresol và 1,50 mg/mL phenol (NOVOLOG®), và 2,5 mg/mL m-cresol (HUMULIN® R U-500). Theo một phương án, chất bảo quản được chọn từ nhóm gồm phenol và m-cresol. Tốt hơn nếu chất bảo quản là m-cresol. Theo các phương án nhất định nồng độ m-cresol là từ khoảng 2,5 đến khoảng 3,8 mg/mL. Tốt hơn nếu nồng độ m-cresol là khoảng 3,15 mg/mL.

Mong muốn khi sử dụng chế phẩm càng gần phù hợp với trương lực của (tức là, độ thẩm thấu) của dịch thể ở vị trí tiêm càng tốt vì các dung dịch mà không gần đẳng trương với các dịch thể có thể gây ra cảm giác đau nhói khi sử dụng. Do đó, mong muốn rằng các chế phẩm này gần như đẳng trương với các dịch thể ở vị trí tiêm. Nếu độ thẩm thấu của chế phẩm khi không có tác nhân tạo trương lực đủ nhỏ hơn so với độ thẩm thấu của mô (đối với máu, khoảng 300 mOsmol/kg; yêu cầu của European Pharmacopeia về độ thẩm thấu là > 240 mOsmol/kg), thì tác nhân tạo trương lực thường cần được bổ sung vào để tăng trương lực của chế phẩm đến khoảng 300 mOsmol/kg. Độ thẩm thấu của chế phẩm được xác định loại và nồng độ các tá dược khác trong chế phẩm, bao gồm (các) chất ổn định. Do đó, nồng độ của tất cả các tá dược khác nhau trong chế phẩm phải được đánh giá để xác định xem cần phải bổ sung tác nhân tạo trương lực hay không và các đánh giá và xác định như vậy là dễ dàng được thực hiện bằng các kỹ thuật chuẩn. Xem tài liệu Remington: The Science and Practice of Pharmacy, David B. Troy and Paul Beringer, eds., Lippincott Williams & Wilkins, 2006, pp. 257-259; Remington: Essentials of Pharmaceutics, Linda Ed Felton, Pharmaceutical Press, 2013, pp. 277-300. Các tác nhân tạo trương lực thường là glyxerol (glyxerin), manitol và natri clorua. Nếu việc bổ sung chất tạo trương lực là cần thiết, ưu tiên glyxerol. Theo các phương án nhất định nồng độ glyxerol là từ khoảng 1 đến khoảng 16 mg/mL. Theo các phương án nhất định, nồng độ glyxerol là từ khoảng 1 đến khoảng 2 mg/mL, khoảng 3 đến khoảng 4 mg/mL, khoảng 5 đến khoảng 6 mg/mL, khoảng 7 đến khoảng 8 mg/mL, khoảng 9 đến khoảng 10 mg/mL, khoảng 11 đến khoảng 12 mg/mL, khoảng 13 đến khoảng 14 mg/mL, hoặc khoảng 15 đến khoảng 16 mg/mL. Theo các phương án nhất định, nồng độ glyxerol là khoảng 5, khoảng 12 hoặc khoảng 16 mg/mL.

Xitrat, như đã lưu ý trên đây được bổ sung để góp phần cải thiện tác dụng theo thời gian, cũng được biết là có đặc tính đệm, nhưng nếu muốn chế đệm bổ sung có thể được đưa vào. Ví dụ về các chất đệm như vậy là đệm phosphat, như natri phosphat đibazơ, natri axetat và tris(hydroxymetyl)aminometan, hoặc TRIS. Nếu chất đệm bổ sung là cần thiết, đệm TRIS hoặc phosphat được ưu tiên. Độ pH của các chế phẩm insulin thương mại thường nằm trong khoảng từ 7,2 đến 7,6, trong đó $7,4 \pm 0,1$ là độ pH đích phổ biến. Độ pH theo sáng chế thường từ khoảng 7,0 đến khoảng 7,8 và được

điều chỉnh bằng các axit và bazơ thích hợp về mặt sinh lý, thường là axit clohydric 10% và natri hydroxit 10%. Tốt hơn, nếu độ pH là khoảng 7,4.

Đường dùng của các chế phẩm theo sáng chế thường là tự sử dụng bằng cách tiêm dưới da, ví dụ, bằng xi lanh hoặc bút tiêm, hoặc bằng cách truyền liên tục insulin dưới da bằng dụng cụ bơm insulin, cũng có thể dùng theo đường trong tĩnh mạch, qua da, hoặc trong màng bụng.

Như đã lưu ý trên đây, sáng chế cũng đề xuất vật phẩm sản xuất chứa được phẩm. Theo các phương án nhất định, vật phẩm sản xuất là lọ dùng nhiều lần. Theo các phương án khác, vật phẩm sản xuất ống nạp trước dùng nhiều lần. Theo các phương án khác, vật phẩm sản xuất là bút tiêm tái sử dụng được. Theo các phương án khác, vật phẩm sản xuất là dụng cụ dạng bút dùng một lần. Theo các phương án khác, vật phẩm sản xuất là dụng cụ bơm để điều trị truyền liên tục insulin dưới da. Theo một phương án khác, vật phẩm sản xuất là hệ thống nắp đậy dụng cụ chứa để sử dụng trong dụng cụ bơm để điều trị truyền liên tục insulin dưới da.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất được phẩm chứa: insulin; xitrat, với nồng độ từ khoảng 5 đến khoảng 25 mM; treprostinil, với nồng độ từ khoảng 0,04 đến khoảng 20 µg/mL; kẽm, với nồng độ đủ để tạo ra ít nhất 2 ion kẽm trên sáu phân tử insulin; chất bảo quản; và một hoặc nhiều chất ổn định bổ sung; và có độ pH khoảng 7,0 đến khoảng 7,8 ở nhiệt độ trong phòng.

Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm nằm trong khoảng từ khoảng 0,2 đến khoảng 2 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm là từ khoảng 0,2 đến khoảng 1 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm là từ khoảng 0,6 đến khoảng 0,8 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm là khoảng 0,6 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm là khoảng 0,7 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm là khoảng 0,8 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm là khoảng 0,9 mM.

Theo các phương án nhất định, một hoặc nhiều chất ổn định bổ sung được chọn từ nhóm gồm chất hoạt động bề mặt, magie clorua và natri clorua.

Theo các phương án nhất định, một hoặc nhiều chất ổn định bổ sung bao gồm chất hoạt động bề mặt, mà có mặt với nồng độ khoảng 0,003 đến khoảng 2% khối lượng/thể tích. Theo các phương án nhất định, chất hoạt động bề mặt là poloxame 188. Theo các phương án nhất định, nồng độ poloxame 188 là từ khoảng 0,06 đến khoảng

0,12% khối lượng/thể tích. Theo các phương án nhất định, nồng độ poloxame 188 là khoảng 0,06% khối lượng/thể tích. Theo các phương án nhất định, nồng độ poloxame 188 là khoảng 0,09% khối lượng/thể tích. Theo các phương án nhất định, nồng độ poloxame 188 là khoảng 0,12% khối lượng/thể tích.

Theo các phương án nhất định, một hoặc nhiều chất ổn định bổ sung bao gồm magie clorua, có mặt với nồng độ đủ tạo ra tỷ lệ mol magie clorua so với xitrat từ khoảng 1:2 đến khoảng 1:10. Theo các phương án nhất định, tỷ lệ magie nằm trong khoảng từ khoảng 1:1 đến khoảng 1:5. Theo các phương án nhất định, tỷ lệ mol magie clorua so với xitrat là từ khoảng 1:3 đến khoảng 1:5. Theo các phương án nhất định, nồng độ magie nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 15 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ magie nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 5 mM, khoảng 5 đến khoảng 10 mM hoặc khoảng 10 đến khoảng 15 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ magie là khoảng 2,5, khoảng 5, khoảng 7,5 hoặc khoảng 10 mM.

Theo các phương án nhất định, một hoặc nhiều chất ổn định bổ sung bao gồm natri clorua, mà có mặt với nồng độ khoảng 10 đến khoảng 40 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ natri clorua là từ khoảng 15 đến khoảng 25 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua không quá khoảng 50 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 10 đến khoảng 50 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 13 đến khoảng 45 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 20 đến khoảng 25 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 15 đến khoảng 35 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 20 đến khoảng 25 mM. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua là khoảng 15 mM, khoảng 16 mM, khoảng 17 mM, khoảng 18 mM, khoảng 19 mM, khoảng 20 mM, khoảng 21 mM, khoảng 22 mM, khoảng 23 mM, khoảng 24 mM hoặc khoảng 25 mM.

Theo các phương án nhất định, nồng độ insulin là từ khoảng 100 đến khoảng 500 U/mL. Theo các phương án nhất định, nồng độ insulin là từ khoảng 100 đến khoảng 300 U/mL. Theo các phương án nhất định, nồng độ insulin là khoảng 100 U/mL hoặc khoảng 200 U/mL. Theo các phương án nhất định, insulin là insulin lispro.

Theo các phương án nhất định, nồng độ xitrat là từ khoảng 10 đến khoảng 25 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ xitrat là khoảng 15 mM.

Theo các phương án nhất định, chế phẩm này chứa treprostinil với nồng độ từ khoảng 0,04 đến khoảng 20 µg/mL. Theo các phương án nhất định, nồng độ treprostinil là từ khoảng 0,04 đến khoảng 10 µg/mL. Theo các phương án nhất định, nồng độ treprostinil là từ khoảng 0,5 đến khoảng 2 µg/mL. Theo các phương án nhất định, nồng độ treprostinil là khoảng 1 µg/mL.

Theo các phương án nhất định, chất bảo quản là m-cresol. Theo các phương án nhất định, nồng độ m-cresol là từ khoảng 2,5 đến khoảng 3,8 mg/mL. Theo các phương án nhất định, nồng độ m-cresol là khoảng 3,15 mg/mL.

Theo các phương án nhất định, chế phẩm này chứa thêm chất tạo trương lực. Theo các phương án nhất định, chất tạo trương lực là glyxerol. Theo các phương án nhất định, nồng độ glyxerol là từ khoảng 1 đến khoảng 15 mg/mL. Theo các phương án nhất định, nồng độ glyxerol là từ khoảng 1 đến khoảng 2 mg/mL.

Theo các phương án nhất định, được phẩm này tạo ra khả năng hấp thu insulin vào máu, và khả năng khởi đầu tác dụng và/hoặc khoảng thời gian tác dụng nhanh hơn ít nhất 20% so với các chế phẩm chứa cùng insulin nhưng không chứa xitrat hoặc treprostinil, khi đo bằng một hoặc nhiều thông số được lực học hoặc được động học liên quan đến tác dụng theo thời gian, như: thời gian để tối đa hóa nồng độ insulin (T_{max}); thời gian để đạt một nửa nồng độ insulin tối đa ($\frac{1}{2} T_{max}$ sớm); thời gian để đạt một nửa nồng độ insulin tối đa trong pha giảm của đường cong nồng độ theo thời gian ($\frac{1}{2} T_{max}$ muộn); thời gian giữa $\frac{1}{2} T_{max}$ sớm và muộn (khoảng T_{max}); tỷ lệ phần trăm tổng liều insulin được hấp thu ở các thời gian khác nhau dựa trên phân vùng nằm dưới đường cong nồng độ insulin (ví dụ, AUC_{0-30} phút, AUC_{0-60} phút, AUC_{0-120} phút, AUC_{0-180} phút); thời gian để đạt một nửa tổng nồng độ insulin (T_{50}); thời gian để đạt tốc độ truyền glucoza tối đa (GIR_{max}), thời gian để đạt một nửa tốc độ truyền glucoza tối đa ($\frac{1}{2} GIR_{max}$ sớm); thời gian để đạt một nửa tốc độ truyền glucoza tối đa trong pha giảm của đường cong nồng độ theo thời gian ($\frac{1}{2} GIR_{max}$ muộn); tỷ lệ phần trăm tổng glucoza được truyền ở các thời gian khác nhau dựa trên phân vùng nằm dưới đường cong GIR (ví dụ, GIR_{0-30} phút, GIR_{0-60} phút, GIR_{0-120} phút, GIR_{0-180} phút).

Theo các phương án nhất định, được phẩm này tạo ra khả năng hấp thu insulin vào máu, khả năng khởi đầu tác dụng và/hoặc khoảng thời gian tác dụng nhanh hơn ít

nhất 30%, ít nhất 40% hoặc ít nhất 50% so với các chế phẩm chứa cùng insulin nhưng không chứa xitrat hoặc treprostini, khi đo bằng một hoặc nhiều thông số được động học hoặc được lực học được mô tả trên đây.

Theo các phương án nhất định, được phẩm này tạo ra khả năng hấp thu insulin vào máu, khả năng khởi đầu tác dụng và/hoặc khoảng thời gian tác dụng nhanh hơn từ khoảng 20 đến khoảng 50%, từ khoảng 20 đến khoảng 30%, từ khoảng 30 đến khoảng 40% hoặc từ khoảng 40 đến khoảng 50% so với các chế phẩm chứa cùng insulin nhưng không chứa xitrat hoặc treprostini, khi đo bằng một hoặc nhiều thông số được động học hoặc được lực học được mô tả trên đây.

Theo các phương án nhất định, được phẩm này không chứa chất tạo chelat bổ sung bất kỳ, như EDTA, chất giãn mạch bổ sung bất kỳ, như nitroglycerin, và/hoặc các oligosacarit bất kỳ.

Theo các phương án nhất định, được phẩm này ổn định để cho phép bảo quản ít nhất 24 tháng ở 2-8°C và lên tới 28 ngày sử dụng ở nhiệt độ lên tới 30°C đối với các lọ hoặc ống trong bút tiêm tái sử dụng được. Theo các phương án nhất định, được phẩm này ổn định để cho phép bảo quản ít nhất 36 tháng ở 2-8°C và lên tới 28 ngày sử dụng ở nhiệt độ lên tới 30°C đối với các lọ hoặc ống trong bút tiêm tái sử dụng được.

Theo các phương án nhất định, chế phẩm này ổn định để cho phép sử dụng trong dụng cụ bơm để điều trị truyền liên tục insulin dưới da trong lên tới 7 ngày.

Các phương án khác của sáng chế bao gồm các phương án được mô tả sau đây:

1. Được phẩm chứa: insulin; xitrat; và treprostini.
2. Được phẩm theo phương án nêu trên, trong đó insulin được chọn từ nhóm gồm insulin người, insulin lispro, insulin aspart hoặc insulin glulisine.
3. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó insulin là insulin lispro.
4. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ insulin là từ khoảng 100 đến khoảng 500 U/mL.
5. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ insulin là từ khoảng 100 đến khoảng 300 U/mL.
6. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ insulin là từ khoảng 100 đến khoảng 200 U/mL.

7. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ insulin là khoảng 100 U/mL.

8. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ insulin là khoảng 200 U/mL.

9. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ xitrat là từ khoảng 5 đến khoảng 25 mM.

10. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ xitrat là từ khoảng 15 đến khoảng 25 mM.

11. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ xitrat là từ khoảng 15 đến khoảng 20 mM.

12. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ xitrat là khoảng 5, khoảng 10, khoảng 12, khoảng 15, khoảng 18, khoảng 20 hoặc khoảng 25 mM.

13. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ xitrat là khoảng 15 mM.

14. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ treprostinil là từ khoảng 0,04 đến khoảng 20 µg/mL.

15. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ treprostinil là từ khoảng 0,04 đến khoảng 10 µg/mL.

16. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ treprostinil là từ khoảng 0,5 đến khoảng 10 µg/mL.

17. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ treprostinil là từ khoảng 0,5 đến khoảng 2 µg/mL.

18. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ treprostinil là khoảng 0,5, khoảng 0,6, khoảng 1, khoảng 2, khoảng 2,3, khoảng 9,3 hoặc khoảng 10 µg/mL.

19. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ treprostinil là khoảng 1 µg/mL.

20. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này chứa thêm kẽm.

21. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm là từ khoảng 0,2 đến khoảng 2 mM.

22. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm là từ khoảng 0,3 đến khoảng 1,7 mM.

23. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm là từ khoảng 0,7 đến khoảng 1,7 mM.

24. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm là từ khoảng 0,3 đến khoảng 1 mM.

25. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm là từ khoảng 0,4 đến khoảng 0,8 mM.

26. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm là khoảng 0,3, khoảng 0,4, khoảng 0,5, khoảng 0,6, khoảng 0,7, khoảng 0,8, khoảng 0,9 mM, khoảng 1,25 hoặc khoảng 1,7 mM.

27. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm là khoảng 0,6 mM.

28. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm là khoảng 0,7 mM.

29. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm là khoảng 0,8 mM.

30. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm là khoảng 0,9 mM.

31. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó được phẩm này chứa thêm magie.

32. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa magie mà có mặt với nồng độ đủ tạo ra tỷ lệ mol magie so với xitrat từ khoảng 1:2 đến khoảng 1:10.

33. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa magie mà có mặt với nồng độ đủ tạo ra tỷ lệ mol magie so với xitrat từ khoảng 1:1 đến khoảng 1:5.

34. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó tỷ lệ mol magie so với xitrat là từ khoảng 1:3 đến khoảng 1:5.

35. Được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa magie với nồng độ từ khoảng 1 đến khoảng 15 mM.

36. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa magie với nồng độ từ khoảng 2,5 đến khoảng 10 mM.

37. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa magie với nồng độ từ khoảng 5 đến khoảng 10 mM.

38. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa magie với nồng độ từ khoảng 2,5 đến khoảng 7,5 mM.

39. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa magie với nồng độ khoảng 2,5, khoảng 5, khoảng 7,5 hoặc khoảng 10 mM.

40. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa magie trong đó magie được cung cấp dưới dạng magie clorua.

41. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này chứa thêm natri clorua.

42. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này chứa natri clorua với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 50 mM.

43. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này chứa natri clorua với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 10 đến khoảng 40 mM.

44. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này chứa natri clorua với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 15 đến khoảng 25 mM.

45. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này chứa natri clorua với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 20 mM.

46. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này chứa natri clorua với nồng độ khoảng 1, khoảng 2, khoảng 3, khoảng 4, khoảng 5, khoảng 6, khoảng 7, khoảng 8, khoảng 9, khoảng 10, khoảng 11, khoảng 12, khoảng 13, khoảng 14, khoảng 15, khoảng 16, khoảng 17, khoảng 18, khoảng 19 hoặc khoảng 20 mM.

47. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó tổng nồng độ clorua là từ khoảng 1 đến khoảng 100 mM.

48. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó tổng nồng độ clorua là từ khoảng 10 đến khoảng 100 mM.

49. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 10 đến khoảng 50 mM.

50. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 13 đến khoảng 45 mM.

51. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 16 đến khoảng 35 mM.

52. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó tổng nồng độ clorua nằm trong khoảng từ khoảng 20 đến khoảng 25 mM.

53. Theo các phương án nhất định, tổng nồng độ clorua là khoảng 15 mM, khoảng 16 mM, khoảng 17 mM, khoảng 18 mM, khoảng 19 mM, khoảng 20 mM, khoảng 21 mM, khoảng 22 mM, khoảng 23 mM, khoảng 24 mM hoặc khoảng 25 mM.

54. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này còn chứa thêm chất hoạt động bề mặt.

55. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này còn chứa thêm poloxame 188.

56. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa poloxame 188 với nồng độ khoảng 0,003 đến khoảng 2% khối lượng/thể tích.

57. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa poloxame 188 với nồng độ khoảng 0,003 đến khoảng 0,3% khối lượng/thể tích.

58. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa poloxame 188 với nồng độ khoảng 0,01 đến khoảng 0,2% khối lượng/thể tích.

59. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa poloxame 188 với nồng độ khoảng 0,06 đến khoảng 0,12% khối lượng/thể tích.

60. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này còn chứa thêm chất bảo quản.

61. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa chất bảo quản được chọn từ nhóm gồm m-cresol và phenol.

62. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa chất bảo quản là m-cresol.

63. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa m-cresol với nồng độ từ khoảng 2,5 đến khoảng 3,8 mg/mL.

64. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, chứa m-cresol với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL.

65. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này còn chứa thêm chất tạo trương lực.

66. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa chất tạo trương lực là glyxerol.

67. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chứa glyxerol với nồng độ từ khoảng 1 đến khoảng 20 mg/mL.

68. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chứa glyxerol với nồng độ từ khoảng 1 đến khoảng 15 mg/mL.

69. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa glyxerol với nồng độ từ khoảng 1 đến khoảng 2 mg/mL, khoảng 3 đến khoảng 4 mg/mL, khoảng 5 đến khoảng 6 mg/mL, khoảng 7 đến khoảng 8 mg/mL, khoảng 9 đến khoảng 10 mg/mL, khoảng 11 đến khoảng 12 mg/mL, khoảng 13 đến khoảng 14 mg/mL hoặc khoảng 15 đến khoảng 16 mg/mL.

70. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa glyxerol với nồng độ khoảng 5, khoảng 12 hoặc khoảng 16 mg/mL.

71. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên chứa glyxerol với nồng độ khoảng 12 mg/mL.

Sáng chế được minh họa tiếp bằng các ví dụ sau đây, các ví dụ này không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Nghiên cứu dược động học và dược lực học

Insulin lispro được bào chế với 0,5 µg/ml treprostinil và/hoặc 15 mM natri xitrat

Lợn đực Yucatan nhỏ mắc bệnh tiểu đường (do alloxan gây ra), đã thiến (độ tuổi trung bình 23 tháng, khối lượng cơ thể trung bình 45 kg) với các cổng tiếp cận mạch đã lắp từ trước được sử dụng với sự giám sát của nhân viên và bác sĩ thú y. Các động vật bị tiểu đường này được nhốt riêng và được uống nước sạch ở mọi thời điểm. Chúng được cho ăn hai bữa mỗi ngày theo chế độ ăn tiêu chuẩn và được cho dùng

insulin cơ bản duy trì thích hợp và qua bữa ăn hai lần mỗi ngày để kiểm soát tình trạng tiểu đường của chúng.

Chế phẩm thử nghiệm (các chế phẩm A, B và C trong bảng sau) được bào chế bằng cách bổ sung lượng xitrat và/hoặc treprostinil đã chỉ ra vào lọ chứa Humalog®. Lượng treprostinil cần thiết được rút ra từ lọ chứa Remodulin® 1 mg/mL. Mỗi mL Remodulin® cũng chứa 3 mg m-cresol, 6,3 mg natri xitrat và 5,3 mg natri clorua, do đó việc bổ sung treprostinil vào các chế phẩm thử nghiệm cũng dẫn đến bổ sung lượng nhỏ các tá dược này, cũng như pha loãng các tá dược của Humalog® chút ít. Tuy nhiên, những lượng nhỏ như vậy không được cho là ảnh hưởng đến các đặc tính của chế phẩm và do đó không được thể hiện trong bảng 1 sau đây.

Bảng 1.

Tên	Chế phẩm
Chế phẩm A	100 đơn vị/ml insulin lispro 0,5 µg/ml treprostinil 1,88 mg/ml phosphat 3,15 mg/mL m-cresol 16 mg/ml glyxerol 0,3 mM Zn độ pH 7,4
Chế phẩm B	98 đơn vị/ml insulin lispro 15 mM natri xitrat 1,88 mg/ml phosphat 3,15 mg/mL m-cresol 16 mg/ml glyxerol 0,3 mM Zn độ pH 7,4
Chế phẩm C	98 đơn vị/ml insulin lispro 15 mM natri xitrat 0,5 µg/ml treprostinil 1,88 mg/ml phosphat 3,15 mg/mL m-cresol 16 mg/ml glyxerol 0,3 mM Zn độ pH 7,4
Humalog®	100 U/mL insulin lispro 1,88 mg/ml phosphat 16 mg/mL glyxerol 3,15 mg/mL meta-cresol 0,3 mM kẽm độ pH 7,4

Vào ngày trước khi thử nghiệm, các động vật này được cho ăn một nửa khẩu phần hằng ngày của chúng và được cho dùng 0,2 U/kg Humalog® Mix 75/25 Insulin khi dùng liều duy trì buổi sáng của chúng. Tất cả các động vật thử nghiệm được cho nhịn ăn qua đêm và không được dùng insulin buổi tối hoặc bữa ăn của chúng trước khi dùng thuốc vào ngày thử nghiệm.

Vào buổi sáng ngày thử nghiệm, tất cả các động vật được cột chặt vào dải băng và được tiếp cận qua các cổng tiếp cận mạch của chúng (được tạo ra để lấy mẫu máu) và kiểm tra về độ mở. Các động vật này được chia ngẫu nhiên thành các nhóm điều trị.

Thử nghiệm là thiết kế chéo hoàn toàn với $n=20$. Hai trong số bốn phần không thực hiện được ở một động vật do cổng không mở, do đó các chế phẩm A và C có $n=19$ trong khi chế phẩm B và Humalog® có $n=20$.

Sau khi thu thập hai mẫu máu mồi cơ sở (-30 và -20 phút), các động vật được đưa trở lại chuồng và được cho ăn ~300 g. Hai mươi phút sau khi bữa ăn được tiêu thụ hoàn toàn, các động vật này được tiêm chế phẩm thử nghiệm dưới da vào sườn bên (0 phút) bằng xi lanh chứa insulin của Terumo (0,3 hoặc 0,5 ml bằng kim 1/2"). Tất cả các động vật được cho tiếp cận nước sạch, mới trong suốt thời kỳ thu mẫu máu còn lại.

Loạt mẫu máu (2,0 mL mỗi mẫu) được thu thập từ mỗi động vật ở các thời điểm sau: -30, -20 (sau đó cho ăn ngay), 0 (ngay trước khi dùng liều), 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 150, 180, 240, và 360 phút sau khi dùng liều dưới da.

Các mẫu máu (chất chống đông: không [huyết thanh]) được giữ ở nhiệt độ môi trường trong ít nhất 30 phút nhưng không quá 2 giờ để cho phép đông máu. Huyết thanh sau đó được tách ra bằng cách ly tâm và chia thành hai phần phân ước và bảo quản lạnh đông ở khoảng -70°C .

Nồng độ glucoza trong huyết thanh được xác định bằng thiết bị phân tích tự động AU480 Clinical Chemistry Analyzer (Beckman Coulter, Inc., Brea, California). Phần phân ước để nghiên cứu PK được chuyển đến EMD Millipore Corp., St. Charles, MO trên đá khô bằng dịch vụ chuyển hàng ngày hôm sau và gồm cả bảng kê mẫu chi tiết.

Dữ liệu về glucoza trong huyết thanh được thể hiện trên bảng 2 sau đây dưới dạng giá trị trung bình (mg/dL) $\pm$ sai số chuẩn của giá trị trung bình (standard error of the mean - SEM) trừ khi được chỉ định khác.

Bảng 2.

	Humalog®		Chế phẩm A		Chế phẩm B		Chế phẩm C	
Thời gian (phút)	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM
-30	290,2	8,6	286,8	9,0	289,2	8,1	283,2	8,4
-20	297,6	8,5	299,2	10,2	297,6	9,0	297,5	7,5
0	311,3	8,6	311,0	10,7	312,2	9,5	309,6	7,4
5	318,1	8,9	316,8	10,0	319,0	9,6	314,9	8,1
10	318,9	8,6	315,3	11,4	305,2	11,7	295,7	10,3
15	312,3	9,2	297,6	13,5	276,6	12,8	265,1	11,6
30	297,1	9,8	251,9	18,6	220,3	16,2	205,5	17,0
45	288,3	12,0	233,1	16,7	204,5	18,5	209,8	17,1
60	244,1	14,7	187,9	17,5	178,5	18,6	159,2	20,0
75	231,5	15,3	166,6	18,2	169,0	20,4	146,3	20,4
90	204,6	15,6	145,7	18,5	157,7	21,4	133,2	21,1
105	181,9	15,9	127,0	18,1	144,7	21,4	118,7	18,9
120	153,3	16,2	111,4	17,3	128,2	21,1	111,7	18,5
150	120,2	16,8	86,4	15,8	115,7	20,0	102,9	15,9
180	101,5	16,5	76,4	14,5	106,3	18,2	97,0	13,2
240	82,8	12,2	92,3	14,2	100,7	13,3	98,6	12,3
360	90,3	14,4	130,5	18,2	111,8	17,2	126,3	17,0

Nồng độ insulin trong huyết thanh để phân tích PK được xác định bằng tổng RIA insulin. Giới hạn định lượng trên và dưới của thử nghiệm lần lượt là 20 pM và 5000 pM. Các giá trị dưới giới hạn định lượng dưới được lấy là 20 pM. Các phép phân tích được động học không ngăn được tiến hành bằng cách sử dụng Phoenix WinNonlin v6.3. Các thông số PK thu được từ nồng độ insulin trong huyết thanh được đưa ra trên bảng 3 sau đây.

Bảng 3.

Chế phẩm		Tmax (phút)	½ cực đại sớm (phút)	½ cực đại muộn (phút)	Khoảng Tmax(phút)	T50 (phút)
Humalog®	Giá trị trung bình (SE)	71,3 (7,3)	29,6 (4,1)	175 (14)	145 (14)	127 (6)
A	Giá trị trung bình (SE)	74,2 (7,6)	24,1 (3,8)	146 (12)	122 (13)	102 (5)
B	Giá trị trung bình (SE)	55,5 (7,8)	16,5 (4,9)	130 (12)	113 (14)	100 (6)
C	Giá trị trung bình (SE)	42,1 (6,6)	15,9 (3,9)	98,5 (13,4)	82,6 (13,6)	83,4 (5,7)

Nghiên cứu này củng cố rằng các chế phẩm theo sáng chế có tác dụng theo thời gian về mặt dược động học và/hoặc dược lực học được cải thiện.

Insulin lispro được bào chế với 10 mM xitrat và/hoặc 10 mg/mL treprostinil

Nghiên cứu trên các chế phẩm chứa nồng độ xitrat thay đổi và/hoặc 10 µg/mL treprostinil được tiến hành ở lợn đực Yucatan nhỏ, mắc bệnh tiểu đường (do alloxan gây ra), đã thiến (độ tuổi trung bình là 24 tháng, khối lượng cơ thể trung bình là 43 kg) sau đó thường là các quy trình được mô tả trên đây.

Chế phẩm thử nghiệm (các chế phẩm D-H trong bảng sau) được bào chế bằng cách bổ sung lượng xitrat và/hoặc treprostinil đã chỉ ra vào lọ chứa Humalog®. Như với nghiên cứu đã mô tả trên đây, lượng treprostinil cần thiết được rút ra từ lọ chứa Remodulin® 1 mg/mL, sao cho việc bổ sung treprostinil vào chế phẩm thử nghiệm cũng dẫn đến bổ sung lượng nhỏ m-cresol, natri xitrat và natri clorua, cũng như pha loãng các tá dược Humalog® chút ít. Tuy nhiên, những lượng nhỏ như vậy không được cho là ảnh hưởng đến các đặc tính của chế phẩm và do đó không được thể hiện trong bảng 4 sau đây.

Bảng 4.

Tên	Chế phẩm
Chế phẩm D	99,7 U/ml insulin lispro 5 mM xitrat 0,3 mM kẽm 3,15 mg/mL meta-cresol 16 mg/ml glycerin 1,88 mg/ml phosphat
Chế phẩm E	99,2 U/ml insulin lispro 10 mM xitrat 0,3 mM kẽm 3,15 mg/mL meta-cresol 16 mg/ml glycerin 1,88 mg/ml phosphat
Chế phẩm F	99,2 U/ml insulin lispro 10 µg/ml treprostinil 0,3 mM kẽm 3,15 mg/mL meta-cresol 16 mg/ml glycerin 1,88 mg/ml phosphat

Chế phẩm G	100,2 U/ml Insulin lispro 5 mM xitrat 10 µg/ml treprostinil 0,3 mM kẽm 3,15 mg/mL meta-cresol 16 mg/ml glyxerin 1,88 mg/ml phosphat
Chế phẩm H	99,6 U/ml Insulin lispro 10 mM xitrat 10 µg/ml treprostinil 0,3 mM kẽm 3,15 mg/mL meta-cresol 16 mg/ml glyxerin 1,88 mg/ml phosphat
Humalog®	100 U/mL KPB 1,88 mg/mL natri phosphat dibazo 16 mg/mL glyxerol 3,15 mg/mL meta-cresol 0,3 mM kẽm độ pH 7,4

Nghiên cứu này được thiết kế dưới dạng thiết kế chéo hoàn toàn 19 lợn, trong đó mỗi lợn được nghiên cứu trên từng chế phẩm thử nghiệm. Một vài động vật không tham gia vào nghiên cứu do cổng không mở do đó chế phẩm D và E có n=18 trong khi các chế phẩm F-H có n=19 và Humalog® n=17.

Dữ liệu về glucoza trong huyết thanh được thể hiện trên bảng 5 sau đây dưới dạng giá trị trung bình (mg/dL) +/- SEM) trừ khi được chỉ định khác.

Bảng 5.

	Humalog®		Chế phẩm D		Chế phẩm E		Chế phẩm F		Chế phẩm G		Chế phẩm H	
Thời gian (phút)	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM
-30	340,5	8,2	340,2	8,9	321,2	7,3	335,2	8,5	337,4	7,5	331,8	10,1
-20	344,4	8,0	341,3	9,2	326,2	7,8	339,8	7,7	344,6	6,7	338,6	11,0
0	362,6	7,7	353,2	10,3	339,4	9,5	357,8	7,9	354,7	7,9	349,1	11,4
5	377,6	7,9	370,6	9,8	349,5	11,9	367,9	8,0	369,1	8,5	368,2	12,4
10	376,7	8,4	360,7	9,3	329,6	12,0	361,0	11,1	361,9	9,0	345,6	13,4
15	372,4	10,1	341,7	13,2	307,6	13,7	348,1	12,3	342,6	9,1	321,6	14,6
30	339,8	17,9	292,2	17,3	256,6	18,5	304,1	14,7	299,0	12,9	276,4	20,6
45	301,5	21,8	251,1	21,0	230,9	20,9	263,1	18,0	254,6	16,0	237,3	24,2
60	272,4	25,7	224,2	21,3	207,3	20,1	230,9	21,6	230,3	18,3	208,8	26,4
75	253,0	26,7	202,3	22,6	178,2	19,3	197,2	22,8	196,9	20,3	168,5	25,2
90	220,2	28,3	186,1	23,0	164,6	20,5	173,4	23,5	173,6	21,4	153,8	26,2
105	195,6	27,6	148,2	20,0	144,3	19,6	148,6	23,1	147,6	20,9	131,8	24,2
120	184,4	27,5	133,3	19,1	129,9	18,2	130,0	22,6	124,9	20,4	115,4	23,0
150	158,2	24,8	114,1	17,7	104,6	18,5	101,4	18,6	98,8	16,8	90,1	18,3
180	134,3	22,0	102,7	16,5	86,1	15,8	90,8	17,5	92,2	14,6	76,8	15,9
240	122,4	19,7	93,7	16,4	75,2	12,4	93,5	15,0	91,1	17,5	74,4	11,7
360	118,4	17,1	104,0	15,8	90,7	15,1	113,9	13,7	113,7	14,1	105,1	11,1

Nồng độ insulin trong huyết thanh và các thông số PK của đối chứng Humalog® và các chế phẩm E, F và H được tạo ra và phân tích nhìn chung như đã mô tả trên đây, và kết quả PK được đưa ra trong bảng 6 sau đây.

Bảng 6.

Chế phẩm		Tmax (phút)	½ cực đại sớm (phút)	½ cực đại muộn (phút)	Khoảng (phút)	T50 (phút)
Humalog®	Giá trị trung bình (SE)	69,7 (12,5)	17,8 (4,1)	155 (16)	138 (16)	113 (7)
E	Giá trị trung bình (SE)	53,8 (10,3)	6,46 (0,55)	151 (15)	144 (15)	104 (5)
F	Giá trị trung bình (SE)	54,2 (7,29)	23,1 (4,8)	110 (11)	87,1 (10,8)	89,4 (5,7)
H	Giá trị trung bình (SE)	39,5 (4,95)	9,85 (1,77)	109 (11)	99,6 (11,5)	90,7 (5,5)

Nghiên cứu này củng cố rằng các chế phẩm theo sáng chế có tác dụng theo thời gian về mặt dược động học và/hoặc dược lực học được cải thiện.

Insulin lispro được bào chế với 15 mM xitrat và 0,6-9,3 µg/mL treprostinil

Nghiên cứu trên các chế phẩm chứa 15 mM xitrat và/hoặc nồng độ treprostinil thay đổi được tiến hành ở lợn đực Yucatan nhỏ, mắc bệnh tiểu đường (do alloxan gây ra), đã thiến (độ tuổi trung bình là 25 tháng, khối lượng cơ thể trung bình là 43 kg) sau đó thường là các quy trình được mô tả trên đây.

Chế phẩm thử nghiệm (các chế phẩm I-M trong bảng sau) được bào chế bằng cách bổ sung lượng xitrat và/hoặc treprostinil đã chỉ ra, cũng như $MgCl_2$ và/hoặc NaCl trong các chế phẩm được chỉ rõ sau đây vào lọ chứa Humalog®. Như với nghiên cứu đã mô tả trên đây, lượng treprostinil cần thiết được rút ra từ lọ chứa Remodulin® 1 mg/mL, sao cho việc bổ sung treprostinil vào chế phẩm thử nghiệm cũng dẫn đến bổ sung lượng nhỏ m-cresol, natri xitrat và natri clorua, cũng như pha loãng các tá dược Humalog® chút ít. Tuy nhiên, những lượng nhỏ như vậy không được cho là ảnh hưởng đến các đặc tính của chế phẩm và do đó không được thể hiện trong bảng 7 sau đây.

Bảng 7

Tên	Chế phẩm
Chế phẩm I	99,1 U/ml Insulin lispro 15 mM xitrat 5 mM $MgCl_2$ 15 mM NaCl 0,3 mM kẽm 3,15 mg/mL meta-cresol 1,88 mg/mL natri phosphat dibazo 16 mg/ml glyxerin,
Chế phẩm J	99,8 U/ml Insulin lispro 9,30 µg/ml treprostinil 0,3 mM kẽm 3,15 mg/mL meta-cresol 1,88 mg/mL natri phosphat dibazo 16 mg/ml glyxerin

Tên	Chế phẩm
Chế phẩm K	99,6 U/ml Insulin lispro 15 mM xitrat 5 mM MgCl ₂ 15 mM NaCl 0,60 µg/ml treprostinil 0,3 mM kẽm 3,15 mg/mL meta-cresol 1,88 mg/mL natri phosphat dibazo 16 mg/ml glyxerin
Chế phẩm L	100,4 U/ml Insulin lispro 15 mM xitrat 5 mM MgCl ₂ 15 mM NaCl 2,30 µg/ml treprostinil 0,3 mM kẽm 3,15 mg/mL meta-cresol 1,88 mg/mL natri phosphat dibazo 16 mg/ml glyxerin
Chế phẩm M	100,3 U/ml Insulin lispro 15 mM xitrat 5 mM MgCl ₂ 15 mM NaCl 9,30 µg/ml treprostinil 0,3 mM kẽm 3,15 mg/mL meta-cresol 1,88 mg/mL natri phosphat dibazo 16 mg/ml glyxerin
Humalog®	100 U/mL KPB 1,88 mg/mL natri phosphat dibazo 16 mg/mL glyxerol 3,15 mg/mL meta-cresol 0,3 mM kẽm độ pH 7,4

Nghiên cứu này được thiết kế dưới dạng thiết kế chéo hoàn toàn 17 lợn, trong đó mỗi lợn được nghiên cứu trên từng chế phẩm thử nghiệm. Một số động vật không tham gia vào nghiên cứu do cổng không mở hoặc mức glucoza ở mức cơ sở thấp. Dữ

liệu cho Humalog® là n=17, chế phẩm I là n=17, chế phẩm J là n = 16, chế phẩm K là n=15, chế phẩm L là n=16 và chế phẩm M là n=16.

Dữ liệu về glucoza trong huyết thanh được thể hiện trên bảng 8 sau đây dưới dạng giá trị trung bình (mg/dL) +/- SEM trừ khi được chỉ định khác.

Bảng 8.

	Humalog®		Chế phẩm I		Chế phẩm J		Chế phẩm K		Chế phẩm L		Chế phẩm M	
Thời gian (phút)	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM
-30	302,5	7,0	324,0	7,2	322,4	11,0	319,6	10,4	337,6	13,6	321,6	7,9
-20	310,7	7,8	330,7	7,6	330,3	10,3	324,5	12,1	345,3	13,8	325,4	7,6
0	321,9	8,6	338,5	9,3	340,1	11,9	335,9	11,7	357,0	15,7	332,2	8,9
5	335,6	9,4	353,8	9,2	356,9	12,6	346,2	12,0	371,2	15,7	346,4	9,2
10	340,3	9,8	347,0	9,6	356,7	11,7	337,7	14,4	365,6	16,5	339,2	11,8
15	326,6	9,7	315,6	10,9	340,1	10,7	306,5	13,7	339,0	17,3	302,4	13,4
30	276,6	17,6	264,1	17,9	271,9	15,5	240,0	15,4	274,7	23,1	244,0	20,6
45	241,2	22,9	220,2	20,2	237,5	14,4	197,9	20,8	226,7	26,8	195,1	22,6
60	202,1	26,0	186,9	21,5	192,9	17,8	160,3	21,4	195,9	27,5	157,9	23,6
75	182,5	27,2	159,9	22,1	155,7	19,8	140,9	21,2	171,4	28,1	136,8	22,7
90	158,0	27,4	141,2	23,9	133,0	19,2	119,5	21,5	153,2	27,4	122,0	21,1
105	142,7	25,2	127,1	23,2	118,0	19,8	105,3	19,8	132,6	25,6	115,9	20,3
120	122,8	23,6	115,8	21,6	98,7	18,5	94,5	17,3	121,8	24,8	99,3	18,6
150	107,9	21,6	101,3	18,2	72,5	15,7	82,8	14,3	110,3	21,7	87,6	17,1
180	90,4	17,1	98,6	18,2	66,4	11,9	79,2	11,2	101,8	20,4	88,2	15,4
240	83,4	14,5	96,5	16,8	72,0	8,0	97,1	11,8	111,2	22,2	98,3	14,3
360	86,0	18,6	96,1	13,3	122,2	16,5	149,5	19,8	156,8	21,2	125,4	20,4

Nồng độ insulin trong huyết thanh và các thông số PK được tạo ra và phân tích nhìn chung như đã mô tả trên đây, và kết quả PK được đưa ra trong bảng 9 sau đây.

Bảng 9.

Chế phẩm		Tmax (phút)	½ cực đại sớm (phút)	½ cực đại muộn (phút)	Khoảng (phút)	T50 (phút)
Humalog®	Giá trị trung bình (SE)	60,0 (7,6)	22,9 (5,8)	152 (17)	129 (18)	107 (7)
I	Giá trị trung bình (SE)	57,1 (9,5)	16,0 (3,5)	144 (16)	128 (17)	102 (5)
J	Giá trị trung bình (SE)	55,3 (5,3)	13,7 (1,5)	139 (9)	125 (9)	96,8 (4,6)
K	Giá trị trung bình (SE)	55,0 (6,2)	15,8 (2,2)	136 (10)	120 (11)	91,1 (4,8)
L	Giá trị trung bình (SE)	50,0 (7,2)	13,2 (2,1)	121 (10)	108 (10)	90,7 (6,6)
M	Giá trị trung bình (SE)	52,5 (7,4)	11,7 (1,5)	139 (18)	127 (18)	99,0 (7,4)

Nghiên cứu này củng cố rằng các chế phẩm theo sáng chế có tác dụng theo thời gian về mặt dược động học và/hoặc dược lực học được cải thiện.

Insulin lispro được bào chế với 10 µg/mL treprostinil và 15 hoặc 25 mM xitrat

Nghiên cứu trên các chế phẩm chứa 10µg/mL treprostinil và 15 hoặc 25 mM xitrat được tiến hành ở lợn đực Yucatan nhỏ, mắc bệnh tiểu đường (do alloxan gây ra), đã thiến (độ tuổi trung bình là 33 tháng, khối lượng cơ thể trung bình là 49 kg) sau đó thường là các quy trình được mô tả trên đây.

Chế phẩm thử nghiệm (các chế phẩm N và O trong bảng sau) được bào chế bằng cách bổ sung lượng xitrat, treprostinil, NaCl và MgCl₂ đã chỉ ra vào lọ chứa Humalog®. Như với nghiên cứu đã mô tả trên đây, lượng treprostinil cần thiết được rút ra từ lọ chứa Remodulin® 1 mg/mL, sao cho việc bổ sung treprostinil vào chế phẩm thử nghiệm cũng dẫn đến bổ sung lượng nhỏ m-cresol, natri xitrat và natri clorua, cũng như pha loãng các tá dược Humalog® chút ít. Tuy nhiên, những lượng nhỏ như vậy không được cho là ảnh hưởng đến các đặc tính của chế phẩm và do đó không được thể hiện trong bảng 10 sau đây.

Bảng 10

Tên	Chế phẩm
Chế phẩm N	99,5 U/ml Insulin lispro 10 µg/ml treprostinil 15 mM xitrat 5 mM MgCl ₂ 15 mM NaCl 16 mg/ml glyxerin
Chế phẩm O	99,6 U/ml insulin lispro 10 µg/ml treprostinil 25 mM xitrat 5 mM MgCl ₂ 15 mM NaCl 16 mg/ml glyxerin
Humalog®	100 U/mL KPB 1,88 mg/mL natri phosphat dibazo 16 mg/mL glyxerol 3,15 mg/mL meta-cresol 0,3 mM kẽm độ pH 7,4

Nghiên cứu này được thiết kế dưới dạng thiết kế chéo hoàn toàn 20 lợn, trong đó mỗi lợn được nghiên cứu trên từng chế phẩm thử nghiệm. Một động vật không tham gia vào nhóm chế phẩm N do cổng không mở hoặc mức glucoza mức cơ sở thấp, dữ liệu là n=19 cho nhóm đó. Dữ liệu về glucoza trong huyết thanh được thể hiện trên bảng 11 sau đây dưới dạng giá trị trung bình (mg/dL) +/- SEM trừ khi được chỉ định khác.

Bảng 11.

Thời gian (phút)	Humalog®		Chế phẩm N		Chế phẩm O	
	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM
-30	323,8	8,4	336,3	9,4	323,3	9,2
-20	332,6	9,1	344,7	9,5	336,0	9,2
0	343,1	8,8	354,0	9,9	346,6	10,2
5	353,3	9,8	364,5	10,8	355,2	10,9
10	355,8	9,8	357,1	9,1	342,3	11,4
15	355,2	10,6	340,7	11,6	325,6	13,8
30	317,9	12,9	293,3	15,9	270,0	17,9
45	291,4	19,1	254,8	19,2	239,7	21,0
60	255,6	21,1	220,9	21,3	216,1	22,8
75	239,8	23,9	195,2	21,7	193,8	22,8
90	205,7	23,7	173,8	22,6	172,6	22,7
105	184,4	22,8	156,0	21,5	158,6	22,7
120	162,0	21,7	139,1	19,4	145,9	21,7
150	135,3	20,5	107,1	18,2	116,8	19,4
180	119,2	18,4	86,1	16,5	104,8	18,3
240	84,1	13,3	83,3	13,1	80,8	14,8
360	63,4	11,4	108,6	14,2	86,1	10,8

Nói chung, các nghiên cứu được mô tả trên đây củng cố rằng các chế phẩm theo sáng chế có tác dụng được động học và/hoặc được lực học nhanh hơn so với các chế phẩm thương mại của các sản phẩm tương tự insulin hiện có.

Thử nghiệm độ ổn định

Độ ổn định của insulin lispro khi được bào chế với một khoảng nồng độ xitrat, treprostini và các tá dược khác được đánh giá. Chế phẩm của các dạng bào chế làm ví dụ, được thể hiện trong bảng 12 dưới đây, được bào chế bằng cách bào chế được chất insulin lispro với các tá dược khác đã chỉ ra.

Bảng 12

Tên	Chế phẩm
Chế phẩm P	100 U/mL insulin lispro 15 mM xitrat 10 µg/mL treprostinil 0,65 mM kẽm 5 mM MgCl ₂ 0,06% Poloxame 188 3,15 mg/mL m-cresol 17,5 mM glyxerol độ pH 7,4
Chế phẩm Q	100 U/mL insulin lispro 20 mM xitrat 10 µg/mL treprostinil 0,65 mM kẽm 6,6 mM MgCl ₂ 0,06% Poloxame 188 3,15 mg/mL m-cresol 15,68 mM glyxerol độ pH 7,4
Chế phẩm R	100 U/mL insulin lispro 25 mM xitrat 10 µg/mL treprostinil 8,3 mM MgCl ₂ 0,65 mM kẽm 0,06% Poloxame 188 3,15 mg/mL m-cresol 13,82 mM glyxerol độ pH 7,4

Các dung dịch được lọc bằng bộ lọc Steriflip Vacuum 50 ml bằng màng PES 0,22 µm (Cat#: SCGP00525, EMD Millipore, Billerica, MD) và phân phối vào các lọ 10-mL với nắp gấp hoặc ống insulin thủy tinh 3-mL, sau đó ủ lần lượt ở 4°C và 30°C. Các mẫu 4°C được bảo quản không khuấy động trong 64 ngày, trong khi các mẫu 30°C được ủ không khuấy động trong 36 ngày, sau đó là giai đoạn sử dụng trong 28 ngày. Trong mô phỏng việc sử dụng, vật chứa được lộn ngược và mẫu được rút ra từ từng lọ hoặc ống ba lần một ngày trong 28 ngày. Hai lần rút mẫu được thực hiện ở từng thời điểm vào các ngày trước hoặc sau thứ bảy, chủ nhật hoặc ngày nghỉ. Các phần phân ước 80 µL được rút ra từ mỗi lọ bằng xi lanh insulin Terumo U-100 (1/2 cc 27 G x 1/2") và 30 µL được rút ra từ mỗi ống bằng bút tiêm HumaPen Luxura HD sử dụng kim Comfort Point 6mm (31 G x 1/4").

Các mẫu được thu thập từ ngày 36 (ngày 1 của giai đoạn sử dụng ở 30°C), ngày 50 và ngày 64 được phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao đảo pha (reversed-phase high-performance liquid chromatography - RP-HPLC) và phương pháp sắc ký loại trừ theo kích thước (size exclusion chromatography - SEC) phân tích.

Tất cả các chế phẩm cũng được đánh giá trong các ống insulin thủy tinh 3 mL ở 37°C trong khi lắc ở ~100 vòng/phút. Điều kiện này được dự định để biểu thị độ ổn định trong liệu pháp truyền insulin dưới da liên tục. Các mẫu điểm cuối từ điều kiện này được phân tích bằng phương pháp RP-HPLC và SEC.

Việc phân tích bằng RP-HPLC được thực hiện để đánh giá độ tinh khiết của protein trong từng chế phẩm ở các thời điểm ổn định bằng cách sử dụng thiết bị phát hiện UV ở 214 nm. Mỗi mẫu (5 µL) được tách bằng cách sử dụng cột Zorbax 300SB-C18, Rapid Resolution 4,6 X 150 mm 3,5-micromet (Part # 863973-902) ở 40°C với tốc độ dòng 0,6 mL/phút và pha động A (50 mM sulfat, độ pH=2,3 + 20% axetonitril (thể tích/thể tích)) và pha động B (50 mM sulfat, độ pH 2,3 + 50% axetonitril (thể tích/thể tích)). Gradient của pha động B ở 0, 0, 3, 15, 20, 26, 27, 27,5 và 35,0 phút lần lượt là 21, 25, 25, 30, 80, 80, 21 và 21%. Hàm lượng insulin được tính toán bằng RP-HPLC bằng cách kết hợp tích phân của các diện tích đỉnh insulin chính và diện tích A21 sau đó chia cho chuẩn insulin lispro. Sự mất mát insulin của các mẫu chế phẩm so với đối chứng Humalog® là nhỏ hơn 5% đối với tất cả các mẫu trong tới 64 ngày ở 4°C và 30°C. Tỷ lệ phần trăm mẫu nằm ngoài đỉnh chính với A21 được tính toán bằng cách chia diện tích đỉnh chính theo phân tích sắc ký cho tổng diện tích đỉnh và trừ diện tích đo và A21 cho 100. Tỷ lệ phần trăm ngoài diện tích đỉnh chính là dưới 1,76% đối với tất cả các mẫu ở 4°C trong 64 ngày và dưới 2,48% đối với tất cả các mẫu ở 30°C trong 64 ngày.

Đối với phân tích SEC, mỗi mẫu (5 µL) được tách bằng cột Sepax Zenix-C SEC-80, 7,8 x 300 mm, hạt 3 µm (catalog# 233080-7830) ở 5°C và tốc độ dòng 1,0 mL/phút với bước giải hấp đẳng dòng pha động (0,1% TFA, 50% ACN) với thời gian chạy 25 phút.

Tỷ lệ phần trăm polyme cao phân tử (%HMWP) được tính toán bằng cách lấy tích phân tổng diện tích theo phần trăm của tất cả các đỉnh giải hấp trước đỉnh chính. Kết quả (% HMWP) được đưa ra trong bảng sau. Thành phần là dưới 1% đối với tất cả

các mẫu trong tới 64 ngày ở 4°C và 30°C, và thành phần trong các mẫu HMWP chứa xitrat là tương đương với thành phần HMWP trong mẫu đối chứng Humalog®.

Bảng 13. Các lọ được bảo quản ở 4°C: hàm lượng insulin, đơn vị/mL.

Chế phẩm	Ngày 36	Ngày 50	Ngày 64
P	100,07	99,89	99,36
Q	100,06	99,88	99,38
R	100,03	99,85	99,29

Bảng 14. Các lọ được bảo quản ở 4°C: các chất có liên quan khác, phần trăm.

Chế phẩm	Ngày 36	Ngày 50	Ngày 64
P	0,92	1,05	1,17
Q	0,93	1,07	1,12
R	0,96	1,09	1,32

Bảng 15. Các lọ được bảo quản ở 4°C: chất cao phân tử, phần trăm.

Chế phẩm	Ngày 36	Ngày 50	Ngày 64
P	0,17	0,19	0,21
Q	0,16	0,20	0,22
R	0,16	0,20	0,21

Bảng 16. Các lọ được bảo quản ở 30°C: hàm lượng insulin, đơn vị/mL.

Chế phẩm	Ngày 36	Ngày 50	Ngày 64
P	98,77	98,60	98,47
Q	98,67	98,50	98,46
R	98,82	98,65	98,46

Bảng 17. Các lọ được bảo quản ở 30°C: các chất có liên quan khác, phần trăm.

Chế phẩm	Ngày 36	Ngày 50	Ngày 64
P	1,23	1,40	1,53
Q	1,33	1,50	1,54
R	1,18	1,35	1,54

Bảng 18. Các lọ được bảo quản ở 30°C: chất cao phân tử, phần trăm.

Chế phẩm	Ngày 36	Ngày 50	Ngày 64
P	0,33	0,41	0,46
Q	0,29	0,39	0,43
R	0,29	0,38	0,43

Bảng 19. Các cột 3-mL được bảo quản 14 ngày ở 37°C có lắ.

Chế phẩm	%HMW	Đơn vị/ml	%Các chất có liên quan khác
P	0,33	98,24	1,32
Q	0,34	97,88	1,54
R	0,30	97,66	1,59

Nghiên cứu bổ sung về độ ổn định được tiến hành trong đó các chế phẩm chứa insulin lispro và xitrat, treprostinil, kẽm và các tá dược khác với nồng độ khác nhau trong các điều kiện khác nhau. Hai mươi bốn chế phẩm chứa xitrat và hai chế phẩm đối chứng không chứa xitrat được bào chế. Nồng độ xitrat, magie clorua, Zn, clorua tổng số, treprostinil và poloxame trong các chế phẩm này được chỉ ra trong bảng 20 sau đây.

Bảng 20. Các chế phẩm được thử nghiệm

Hợp chất số	Xitrat (mM)	MgCl ₂ (mM)	Tổng Zn (mM)	Tổng clorua (mM)	Treprostinil (µg/mL)	Poloxame 188%
S	0	0	0,3	10	0	0
T	0	0	0,3	20	0	0
U	12	2,5	0,4	10	2	0
V	12	2,5	0,8	13	0	0
X	12	7,5	0,4	20	0	0
Y	12	7,5	0,8	23	2	0
Z	15	5	0,6	20	1	0
AA	18	2,5	0,4	10	0	0
BB	18	2,5	0,8	13	2	0
CC	18	7,5	0,4	20	2	0
DD	18	7,5	0,8	23	0	0
EE	15	5	0,6	16	1	0,045
FF	15	5	0,6	16	1	0,045
GG	15	5	0,6	25	1	0,045
HH	15	5	0,6	30	1	0,045
II	15	5	0,6	50	1	0,045
JJ	15	5	0,6	100	1	0,045
KK	15	5	0,6	20	1	0,06
LL	12	2,5	0,4	10	0	0,09
MM	12	2,5	0,8	13	2	0,09
NN	12	7,5	0,4	20	2	0,09
OO	12	7,5	0,8	23	0	0,090
PP	18	2,5	0,4	10	2	0,09
QQ	18	2,5	0,8	13	0	0,09
RR	18	7,5	0,4	20	0	0,090
SS	18	7,5	0,8	23	2	0,090

Để bào chế các chế phẩm, dung dịch gốc lispro đặc được chuẩn bị chứa 200 đơn vị insulin lispro/mL, 24,2 mg glycerin/mL, 6,30 mg metacresol/mL, và 0,6 mM kẽm trong nước để thao tác vô trùng lượng lớn. Dung dịch gốc này được điều chỉnh độ pH bằng axit clohydric để hòa tan insulin lispro và sau đó điều chỉnh bằng natri hydroxit đến độ pH = 7,40.

Các chế phẩm chứa xitrat được bào chế bằng cách pha loãng dung dịch lispro đặc bằng dung dịch gốc tá dược: natri xitrat, magie clorua, kẽm oxit, treprostinitil, và poloxame 188 với thể tích thích hợp. Để đạt được hàm lượng clorua đích, dung dịch gốc natri clorua được bổ sung vào một số chế phẩm. Dung dịch này được điều chỉnh độ pH đến 7,30 – 7,50 bằng axit clohydric hoặc natri hydroxit sau đó là lượng đủ nước để thao tác vô trùng lượng lớn.

Các chế phẩm không chứa xitrat được bào chế bằng cách pha loãng dung dịch lispro đặc bằng nước để thao tác vô trùng lượng lớn với lượng thích hợp hoặc nước để thao tác vô trùng lượng lớn và natri clorua với lượng thích hợp. Dung dịch này được điều chỉnh độ pH đến 7,30 – 7,50 bằng axit clohydric hoặc natri hydroxit sau đó là lượng đủ nước để thao tác vô trùng lượng lớn.

Các chế phẩm được lọc vô trùng và sau đó được chuyển có đo thể tích sang các lọ thủy tinh 10 mL với lượng nạp 10,3 mL, đậy nắp, và bịt bằng nắp gấp. Hai mươi lọ được nạp mỗi mẻ.

Nghiên cứu này bao gồm bước đưa các lọ của từng chế phẩm vào một trong số ba điều kiện khác nhau, như được mô tả sau đây.

Bảng 21.

Tình trạng bệnh	Mô tả
Đối chứng (n=5)	Bảo quản tĩnh, ở vị trí thẳng đứng ở 5°C trong 39 ngày
Điều kiện bất lợi về nhiệt độ (n=5)	Mô phỏng vận tải điều kiện bất lợi khi vận chuyển sau đó bảo quản tĩnh, ở vị trí thẳng đứng ở 30°C trong 32 ngày
Điều kiện bất lợi tích lũy (n=5)	Mô phỏng vận tải điều kiện bất lợi khi vận chuyển sau đó là mô phỏng việc sử dụng của bệnh nhân trong 32 ngày, giữa những lần sử dụng liều bảo quản ở vị trí thẳng đứng ở 30°C

Như được chỉ ra trong bảng trên đây, các điều kiện bất lợi về nhiệt độ và điều kiện bất lợi tích lũy bao gồm đầu tiên là đưa các lọ vào trạng thái mô phỏng vận tải

điều kiện bất lợi khi vận chuyển, mà được thực hiện như được mô tả trong tài liệu International Safe Transit Association (ISTA) Procedure 3A (2008). Đối với điều kiện bất lợi về nhiệt độ, sau đó các lọ được đưa vào bảo quản tĩnh ở vị trí thẳng đứng ở 30°C. Đối với điều kiện bất lợi tích lũy, sau đó các lọ được đưa vào trạng thái mô phỏng việc sử dụng của bệnh nhân. Mô phỏng việc sử dụng của bệnh nhân được thực hiện bằng cách rút 8 đơn vị không khí vào xi lanh insulin bất kỳ, luồn kim vào lọ trong khi lọ ở vị trí thẳng đứng, đảm bảo rằng đầu kim không chạm vào dung dịch insulin, bơm không khí vào lọ, dốc ngược lọ và xi lanh, rút ra 8 đơn vị dung dịch sản phẩm, loại bỏ bong bóng khí bất kỳ trong xi lanh bằng cách di chuyển pitt tông từ từ để đẩy bong bóng trở lại lọ (lặp lại bước này nếu cần) và điều chỉnh pitt tông của xi lanh sao cho liều cuối là 8 đơn vị, lấy xi lanh ra, và đặt lọ trở lại máy ủ ở 30°C. Quy trình này được lặp lại cho ba liều một ngày trong 32 ngày. Khi không được chia liều, các lọ được bảo quản thẳng đứng ở 30°C.

Độ ổn định hóa học được kiểm tra bằng phương pháp sắc ký loại trừ theo kích thước (SEC) và HPLC đảo pha (RP-HPLC). Việc phân tích bằng RP-HPLC được thực hiện để đánh giá độ tinh khiết của protein trong từng chế phẩm bằng cách sử dụng thiết bị phát hiện UV ở 214 nm. Mỗi mẫu (5 µL) được tách bằng cách sử dụng cột Halo Peptide ES-C18, 4,6 X 150 mm 2,7-micromet (Part # 92124-702) ở 40°C với tốc độ dòng 1,0 mL/phút và pha động A (50 mM sulfat, độ pH=2,3 + 20% axetonitril (thể tích/thể tích)) và pha động B (50 mM sulfat, độ pH 2,3 + 50% axetonitril (thể tích/thể tích)). Gradient của pha động B ở 0, 2, 17, 22, 25, 29, 29,5 phút và 35 phút lần lượt là 25, 25, 27, 40, 90, 90, 25 và 25%. Hàm lượng insulin được tính toán bằng cách kết hợp tích phân của các đỉnh insulin chính và diện tích đỉnh B3 sau đó chia cho chuẩn insulin lispro. Đối với phân tích SEC, mỗi mẫu (50 µL) tách bằng cột Sepax Zenix-C SEC-80, 7,8 x 300 mm, hạt 3 µm (catalog# 233080-7830) ở 5°C và tốc độ dòng 1,0 mL/phút với bước giải hấp đẳng dòng pha động (0,1% TFA, 50% ACN) với thời gian chạy 25 phút. Tỷ lệ phần trăm polyme cao phân tử (%HMWP) được tính toán bằng cách lấy tích phân tổng diện tích theo phần trăm của tất cả các đỉnh giải hấp trước đỉnh chính. Một lọ mỗi chế phẩm PP và QQ được đưa vào điều kiện bất lợi tích lũy không thể được lấy mẫu do có sự tạo hạt. Tất cả các lọ khác được thử nghiệm, và mọi kết quả đều nằm trong chuẩn chấp nhận của insulin lispro đối với cả hai hiệu lực (95 – 105 U/mL) và HMWP (NMT 1,5%).

Độ ổn định vật lý được đánh giá bằng cách thử nghiệm hình thức bề ngoài bằng mắt thường trong đó các mẫu được kiểm tra bằng mắt thường. Các mẫu được xếp loại là đạt nếu trong suốt, không màu, và gần như không chứa các hạt nhìn thấy được. Tất cả các mẫu của mọi chế phẩm đều đạt trong thử nghiệm hình thức bề ngoài bằng mắt thường ở mọi thời điểm trong điều kiện đối chứng và điều kiện bất lợi về nhiệt độ. Kết quả của thử nghiệm hình thức bề ngoài bằng mắt thường trong điều kiện bất lợi tích lũy được đưa ra trong bảng 22 sau đây.

Bảng 22.

Chế phẩm	21 ngày (n=5)	24 ngày (n=5)	28 ngày (n=5)	32 ngày (n=5)
S	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt
T	100% Đạt	100% Đạt	80% Đạt	100% Đạt
U	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt
V	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt
X	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt
Y	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt
Z	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt
AA	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt
BB	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt
CC	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt
DD	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt
EE	100% Đạt	100% Đạt	40% Đạt	0% Đạt
FF	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	0% Đạt
GG	100% Đạt	80% Đạt	0% Đạt	0% Đạt
HH	100% Đạt	100% Đạt	0% Đạt	0% Đạt
II	100% Đạt	100% Đạt	0% Đạt	0% Đạt
JJ	100% Đạt	100% Đạt	0% Đạt	0% Đạt
KK	100% Đạt	100% Đạt	0% Đạt	0% Đạt
LL	60% Đạt	60% Đạt	40% Đạt	0% Đạt
MM	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	20% Đạt
NN	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	80% Đạt
OO	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt
PP	20% Đạt	0% Đạt	0% Đạt	0% Đạt
QQ	80% Đạt	80% Đạt	20% Đạt	0% Đạt
RR	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	0% Đạt
SS	100% Đạt	100% Đạt	100% Đạt	0% Đạt

Tất cả các lọ chế phẩm U, V, X, Y, Z, AA, BB, CC DD và OO đạt trong thử nghiệm điều kiện bất lợi tích lũy cho đến ngày 32 của mô phỏng việc sử dụng của

bệnh nhân. Tất cả các lọ chế phẩm FF, MM, NN, RR và SS đạt trong thử nghiệm điều kiện bất lợi tích lũy cho đến ngày 28. Tất cả các lọ chế phẩm EE, HH, II, JJ và KK đạt cho đến ngày 24. Tất cả các lọ chế phẩm GG đạt cho đến ngày 21.

Các thử nghiệm được mô tả trên đây cũng cố rằng các chế phẩm này ổn định về mặt hóa học và vật lý trong điều kiện bảo quản trong tủ lạnh và điều kiện bất lợi về nhiệt độ, và các chế phẩm nhất định theo sáng chế đủ ổn định để sử dụng trong thương mại ngay cả khi mô phỏng trong thử nghiệm dùng trong 32 ngày.

Trình tự

Chuỗi A insulin người

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Asn (SEQ ID NO: 1).

Chuỗi B insulin người

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr (SEQ ID NO: 2).

Chuỗi B insulin lispro

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Lys Pro Thr (SEQ ID NO: 3).

Chuỗi B insulin aspart

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Asp Lys Thr (SEQ ID NO: 4).

Chuỗi B insulin glulisine

Phe Val Lys Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Glu Thr (SEQ ID NO: 5).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm chứa:
 - a. insulin;
 - b. xitrat, với nồng độ từ khoảng 5 đến khoảng 25 mM;
 - c. treprostini, với nồng độ từ khoảng 0,04 đến khoảng 20 µg/mL;
 - d. kẽm, với nồng độ đủ để tạo ra ít nhất 2 ion kẽm trên sáu phân tử insulin;
 - e. chất bảo quản; và
 - f. một hoặc nhiều chất ổn định bổ sung được chọn từ nhóm gồm các hợp chất chứa magie và natri clorua;
 và có độ pH khoảng 7,0 đến khoảng 7,8 ở nhiệt độ trong phòng.
2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó nồng độ kẽm là từ khoảng 0,2 đến khoảng 2 mM.
3. Dược phẩm theo điểm 1 hoặc 2, trong đó nồng độ kẽm là từ khoảng 0,2 đến khoảng 1 mM.
4. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó nồng độ kẽm là từ khoảng 0,6 đến khoảng 0,8 mM.
5. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó một hoặc nhiều chất ổn định bổ sung bao gồm hợp chất chứa magie.
6. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó hợp chất chứa magie có mặt với nồng độ tạo ra tỷ lệ mol magie so với xitrat từ khoảng 1:2 đến khoảng 1:10.
7. Dược phẩm theo điểm 6, trong đó tỷ lệ mol magie so với xitrat là từ khoảng 1:3 đến khoảng 1:5.
8. Dược phẩm theo điểm 6 hoặc 7, trong đó hợp chất chứa magie là magie clorua.
9. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó nồng độ insulin là từ khoảng 100 đến khoảng 300 U/mL.
10. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó nồng độ insulin khoảng 100 U/mL hoặc khoảng 200 U/mL.
11. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, trong đó insulin là insulin lispro.

12. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, trong đó nồng độ xitrat là từ khoảng 10 đến khoảng 25 mM.
13. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, trong đó nồng độ treprostinil là từ khoảng 0,04 đến khoảng 10 µg/mL.
14. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 13, trong đó nồng độ treprostinil là từ khoảng 0,5 đến khoảng 2 µg/mL.
15. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14, trong đó chất bảo quản là m-cresol.
16. Dược phẩm theo điểm 15, trong đó nồng độ m-cresol là từ khoảng 2,5 đến khoảng 3,8 mg/mL.
17. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 16, trong đó một hoặc nhiều chất ổn định bổ sung bao gồm natri clorua.
18. Dược phẩm theo điểm 17, trong đó natri clorua có mặt với nồng độ từ khoảng 1 đến khoảng 50 mM.
19. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 18, trong đó tổng nồng độ clorua là từ khoảng 10 đến khoảng 50 mM.
20. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 19, trong đó dược phẩm này còn chứa thêm chất tạo trương lực.
21. Dược phẩm theo điểm 20, trong đó chất tạo trương lực là glyxerol.
22. Dược phẩm theo điểm 21, trong đó nồng độ glyxerol là từ khoảng 1 đến khoảng 15 mg/mL.
23. Dược phẩm chứa:
 - a. insulin lispro, với nồng độ từ khoảng 100 đến khoảng 200 U/mL;
 - b. xitrat, với nồng độ từ khoảng 5 đến khoảng 25 mM;
 - c. treprostinil, với nồng độ từ khoảng 0,5 đến khoảng 2 µg/mL; và
 - d. kẽm, với nồng độ từ khoảng 0,2 mM đến khoảng 2 mM.
24. Dược phẩm theo điểm 23, trong đó nồng độ xitrat là từ khoảng 15 đến khoảng 25 mM.

25. Dược phẩm theo điểm 23 hoặc 24, trong đó nồng độ kẽm là từ khoảng 0,6 đến khoảng 0,9 mM.

26. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 23 đến 25, trong đó dược phẩm này còn chứa thêm hợp chất chứa magie, với nồng độ tạo ra tỷ lệ mol magie so với xitrat từ khoảng 1:3 đến khoảng 1:5.

27. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 26, trong đó dược phẩm này có độ pH khoảng 7,4.

28. Dược phẩm theo điểm 23, trong đó:

- a. insulin lispro có nồng độ khoảng 100 U/mL;
 - b. xitrat có nồng độ khoảng 15 mM;
 - c. treprostinil có nồng độ khoảng 1 µg/mL; và
 - d. kẽm có nồng độ khoảng 0,6 mM;
- và dược phẩm này còn chứa thêm:
- e. magie clorua với nồng độ khoảng 5 mM;
 - f. m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL;
 - g. glyxerol, với nồng độ khoảng 12 mg/mL;

và có độ pH khoảng 7,4.

29. Dược phẩm theo điểm 23, trong đó:

- a. insulin lispro có nồng độ khoảng 200 U/mL;
 - b. xitrat có nồng độ khoảng 15 mM;
 - c. treprostinil có nồng độ khoảng 1 µg/mL; và
 - d. kẽm có nồng độ khoảng 0,8 mM;
- và dược phẩm này còn chứa thêm:
- e. magie clorua với nồng độ khoảng 5 mM;
 - f. m-cresol, với nồng độ khoảng 3,15 mg/mL; và
 - g. glyxerol, với nồng độ khoảng 12 mg/mL;

và có độ pH khoảng 7,4.

30. Dược phẩm chứa:

- a. insulin;
- b. xitrat, với nồng độ từ khoảng 5 đến khoảng 25 mM;

- c. treprostinil, với nồng độ từ khoảng 0,04 đến khoảng 20 $\mu\text{g/mL}$;
- d. chất bảo quản;
- e. chất ổn định chứa kẽm, với nồng độ đủ để tạo ra ít nhất 2 ion kẽm trên sáu phân tử insulin;

và có độ pH từ khoảng 7,0 đến khoảng 7,8 ở nhiệt độ trong phòng.

- 31. Vật phẩm sản xuất chứa được phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 30.
- 32. Vật phẩm sản xuất theo điểm 31, trong đó vật phẩm này là lọ dùng nhiều lần.
- 33. Vật phẩm sản xuất theo điểm 31, trong đó vật phẩm này là ống dùng nhiều lần.
- 34. Vật phẩm sản xuất theo điểm 31, trong đó vật phẩm này là bút tiêm tái sử dụng được.
- 35. Vật phẩm sản xuất theo điểm 31, trong đó vật phẩm này là dụng cụ dạng bút dùng một lần.
- 36. Vật phẩm sản xuất theo điểm 31, trong đó vật phẩm này là dụng cụ bơm để truyền insulin liên tục dưới da.
- 37. Vật phẩm sản xuất theo điểm 31, trong đó vật phẩm này là hệ nắp đậy cho vật chứa dùng trong dụng cụ bơm để truyền insulin liên tục dưới da.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Eli Lilly and Company

<120> DUỐC PHẨM CHỨA INSULIN TÁC DỤNG NHANH VÀ VẬT PHẨM SẢN XUẤT CHỨA
DUỐC PHẨM NÀY

<130> X20332

<150> 62/210469

<151> 2015-08-27

<160> 5

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 21

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 1

Gly	Ile	Val	Glu	Gln	Cys	Cys	Thr	Ser	Ile	Cys	Ser	Leu	Tyr	Gln	Leu
1				5					10					15	

Glu	Asn	Tyr	Cys	Asn
				20

<210> 2

<211> 30

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 2

Phe	Val	Asn	Gln	His	Leu	Cys	Gly	Ser	His	Leu	Val	Glu	Ala	Leu	Tyr
1				5					10					15	

Leu	Val	Cys	Gly	Glu	Arg	Gly	Phe	Phe	Tyr	Thr	Pro	Lys	Thr
			20					25					30

<210> 3

<211> 30

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 3

Phe	Val	Asn	Gln	His	Leu	Cys	Gly	Ser	His	Leu	Val	Glu	Ala	Leu	Tyr
1				5					10					15	

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Lys Pro Thr
 20 25 30

<210> 4
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 4

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
 1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Asp Lys Thr
 20 25 30

<210> 5
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 5

Phe Val Lys Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
 1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Glu Thr
 20 25 30