



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

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

(11)



1-0034608

(51)⁷ A61K 38/28; A61P 3/10; A61K 47/30; (13) B
A61K 33/30; A61K 47/10

(21) 1-2019-07109

(22) 31/05/2018

(86) PCT/US2018/035261 31/05/2018

(87) WO2018/222787 06/12/2018

(30) 62/513,645 01/06/2017 US

(45) 25/01/2023 418

(43) 25/02/2020 383A

(73) ELI LILLY AND COMPANY (US)

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

(72) PAAVOLA, Chad Donald (US); ZHANG, Jun (CA).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

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

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa insulin hoặc chất tương tự insulin mà có tác dụng dược động học nhanh hơn so với các chế phẩm thương mại là các sản phẩm chất tương tự insulin khởi đầu nhanh. Sáng chế còn đề cập đến vật phẩm sản xuất bao gồm dược phẩm này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến được phẩm chứa insulin để tiêm ngoài đường tiêu hóa để chống lại sự lệch lạc về glucoza máu trong bữa ăn và sau bữa ăn. Dược phẩm này chứa insulin và hợp chất polyphosphat, và có sự hấp thu insulin từ các vị trí tiêm nhanh hơn so với các chế phẩm insulin thương mại hiện có. Dược phẩm này hữu ích để tạo ra nhanh chóng hoạt tính insulin khi insulin là cần thiết, ví dụ, khi thức ăn được tiêu hóa.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh đái tháo đường là rối loạn mạn tính được đặc trưng bởi chứng tăng glucoza huyết do thiếu hụt sự tiết insulin, hoạt tính insulin, hoặc cả hai. Bệnh đái tháo đường typ 1 được đặc trưng bởi khả năng tiết insulin rất thấp hoặc không có khả năng tiết insulin, và bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường typ 1 cần có insulin để sống được. Ở bệnh đái tháo đường typ 2, các tác dụng kết hợp của sự suy giảm tiết insulin và tính kháng insulin dẫn đến mức glucoza máu tăng. Ở ít nhất một phần ba số bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh tiến triển đến yêu cầu tuyệt đối cần điều trị bằng insulin.

Profin hoạt tính theo thời gian của insulin là quan trọng để kiểm soát mức glucoza máu 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 máu tăng trong vài phút. Ở các cá thể mắc bệnh đái tháo đường typ 1 và ở các cá thể nhất định mắc bệnh đái tháo đường typ 2, insulin cần phải được dùng. Tuy nhiên, insulin được dùng đi vào máu chậm hơn so với insulin được tiết nội sinh, và sự khởi đầu chậm có thể dẫn đến chứng tăng glucoza huyết trong giai đoạn sớm sau bữa ăn. Thời gian tác dụng quá dài có thể dẫn đến insulin thừa giữa các bữa ăn, điều này gây ra chứng giảm glucoza huyết muộn sau bữa ăn và/hoặc chứng tăng cân.

Đã có những nỗ lực trước đây để thúc đẩy tác dụng theo thời gian của các sản phẩm insulin. Các chất tương tự insulin “tác dụng nhanh” có bán trên thị trường từ những năm 1990 và đầu những năm 2000. Thậm chí được gọi là các chất tương tự insulin “tác dụng nhanh”, như insulin lispro (HUMALOG®), insulin aspart (NOVOLOG®) và insulin glulisin (APIDRA®), nhưng nồng độ insulin tuần hoàn lớn

nhất không đạt được cho đến 50-90 phút sau khi tiêm. Điều này không đủ nhanh để phù hợp với profin hấp thu hydrat cacbon.

Nghiên cứu đã được thực hiện gần đây hơn trong nỗ lực phát triển sản phẩm có profin tác dụng theo thời gian nhanh hơn so với các sản phẩm nêu trên. Ví dụ, US2014/0378383 bộc lộ chế phẩm insulin chứa tổ hợp gồm hợp chất anion được thể cấu thành từ khung sacarit được tạo ra từ 1 đến 8 đơn vị sacarit hexoza có các nhóm chức cacboxyl được thể một phần với hợp chất polyanion, và tuyên bố rằng tổ hợp này làm cho có khả năng thúc đẩy insulin đi vào trong máu. Tương tự, US2015/0231160 bộc lộ chế phẩm insulin chứa tổ hợp gồm oligosacarit và hợp chất polyanion, và tuyên bố rằng tổ hợp này cho phép sự giảm đáng kể về thời gian để bắt đầu tác dụng của chế phẩm chứa chất tương tự insulin tác dụng nhanh. Mỗi tài liệu này mô tả một dãy các hợp chất polyanion, bao gồm axit polyphosphoric như triphosphat, nhưng không có chế phẩm được mô tả mà chứa triphosphat nhưng cũng không chứa hợp chất anion được thể, như thuật ngữ đó được sử dụng trong US2014/0378373, hoặc oligosacarit, như được mô tả trong US2015/0231160, và không có dữ liệu được cung cấp về dược động học hoặc dược lực học của các chế phẩm chứa triphosphat hoặc axit polyphosphoric khác bất kỳ. US2014357554 và US2015273022 mô tả các chế phẩm được cho là có sự khởi đầu tác dụng insulin nhanh mà chứa EDTA, xitrat, và các hợp chất chứa magie, một ví dụ về hợp chất này là magie pyrophosphat. Hợp chất magie được cho là làm giảm đến mức tối thiểu sự kích ứng ở vị trí tiêm “nhưng không làm thay đổi tốc độ hấp thu dưới da,” và không có dữ liệu về các chế phẩm chứa magie pyrophosphat được mô tả.

Vẫn có nhu cầu về các chế phẩm chứa insulin, được dự định để sử dụng vào giờ ăn, mà có sự hấp thu insulin nhanh hơn từ vị trí tiêm và sự khởi đầu tác dụng nhanh hơn so với các sản phẩm insulin thương mại hiện có.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế nhằm đáp ứng các nhu cầu này bằng cách đề xuất các chế phẩm chứa insulin được dụng mà có sự hấp thu insulin vào trong máu nhanh hơn và sự khởi đầu tác dụng nhanh hơn so với các sản phẩm insulin thương mại hiện có.

Theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, sáng chế đề xuất được phẩm chứa insulin và hợp chất polyphosphat được chọn từ nhóm bao gồm pyrophosphat, trimetaphosphat,

triphosphat, và tetraphosphat, với điều kiện chế phẩm này không chứa multime sacarit hoặc EDTA.

Theo các phương án nhất định, nồng độ polyphosphat là từ khoảng 5 đến khoảng 50 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ polyphosphat là khoảng 10 đến khoảng 30 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ polyphosphat là khoảng 20 đến khoảng 25 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ polyphosphat được chọn từ nhóm bao gồm 5, 10, 15, 20, 25 hoặc 30 mM.

Theo các phương án nhất định, chế phẩm này còn chứa kẽm. Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm là từ khoảng 0,2 đến khoảng 5 mM.

Theo các phương án nhất định, chế phẩm này còn chứa chất điều chỉnh độ trương. Theo các phương án nhất định, chất điều chỉnh độ trương là glyxerol.

Theo các phương án nhất định, chế phẩm này còn chứa một hoặc nhiều chất bảo quản. Theo các phương án nhất định, một hoặc nhiều chất bảo quản được chọn từ nhóm bao gồm phenol, meta-cresol, và rượu benzylic.

Theo các phương án nhất định, insulin được chọn từ nhóm bao gồm insulin người, insulin lispro, insulin aspart và insulin glulisin. Theo các phương án nhất định, nồng độ insulin là từ khoảng 40 đến khoảng 500 IU/ml. Theo các phương án nhất định, nồng độ insulin là từ khoảng 100 đến khoảng 200 IU/ml.

Bản mô tả này mô tả phương pháp điều trị bệnh đái tháo đường bao gồm việc cho người cần điều trị dùng một trong số các chế phẩm được mô tả trên đây với liều có hiệu quả.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất một trong số các chế phẩm được mô tả trên đây để sử dụng làm thuốc.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất một trong số các chế phẩm được mô tả trên đây để sử dụng trong việc điều trị bệnh đái tháo đường.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất vật phẩm sản xuất bao gồm một trong số các chế phẩm được mô tả trên đây. Theo các phương án nhất định, vật phẩm sản xuất là lọ dùng nhiều lần. Theo các phương án nhất định, vật phẩm sản xuất là bút nạp sẵn thuốc, dùng một lần. Theo các phương án nhất định, vật phẩm sản xuất là bút dùng lại được. Theo các phương án nhất định, vật phẩm sản xuất là dụng cụ tiêm tự động. Theo các phương án nhất định, vật phẩm sản xuất là bơm để truyền insulin liên tục dưới da (continuous subcutaneous insulin infusion - CSII).

Mô tả chi tiết sáng chế

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, “multime sacarit” có nghĩa là hợp chất bất kỳ chứa nhiều hơn một đơn vị sacarit được gắn kết cùng nhau, bao gồm, ví dụ, các hợp chất anion được thể được mô tả trong US2014/0378383 và các oligosacarit được mô tả trong US2015/0231160.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “không chứa multime sacarit hoặc EDTA” có nghĩa là chế phẩm này không chứa multime sacarit hoặc EDTA, hoặc chỉ chứa một lượng *không đáng kể* các multime sacarit hoặc EDTA sao cho profin tác dụng theo thời gian của insulin không bị ảnh hưởng.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, “insulin” có nghĩa là insulin người hoặc biến thể cấu trúc, thể đột biến, hoặc chất tương tự của insulin người mà có hoạt tính chức năng của insulin người. Các chất tương tự của insulin người bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, insulin lispro, insulin aspart, và insulin glulisin, hoặc các chất tương tự insulin “tác dụng nhanh” khác. Insulin dùng trong các sản phẩm thương mại có thể được sản xuất bằng cách sử dụng phương pháp ADN tái tổ hợp hoặc bằng cách tổng hợp hóa học. Các phương pháp tái tổ hợp là đã được biết rõ và rất được ưu tiên. Phân tử insulin người (CAS No. 11061-68-0) bao gồm hai chuỗi axit amin, A và B, mà trình tự của chúng đã được biết rõ. Các chuỗi này được nối bằng hai liên kết disulfua: CysA7-CysB7 và CysA20-CysB19. Chuỗi A có liên kết disulfua nội chuỗi ở CysA6-CysA11.

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 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).

Insulin lispro (CAS No. 133107-64-9), hoạt chất thuốc trong HUMALOG®, đã được thể hiện là có hiệu lực tương đương với insulin người trên cơ sở mol 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. Kiểu động học nhất quán với Tmax và thời gian bán thải ngắn hơn và với Cmax cao hơn được quan sát thấy đối với insulin lispro khi được so sánh với insulin người. Insulin lispro tương đương về mặt sinh học với

insulin trong một vài thử nghiệm *in vitro* bao gồm gắn kết với thụ thể insulin trong các tế bào limphô được nuôi cấy, nhau thai người và gan người, và sự vận chuyển glucoza trong tế bào tạo mỡ. HUMALOG® chứa m-cresol làm chất bảo quản và chất làm ổn định, chất điều chỉnh độ trương (glycerin), chất đệm (dinatri phosphat), chất làm ổn định (kẽm oxit) và điều chỉnh độ pH đối với chất dẫn.

Phân tử insulin lispro bao gồm chuỗi A của insulin người được liên kết ngang với chuỗi B của insulin lispro, trình tự axit amin của nó được nêu trong SEQ ID NO:3, dưới 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).

Một đơn vị insulin lispro là tương đương với 0,0347mg insulin lispro.

Insulin aspart (CAS No. 116094-23-6), hoạt chất thuộc trong NOVOLOG®, là một chất tương tự insulin khởi đầu nhanh khác. Cấu trúc của nó bao gồm chuỗi A của insulin người và chất tương tự chuỗi B như được phản ánh trong 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).

Một đơn vị của insulin aspart tương ứng với 6 nmol, tương ứng với 0,035 mg insulin aspart khan không chứa muối.

Insulin glulisin (CAS No. 207748-29-6), hoạt chất thuộc trong APIDRA®, là một chất tương tự insulin khởi đầu nhanh khác nữa. Phân tử insulin glulisin bao gồm chuỗi A của insulin người và chuỗi B biến đổi so với insulin người, như được phản ánh trong trình tự axit amin sau:

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).

Một đơn vị của insulin glulisin tương ứng xấp xỉ với 0,0349 mg insulin glulisin.

Các chế phẩm theo sáng chế có các nồng độ insulin nằm trong khoảng từ 0,24 đến 3 mM (40 - 500 IU/ml; 1,4 mg/ml – 17,5 mg/ml). Các chế phẩm theo sáng chế có khả năng có các nồng độ cụ thể là 40, 100, 200, 300, 400, và 500 IU/ml (1,4, 3,5, 7, 10,5, 14, và 17,5 mg/ml). Các nồng độ được ưu tiên là 100 và 200 IU/ml.

Các polyphosphat là các anion vô cơ, đa điện tích, đa hóa trị cấu thành từ 2 nhóm phosphat hoặc nhiều hơn được liên kết cộng hóa trị thông qua liên kết P-O-P. Chúng được sử dụng rộng rãi trong chất tẩy rửa, thực phẩm, mỹ phẩm, và các ứng dụng y sinh

dưới dạng các chất tạo chelat, chất đệm, và chất liên kết ngang, trong số các mục đích sử dụng khác. Một số polyphosphat “nói chung được coi là an toàn” bởi Cục quản lý Dược phẩm và Thực phẩm Hoa Kỳ để sử dụng trong thực phẩm (generally regarded as safe - “GRAS”), bao gồm, ví dụ, các chất được liệt kê trong bảng 1 dưới đây.

Chất GRAS	Công thức (trọng lượng phân tử)	CAS No.	21 CFR
Canxi pyrophosphat	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (254,1)	7790-76-3	182,8223
Kali pyrophosphat	$\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (330,3)	7320-34-5	Không
Kali tripolyphosphat	$\text{K}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ (453,5)	13845-36-8	Không
Natri axit pyrophosphat	$\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (221,9)	7758-16-9	182,1087
Natri pyrophosphat	$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (265,9)	7722-88-5	182,6760
Natri tetraphosphat	$\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$ (469,8)	14986-84-6	Không
Natri trimetaphosphat	$\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$ (305,9)	7785-84-4	Không
Natri tripolyphosphat	$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ (367,9)	7758-29-4	182,1810 182,1610

Bảng 1. Các ví dụ về các polyphosphat GRAS.

Triphosphat đã được dùng làm chất liên kết ngang trong các chất mang nano trên cơ sở polyme, đặc biệt là các chất mang nano trên cơ sở chitosan, để phân phối qua miệng, mũi, ngoài đường tiêu hóa, hoặc qua da một phạm vi lớn các trọng tải quan trọng về mặt y học, như các kháng nguyên, dược chất chống ung thư, vật liệu di truyền, và protein, bao gồm insulin. Kouchak, *et al.*, “Effect of different molecular weights of chitosan on preparation and characterization of insulin loaded nanoparticles by ion gelation method,” 4 Internat’l J. Drug Dev. & Res. 271 (2012). Tuy nhiên, không giống sáng chế này, các chất mang như vậy nhằm thúc đẩy protein tác dụng theo thời gian của insulin được dùng.

Các polyphosphat được thể hiện trong bản mô tả này là hữu ích để làm tăng tốc độ hấp thu insulin từ các vị trí tiêm là pyrophosphat (diphosphat, $[\text{O}_3\text{-P-O-P-O}_3]^{-4}$, P_2O_7) và triphosphat ($[\text{O}_3\text{-P-O-(PO}_2\text{)-O-P-O}_3]^{-5}$, P_3O_{10}). Hiệu quả trên sự hấp thu insulin được tin tưởng là được tạo ra bởi các polyphosphat này cũng như trimetaphosphat (P_3O_9)⁻ và tetraphosphat (P_4O_{13})⁻⁶. Hợp chất polyphosphat cụ thể được sử dụng có thể ở dạng axit hoặc các dạng muối khác nhau, đặc biệt là các muối kiềm (ví dụ, natri và kali). Pyrophosphat, triphosphat, trimetaphosphat và tetraphosphat,

và các muối khác nhau của chúng, đặc biệt là các muối kiềm (ví dụ, natri và kali) và kim loại kiềm thổ (ví dụ, canxi và magie) của chúng có thể được sử dụng trong sáng chế. Trong số các muối này, triphosphat và các muối của nó là được ưu tiên. Nồng độ polyphosphat trong các chế phẩm nằm trong khoảng từ 5 mM đến 50 mM, cụ thể là 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 hoặc 50 mM. Các chế phẩm nhất định có các nồng độ polyphosphat nằm trong khoảng từ 10 mM đến 30 mM. Các chế phẩm nhất định có các nồng độ polyphosphat nằm trong khoảng từ 15 mM đến 25 mM.

Các chế phẩm insulin thương mại có khoảng 2,4 nguyên tử kẽm trên sáu phân tử insulin (HUMULIN® R U-500), và một số chế phẩm có khoảng 3,0 nguyên tử kẽm trên sáu phân tử insulin (HUMALOG®, NOVOLOG®). Các phương án nhất định theo sáng chế bao gồm kẽm ở nồng độ đủ để thu được khoảng 2-4 nguyên tử kẽm trên sáu phân tử insulin. Các phương án khác bao gồm kẽm ở nồng độ lên đến khoảng 5 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm nằm trong khoảng từ khoảng 0,2 đến khoảng 5 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 đến khoảng 2 mM. Theo các phương án nhất định, nồng độ kẽm được chọn từ nhóm bao gồm 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,3 và 2 mM.

Các chế phẩm này là vô trùng khi đầu tiên được sản xuất. Khi được cung cấp trong lọ hoặc ống dùng nhiều lần, hợp chất hoặc hỗn hợp các hợp chất bảo quản kháng khuẩn mà tương hợp với các thành phần khác của chế phẩm thường được bổ sung vào ở mức độ đủ để đáp ứng các yêu cầu bảo quản kháng khuẩn của cơ quan quản lý và 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 các hỗn hợp của các hợp chất này. Các chất bảo quản được sử dụng phổ biến nhất trong các sản phẩm insulin là phenol, m-cresol, và rượu benzylic. Các nồng độ có hiệu quả có thể được xác định một cách dễ dàng bằng các phương pháp nêu trên. Các chế phẩm thương mại hiện có, ví dụ, 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).

Độ pH của các chế phẩm insulin theo sáng chế thường là từ 7,0 đến 7,8 và nó được điều chỉnh bằng cách sử dụng các axit và các bazơ thích hợp về mặt sinh lý, thường là dung dịch axit clohydric 10% và natri hydroxit 10%. Độ pH đối với các chế phẩm insulin thương mại thường nằm trong khoảng từ 7,2 đến 7,6, với $7,4 \pm 0,1$ là độ pH đích phổ biến.

Mong muốn làm gần phù hợp độ trương (tức là, nồng độ molal đồng thẩm áp) của dịch thể ở vị trí tiêm càng gần càng tốt khi dùng các chế phẩm do các dung dịch không gần đẳng trương với dịch thể có thể tạo ra cảm giác đau nhức khi được dùng. Do đó, mong muốn rằng các chế phẩm gần đẳng trương với dịch thể ở các vị trí tiêm. Nếu nồng độ molal đồng thẩm áp của chế phẩm khi không có chất điều chỉnh độ trương là đủ nhỏ hơn nồng độ molal đồng thẩm áp của mô (đối với máu, khoảng 300 mOsmol/kg; yêu cầu của Dược điển châu Âu đối với nồng độ molal đồng thẩm áp là > 240 mOsm/kg), thì chất điều chỉnh độ trương nói chung cần được bổ sung vào để làm tăng độ trương của chế phẩm đến khoảng 300 mOsmol/kg. Các chất điều chỉnh độ trương điển hình là glyxerol (glyxerin) và natri clorua. Lượng chất điều chỉnh độ trương cần bổ sung được xác định một cách dễ dàng bằng các kỹ thuật chuẩn. 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 chế phẩm theo sáng chế thường được dùng dưới da, theo nhiều lần tiêm hằng ngày (multiple daily injection - MDI) từ bút nạp sẵn thuốc, dùng một lần, bút có thể tái sử dụng, bút tiêm tự động, lọ dùng nhiều lần hoặc bơm để CSII.

Các phương án bổ sung theo sáng chế bao gồm các phương pháp được mô tả dưới đây:

1. Dược phẩm chứa insulin và hợp chất polyphosphat được chọn từ nhóm bao gồm pyrophosphat, triphosphat, trimetaphosphat và tetrphosphat.
2. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này không chứa multime sacarit hoặc EDTA.
3. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó hợp chất polyphosphat là triphosphat.
4. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó hợp chất polyphosphat là pyrophosphat.

5. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ polyphosphat là từ khoảng 5 đến khoảng 50 mM.
6. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ polyphosphat là từ khoảng 10 đến khoảng 30 mM.
7. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ polyphosphat được chọn từ nhóm bao gồm 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 và 50 mM.
8. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này còn chứa kẽm.
9. 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 5 mM.
10. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 đến khoảng 2 mM.
11. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ kẽm được chọn từ nhóm bao gồm 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,3, 2 và 5 mM.
12. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này còn chứa chất điều chỉnh độ trương.
13. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này còn chứa chất điều chỉnh độ trương mà là glyxerol.
14. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này còn chứa một hoặc nhiều chất bảo quản.
15. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó một hoặc nhiều chất bảo quản được chọn từ nhóm bao gồm phenol, meta-cresol, và rượu benzylic.
16. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó insulin được chọn từ nhóm bao gồm insulin người, insulin lispro, insulin aspart và insulin glulisin.
17. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó nồng độ insulin là từ khoảng 40 đến khoảng 500 IU/ml.
18. Dược 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 IU/ml.

19. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng làm thuốc.

20. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong việc điều trị bệnh đái tháo đường.

21. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó dược phẩm này chứa hỗn hợp gồm hai hoặc nhiều hợp chất polyphosphat được chọn từ nhóm bao gồm pyrophosphat, triphosphat, trimetaphosphat và tetraphosphat.

22. Vật phẩm sản xuất bao gồm dược phẩm bất kỳ trong số các dược phẩm được mô tả trên đây.

23. Lọ dùng nhiều lần chứa dược phẩm bất kỳ trong số các dược phẩm được mô tả trên đây.

24. Bút tiêm dùng lại được chứa dược phẩm bất kỳ trong số các dược phẩm được mô tả trên đây.

25. Bút tiêm nạp sẵn thuốc, dùng một lần chứa dược phẩm bất kỳ trong số các dược phẩm được mô tả trên đây.

26. Bút tiêm tự động chứa dược phẩm bất kỳ trong số các dược phẩm được mô tả trên đây.

27. Bơm để CSII chứa dược phẩm bất kỳ trong số các dược phẩm được mô tả trên đây.

Bản mô tả này còn mô tả phương pháp điều trị bệnh đái tháo đường bao gồm việc cho người cần điều trị dùng dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên với liều có hiệu quả.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các nghiên cứu dược động học (Pharmacokinetic - PK) và dược lực học (Pharmacodynamic - PD)

Nghiên cứu 1. 25 mM Pyrophosphat hoặc 25 mM Triphosphat

Sử dụng mười lăm con lợn Yucatan đực nhỏ, đã thiến, mắc bệnh đái tháo đường (do alloxan gây ra) (tuổi trung bình 17 tháng tuổi và cân nặng trung bình 40 kg) đã được lắp trước các cổng tiếp nhận vào mạch máu. Các con lợn mắc bệnh đái tháo đường được nhốt một cách riêng rẽ và được tiếp cận với nước mới tùy thích ở mọi thời điểm. Chúng được cho ăn hai bữa mỗi ngày theo chế độ ăn nuôi nhốt S-9 và nhận insulin cơ bản duy

trì thích hợp và trong bữa ăn hai lần mỗi ngày để quản lý tình trạng đái tháo đường của chúng.

Các vật phẩm thử nghiệm (chế phẩm A và B) được bào chế và được vận chuyển qua đêm trong bao bì lạnh đến địa điểm nghiên cứu. Chúng được bảo quản lạnh cho đến thời điểm dùng liều và sau đó, được đưa trở lại tủ lạnh sau khi việc dùng liều cho tất cả các con lợn đã hoàn thành. Trong giai đoạn dùng liều, các vật phẩm thử nghiệm được giữ trong hộp cách ly khi không được lấy ra. Đối chứng insulin HUMALOG® là từ lọ thương mại.

Tên chế phẩm	Thành phần chế phẩm
HUMALOG	3,5 mg/ml insulin lispro 7 mM natri phosphat 0,3 mM 3,15 mg/ml m-cresol 16 mg/ml glycerin pH 7,4
insulin lispro + 25 mM Pyrophosphat (chế phẩm A)	92 U/ml insulin lispro (3,2 mg/ml) 7 mM natri phosphat 0,3 mM kẽm 3,15 mg/ml m-cresol 6,33 mg/ml glycerin 25 mM natri pyrophosphat pH 7,4
insulin lispro + 25 mM Triphosphat (chế phẩm B)	94 U/ml insulin lispro (3,3 mg/ml) 7 mM natri phosphat 0,3 mM kẽm 3,15 mg/ml m-cresol 4,49 mg/ml glycerin 25 mM natri triphosphat pH 7,4

Bảng 2. Các thành phần của các vật phẩm thử nghiệm và đối chứng.

Nghiên cứu này được thiết kế dưới dạng thiết kế chéo ba cách. Thiết kế này cho phép mỗi con lợn riêng rẽ nhận mỗi trong số ba vật phẩm thử nghiệm bằng cách dùng liều một vật phẩm thử nghiệm vào mỗi ngày nghiên cứu (3 lần, mỗi lần cách nhau 7 ngày). Vào ngày trước nghiên cứu, các con lợn được cho ăn một nửa khẩu phần hằng ngày của chúng và được nhận 0,2 U/kg Humalog Mix 75/25 Insulin ở lần dùng duy trì buổi sáng của chúng. Tất cả các động vật nghiên cứu được cho nhịn ăn qua đêm và không được nhận insulin buổi tối hoặc bữa ăn của chúng trước khi dùng thuốc vào ngày nghiên cứu.

Vào buổi sáng của nghiên cứu, tất cả các con lợn được cột chặt bằng dây và được tiếp nhận qua các cổng tiếp nhận vào mạch máu của chúng (được trang bị cho việc lấy mẫu máu) và được kiểm tra về tình trạng mở. Các động vật được chia một cách ngẫu nhiên vào các nhóm điều trị (3 nhóm n=5 mỗi nhóm thu được n=15 mỗi điều trị).

Sau khi hai mẫu máu cơ sở được thu lại (-30 và -20 phút), các động vật được đưa trở về chuồng nhốt của chúng và được cho ăn chế độ ăn S-9 ~300 g. Hai mươi phút sau khi thể hiện bữa ăn được tiêu thụ hoàn toàn, các con lợn được tiêm vật phẩm thử nghiệm dưới da vào bên sườn (0 phút) bằng bơm tiêm insulin Terumo (0,5 ml kim 1/2"). Việc dùng liều bao gồm một lần tiêm 0,2 U/kg hoạt tính insulin. Tất cả các động vật nghiên cứu được tiếp cận tùy thích với nước sạch, mới trong toàn bộ giai đoạn lấy máu còn lại.

Loại mẫu máu (2,0 ml mỗi mẫu) được thu lại từ mỗi con lợn tại các thời điểm như 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 (thuốc 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. Sau đó, huyết thanh được tách ra bằng cách ly tâm và được chia thành hai phần phân ước và được bảo quản đông lạnh ở nhiệt độ xấp xỉ -70°C.

Các nồng độ glucoza huyết thanh được xác định bằng cách sử dụng máy phân tích hóa lâm sàng Cobas c311 tự động (Roche Diagnostics, Indianapolis). Hai con lợn bị loại khỏi nhóm điều trị bằng Humalog thu được n=13 đối với vật phẩm thử nghiệm đó. Một con lợn bị loại do không đáp ứng các tiêu chuẩn đối với glucoza cơ sở là >200 mg/dl và con lợn kia không tham gia do vấn đề mở cổng. Các nồng độ glucoza huyết thanh (mg/dl) sau khi điều trị bằng các chế phẩm chứa insulin lispro (0,2 U/kg tại thời điểm 0) được đưa ra trong bảng 3 dưới đây.

Thời gian (phút)	Humalog (n=13)		Chế phẩm A (n=15) 25 mM pyrophosphat		Chế phẩm B (n=15) 25 mM triphosphat	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn
-30	293	46	270	77	292	43
-20	297	47	293	40	299	46
0	322	52	304	48	306	45
5	325	45	312	52	309	48

	Humalog (n=13)		Chế phẩm A (n=15) 25 mM pyrophosphat		Chế phẩm B (n=15) 25 mM triphosphat	
Thời gian (phút)	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn
10	313	51	245	48	238	50
15	285	60	201	47	189	53
30	216	80	133	56	108	56
45	165	80	99	63	70	51
60	131	87	70	45	52	54
75	104	80	57	39	44	52
90	83	70	44	35	35	42
105	68	62	40	33	34	36
120	58	52	37	34	35	38
150	49	43	38	38	38	27
180	48	40	47	48	44	33
240	69	44	70	73	74	59
360	143	73	113	87	151	106

Bảng 3. Các nồng độ glucoza huyết thanh (mg/dl).

Các nồng độ insulin huyết thanh được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (radioimmunoassay - RIA) cạnh tranh. Trong RIA, mà đo cả insulin nội sinh của lợn và insulin ngoại sinh, insulin huyết thanh chiếm chỗ ^{125}I -insulin để gắn kết với insulin của chuột lang kháng chuột cống. Phức hợp kháng thể được kết tủa bằng chất phản ứng huyết thanh IgG của dê kháng chuột lang. Các giới hạn định lượng trên và dưới của RIA lần lượt là 5000 và 20 pM, trong huyết thanh được tách bằng than xử lý bằng nhiệt. Phân tích được động học không chia ngăn được thực hiện bằng cách sử dụng Phoenix WinNonLin 6.3. Các trị số dưới giới hạn định lượng dưới được gán trị số là 20 pM để tính toán. Các mẫu trên giới hạn định lượng trên được pha loãng và được phân tích lại hoặc được bỏ qua. Như đã nêu trên, một con lợn từ nhóm điều trị bằng HUMALOG không tham gia vào nghiên cứu do vấn đề mở cổng, thu được n=14 đối với vật phẩm thử nghiệm đó.

Chế phẩm		Tmax (phút)	Cmax (nM)	AUC ∞ (phút*nM)	CL/F (ml/phút/kg)
Humalog (n=14)	Trung bình $\pm$ SE	61,1 $\pm$ 11,1	1,30 $\pm$ 0,25	141 $\pm$ 21,2	12,1 $\pm$ 1,97
	Trung vị	45,0	1,08	142	8,43

Chế phẩm		Tmax (phút)	Cmax (nM)	AUC ∞ (phút*nM)	CL/F (ml/phút/kg)
Chế phẩm A (n=15) 25 mM Pyrophosphat	Trung bình $\pm$ SE	32,3 $\pm$ 7,6	1,29 $\pm$ 0,12	113 $\pm$ 10,7	10,6 $\pm$ 1,12
	Trung vị	30,0	1,30	107	11,1
Chế phẩm B (n=15) 25 mM Triphosphat	Trung bình $\pm$ SE	14,3 $\pm$ 1,88	2,93 $\pm$ 0,34	220 $\pm$ 31,4	6,88 $\pm$ 0,764
	Trung vị	15,0	2,53	159	7,56

Bảng 4. Dữ liệu PK. Các từ viết tắt = Tmax – thời gian ở nồng độ lớn nhất, Cmax – nồng độ lớn nhất, AUCINF – diện tích dưới đường cong từ 0 đến vô cực, CL/F – độ thanh thải/độ sinh khả dụng.

Dữ liệu PK/PD chứng tỏ rằng pyrophosphat hoặc triphosphat thúc đẩy tác dụng theo thời gian và làm giảm Tmax so với HUMALOG. Chế phẩm A với pyrophosphat có Tmax mà nhanh hơn ~47% so với HUMALOG (nhanh hơn ~33% theo Tmax trung vị) và có Cmax trung bình so sánh được với HUMALOG. Chế phẩm B với triphosphat có Tmax trung bình nhanh hơn ~77% so với HUMALOG (nhanh hơn ~67% theo Tmax trung vị) và Cmax cao hơn ~125% so với Humalog. Các chế phẩm chứa 25 mM pyrophosphat hoặc 25 mM triphosphat tạo ra Tmax nhanh hơn và Cmax cao hơn so với HUMALOG.

Nghiên cứu 2. Ảnh hưởng của nồng độ triphosphat đến PK/PD

Sử dụng mười bốn con lợn Yucatan đực nhỏ, đã thiến, mắc bệnh đái tháo đường (do Alloxan gây ra) (tuổi trung bình 14 tháng tuổi và cân nặng trung bình 35 kg) đã được lắp trước các cổng tiếp nhận vào mạch máu. Các con lợn mắc bệnh đái tháo đường được nhốt một cách riêng rẽ và được tiếp cận với nước mới tùy thích ở mọi thời điểm. Chúng được cho ăn hai bữa mỗi ngày theo chế độ ăn nuôi nhốt S-9 và nhận insulin cơ bản duy trì thích hợp và trong bữa ăn hai lần mỗi ngày để quản lý tình trạng đái tháo đường của chúng.

Các vật phẩm thử nghiệm được bảo chế và được vận chuyển qua đêm trong bao bì lạnh. Chúng được bảo quản lạnh cho đến thời điểm dùng liều và sau đó, được đưa trở lại tủ lạnh sau khi việc dùng liều cho tất cả các con lợn đã hoàn thành. Trong giai đoạn dùng liều, các vật phẩm thử nghiệm được giữ trong hộp cách ly khi không được lấy ra. Đối chứng HUMALOG là lọ thương mại.

Tên chế phẩm	Thành phần chế phẩm
HUMALOG	3,5 mg/ml insulin lispro 7 mM natri phosphat, độ pH 7,4 0,3 mM phân tử Zn 16 mg/ml glycerin 3,15 mg/ml m-cresol
Chế phẩm C: insulin lispro + 5 mM triphosphat	3,5 mg/ml insulin lispro 7 mM natri phosphat 0,3 mM kẽm 13,70 mg/ml glycerin 3,15 mg/ml m-cresol 5 mM natri triphosphat, độ pH 7,4
Chế phẩm D: insulin lispro + 10 mM triphosphat	3,5 mg/ml insulin lispro 7 mM natri phosphat 0,3 mM kẽm 11,40 mg/ml glycerin 3,15 mg/ml m-cresol 10 mM natri triphosphat, độ pH 7,4
Chế phẩm E: insulin lispro + 20 mM triphosphat	3,5 mg/ml insulin lispro 7 mM natri phosphat 0,3 mM kẽm 6,79 mg/ml glycerin 3,15 mg/ml m-cresol 20 mM natri triphosphat, độ pH 7,4

Bảng 5. Các thành phần của các vật phẩm thử nghiệm và đối chứng.

Nghiên cứu này được thiết kế là thiết kế chéo bốn chiều cho phép này cho phép mỗi con lợn riêng rẽ nhận mỗi trong số ba vật phẩm thử nghiệm và đối chứng bằng cách dùng liều một vật phẩm thử nghiệm vào mỗi ngày nghiên cứu (4 lần, mỗi lần cách nhau 7 ngày).

Vào ngày trước nghiên cứu, các con lợn được cho ăn một nửa khẩu phần hằng ngày của chúng và được nhận 0,2 U/kg Humalog Mix 75/25 Insulin ở lần dùng duy trì buổi sáng của chúng. Tất cả các động vật nghiên cứu được cho nhịn ăn qua đêm và không được nhận insulin buổi tối hoặc bữa ăn của chúng trước khi dùng thuốc vào ngày nghiên cứu.

Vào buổi sáng của nghiên cứu, tất cả các con lợn được cột chặt bằng dây và được tiếp nhận qua các cổng tiếp nhận vào mạch máu của chúng (được trang bị cho việc lấy mẫu máu) và được kiểm tra về tình trạng mở. Các động vật được chia một cách ngẫu nhiên vào các nhóm điều trị (4 nhóm n=3-4 mỗi nhóm thu được n=14 mỗi điều trị). Hai

con lợn không bao giờ tham gia vào nghiên cứu theo quan sát của bác sỹ thú y mà khiến tổng số $n=14$ bị giảm xuống còn $n=12$ trước các loại trừ khác bất kỳ. Một con lợn bị loại khỏi nhóm HUMALOG và hai con lợn bị loại khỏi nhóm insulin lispro + Triphosphat 10 mM vì không đáp ứng các tiêu chuẩn bao gồm, nhờ đó lần lượt thu được $n=11$ và $n=10$ đối với các nhóm đó.

Sau khi hai mẫu máu cơ sở được thu lại (-30 và -20 phút), các động vật được đưa trở về chuồng nhốt của chúng và được cho ăn chế độ ăn S-9 ~300 g. Hai mươi phút sau khi thể hiện bữa ăn được tiêu thụ hoàn toàn, các con lợn được tiêm vật phẩm thử nghiệm dưới da vào bên sườn (0 phút) bằng bơm tiêm insulin Terumo (0,5 ml, kim 1/2"). Tất cả các động vật nghiên cứu được tiếp cận tùy thích với nước sạch, mới trong toàn bộ giai đoạn lấy máu còn lại.

Loại mẫu máu (2,0 ml mỗi mẫu) được thu lại từ mỗi con lợn tại các thời điểm như 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 (thuốc 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. Sau đó, huyết thanh được tách ra bằng cách ly tâm và được chia thành hai phần phân ước và được bảo quản đông lạnh ở nhiệt độ xấp xỉ -70°C . Các phần phân ước được vận chuyển trên đá khô bằng dịch vụ vận chuyển vào ngày tiếp theo.

Các nồng độ insulin huyết thanh được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA) cạnh tranh, như được mô tả trên đây. Dữ liệu được phân tích bằng cách phân tích được động học không chia ngăn sử dụng Phoenix WinNonLin 6.3, như được mô tả trên đây. Các nồng độ glucoza huyết thanh được xác định bằng cách sử dụng máy phân tích hóa lâm sàng Cobas c311 tự động (Roche Diagnostics, Indianapolis, Indiana).

Các kết quả glucoza huyết thanh (mg/dl) được thể hiện trong bảng 6 dưới đây.

Thời gian (phút)	HUMALOG		Chế phẩm C insulin lispro + 5 mM triphosphat		Chế phẩm D insulin lispro + 10 mM triphosphat		Chế phẩm E insulin lispro + 20 mM triphosphat	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn
-30	287	63	266	49	283	43	285	34

	HUMALOG		Chế phẩm C insulin lispro + 5 mM triphosphat		Chế phẩm D insulin lispro + 10 mM triphosphat		Chế phẩm E insulin lispro + 20 mM triphosphat	
Thời gian (phút)	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn
-20	299	65	275	52	295	40	292	37
0	306	65	280	54	294	43	299	43
5	314	64	281	53	294	43	300	49
10	320	61	252	47	266	39	256	52
15	314	59	221	45	232	40	215	56
30	305	65	161	50	171	44	146	59
45	277	73	141	57	141	47	114	59
60	246	74	126	64	126	60	99	61
75	219	73	113	63	113	60	96	63
90	183	76	106	73	102	57	92	63
105	160	71	95	63	99	57	96	63
120	140	72	82	60	94	55	93	60
150	117	72	77	52	81	51	96	58
180	105	80	77	59	72	48	106	71
240	133	93	115	83	99	67	163	101
360	219	93	164	94	163	94	197	92

Bảng 6. Các kết quả glucoza huyết thanh (mg/dl).

Các thông số PK dưới dạng hàm của nồng độ triphosphat được thể hiện trong bảng 7 dưới đây.

Chế phẩm		Tmax (phút)	Cmax (nM)	AUC _{INF} (phút*nM)	CL/F (ml/phút/kg)
Humalog N=12	Trung bình ± SE	58,8 ± 6,0	0,89 ± 0,098	127 ± 12	10,3 ± 0,89
	Trung vị	60	1,03	119	10,2
Chế phẩm C: insulin lispro + 5 mM triphosphat N=12	Trung bình ± SE	52,5 ± 13,0	1,05 ± 0,093	132 ± 25	11,6 ± 1,5
	Trung vị	37,5	1,12	120	9,97
Chế phẩm D: insulin lispro + 10 mM triphosphat N=10	Trung bình ± SE	28,0 ± 10,6	1,23 ± 0,15	127 ± 29	12,0 ± 1,5
	Trung vị	15,0	1,21	98,6	12,2
Chế phẩm E: insulin lispro + 20 mM triphosphat N=12	Trung bình ± SE	12,9 ± 2,5	1,67 ± 0,14	116 ± 13	11,8 ± 1,2
	Trung vị	10,0	1,84	109	11,0

Bảng 7. Dữ liệu PK. Các từ viết tắt: Tmax – thời gian ở nồng độ insulin lớn nhất, Cmax – nồng độ insulin lớn nhất, AUC_{INF} – diện tích dưới đường cong từ 0 đến vô cực, CL/F – độ thanh thải/độ sinh khả dụng

Triphosphat ở 5, 10, hoặc 20 mM trong các chế phẩm tương tự như HUMALOG thúc đẩy tác dụng theo thời gian và làm giảm Tmax và tăng Cmax so với HUMALOG® và đúng là theo cách phụ thuộc liều.

Nghiên cứu 3. Ảnh hưởng đến các insulin thương mại khác nhau

Sử dụng mười lăm con lợn Yucatan đực nhỏ, đã thiến, mắc bệnh đái tháo đường (do Alloxan gây ra) đã được lắp trước các cổng tiếp nhận vào mạch máu để nghiên cứu ảnh hưởng của triphosphat đến profin tác dụng theo thời gian của glucoza huyết thanh và insulin huyết thanh của các insulin thương mại khác nhau. Việc nuôi nhốt và chế độ dinh dưỡng của các con lợn và việc vận chuyển và bảo quản các vật phẩm thử nghiệm và đối chứng là như được mô tả trên đây trong các nghiên cứu 1 và 2.

Các vật phẩm thử nghiệm (các chế phẩm F, G và H trong bảng dưới đây) được bào chế bằng cách bổ sung đủ triphosphat vào các lọ thương mại là HUMULIN-R®, NOVOLOG® và APIDRA® để đạt nồng độ là 20 mM triphosphat. Lưu ý rằng các nồng độ của các thành phần khác được liệt kê trong bảng dưới đây phản ánh các nồng độ của các thành phần đó trong các lọ thương mại của các sản phẩm đó; các nồng độ chưa được điều chỉnh để tính đến sự pha loãng nhẹ do việc bổ sung triphosphat.

Tên chế phẩm	Thành phần chế phẩm
HUMALOG	3,5 mg/ml insulin lispro 7 mM natri phosphat, độ pH 7,4 0,3 mM Zn 16 mg/ml glycerin 3,15 mg/ml m-cresol
Chế phẩm F: NOVOLOG + 20 mM triphosphat	100 đơn vị/ml insulin aspart 19,6 mcg/ml kẽm 16 mg/ml glycerin 1,50 mg/ml phenol 1,72 mg/ml m-cresol 1,25 mg/ml dinatri hydro phosphat dehydrat 0,58 mg/ml natri clorua 20 mM natri triphosphat

Tên chế phẩm	Thành phần chế phẩm
Chế phẩm G: APIDRA + 20 mM triphosphat	100 đơn vị/ml insulin glulisin 3,15 mg/ml m-cresol 6 mg/ml trometamin, 5 mg/ml natri clorua 0,01 mg/ml polysorbat 20 20 mM natri triphosphat
Chế phẩm H: HUMULIN + 20 mM triphosphat	100 đơn vị/ml insulin 16 mg/ml glyxerin 2,6 mg/ml m-cresol 0,23 mM Zn 20 mM natri triphosphat

Bảng 8. Các thành phần của các vật phẩm thử nghiệm và đối chứng.

Nghiên cứu này là thiết kế chéo bốn chiều cho phép này cho phép mỗi con lợn riêng rẽ nhận mỗi trong số ba vật phẩm thử nghiệm và đối chứng bằng cách dùng liều một vật phẩm thử nghiệm vào mỗi ngày nghiên cứu (4 lần, mỗi lần cách nhau 7 ngày). Các động vật được chuẩn bị cho nghiên cứu như được mô tả trên đây liên quan đến các nghiên cứu 1 và 2.

Các động vật được chia một cách ngẫu nhiên vào các nhóm điều trị (4 nhóm n=3-4 mỗi nhóm thu được n=15 mỗi điều trị). Một con lợn bị loại khỏi nhóm HUMULIN R+ 20mM triphosphat và NOVOLOG+20 mM triphosphat do hỏng công, thu được n=14 đối với các nhóm điều trị đó. Một con lợn bị loại khỏi nhóm HUMALOG do hỏng công và một con lợn bị loại khỏi nhóm HUMALOG vì không đáp ứng các tiêu chuẩn bao gồm, thu được n=13 đối với nhóm đó.

Việc thu các mẫu máu cơ sở, tiêm vật phẩm thử nghiệm, thu các mẫu máu và chuẩn bị, vận chuyển và đo các mẫu máu và huyết thanh được thực hiện như được mô tả trên đây liên quan đến các nghiên cứu 1 và 2.

Các nồng độ glucoza huyết thanh được xác định bằng cách sử dụng máy phân tích hóa lâm sàng AU480 tự động (Beckman Coulter). Các kết quả glucoza huyết thanh (mg/dl) được thể hiện trong bảng 9 dưới đây.

	HUMALOG		Chế phẩm F: HUMULIN + 20 mM triphosphat		Chế phẩm G: APIDRA + 20 mM triphosphat		Chế phẩm H: NOVOLOG + 20 mM triphosphat	
Thời gian (phút)	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn
-30	343	39	335	62	336	45	343	56
-20	360	38	356	64	350	45	355	58
0	372	43	368	61	366	42	367	48
5	386	37	371	63	378	39	373	51
10	362	39	315	64	307	37	296	50
15	348	39	274	65	276	45	255	50
30	274	65	209	73	201	63	177	56
45	239	82	187	85	169	76	139	59
60	190	90	184	101	143	76	118	67
75	173	82	185	110	130	79	113	76
90	150	77	175	115	114	67	105	82
105	136	67	164	118	104	64	103	84
120	129	68	164	124	102	68	102	82
150	116	67	145	123	94	68	94	78
180	111	73	134	122	91	65	92	71
240	131	80	120	108	107	65	103	74
360	174	101	116	111	149	86	149	88

Bảng 9. Các kết quả glucoza huyết thanh (mg/dl).

Các nồng độ insulin huyết thanh được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA) cạnh tranh, như được mô tả trên đây liên quan đến các nghiên cứu 1 và 2. Dữ liệu được phân tích bằng cách phân tích dược động học không chia ngăn sử dụng Phoenix WinNonLin. Các thông số dược động học dưới dạng hàm của nồng độ triphosphat được thể hiện trong bảng 10 dưới đây.

Chế phẩm		Tmax (phút)	Cmax (nM)	AUC _{INF} (phút*nM)	CL/F (ml/phút/kg)
HUMALOG N=13	Trung bình ± SE	58,8 ± 7,49	1,12 ± 0,176	129 ± 9,27	9,88 ± 0,669
	Trung vị	60	1,00	120	9,99
Chế phẩm F: HUMULIN + 20 mM triphosphat N=14	Trung bình ± SE	22,5 ± 9,55	1,45 ± 0,230	173 ± 14,6	7,48 ± 0,527
	Trung vị	7,50	1,12	159	7,54
Chế phẩm G: APIDRA + 20 mM triphosphat N=15	Trung bình ± SE	17,7 ± 4,02	1,65 ± 0,196	166 ± 11,7	7,75 ± 0,527
	Trung vị	10,0	1,52	153	7,85
Chế phẩm H: NOVOLOG + 20 mM triphosphat N=14	Trung bình ± SE	27,9 ± 10,8	1,10 ± 0,111	121 ± 12,7	10,9 ± 0,784
	Trung vị	12,5	0,980	108	11,1

Bảng 10. Dữ liệu PK. Các từ viết tắt: Tmax – thời gian ở nồng độ insulin lớn nhất, Cmax – nồng độ insulin lớn nhất, AUC_{INF} – diện tích dưới đường cong từ 0 đến vô cực, CL/F – độ thanh thải/độ sinh khả dụng.

Dữ liệu PK/PD chứng tỏ rằng việc sử dụng triphosphat trong các chế phẩm insulin thương mại khác nhau thúc đẩy tác dụng theo thời gian và làm giảm Tmax so với HUMALOG mà không chứa triphosphat. Tất cả các chế phẩm chứa 20 mM triphosphat tạo ra Tmax nhanh hơn so với HUMALOG riêng rẽ. Các chế phẩm chứa APIDRA và HUMULIN với 20 mM triphosphat tạo ra Cmax cao hơn so với HUMALOG riêng rẽ.

Nghiên cứu lâm sàng

Nghiên cứu lâm sàng được thực hiện để nghiên cứu ảnh hưởng dược động học và dược lực học của các chế phẩm theo sáng chế. Nghiên cứu này được thiết kế dưới dạng nghiên cứu chéo 5 giai đoạn để so sánh các ảnh hưởng sau khi dùng liều dưới da (subcutaneous - SC) 4 chế phẩm chứa các nồng độ triphosphat khác nhau với insulin lispro, so với chế phẩm insulin lispro không chứa triphosphat. Các vật phẩm thử nghiệm được bào chế bằng cách bổ sung các đủ lượng triphosphat và magie clorua vào chế phẩm thương mại U200 là insulin lispro để đạt được các nồng độ được chỉ ra trong bảng 11 dưới đây:

Tên chế phẩm	Thành phần chế phẩm
HUMALOG	100 đơn vị/ml insulin lispro 7 mM natri phosphat 0,3 mM Zn 16 mg/ml glycerin 3,15 mg/ml m-cresol
Chế phẩm I	+ 10 mM triphosphat
Chế phẩm J	+ 20 mM triphosphat
Chế phẩm K	+ 30 mM triphosphat
Chế phẩm L	+ 30 mM triphosphat + 7,5 mM MgCl ₂

Bảng 11. Các thành phần của các vật phẩm thử nghiệm và đối chứng. Ngoài insulin lispro, chế phẩm HUMALOG U-200 mà triphosphat và MgCl₂ được bổ sung vào để tạo ra các vật phẩm thử nghiệm còn chứa 5 mg/ml trometamin, 16 mg/ml glycerin, 3,15 mg/ml m-cresol và 0,046 mg/ml Zn²⁺.

Các đối tượng khỏe mạnh được tuyển chọn và mỗi đối tượng được ngẫu nhiên hóa vào trình tự điều trị, bao gồm 15 liều SC đơn vị đơn của insulin lispro riêng rẽ và 15 liều SC đơn vị insulin đơn của mỗi trong số các chế phẩm thử nghiệm. Cần ít nhất là 3 ngày giữa các lần dùng liều đối với một đối tượng riêng.

Các mẫu máu được lấy ở nhiều thời điểm để xác định các nồng độ huyết thanh của insulin lispro theo thời gian. Các nồng độ huyết thanh của insulin lispro được đo bằng cách sử dụng phương pháp thử nghiệm hấp thụ miễn dịch được liên kết enzym đã được phê duyệt đặc hiệu đối với insulin lispro. Các phân tích được động học được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp phân tích chuẩn không chia ngăn sử dụng Phoenix® phiên bản 7.0 (hoặc cao hơn) và phần mềm S-PLUS® (phiên bản 8.2). Các nồng độ insulin lispro huyết thanh tự do được sử dụng để tính toán các thông số được động học. Các kết quả được thể hiện trong bảng 12 dưới đây.

	Điều trị	Trung bình LS	Tỷ lệ thử nghiệm:đối chiếu (95% CI)
T _{khởi đầu} (phút)	Humalog	1,78	
	Chế phẩm I	0,12	0,07 (0,04, 0,10)
	Chế phẩm J	0,10	0,05 (0,04, 0,08)
	Chế phẩm K	0,09	0,05 (0,03, 0,07)
	Chế phẩm L	0,08	0,04 (0,03, 0,07)
50% T _{max} sớm (phút)	Humalog	19,06	
	Chế phẩm I	6,04	0,32 (0,26, 0,38)
	Chế phẩm J	5,04	0,26 (0,23, 0,31)
	Chế phẩm K	4,73	0,25 (0,21, 0,30)
	Chế phẩm L	4,58	0,24 (0,20, 0,29)
AUC _(0-15phút) (pmol*h/L)	Humalog	19,87	
	Chế phẩm I	136,98	6,89 (5,44, 8,74)
	Chế phẩm J	155,78	7,84 (6,19, 9,93)
	Chế phẩm K	156,21	7,86 (6,21, 9,96)
	Chế phẩm L	157,25	7,92 (6,27, 10,00)
AUC _(0-30phút) (pmol*h/L)	Humalog	120,07	
	Chế phẩm I	371,42	3,09 (2,63, 3,64)
	Chế phẩm J	393,84	3,28 (2,79, 3,86)
	Chế phẩm K	397,06	3,31 (2,81, 3,89)
	Chế phẩm L	393,79	3,28 (2,79, 3,85)
50% t _{max} muộn (phút)	Humalog	168,28	
	Chế phẩm I	86,10	0,51 (0,45, 0,58)
	Chế phẩm J	82,10	0,49 (0,42, 0,57)
	Chế phẩm K	80,80	0,48 (0,44, 0,52)
	Chế phẩm L	84,52	0,50 (0,45, 0,56)

Bảng 12. Dữ liệu PK. Các từ viết tắt: LS – bình phương tối thiểu, CI – khoảng tin cậy, T_{khởi đầu} – thời gian đến khởi đầu của sự xuất hiện insulin, 50% T_{max} sớm – thời gian đến một nửa nồng độ dược chất lớn nhất sớm, AUC_(0-15phút) – diện tích dưới đường cong từ thời điểm 0 đến 15 phút, AUC_(0-30phút) – diện tích dưới đường cong từ thời điểm 0 đến 30 phút, 50% t_{max} muộn – thời gian đến một nửa nồng độ dược chất lớn nhất muộn. Trị số P đối với tất cả các vật phẩm thử nghiệm so với đối chứng Humalog <0,0001.

Các kết quả thể hiện các chế phẩm chứa triphosphat có các thông số dược động học được thúc đẩy so với đối chứng không chứa triphosphat.

Ngoài ra, kẹp glucoza đẳng đường huyết 5 giờ được thực hiện trong mỗi giai đoạn để cho phép đánh giá đáp ứng lực học glucoza với mỗi điều trị. Trong đánh giá này, tốc độ truyền glucoza (glucose infusion rate - GIR) theo thời gian được sử dụng làm thước đo ảnh hưởng của insulin. Hàm làm trơn đồ thị phân tán trọng số cục bộ (locally weighted scatterplot smoothing - LOESS) được áp dụng đối với tất cả các profin GIR theo thời gian riêng trong mỗi nhóm và/hoặc giai đoạn điều trị bằng cách sử dụng phần mềm S-PLUS phiên bản 8.2. Dữ liệu được khớp đối với mỗi đối tượng được sử dụng để tính toán các thông số lực học glucoza.

Việc phân tích dữ liệu cho thấy các chế phẩm chứa triphosphat có các thông số được lực học được cải thiện so với đối chứng không chứa triphosphat. Các nghiên cứu được mô tả trên đây chứng tỏ rằng việc bổ sung các lượng nhỏ các polyphosphat nhất định như pyrophosphat hoặc triphosphat vào các chế phẩm insulin có thể tạo ra Tmax sớm hơn và Cmax cao hơn trong profin dược động học của insulin.

Các trình tự

Chuỗi A của 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 của 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 của 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 của 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 của insulin glulisin

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 insulin và triphosphat, trong đó nồng độ triphosphat là từ khoảng 10 đến khoảng 30 mM, với điều kiện dược phẩm này không chứa hợp chất anion được thể có cấu trúc không phải sacarit, multime sacarit hoặc EDTA.
2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó nồng độ triphosphat là từ khoảng 20 đến khoảng 25 mM.
3. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó nồng độ triphosphat là khoảng 20 mM.
4. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này còn chứa kẽm.
5. Dược phẩm theo điểm 4, trong đó nồng độ kẽm là từ khoảng 0,2 đến khoảng 5 mM.
6. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này còn chứa chất điều chỉnh độ trương.
7. Dược phẩm theo điểm 6, trong đó chất điều chỉnh độ trương là glyxerol.
8. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này còn chứa một hoặc nhiều chất bảo quản.
9. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó một hoặc nhiều chất bảo quản được chọn từ nhóm bao gồm phenol, meta-cresol, và rượu benzylic.
10. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó insulin được chọn từ nhóm bao gồm insulin người, insulin lispro, insulin aspart và insulin glulisin.
11. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó nồng độ insulin là từ khoảng 40 đến khoảng 500 IU/ml.
12. Dược phẩm theo điểm 11, trong đó nồng độ insulin là từ khoảng 100 đến khoảng 200 IU/ml.
13. Vật phẩm sản xuất bao gồm dược phẩm theo điểm 1, trong đó vật phẩm sản xuất này được chọn từ nhóm bao gồm lọ dùng nhiều lần, bút tiêm dùng lại được, bút nạp sẵn thuốc, dùng một lần, dụng cụ tiêm tự động hoặc bơm để truyền insulin liên tục dưới da (continuous subcutaneous insulin infusion - CSII).

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Eli Lilly and Company

<120> Dược phẩm chứa insulin tác dụng nhanh và vật phẩm sản xuất bao gồm dược phẩm này

<130> X20081

<150> US 62/513,645

<151> 2017-06-01

<150> PCT/US2018/035261

<151> 2018-05-31

<160> 5

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<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> Homo sapiens

<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