



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 114700

(13) C2

(51) МПК

A61K 38/28 (2006.01)

A61K 9/22 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

A61K 47/14 (2017.01)

A61K 47/50 (2017.01)

A61P 3/10 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки:	<b>а 2013 02142</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и):	<b>Хедкар Ананд (IN), Рангаппа Шарат Кумар Маллапура (IN), Субрамані Рамеш (IN), Дейв Нітеш (IN), Радхакрішнан Девеш (IN), Шанкар Сундареш (IN), Чівукула Судхір (IN), Рамакрішна Ранджіт (IN), Мерті Шанмугам Тандава (IN), Паї Харіш Венкатраман (IN), Сенгупта Ніланджан (IN), Меларкоде Рамакрішнан (IN), Іср Харіш (IN)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки:	<b>16.10.2008</b>	<b>(73)</b> Власник(и):	<b>БЮКОН ЛІМІТЕД, 20th KM, Hosur Road, Electronics City P. O., Bangalore, 560 100, India (IN)</b>
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід:	<b>25.07.2017</b>	<b>(74)</b> Представник:	<b>Крилова Надія Іванівна, реєстр. №30</b>
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>02340/CHE/2007, 00714/CHE/2008</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	<b>WO 2006/014673 A2, 09.02.2006</b>
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	<b>16.10.2007, 24.03.2008</b>		
<b>(33)</b> Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	<b>IN, IN</b>		
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку:	<b>26.08.2014, Бюл.№ 16</b>		
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>25.07.2017, Бюл.№ 14</b>		
<b>(62)</b> Номер та дата подання попередньої заявки, з якої виділено заявку, позначену кодом (21):	<b>, а201004294, 16.10.2008</b>		

**(54) ТВЕРДА ФАРМАЦЕВТИЧНА ФОРМА ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ТА ПРОЦЕС ЇЇ ВИГОТОВЛЕННЯ****(57) Реферат:**

Винахід стосується висушеної розпилюванням композиції, яка містить по суті аморфні висушені розпилюванням часточки кон'югату сполуки катіон-інсулін і включає приблизно 0,01-20 мас. % IN-105, приблизно 10-60 мас. % насичених або ненасичених C4-C12 жирних кислот, естерів жирних кислот або їх солей, та принаймні один фармацевтично прийнятний наповнювач, вибраний з групи, яка складається принаймні з 10 мас. % дезінтегранта, 10 мас. % розріджувача, 0,5 мас. % змашувача, де IN-105 є молекулою інсуліну, кон'югованою при епсилон-амінокислоті лізині на позиції В29 В-ланцюга інсуліну з олігомером структурної формули  $\text{CH}_3\text{O}-(\text{C}_4\text{H}_2\text{O})_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ .

UA 114700 C2



В цьому дослідженні описано фармацевтичні сполуки, що дозволяють пероральне введення протеїнів/пептидів або їхніх похідних та/або комплексних сполук катіону та інсуліну, що мають необхідний фармакінетичний профіль та є ефективними для лікування діабету собак та людей. Оптимальна формула складається з 0,01-20 % масових відсотків інсуліну, комплексів інсулінових сполук та/або комплексних сполук катіону та інсуліну, 10-60 % одного або більше компонентів жирних кислот, відібраних з насичених чи ненасичених жирних кислот C4-C12 та/або солей таких жирних кислот, а також містить оптимальну кількість інших придатних з фармацевтичної точки зору полімерних допоміжних сполук, що покращують розчинність, швидкість розчинення та ефективну біодоступність сполук, що погано розчиняються у воді та є сумісною із профілями вивільнення *in-vivo* за умови масштабування у ході виробничого процесу. Винахід також дає опис процесу виготовлення зазначених формул.

Останнім часом проводиться все більше досліджень, метою яких є заміна традиційних шляхів введення інсуліну під шкіру механізмами введення препаратів пероральним шляхом, що не змінює їхньої фізіологічної та клінічної дії. Проблеми, що спостерігаються у цій сфері розроблення дієвої системи перорального прийому препаратів для біологічних макромолекул, в основному пов'язані із її чутливістю до ферментативного розщеплення та низької епітеліальної проникності. Окрім цього, умови процесу можуть легко змінити структуру та будову інсуліну, що може призвести до втрати біологічної діяльності. Певні підходи, що використовуються для подолання цих обмежень, передбачають застосування аналогів інсуліну, застосування таких пептидів як амілін, глюкагоноподібних пептидів, С-пептидів, інгаляційних форм, внутрішньоносних форм, які окремо мають обмеження стосовно їхньої біологічної доступності.

Існує потреба у розробці фармацевтично прийнятних комплексних сполук інсуліну, що мають підвищену біологічну активність або інші вдосконалені фармацевтичні властивості, пов'язані з існуючими кон'югатами. Окрім цього, ці вдосконалені кон'югати мають бути у формі стабільної та нестандартної формули, яка б легко максимізувала переваги перорального введення протеїнів. Винахід поєднує вдосконалені інсулінові кон'югати, підвищену біодоступність та покращену формулу, що дозволяє зменшити обмеження стосовно введення інсуліну.

Серед прикладів сполук інсуліну можна навести людський інсулін, інсулін лізпро, інсулін des30, природний проінсулін, штучні проінсуліни тощо. Катіонний компонент може, наприклад бути катіоном двовалентного металу з групи, яка складається з Zn<sup>++</sup>, Mn<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup>, Fe<sup>++</sup>, Ni<sup>++</sup>, Cu<sup>++</sup>, Co<sup>++</sup> та Mg<sup>++</sup>. Комплексні сполуки катіону та інсуліну також містять модифікуючу частку, пов'язану (наприклад ковалентним або іонним зв'язком) із сполукою інсуліну для формування інсулінового комплексу. Модифікуючий компонент призначений для того, щоб надати комплексній сполуці інсуліну рівну або вищу розчинність, порівняно із відповідним вільним інсуліном, а додання цинку дозволяє зменшити водорозчинність комплексної сполуки інсуліну; розчинність комплексу у воді є вищою за розчинність сполуки інсуліну у воді.

Приклади придатних модифікуючих компонентів та комплексних сполук інсуліну, які можна використовувати у виробництві лікарських препаратів, можна знайти у патентах США № 7,060,675, 6,303,569, 6,214,330, 6,113,906, 5,985,263, 5,900,402, 5,681,811, 5,637,749, 5,612,640, 5,567,422, 5,405,877, 5,359,030, які наведено в цьому документі за посиланням. Додаткові приклади таких комплексних сполук катіону та інсуліну наведено у заявках на патент США US2003/083232, US 2006/0019873 та US2006/0019874.

Всупереч існуючій практиці, сполуки в цьому винаході демонструють знижені мітогенні властивості, які майже втричі нижчі за відповідні мітогенні властивості Інсугену®.

Інсулін зв'язує та активує споріднену сполуку, інсуліновий рецептор (IR) із субнаномольною спорідненістю. Інсулін також пов'язує структурно подібний рецептор інсуліноподібного фактору росту (IGFR), проте спорідненість приблизно у 1000 разів нижча, ніж в інсуліновому рецепторі. Відповідно, у фізіологічних концентраціях інсуліну IGFR не відіграє жодної ролі у встановленні зв'язку з інсуліном. Однак в дуже високих концентраціях (наприклад, для лікування діабету) мітогенна дія забезпечується IGFR, який передає стимули росту більш ефективно, ніж інсуліновий рецептор (Lammers R, et al., EMBO 1989).

Один із раніше визначених аналогів інсуліну із модифікацією на залишку аспаргінової кислоти B10 був призначений для забезпечення швидкодіючого інсулінового ефекту, однак, в свою чергу, модифікація значно збільшила мітогенні властивості цього аналога [Drejer, K., The bioactivity of insulin analogues from *in vitro* receptor binding to *in vivo* glucose uptake. Diabetes Metab Rev, 1992. 8(3): p. 259-85]. Було проведено дослідження з метою вивчення декількох інсулінових аналогів порівняно із рецептором інсуліноподібного фактору росту 1 (IGF-1) та інсулінового рецептора. Константи зв'язування було зважено та порівняно із метаболічними та мітогенними властивостями інсулінових аналогів, які фігурували в дослідженні [Kurtzhals, P., et

al., Correlations of receptor binding and metabolic and mitogenic potencies of insulin analogs designed for clinical use. Diabetes, 2000.49(6): p. 999-1005.]. За результатами проведених досліджень у порівнянні із регулярним інсуліном, інсулін лізпро, інсулін аспарт та інсулін гларгін мали мінімальні зміни у встановленні зв'язку із інсуліновим рецептором, у той час як інсуліну детемір мав значно нижчі показники. Кожний з цих аналогів мав подібний або вищий ступінь розщеплення у порівнянні із рецептором IGF, що відповідало їхній мітогенній поведінці.

Мітогенна дія протеїнів/пептидів та їхніх кон'югатів, комплексних сполук катіонів та пептидів та комплексних сполук катіонів та інсулінів є головним предметом хвилювань стосовно ризику підвищеного рівня мітогенності та росту клітин грудного епітелію людини. Дослідження підтвердили, що зв'язування IGF-1 інсуліну аспарт було подібне до зв'язування природного людського інсуліну. Зв'язувальна властивість інсуліну лізпро та інсуліну гларгін стосовно рецептора IGF-1 підвищилася у 1,5-6,5 разу, що доводить той факт, що інсулін має значно більшу мітогенну реакцію.

Довгостроковий ефект мітогенних властивостей аналогів інсуліну, їхніх кон'югатів, комплексних сполук катіонів та пептидів та комплексних сполук катіонів та інсуліну є важливим фактором, яким не можна нехтувати. У документі CPMP/SWP/372/01 про неклінічну оцінку канцерогенного потенціалу аналогів інсуліну стверджується: "Окрім метаболічного ефекту, природний людський інсулін має слабкий мітогенний ефект. Цей ефект є досить важливим у розрізі забезпечення безпеки аналогів інсуліну, оскільки структурні зміни молекули інсуліну можуть збільшити мітогенні властивості, що може призвести до стимуляції росту неоплазм, що існували раніше". "Хоча спостерігалася покращена активація рецептора інсуліноподібного фактора росту 1 (IGF-1) та/або відхилення передачі сигналів через інсуліновий рецептор, механізм(и), відповідальний за мітогенну діяльність аналогів інсуліну, все ще потребують дослідження".

З огляду на збільшення переліку доказів того, що IGF-1 стимулює розвиток раку кишки, молочної залози, простати та легенів, існує потреба розробки протеїнів/пептидів та їхніх сполук, комплексних сполук катіонів та пептидів та комплексних сполук катіонів та інсуліну з мінімальним мітогенним ризиком, встановленим за результатами аналізу росту клітин, що може вважатися безпечним у розрізі довгострокової терапії.

Даний винахід належить до протеїнів/пептидів, їхніх сполук та/або комплексних сполук, мітогенні властивості яких втричі нижчі у порівнянні із Інсугеном. Подальші аспекти цього винаходу стосуються того факту, що наповнювачі препарату не впливають на мітогенні характеристики речовини препарату зі статистичної точки зору.

Інший аспект винаходу пов'язаний із нестандартними фармацевтичними сполуками, що передбачають пероральний прийом протеїнів/пептидів чи їхніх кон'югатів або комплексних сполук катіонів та інсуліну, що мають потрібні фармакінетичні профілі та можуть виявитися дієвими у лікуванні діабету собак та людей.

У документі WO00/50012 надано опис твердих лікарських форм, що складаються з препарату та підсилюючої складової, де така підсилююча речовина є сіллю жирної кислоти середнього ланцюга з довжиною вуглецевого ланцюга у 6-20 атомів вуглецю. У документі US2006/0018874 описано тверду фармацевтичну форму для перорального застосування шляхом ковтання із 0,1-75 % масового відсотку компонента жирної кислоти, де компонент жирної кислоти складається з насичених або ненасичених жирних кислот та/або солей та терапевтичної речовини.

Незважаючи на вищенаведене, все ще існує потреба у виробництві життєздатних інсулінових препаратів для перорального застосування, які б допомогли подолати проблеми, пов'язані із втратою біологічної активності у ході виробництва, та в той же час мали підвищену опірність ферментативному розщепленню in-vivo після ковтання. Цей винахід дає рішення з врахуванням обох вимог. Відповідно, у дослідженні описано проблеми, пов'язані із винайденням вискоєфективного механізму перорального введення препаратів на основі комплексних сполук інсуліну.

Цей винахід демонструє ряд переваг стосовно дозування та зручного методу застосування. Винахід також має переваги над попередніми препаратами, оскільки, на думку винахідників, раціональна формула IN-105 для перорального застосування зі зваженими компонентами інших допоміжних речовин та процес виробництва таблеток для перорального застосування мають легко підлягати масштабуванню. Окрім цього, у зв'язку із цією раціонально складеною формулою препарату для перорального застосування та процесом його виробництва фактор масштабування не впливає на дію препарату in-vivo чи його профіль вивільнення in-vivo.

Наявні на поточний момент інсулінові препарати для перорального застосування демонструють низький рівень стабільності, що перешкоджає пероральному введенню таких

ліків. Одним з найважливіших аспектів цього винаходу є той факт, що формула швидкорозчинного інсуліну для перорального застосування залишається стабільною у широкому діапазоні температур без негативного впливу на різноманітні параметри стабільності таблетки, такі як твердість, час розщеплення, накопичення домішок з високою молекулярною масою та ступінь розчинення. Такі таблетки демонструють відмінну стабільність навіть за прискорених умов та при відносній вологості 40°C/75 %. Притаманні стабільні властивості молекули та методів виробництва сприяють стабільності формули.

Інший аспект винаходу стосується вдосконалених фармацевтичних структур комплексних сполук катіонів та інсуліну, підготовлених шляхом масштабованого сушіння розпиленням, що передбачає підготування водної суспензії комплексної сполуки катіонів та інсуліну та не менше одного компоненту жирної кислоти з можливим доданням однієї чи більше допоміжних речовин, придатних з фармацевтичної точки зору.

У стандартному процесі обробки дрібних часток з використанням методу сушіння розпиленням матеріал, наприклад інгредієнт, який повинен формувати основну частину частки, розчиняють у відповідному розчині. Також матеріал, який підлягає розпилювальному сушінню, можна суспендувати або емульгувати у незмішуваному розчиннику для формування суспензії або емульсії. На цьому етапі можуть додаватися інші компоненти - наприклад препарати, фармацевтично прийнятні допоміжні речовини або пороутворюючі речовини. Після цього розчин розпорошується та формується у суміш дрібних крапель, а потім обробляється осушувальним газом у сушильній камері. Розчинник випарюється з крапель в осушувальний газ, краплі твердіють, формуючи частки. Ці частки відділяють від осушувального газу та відокремлюють.

Певні проблеми можуть спостерігатися у ході збільшення обсягів такого процесу розпилювального сушіння, наприклад, з рівня лабораторії чи пілотного заводу до рівня комерційного заводу. У разі недостатньої оптимізації швидкості та обсягів висушування можуть виникнути такі проблеми, як недостатнє висушування часток розчинника, зменшення видобутку продукту, погіршення чистоти тощо. З іншого боку, невірно виміряне підвищення швидкості висушування може призвести до невірної морфології часток та/або збільшення розміру певних часток препарату, наприклад тих, що мають критичні визначені характеристики. Що більш важливо, це може також змінити те, як твердий матеріал випадає у вигляді осаду під час випарювання розчинника, змінюючи структуру (наприклад, пористість) частки за межами встановлених норм, в результаті чого частка не містить або не може передати відповідну діагностичну або терапевтичну речовину.

Таким чином, існує необхідність у вдосконаленому процесі розпилювального сушіння для виробництва однорідних твердих аморфних дисперсій з високою чистотою та вдосконаленими характеристиками текучості, однорідністю та ефективністю збору.

Одною з задач цього винаходу є забезпечення комплексних сполук катіонів та інсуліну, одержаних в результаті розпилювальної сублімаційного сушіння, що передбачає вдосконалене висушування часток без впливу на чистоту, вихід та стабільність препарату. Результатом процесу є однорідні висушені тверді частки відповідної терапевтичної речовини, до яких додаються інші допоміжні речовини для формування фармацевтичних комплексних сполук катіонів та інсуліну для перорального застосування.

Інші цілі та переваги цього винаходу будуть більш зрозумілими для спеціалістів в цій сфері в розрізі вимог до розкриття інформації.

Головним предметом цього винаходу є розробка твердої фармацевтичної форми комплексної сполуки катіону та інсуліну для перорального застосування, яка складається з насичених чи ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи солей, та щонайменше трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, відібраних із групи, яка складається з зв'язувальних речовин, пластифікаторів, речовин, що покращують проникнення, та солюбілізаторів.

Іншим предметом цього винаходу є розробка твердої фармацевтичної форми для перорального застосування у формі таблетки, капсули, часток, порошку, саше або сухої суспензії.

Іншим предметом цього винаходу є розробка процесу виробництва твердої фармацевтичної форми IN-105 для перорального застосування.

Іншим предметом цього винаходу є розробка IN-105 у таблетованій формі.

Іншим предметом цього винаходу є розробка дози твердої фармацевтичної форми для перорального застосування з метою забезпечення максимального контролю концентрації глюкози в крові після прийому їжі у пацієнтів-діабетиків протягом 5-60 хвилин після прийому препарату.

Іншим предметом цього винаходу є розробка методу приготування аморфних часток методом розпилювальної сублімаційної сушки.

Іншим предметом цього винаходу є розробка фармацевтичної сполуки IN 105, яка б мала втричі нижчі мітогенні властивості у порівнянні із природним аналогом.

5 Іншим предметом цього винаходу є розробка фармацевтичної сполуки, що містить комплексну сполуку катіонів та пептидів, де допоміжні речовини не впливають на мітогенні властивості кон'югату.

Відповідно, в цьому дослідженні описано тверду фармацевтичну форму IN-105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів; фармацевтичну сполуку для перорального застосування, де лікарська форма для перорального застосування представлена у формі таблетки, капсули, порошку, саше або сухої суспензії; процес виробництва твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів, та який передбачає а) подрібнення відповідних насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12 та/або солей такої жирної кислоти, б) гранулювання одержаної після виконання пункту (а) жирної кислоти із органічним розчинником, с) висушування на повітрі гранул, одержаних у пункті (b), d) просіювання висушених гранул через решето для одержання гранул з потрібним розміром часток, e) змішування гранул жирної кислоти із комплексною сполукою катіону та інсуліну та допоміжними речовинами, f) формування суміші у таблетку; процес виробництва твердої фармацевтичної сполуки IN105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів, та який передбачає а) подрібнення відповідних насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12 та/або солей такої жирної кислоти та зв'язувальної речовини, б) суспендування комплексної сполуки катіону та інсуліну в органічному розчиннику з використанням зв'язувальної речовини для формування вологої маси, с) гранулювання компонентів, одержаних у пункті (b), з використанням зв'язувальної речовини, d) протирання висушених гранул, одержаних у пункті (c), e) змішування гранул з допоміжними речовинами, f) формування суміші у таблетку; процес, в якому використовується органічний розчинник з групи, що складається з ізопропанолу, ацетону, метилового спирту, метилізобутилкетону, хлороформу, 1-пропанолу, 2-пропанолу, ацетонітрилу, 1-бутанолу, 2-бутанолу, етилового спирту, циклогексану, діоксану, етилацетату, диметилформаміду, дихлороетану, гексану, ізооктану, метиленхлориду, третбутанолу, толуолу, чотирехлористого вуглероду чи їхніх поєднань; 5-500 мг таблетки твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів; 50 мг таблетки твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів; 100 мг таблетку твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-

105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів; 150 мг таблетку твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів; 200 мг таблетку твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01 % - 20 % масової частки IN-105, 10 % - 60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів; 250 мг таблетку твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів; дозу твердої фармацевтичної форми для перорального застосування з метою забезпечення максимального контролю концентрації глюкози в крові після приймання їжі у пацієнтів-діабетиків протягом 5-60 хвилин після прийому препарату; стабільної твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів, при цьому така сполука має залишатися стабільною за умов, відібраних з групи, яка складається з (а) температурного діапазону 2-40 °C, (b) відносної вологості (RH) 25 °C $\pm$ 2 °C/60 % $\pm$ 5 %, відносної вологості 30 °C $\pm$ 2 °C/65 % $\pm$ 5 %, відносної вологості 40 °C $\pm$ 2 °C/75 % $\pm$ 5 % протягом періоду не менше 6 місяців; метод приготування аморфних часток методом розпилювального сушіння з використанням 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів, при цьому цей метод передбачає а) приготування розчину або суспензії, що складається із комплексної сполуки катіону та інсуліну та компонента жирної кислоти, у розчиннику, b) розпилювання розчину у камері в умовах, що дозволяють видалити значну частину розчинника; (c) одержання часток комплексної сполуки катіону та інсуліну методом розпилювального сушіння;

інсулінотропну фармацевтичну сполуку IN-105, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів, характеристикою якої є те, що вона демонструє втричі нижчі мітогенні властивості, у порівнянні із її природним аналогом; та фармацевтичну сполуку, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів, характеристикою якої є те, що допоміжні речовини не впливають на мітогенні властивості кон'югатів.

Стислий опис фігур:

Фіг. 1. Середній профіль інсуліну в плазмі - таблетки IN-105 (FDT-3).

Фіг. 2. Нормалізований профіль глюкози при прийнятті FDT-3.

Фіг. 3. Середній профіль інсуліну в плазмі - таблетки IN-105 (FDT-19).

5 Фіг. 4. Нормалізований профіль глюкози при прийнятті FDT-19.

Фіг. 5. Середній профіль інсуліну в плазмі - таблетки IN-105 (FDT-20).

Фіг. 6. Рівень глюкози після прийняття FDT-20.

Фіг. 7. Профіль інсуліну в плазмі.

Фіг. 8. Профіль рівня введення глюкози.

10 Фіг. 9. Профіль глюкози в плазмі.

Фіг. 10. Паралелізм та лінійність біологічного аналізу різних концентрацій Інсугену (R) та IN 105 на ПЗ PLA. Дані представляють середнє значення  $\pm$  SEM трьох значень, одержаних у ході експерименту.

15 Фіг. 11. Мітогенні властивості Інсугену у порівнянні з IN-105 та HIM-2 з аналізу PLA з використанням 4 точок у лінійному ряді.

Фіг. 12. Паралелізм та лінійність біологічного аналізу різних концентрацій Інсугену (R) у порівнянні з IN 105 (A) та Інсугену у порівнянні з HIM-2 (B) на ПЗ PLA. Дані представляють середнє значення  $\pm$  SEM трьох значень, одержаних у ході експерименту.

20 Фіг. 13. Мітогенна діяльність діалізованого IN-105 у порівнянні із порошком IN-105 для аналізу PLA з використанням 4 точок у лінійному ряді.

Фіг. 14. Порівняння метаболічних властивостей Інсугену (R), IN105 та HIM-2.

Фіг. 15. Паралелізм та лінійність біологічного аналізу різних концентрацій Інсугену (R) у порівнянні з IN 105 (A) та Інсугену у порівнянні з HIM-2 (B) на ПЗ PLA. Дані представляють середнє значення  $\pm$  SEM трьох значень, одержаних у ході експерименту.

25 Фіг. 16. Конкурентні криві (A) Інсугену(K), (B) IN 105 та (C) HIM-2, відповідно. Криві було побудовано з використанням ПЗ Graph Pad version-4. Дані відображають середнє значення трьохкратних значень, одержаних у результаті випробування.

Цей винахід стосується твердої фармацевтичної сполуки IN-105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів.

35 В іншому прикладі цього винаходу компонент жирної кислоти є каприновою кислотою та/або лауриновою кислотою чи їхніми солями.

В іншому прикладі цього винаходу компонент жирної кислоти є натрієвою сіллю капронової кислоти.

40 В іншому прикладі цього винаходу зв'язувальна речовина вибирається з групи, що складається з полівінілпіролідону, карбоксиметилцелюлози, метилцелюлози, крохмалю, желатину, цукрів, природних та синтетичних гум чи їхніх комбінацій.

В іншому прикладі цього винаходу як зв'язувальна речовина використовується полівінілпіролідон.

45 В іншому прикладі цього винаходу розчинник вибирається з групи, яка складається з солей кальцію, целюлози або похідних целюлози, палантинози, органічних кислот, цукру та цукрових спиртів, пектатів або їхніх комбінацій.

В іншому прикладі цього винаходу як розчинник використовується маніт.

50 В іншому прикладі цього винаходу дезінтегруюча речовина вибирається з групи, яка складається з поперечно зв'язаного полівінілпіролідону, карбоксиметилцелюлози, метилцелюлози, катіонообмінних смол, альгінової кислоти, гуарової смоли або їхніх комбінацій.

В іншому прикладі цього винаходу змащувальна речовина вибирається з групи, яка складається з стеарату магнію, стеарату натрію, бензоату натрію, ацетату натрію, фумарової кислоти, поліетиленгліколів, аланіну та гліцину.

55 В іншому прикладі цього винаходу як змащувальна речовина використовується стеарат магнію.

В іншому прикладі цього винаходу інтенсифікатор проникнення вибирається з групи, яка складається з лаурилсульфату натрію, пільмітолеїнового картиніну та їхніх похідних, мукоадгезивних полімерів, токсину zonula occludins, солей жовчних кислот, жирних кислот чи їхніх комбінацій.



В іншому прикладі цього винаходу як інтенсифікатор проникнення використовується лаурилсульфат натрію.

В іншому прикладі цього винаходу як інтенсифікатор проникнення використовується бета-циклодекстрин.

5 В іншому прикладі цього винаходу пластифікатор вибирається з групи, яка складається з поліетиленгліколю, пропіленгліколю, ацетил цитрату, триацетину, ацетильованого моногліцериду, рапсової олії, оливкової олії, кунжутної олії, цитрату ацетилетрилтриетилу, сорбітолу гліцерину, дітилоксалату, дітилмалату, дітилфумарату, дибутилсукцинату, дибутилфталату, діоктифталату, дибутилового ефіру себоцилової кислоти, трибутилового ефіру себоцилової кислоти, гліцеролтрибутирату, гліцеролтриацетату або їхніх сумішей.

В іншому прикладі цього винаходу як пластифікатор використовується поліетиленгліколь.

Цей винахід також стосується фармацевтичної сполуки для перорального застосування, де лікарська форма для перорального застосування представлена у формі таблетки, капсули, порошку, саше або сухої суспензії.

15 Цей винахід також описує процес виробництва твердої фармацевтичної сполуки для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub>, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 20 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солубілізаторів, який передбачає:

а. Подрібнення відповідних насичених або ненасичених жирних кислот C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub> та/або солей такої жирної кислоти.

25 б. Гранулювання одержаної після виконання пункту (а) жирної кислоти із органічним розчинником.

с Висушування на повітрі гранул, одержаних у пункті (b)

д. Просіювання висушених гранул через решето для одержання гранул з потрібним розміром часток.

30 е. Змішування гранул жирної кислоти із комплексною сполукою катіону та інсуліну та допоміжними речовинами

ф. Формування суміші у таблетку.

Цей винахід також описує процес виробництва твердої фармацевтичної сполуки для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub>, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 35 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солубілізаторів, який передбачає:

а. Подрібнення відповідних насичених або ненасичених жирних кислот C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub> та/або солей такої жирної кислоти та зв'язувальної речовини

б. Суспендування комплексної сполуки катіону та інсуліну в органічному розчиннику з використанням зв'язувальної речовини для формування вологої маси

45 с. Гранулювання компонентів, одержаних у пункті (b), з використанням зв'язувальної речовини.

д. Протирання висушених гранул, одержаних у пункті (c)

е. Змішування гранул з допоміжними речовинами.

ф. Формування суміші у таблетку.

50 В іншому прикладі цього винаходу органічний розчинник вибирається з групи, що складається з ізопропанолу, ацетону, метилового спирту, метилізобутилкетону, хлороформу, 1-пропанолу, 2-пропанолу, ацетонітрилу, 1-бутанолу, 2-бутанолу, етилового спирту, циклогексану, діоксану, етилацетату, диметилформаміду, дихлороетану, гексану, ізооктану, метиленхлориду, третбутанолу, толуолу, чотирихлористого вуглероду чи їхніх поєднань Цей винахід описує процес виробництва 5-500 мг таблетки твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub>, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 55

10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів.

Цей винахід також описує процес виробництва 50 мг таблетки твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів.

Цей винахід також описує процес виробництва 100 мг таблетки твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів.

Цей винахід описує процес виробництва 150 мг таблетки твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів.

Цей винахід описує процес виробництва 200 мг таблетки твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів.

Цей винахід описує процес виробництва 250 мг таблетки твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів.

Цей винахід також описує розробку дози твердої фармацевтичної форми для перорального застосування з метою забезпечення максимального контролю концентрації глюкози в крові після прийому їжі у пацієнтів-діабетиків протягом 5-60 хвилин після прийому препарату.

В іншому прикладі цього винаходу тверда фармацевтична форма для перорального застосування, що виробляє знижений рівень глюкози у сироватці у пацієнтів щонайменше на 5 % протягом 120 хвилин після перорального прийому препарату.

Цей винахід також описує процес виробництва стабільної твердої фармацевтичної сполуки IN 105 для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів, при цьому така сполука залишається стабільною за умов, відібраних з групи, яка складається з

(а) температурного діапазону 2-40 °C:

а. Відносної вологості (RH) 25 °C±2 °C/60 %±5 %, відносної вологості 30 °C±2 °C/65 %±5 %, відносної вологості 40 °C±2 °C/75 %±5 % протягом періоду не менше 6 місяців.

В іншому прикладі цього винаходу обсяг домішок не зростає більш ніж на 5 % у порівнянні із обсягом домішок на момент виробництва.

В іншому прикладі цього винаходу обсяг домішок не зростає більш ніж на 10 % у порівнянні із обсягом домішок на момент виробництва.

В іншому прикладі цього винаходу аналіз сполуки у формі не зменшується більш ніж на 10 %.

В іншому прикладі цього винаходу профіль розчинення є не менше 75 % у будь-якому зазначеному інтервалі часу.

В іншому прикладі цього винаходу часовий діапазон поширюється на період тривалістю більше 2 років.

5 В іншому прикладі цього винаходу різниця між профілем твердості становить не більше 1 кг/см<sup>2</sup> при порівнянні з профілем твердості при виробництві.

В іншому прикладі цього винаходу мінімум 95 %±2 % сполуки залишається нерозщепленою при піддаванні умовам, вибраним з групи, що складається з

(а) температурного діапазону 2-8 °C або 25 °C-40 °C

10 (b) відносна вологість (RH) 25 °C±2 °C/60 %±5 %, відносна вологість 30 °C±2 °C/65 %±5 %, відносна вологість 40 °C±2 °C/75 %±5 % протягом мінімум 6 місяців.

В іншому прикладі цього винаходу мінімум 90±2 % сполуки залишається нерозщепленою при піддаванні умовам, вибраним з групи, що складається з:

(а) температурного діапазону 2-8 °C або 25 °C-40 °C,

15 (b) відносна вологість (RH) 25 °C±2 °C/60 %±5 %, відносна вологість 30 °C±2 °C/65 %±5 %, відносна вологість 40 °C±2 °C/75 %±5 % протягом мінімум 6 місяців.

Метод приготування аморфних часток шляхом розпилювального сушіння з використанням 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається

20 щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солубілізаторів, при цьому цей метод передбачає:

а. Приготування розчину або суспензії, що складається із комплексної сполуки катіону та інсуліну та компоненту жирної кислоти, у розчиннику.

25 б. Розпилювання розчину у камері в умовах, що дозволяють видалити значну частину розчинника.

с. Одержання часток комплексної сполуки катіону та інсуліну методом розпилювальної сушки.

30 В іншому прикладі цього винаходу компонент жирної кислоти вибирається з групи, яка складається з жирної кислоти C4-C12 та/або солей такої жирної кислоти.

В іншому прикладі цього винаходу компонент жирної кислоти є каприновою кислотою.

В іншому прикладі цього винаходу як розчинник використовується вода.

35 В іншому прикладі цього винаходу розчин або суспензія, що складається з IN 105 та компонента жирної кислоти, також містить розчинник.

В іншому прикладі цього винаходу як розчинник використовується манітол.

В іншому прикладі цього винаходу розмір часток, одержаних методом розпилювального сушіння, становить приблизно 1-100μ.

40 В іншому прикладі цього винаходу розчин або суспензія, що містить IN 105, піддається розпилювальному сушінню при температурі 80-150 °C.

В іншому прикладі цього винаходу розпилювальний тиск використовується для розпилювального сушіння в діапазоні від 0,5 кг/см<sup>2</sup> до 1,5 kg/см<sup>2</sup>.

В іншому прикладі цього винаходу чистота сполуки IN 105, одержаної методом розпилювального сушіння, становить мінімум 95 %.

45 В іншому прикладі цього винаходу чистота сполуки IN 105, одержаної методом розпилювального сушіння, становить мінімум 98 %.

В іншому прикладі цього винаходу чистота сполуки IN 105, одержаної методом розпилювального сушіння, становить мінімум 99 %.

Цей винахід також стосується інсулінотропної фармацевтичної сполуки IN-105, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змащуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солубілізаторів, характеристикою якої є те, що вона демонструє втричі нижчі мітогенні властивості у порівнянні із її природним аналогом.

В іншому прикладі цього винаходу інсулінотропна фармацевтична сполука IN 105 зменшує ріст клітин in-vitro та/або in-vivo до мінімум 20±5 % у порівнянні з її природним аналогом.

60 В іншому прикладі цього винаходу інсулінотропна фармацевтична сполука IN 105 зменшує ріст клітин in-vitro та/або in-vivo до мінімум 2 %±0,5 % у порівнянні з її природним аналогом.

В іншому прикладі цього винаходу сполука демонструє метаболічні властивості, подібні до властивостей її природного аналога.

Цей винахід також стосується фармацевтичної сполуки, що складається з 0,01-20 % масової частки IN-105, 10-60 % масової частки насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12, складних ефірів жирних кислот чи їхніх солей та принаймні трьох фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, вибраних з групи, що складається щонайменше з 10 % масової частки дезінтегруючої речовини, 10 % масової частки розчинника, 0,5 % змашуючої речовини, з можливим доданням зв'язувальної речовини, пластифікаторів, інтенсифікаторів проникнення та солюбілізаторів, при цьому характеристикою такої сполуки є те, що допоміжні речовини не впливають на мітогенні властивості кон'югату.

Основним предметом винаходу є розробка формули з миттєвим вивільненням, яка б складалась з протеїнів/пептидів, їхніх комплексних сполук та комплексних сполук катіону та поліпептиду, що мають потрібні фармакінетичні профілі та можуть бути ефективними у лікуванні діабету у людей та собак при пероральному застосуванні. На поточний момент встановлено, що немодифікований інсулін є нестабільним у шлунково-кишковому тракті; розробка раціональної формули з миттєвим вивільненням є спробою подолання цих проблем. Комплексні сполуки катіону та пептиду та комплексні сполуки катіону та інсуліну, про які йдеться в цьому дослідженні, характеризуються зниженими мітогенними властивостями. Користь комплексних сполук, про які йдеться в цьому дослідженні, полягає у дуже низькому або взагалі відсутньому ризику викликання мітогенних реакцій, навіть після тривалого використання, тому їх можна безпечно використовувати у довгостроковому лікуванні діабету. Терапевтичні сполуки, що використовувалися в цьому винаході, мають втричі нижчі мітогенні властивості у порівнянні із Інсугеном (R).

Важливим аспектом винаходу є те, що допоміжні речовини у препараті не впливають на мітогенні властивості речовини препарату, тому формула чи сполука має відносно нижчі мітогенні властивості у порівнянні із іншими інсуліновими препаратами, які доступні на ринку.

Іншою задачею дослідження є розробка формули з миттєвим вивільненням, яка б містила протеїни/пептиди, їхні комплексні сполуки та/або комплекси катіону та поліпептиду, та яка б залишалася стабільною при певному діапазоні температур та часовому інтервалі тривалістю до 12 місяців. Розроблена формула є стабільною при кімнатній температурі і також демонструє стабільність при підвищеній температурі.

Одним аспектом винаходу є те, що вироблена фармацевтична сполука пройшла оцінку при різних випробувальних умовах, температурах та з часовим інтервалом тривалістю до 12 місяців.

Основним прикладом цього винаходу є формула препарату для перорального застосування, що складається з 0,01-20 % масової частки інсуліну, комплексних сполук інсуліну та/або комплексних сполук катіону та інсуліну, 10-60 % масової частки однієї або декількох компонентів жирних кислот, відібраних з насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12 чи солей таких жирних кислот, 10-60 % масової частки розчинника, 1-20 % дезінтегруючої речовини, 0,01-5 % зв'язувальної речовини, та 0,01-5 % адсорбенту, з можливим доданням інших необхідних фармацевтичних речовин.

Відповідно, один аспект винаходу належить до формули, що складається з мінімум однієї біологічно активної сполуки, вибраної з похідних сполук інсуліну, аналогів інсуліну та комплексів інсуліну та інших терапевтичних речовин, що мають подібну до інсуліну дію.

З іншого боку, в дослідженні описано процес виробництва зазначеного вище препарату для перорального застосування при оптимальних виробничих умовах з використанням необхідних допоміжних речовин, які підвищують опірність активного компонента до розщеплення.

Процес виробництва зазначеного вище препарату у формі таблетки для перорального застосування, яка містить мінімум одну біологічно активну сполуку, вибрану з переліку протеїнів/пептидів, їхніх кон'югатів та комплексних сполук катіону та поліпептиду та має підвищену опірність до ферментативного розщеплення, передбачає виконання таких кроків:

1. Подрібнення відповідних насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12 та/або солей такої жирної кислоти

2. Гранулювання одержаної після виконання пункту (1) жирної кислоти із органічним розчинником

3. Висушування на повітрі гранул, одержаних у пункті (2)

4. Просіювання висушених гранул через решето для одержання гранул з потрібним розміром часток 250µm.

5. Змішування гранул жирної кислоти із комплексною сполукою катіону та інсуліну та допоміжними речовинами.

## 6. Формування суміші у таблетку.

З огляду на вищенаведені та інші задачі, винахід частково спрямований на розробку твердої лікарської форми для перорального застосування, що містить частку модифікованого інсуліну, який досягає максимального контролю концентрації глюкози в крові після прийому їжі у пацієнтів-діабетиків протягом 20-30 хвилин після прийому препарату. Спеціалісти можуть побачити, що дозування може залежати від конкретної сполуки, виразності симптомів та схильність до побічних ефектів. Спеціалісти можуть встановити потрібну дозу препарату декількома шляхами. Рекомендованим методом є вимірювання фізіологічної ефективності препарату. Форма може бути рідкою чи твердою, наприклад таблетка, капсула, частки, в т.ч. порошок чи саше.

Дослідження також дає опис нестандартному процесу розпилювального сушіння для одержання часток розміром 1-100 $\mu$ m, що містять терапевтичну речовину та мінімум одну фармацевтично прийнятну допоміжну речовину.

Процес передбачає (а) приготування розчину, який містить терапевтичний лікарський препарат з можливим доданням розчинника з концентрацією 0,001-20 % масової частки, з можливим доданням 10-60 % масової частки одного чи декількох компонентів жирної кислоти, вибраних з насичених або ненасичених жирних кислот C4-C12 та/або солей таких жирних кислот, (b) розпилювальне сушіння одержаної суміші для формування порошку.

Наступний аспект винаходу стосується поєднання інших фармацевтичних допоміжних речовин з одержаним в результаті розпилювального сушіння порошком для формування у таблетки.

## Методи

Методи дослідження забезпечують, наприклад, можливість одержання однорідних твердих часток, що містять терапевтичну речовину, якщо умови сприяють забезпеченню підвищеної ефективності випарювання на певне надходження тепла. Метод одержання таких часток у формі порошку може передбачати, наприклад, приготування водної суспензії або розчину біоактивного матеріалу, розпилення ультрадрібних крапель шляхом розгерметизації суміші,

та перетворення крапель на частки у вигляді порошку шляхом обміну розпилювальних газів та осушувальних газів, наприклад, шляхом розпилення у осушувальну камеру апарата для розпилювального сушіння.

Інші задачі та переваги цього винаходу будуть більш зрозумілими для спеціалістів в цій сфері в розрізі вимог до розкриття інформації.

Винахід дає метод лікування діабету, погіршеної переносимості глюкози, ранніх стадій діабету, пізніх стадій діабету у тварин та людей, та метод досягнення гомеостазу глюкози в результаті застосування однієї чи декількох доз препарату з миттєвим вивільненням, що містить протеїни/пептиди, їхні кон'югати та/або комплексні сполуки катіону та поліпептиду, що підвищують опірність терапевтично активної речовини до розщеплення.

## Визначення:

В ході опису представленого винаходу застосовуються терміни, визначення яких наведено нижче.

"Комплексна сполука катіону та інсуліну" належить до будь-якого компонента сполуки інсуліну. Сполука інсуліну може, наприклад, бути ссавцевою сполукою інсуліну, наприклад, людським інсуліном або інсуліновими похідними чи аналогами. Терапевтична речовина належить до молекули IN-105. IN-105 є молекулою інсуліну  $\epsilon$ -амінокислота лізин у положенні B29 інсуліну В-ланцюга з амфіфілічним олігомером структурної формули  $\text{CH}_3\text{O}-(\text{C}_4\text{H}_2\text{O})_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ . Ця молекула може бути моноспряжена на A1, B1 та B29, ди-спряжена на різних комбінаціях A1, B1 та B29 або триспряжена на різних комбінаціях A1, B1 та B29.

"Терапевтично дієва кількість" означає кількість інсуліну, що міститься у формах дозування цього препарату та є достатньою для забезпечення клінічно задовільного контролю концентрації глюкози в людській крові пацієнтів, хворих на діабет, на голодний чи ситий шлунок, протягом інтервалу дозування.

У контексті цього дослідження "розчинники"/"наповнювачі" є інертними речовинами, які додаються для збільшення маси препарату та забезпечення потрібного розміру таблетки. Серед поширених розчинників, які використовувалися в цьому дослідженні, є цукрові спирти, органічні кислоти, гален IQ, палатиноза, целюлоза та похідні целюлози, фосфат кальцію, сульфат кальцію, лактоза, каолін, манітол, хлорид натрію, сухий крохмаль, порошок цукру, кварц тощо.

У контексті цього дослідження "зв'язувальні речовини" є речовинами, що використовуються для надання порошковому матеріалу когезійних властивостей. Зв'язувальні речовини або "гранулятори", як їх іноді називають, забезпечують зчеплення формули, завдяки чому таблетка

зберігає форму після ущільнення та покращуються сипкість шляхом формування гранул потрібної твердості та розміру. Як зв'язувальні речовини широко застосовуються такі матеріали як карбосиметилцелюлоза, метилцелюлоза, полівінілпірролідон, крохмаль, желатин; цукри, наприклад цукроза, глюкоза, декстроза, меляса та лактоза; природні та синтетичні гуми, такі як аравійська камедь, альгінат натрію, екстракт ірландського моху, ranwar gum, ghatti gum, рослинний клей, Veegum, мікрокристалічна целюлоза, мікрокристалічна декстроза, амілоза, larch arabogalactan тощо. У розрізі цього дослідження використовувався полівінілпірролідон.

У контексті цього дослідження "дезінтегруючі речовини" є речовинами, які полегшують розпад чи розщеплення таблеток після прийому. Як дезінтегруючі речовини використовується крохмаль, глей, целюлоза, альгін чи гума. Також як дезінтегруючі речовини можуть виступати Veegum HV, метилцелюлоза, агар, бентоніт, целюлоза та деревина, природні губчасті речовини, катіонообмінні смоли, альгінова кислота, гуарова смола, цитрусовий м'якуш, перехресно зв'язаний полівінілпірролідон, карбосиметилцелюлоза тощо.

"Змащувальна речовина" може вибиратися з групи, яка складається зі стеарату магнію, стеарату натрію, бензоату натрію, фумарової кислоти, поліетиленгліколів (PEG) вище за 4000, аланіну та гліцину. В цьому дослідженні рекомендованою змащувальною речовиною є стерат магнію чи стеарат натрію.

"Стеарат магнію" - сполука магнію з сумішшю твердих органічних кислот, одержаних з жирів, що в основному складається з різних пропорцій стеарату магнію та пальмітату магнію. Використовується як фармацевтична змащувальна речовина у виробництві пресованих таблеток.

"Інтенсифікатори проникнення" - будь-яка сполука, що підвищує мембранну проникність та полегшує проходження препарату через біологічну оболонку, підвищуючи біологічну доступність терапевтичної речовини. Серед рекомендованих інтенсифікаторів мембранного проникнення можна назвати такі поверхнево-активні речовини, лаурилсульфат натрію, лаурат натрію, карнітин пальмової олії, Laureth-9, фосфатидилхолін, циклодекстрин чи їхні похідні, солі жовчних кислот, наприклад глікоклат натрію, деоксиколат натрію, тауроколіт натрію та фусидат натрію, хелатуючі агенти, наприклад EDTA, лимонна кислота та саліцилати, жирні кислоти (наприклад, олеїнова кислота, лаурилова кислота, ацилкарнітини, моно- та дигліцериди), L-карнітин та його похідні, мукоадгезивні полімери, токсин (zonula occludans toxin) чи їхні комбінації.

"Пластифікатори" вибираються з групи, яка складається з ацетил цитрату, триацетину, ацетильованого моногліцериду, рапсової олії, оливкової олії, кунжутної олії, ацетилтриетилуцитрату, сорбітолу гліцерину, діетилоксалату, діетилмаланату, діетилфумарату, дибутилсукцинату, дибутил фталату, диоктилфталату, диетилового ефіру себоцинової кислоти, трибутилцитрату, гліцеролтрибутирату, гліцеролтриацетату, поліетиленгліколю, пропіленгліколю та їхніх сумішей. Рекомендованим пластифікатором є поліетиленгліколь. Пластифікатор може становити до 40 % масової частки полімеру, що утворює плавку. В контексті цього винаходу використовувався PEG (поліетиленгліколь).

"Поліалкіленгліколь" або "PAG" - заміщені чи незаміщені лінійні чи розгалужені полімери поліалкіленгліколю, такі як поліетиленгліколь (PEG), поліпропіленгліколь (PPG) та полібутиленгліколь (PBG) та їхні комбінації (наприклад лінійні чи розгалужені полімери з поєднанням двох або більше одиниць PAG, що вибираються із субодиноць PEG, PPG, PPG та PBG), та включає моноалкілефір поліалкіленгліколю. Термін "субодиноця PAG" означає одну одиницю PAG, наприклад термін "субодиноця PEG" означає одну одиницю поліетиленгліколю, тобто  $-(CH_2CH_2O)-$ , термін "субодиноця PPG" означає одну одиницю поліпропіленгліколю, тобто  $-(CH_2CH_2CH_2O)-$  та термін "субодиноця PBG" означає одну одиницю поліпропіленгліколю, тобто  $-(CH_2CH_2CH_2CH_2O)-$  PAG та/або субодиноці PAG також включають заміщені PAG чи субодиноці PAG, наприклад алкіловані частини ланцюга такі як метиловані, етиловані чи пропіловані частини ланцюга або карбонільовані частини ланцюга, а також PAG, що включають одну чи більше розгалужених субодиноць PAG таких як ізополіпропіленгліколь чи ізополібутиленгліколь.

"Солюбілізатори" можуть бути будь-якими речовинами, що підвищують розчинність препарату у воді.

У контексті цього дослідження "фармацевтично прийнятний носій" складається з одного чи декількох агентів, вибраних з групи, яка складається з вуглеводів та модифікованих вуглеводів та їхніх похідних, поліетилену та/або поліпропіленгліколю та їхніх похідних, неорганічних наповнювачів чи змащувальних речовин, жирних кислот та їхніх ефірів та солей, консервантів та оболонок.

У контексті цього дослідження "ефективна кількість" означає кількість будь-якого агента і що є нетоксичною, проте достатньою для забезпечення необхідної місцевої або систематичної дії та ефекту при розумному співвідношенні користі та ризику, що супроводжує будь-яке лікування. Наприклад, ефективна кількість змашувальної речовини - це кількість, достатня для

5 змашування суміші в цілях формування таблеток без будь-яких шкідливих ефектів.  
У контексті цього дослідження "органічні розчинники" означають будь-який розчинник неводного походження, в тому числі рідкі полімери або їхні суміші. Серед органічних розчинників, придатних у цілях цього дослідження, можна назвати: ацетон, метиловий спирт, метилізобутилкетон, хлороформ, 1-пропанол, ізопропанол, 2-пропанол, ацетонітрил, 1-бутанол, 10 2-бутанол, етиловий спирт, циклогексан, діоксан, етилацетат, диметилформамід, дихлоретан, гексан, ізооктан, хлористий метилен, тертбутиловий спирт, толуол, чотирихлористий вуглець або їхні поєднання.

"Аналіз" може бути лабораторним випробуванням, проведеним з метою встановлення та вимірювання кількості певної речовини.

15 "Домішки" можуть визначатися як компоненти, що не є частиною природної формули, та що впливають на якість чи властивості сполуки, особливо якщо таке спричинено однією чи декількома з наступних факторів:

a. Забруднення.

b. Недостатня сумісність чи однорідність; домішування.

20 c. Дещо, що забруднює інший компонент; неякісний компонент чи домішка.

"Тест на розчинність" виконується для визначення сумісності з вимогами до розчинення, встановлених в окремій монографії для форми дозування таблетки чи капсули. Розчинення таблетки є стандартизованим методом вимірювання швидкості вивільнення препарату з дозованої форми. Основну функцію тесту на розчинення можна описати з використанням таких характеристик як а) оптимізація терапевтичної ефективності при розробці препарату та оцінці 25 стабільності b) регламентна оцінка якості препарату для забезпечення однорідності вироблених партій c) оцінка "біологічної еквівалентності", тобто забезпечення однакового рівня біологічної активності для окремих партій продукції різних виробників.

Тест на розчинність можна проводити шляхом розчинення таблетки в потрібній кількості розчинника при  $37,0 \pm 0,5$  °C зі швидкістю обертання біля 50 обертів за хвилину. Рівень розчинення вимірюється при різних часових інтервалах, починаючи з 15 хвилин. Як розчинник в 30 цілях проведення тесту на розчинність можна використовувати воду, буферне та кисле середовище з pH 1-9 (рекомендовано - в межах 2-7).

"Твердість" зазвичай вимірюється як сила, потрібна для того, щоб розламати таблетку у ході виконання тесту на діаметральне ущільнення. Тест полягає у тому, що таблетку піддають тиску між двома ковадлами, доки вона не зламається. Фіксується сила, яка необхідна для того, щоб розламати таблетку. Термін "твердість" інколи означає силу, необхідну для того, щоб розламати 35 таблетку. Для проведення тесту на вимірювання твердості таблетки застосовується декілька інструментів, в тому числі тестер Стокса (Монсанто), тестер Кобба, тестер Пфайзера, тестер Ервека, тестер Heberlein (або Schleuniger), ключовий тестер та тестер van der Kamp. Твердість 40 вимірюється в  $\text{кг/см}^2$ .

"Дезінтеграція" визначається як стан, в якому будь-який залишок одиниці, окрім фрагментів нерозчинної оболонки чи капсули, що залишається на екрані тестового пристрою, стає м'якою масою без твердої середини.

45 Термін "розпилювальне сушіння" широко використовується відносно до процесів, які передбачають перетворення рідких сумішей у маленькі краплі (атомізація) та оперативне виділення розчинника з суміші у пристрої для розпилювального сушіння, в якому розчинник випарюється з суміші. Загальний опис процесу та обладнання для розпилювального сушіння наведено у Perry's Chemical Engineers' Handbook, стор. 20-54 та 20-57 (шосте видання, 1984 р.). 50 Більш детально питання процесу та обладнання для розпилювального сушіння розглянуто у роботі Marshall, "Atomization and Spray-Drying, " 50 Chem. Eng. Prog. Monogram. Series 2 (1954), та Masters, Spray Drying Handbook (п'яте видання, 1985 р.).

У контексті цього дослідження термін "сушіння" використовується стосовно крапель або часток, утворених в результаті видалення розчинника з такої краплі або частки.

55 У контексті цього дослідження термін "частка" поширюється та мікро-, субмікро- та макрочастки. Взагалі, діаметр часток варіюється від 10 нм та 5 мм або більше. Частки можуть бути у вигляді сфер, капсул, мати неправильну форму, у вигляді кристалів, порошку, агрегатів чи комплексів.

У дослідженні розглядається використання оболонкових речовин таких як нефункціональні (insta-coat, kollicoat IR) чи черевні оболонкові речовини, такі як полімери на основі целюлози, речовини, що утворюють плівку, поліметакрилат чи інші оболонкові речовини.

В широкому розумінні дослідження належить до формул, які містять ковалентно зв'язані комплекси терапевтичних речовин, де терапевтична речовина ковалентно зв'язана із однією або декількома молекулами полімеру та є гідрофільною часткою такого полімеру, наприклад, часткою поліалкіленгліколю та ліпофільною часткою, наприклад часткою жирної кислоти. З одного боку, терапевтична речовина може бути ковалентно спряжена ковалентним зв'язком із однією чи декількома молекулами полімеру поліалкіленгліколю, невід'ємною часткою якої є ліпофільна частка, наприклад частка жирної кислоти.

Модифіковані інсулінові комплекси, що застосовуються в цьому дослідженні, утворюються шляхом приєднання полімерів чи олігомерів з низькою молекулярною масою, які за природою є амфіфілічними та містять частку поліетиленгліколю, яка є гідрофільною, тоді як алкільний ланцюг є ліпофільним. Таке приєднання змінює структуру молекули препарату та стабілізує протеїн або пептид від ферментативного розщеплення у шлунково-кишковому тракті. Комплексний препарат більш ефективно всмоктується у стінки шлунково-кишкового тракту, ніж препарат у його природному вигляді. Під час руху у кровотоці зв'язок між гідрофільним та гідрофобним ланцюгом гідролізується, а високоактивний комплекс інсуліну та PEG залишається циркулювати в крові, змінюючи фармакінетику препарату.

Цей винахід стосується молекули IN-105. IN-105 є молекулою інсуліну спряженою із є-амінокислотою лізин у положенні B29 інсуліну B-ланцюга з амфіфілічним олігомером структурної формули  $\text{CH}_3\text{O}-(\text{C}_4\text{H}_2\text{O})_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ .

Одним з найважливіших аспектів цього винаходу є те, що комплексні сполуки катіону та пептиду та комплексні сполуки катіону та інсуліну, про які йдеться в цьому дослідженні, характеризуються зниженими мітогенними властивостями. Користь комплексних сполук, про які йдеться в цьому дослідженні, полягає у дуже низькому або взагалі відсутньому ризику викликання мітогенних реакцій навіть після тривалого використання, тому їх можна безпечно використовувати у довгостроковому лікуванні діабету. Терапевтичні сполуки, що використовувалися в цьому винаході, мають втричі нижчі мітогенні властивості у порівнянні із Інсугеном (R).

Іншим важливим аспектом цього винаходу є те, що допоміжні речовини у препараті не впливають на мітогенні властивості речовини препарату, тому формула чи сполука має відносно нижчі мітогенні властивості у порівнянні із іншими інсуліновими препаратами, які доступні на ринку.

"Природні аналоги" означає немодифіковані пептиди/протеїни, що демонструють подібну біологічну активність in-vitro або in-vivo, що й модифікований аналог, тобто така молекула є пептидом/поліпептидом до внесення будь-яких модифікацій.

За стандартною термінологією термін "мітогенний" визначає ті речовини, які стимулюють ділення клітин, які б інакше (тобто без впливу цієї речовини) мали б дуже низький рівень ділення.

Інноваційна цінність речовини, яку описано в цьому дослідженні, полягає в тому, що, посиляючись на конкретні досліді та експерименти, експерти вважають, що інсулін є речовиною, яка сама по собі вважалася мітогенною [DeMeyts P; The structural basis of Insulin and Insulin-like growth factor-1 receptor binding and negative cooperativity and its relevance to Mitogenic versus metabolic signaling. Diabetologia 37: S135-S148, 1994], Ish-Shalom D, Christoffersen CT, Vorwerk P, Sacerdoti-Sierra N, Shymko RM, Naor D and De Meyts P; Mitogenic properties of Insulin and Insulin analogues mediated by the insulin receptor. Diabetologia 40: S25-S31. Протеїни/пептиди, їхні комплексні сполуки та/або комплексні сполуки катіонів і поліпептидів, що використовувалися в цьому винаході, мають втричі нижчі мітогенні властивості, що було встановлено шляхом введення in-vitro виміреної проліферації клітин Balb 3T3-A31.

Ще одним аспектом винаходу є те, що використані ілюстративні сполуки демонструють "знижений рівень мітогенності" у порівнянні з Інсугеном (R), якщо він викликає значно нижчий рівень росту клітин, що було вимірено за допомогою синього фарбника Alamar. Спеціалісти можуть застосовувати інші придатні методи, та цей винахід у жодному разі не обмежується конкретним аналізом росту клітин.

Ілюстративні сполуки, що використовувалися в цьому дослідженні, вважаються значною мірою "немітогенними" у порівнянні з Інсугеном (R), якщо він викликає значно нижчий рівень росту клітин, що було за допомогою синього фарбника Alamar. Спеціалісти можуть застосовувати інші придатні методи, та цей винахід у жодному разі не обмежується конкретним аналізом росту клітин.



Для кількісного вимірювання мітогенної активності були застосовані колориметричні біоаналізи in-vitro [Okajima T., Nakamura K., Zhang H., Ling N., Tanabe T., Yasuda T., and Rosenfeld R. G. Sensitive Colorimetric Bioassays for Insulin-like Growth Factor (IGF) Stimulation of Cell Proliferation and Glucose Consumption: Use in Studies of IGF Analogs. *Endocrinology*, 1992, Vol. 120:2201-2210.]

Аналіз результатів біологічних проб нерідко здійснюється за допомогою паралельного методу. Логарифм доз складається вздовж горизонтальної осі, а відповідні реакції відображаються на вертикальній осі. Окремі реакції на кожний вид лікування позначаються блакитними (для стандартного препарату) та зеленими (для проби препарату) квадратами.

Статистичну життєздатність наступної гіпотези було перевірено методом складання паралельної моделі:

1. Відношення "доза-реакція" є лінійним для стандартного препарату та для проби препарату.

2. Крива "доза-реакція" має виражений спад.

3. Криві "доза-реакція" стандартного препарату та проби препарату є паралельними.

Процедура паралельного порівняння має декілька переваг у порівнянні із традиційним одноточковим аналізом. З огляду на перевірку зазначеної вище гіпотези:

1. Було підтверджено лінійне відношення дози та реакції.

2. Було одержано відносну можливість забезпечення незалежності від дози.

Відтворюваність мітогенних властивостей було проаналізовано за допомогою 4-параметрової логістичної кривої, лінійна частина якої складається з мінімум чотирьох послідовних точок. Результати виявили втричі нижчу мітогенну здатність IN 105 у порівнянні з Інсугеном (R).

Ще одним важливим винаходом є те, що мітогенна здатність молекули IN-105 у порошковій формі та у вигляді діалізованого розчину є однаковою. IN-105 має втричі нижчі мітогенні властивості у порівнянні з Інсугеном (R).

Іншим важливим аспектом дослідження є те, що мітогенна здатність молекули HIM2 в тридцять разів нижче у порівнянні з Інсугеном (R).

Без обмежень, ілюстративні похідні, що використовувалися в цьому дослідженні, наприклад IN-105, знижують ріст клітин in-vitro на мінімум 20 % або на мінімум 30 %, мінімум 35 %, мінімум 40 % у порівнянні з їхніми природними аналогами. Взагалі, на рівні мінімум 30 %.

Без обмежень, ілюстративні похідні, що використовувалися в цьому дослідженні, наприклад HIM-2, знижують ріст клітин in-vitro на мінімум 2 % або на мінімум 2,5 %, мінімум 3 %, мінімум 3,5 % у порівнянні з їхніми природними аналогами. Взагалі, на рівні мінімум 3,8 %, але переважно на рівні мінімум 4 %.

Оцінка зв'язку інсуліну із його спорідненим рецептором здійснюється з метою порівняння відносних сполучних властивостей лікарської речовини у формі Інсугену(II), IN-105 та HIM-2. Найважливіший аспект цього дослідження стосується того факту, що значне зниження мітогенної здатності ілюстративних сполук не впливає на їхню метаболічну діяльність на відміну від їхніх природних аналогів.

Як метаболічна дія, вплив інсуліну на клітини залежить від здатності інсуліну зв'язуватися із рецептором інсуліну, та результати проведення метаболічного аналізу, наведені в цьому дослідженні, допомагають встановити вплив інсуліну на поглинання глюкози різними адипоцитами та здійснити оцінку та порівняння метаболічної ефективності ілюстративних лікарських речовин, що використовувалися в цьому дослідженні.

Екстракція лікарської речовини з препарату:

Інсуген (R) та ілюстративні сполуки, такі як IN 105 і HIM2, використовуються для одержання лікарської речовини, що не містить цинк та допоміжні речовини. Пробірки очищують з використанням кристалічної оцтової кислоти (pH ~3,4). Очищений розчин помішують в зворотнотазову силікогелну колонку C8 та відокремлюють за допомогою градієнтного елюювання з використанням 250 mM оцтової кислоти та 100 % етанолу. В процесі елюювання необхідно відібрати крихти та досягти 99 % або вищої чистоти. Розчин діалізують протягом 15 годин за допомогою фільтраційної оболонки та 10 mM Tris, pH 8,0. Одержаний в результаті діалізу інсулін з pH 8,0 без домішок цинку та допоміжних речовин аналізують за допомогою RP-HPLC.

З ATCC було одержано клітини HerG2. Від Invitrogen було одержано модифіковане способом Дульбекко середовище Ігла (DMEM), термічно інактивовану ембріональну бичачу сироватку (FBS), розчин 100X пеніцилін-стрептоміцин та 100X сольовий розчин HEPES. Sigma Aldrich було надано альбумін бичачої сироватки, гідрооксид натрію, Triton-X 100 та бікарбонат натрію.

Компанія Immunotech (Beckman Coulter) надасть відмічений радіоактивною міткою рекомбінантний людський інсулін із радіоактивністю 2200 Сі/ммоль (номер за каталогом А36474)

#### Методи:

5 Клітини HepG2 утримують у mM HEPES-буферному DMEM з доданням 10 % FBS та 1X розчину пеніциліну-стрептоміцину у вологому середовищі при 37 °C з вмістом CO<sub>2</sub> на рівні 5 %. В цілях аналізу клітини трипсинізують та просіюють при щільності 400 000 клітин на вічко 24-вічкової пластини. Після 3 днів інкубації на клітинах здійснюється радіолігандний аналіз зв'язування (1, 2).

10 Перед проведенням аналізу середовище видаляється, а клітини двічі промивають зв'язуючим буферним розчином (DMEM, 2,2 мг/мл бікарбонату натрію, 1 мг/мл альбуміну бичачої сироватки та 50 mM HEPES) для видалення будь-яких залишків факторів росту з середовища. Паралельні досліди проводяться двічі з використанням встановленої кількості радіоліганду (0,325 nM) та різних концентрацій холодної лікарської речовини інсуліну (від 10-13 М до 10-5 М). Остаточний об'єм доводиться до 1 мл. Після чого пластини витримують ніч при температурі 15 °C та кількості обертів 60 обертів на хвилину (2). На наступний день вміст усіх вічок виливається та кожне вічко двічі промивається холодним зв'язувальним буферним розчином.

20 В кожне вічко вливається 1 мл солюбілізаційного реагенту (0,5 М гідроксиду натрію, 0,5 % Triton-X 100). Солюбілізовані клітинні гранули переміщують у трубку для радіоімунологічного аналізу, а показник зв'язаної радіоактивності зчитують за допомогою гамма-зчитувача (Strattec BioMedical Systems, Німеччина). Встановлено, що відкалібрований інструмент має ефективність 80 %.

25 Розрахунок зв'язувальних властивостей: з метою нормалізації кількості імпульсів за хвилину (показників CPM) при різних концентраціях інсуліну, відсоткове відношення зв'язування було розраховано за допомогою такого рівняння:

$$\% \text{ Bound} = (\text{CPM}_{\text{sample}} - \text{CPM}_{\text{blank}}) / (\text{CPM}_{\text{control}} - \text{CPM}_{\text{blank}}) \times 100.$$

30 Де CPM<sub>control</sub> є середнім значенням кількості імпульсів за хвилину (CPM) для вічок, які містили клітини з інсуліном, відміченим радіоактивною міткою, без додання охолодженого інсуліну, CPM<sub>blank</sub> є середнім значенням кількості імпульсів за хвилину (CPM) для вічок, які не містили інсулін з радіоактивною міткою та охолоджений інсулін, а CPM<sub>sample</sub> є середнім значенням кількості імпульсів за хвилину (CPM) для вічок, які містили інсулін, відмічений радіоактивною міткою та різні концентрації охолодженого інсуліну.

#### Аналіз конкурентних кривих зв'язування:

35 Досліди з конкурентного зв'язування проводилися для вимірювання ступеня зв'язування однієї концентрації поміченого ліганду у присутності різних концентрацій непоміченого ліганду. Досліди з конкурентного зв'язування використовуються для встановлення кількості та спорідненості рецепторів шляхом використання тієї ж сполуки, що помічений або непомічений ліганд.

40 Експеримент було проведено з єдиною концентрацією радіоліганду. Інкубація продовжується до досягнення рівноваги; зазвичай різній концентрації непоміченої сполуки охоплюють приблизно шість порядків величин.

45 Верхня частина кривої є рівним відрізком із значенням, рівним зв'язуванню радіоліганду за відсутності конкуруючої непоміченої речовини. Це відображає зв'язок взагалі. Нижня частина кривої є відрізком, значення якого відповідає неспецифічному зв'язку (NS). Різниця між верхнім та нижнім відрізком відображає специфічний зв'язок.

50 Вісь Y можна виразити як кількість імпульсів за хвилину (cpm) або перетворити у більш зручні одиниці виміру, наприклад fmol зв'язок на міліграм протеїну або кількість місць зв'язування на клітину. Можна нормалізувати дані від 100 % (відсутність конкурентності до 0 % (неспецифічний зв'язок при максимальних концентраціях конкурентної речовини).

Концентрація непоміченого препарату, який утворює зв'язок радіоліганду посередині між верхнім та нижнім відрізком, називається IC<sub>50</sub> (інгібіторна концентрація 50 %), що також називається EC<sub>50</sub> (ефективна концентрація 50 %). IC<sub>50</sub> є концентрацією непоміченого препарату, що блокує специфічний зв'язок на половині.

55 Якщо помічений або непомічений ліганд конкурує відносно одного місця зв'язування, крутизна кривої конкурентного зв'язування визначається законом діючих мас.

Нелінійна регресія використовується для визначення відрізка (IC<sub>50</sub>) за допомогою кривої конкурентного зв'язування. Зазвичай IC<sub>50</sub> визначається з використанням ПЗ Graph pad Prism Software та рівняння за моделлю конкуренції на одному місці.

Для визначення оптимального значення IC 50 (концентрації непоміченого препарату, що блокує 50 % специфічного зв'язку радіоліганду) нелінійна регресія має забезпечувати визначення 100 % (загальні) та 0 % (неспецифічні) плато. За умови збору даних на широкому діапазоні значень концентрації непоміченого препарату крива чітко визначить верхній та нижній відрізок, і програма без проблем зв'яже усі три значення (обидва відрізки та IC50).

Належним чином сформульована сполука є біологічно доступною після миттєвого вивільнення. В асоціативно спряженому терапевтичному агенті встановленого типу полімерний компонент можна належним чином конструювати, модифікувати чи пристосувати для того, щоби вибірково передати здатність до асоціативного спряження.

З одного боку, в дослідженні описано сполуки жирних кислот з однією або декількома насиченими або ненасиченими жирними кислотами C4, C5, C6, C7, C8, C9 чи C10 та/або солями таких жирних кислот. Рекомендованими жирними кислотами є каприлова, капринова, міристинова та лаурилова. Рекомендованими солями жирних кислот є солі натрію каприлової, капринової, міристинової та лаурилової жирних кислот.

Серед модифікуючих компонентів можуть бути й інші гідрофільні полімери. Як приклади можна навести поліоксіетильовані поліолі, наприклад поліоксіетильований гліцерин, поліоксіетильований сорбітол та поліоксіетильовану глюкозу; полівиніловий спирт ("PVA"); декстран; полімери на основі вуглеводів тощо. Полімери можуть бути гомополімерами чи неупорядкованими або блочними співполімерами чи тримерами на основі мономерів вищезазначених полімерів, лінійних чи розгалужених.

Спеціалісти можуть встановити загальну потрібну кількість комплексної сполуки катіону та інсуліну. Кількість терапевтичної речовини є кількістю, достатньою для виконання призначення такої активної речовини. Кількість у складі є терапевтично дієвою дозою, тобто достатньою з фармакологічної або біологічної точки зору. Однак кількість може бути меншою за фармакологічно або біологічно ефективну кількість, якщо препарат застосовується у дозований формі, наприклад, у вигляді капсули, таблетки або рідини, оскільки дозована форма може містити численні сполуки біологічно або хімічно активних агентів чи містити розділену фармакологічно або біологічно ефективну кількість. Загальна ефективна кількість може встановлюватися за загальною кількістю препарату, що містить загальну фармакологічно, біологічно чи хімічно активну кількість біологічно або фармакологічно активного агента.

У певних прикладах фармацевтична сполука, що міститься в одній або декількох формах дозування, містить 5-800 мг речовини, краще 10-400 мг, навіть краще 25-200 мг, оптимально - 75 мг, 100 мг чи 150 мг. Оптимально, якщо сполука забезпечує пікову концентрацію інсуліну в плазмі протягом приблизно 15-60 хвилин після перорального застосування, краще протягом 10-20 хвилин після перорального застосування пацієнтами, хворими на діабет, на ситий шлунок.

У розрізі цього дослідження передбачається, що форми дозування, що містять терапевтично дієві кількості інсуліну, можуть вимагати прийняття однієї або більше доз (наприклад, у вигляді таблеток, капсул, порошку, напівтвердих форм, спреїв для перорального застосування, таблеток під язик (наприклад, гелів або оболонок) для забезпечення потрібного терапевтичного ефекту. Також у розрізі цього дослідження рекомендованою дозованою формою є дозована форма для перорального застосування.

У деяких випадках комплексна сполука інсуліну демонструє розширений або інакше змінений фармакінетичний профіль, що пов'язано із науково прийнятим контролем, наприклад, відповідною некомплексною сполукою інсуліну. Фармакінетичний профіль можна оцінити за допомогою стандартних експериментів in vivo, наприклад, на мишах, крисах, собаках чи людях. Аналізи, описані в цьому дослідженні стосовно оцінки властивостей комплексних сполук катіону та інсуліну, є частиною цього винаходу.

За оптимальних умов процес виробництва таблетки для перорального застосування, що містить мінімум одну біологічно активну сполуку, відібрану з протеїнів/пептидів, їхніх комплексів та/або комплексних сполук катіону та поліпептиду, та яка має опірність щодо ферментативного розщеплення, складається з таких кроків:

1. Подрібнення відповідних насичених або ненасичених жирних кислот C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub> та/або солей такої жирної кислоти

2. Гранулювання одержаної після виконання пункту (1) жирної кислоти із органічним розчинником

3. Висушування на повітрі гранул, одержаних у пункті (2)

4. Просіювання висушених гранул через решето для одержання гранул з потрібним розміром часток

5. Змішування гранул жирної кислоти із комплексною сполукою катіону та інсуліну та допоміжними речовинами

6. Формування суміші у таблетку, шліфування та пакування.

В іншому аспекті процес виробництва таблетки для перорального застосування, що містить мінімум одну біологічно активну сполуку, відібрану з протеїнів/пептидів, їхніх комплексів та/або комплексних сполук катіону та поліпептиду, та яка має опірність щодо ферментативного розщеплення, складається з таких кроків:

1. Подрібнення відповідних насичених або ненасичених жирних кислот  $C_4$ - $C_{12}$  та/або солей такої жирної кислоти, наприклад, капринова сіль натрієвої кислоти, PVP-K-30.

2. Суспендування комплексної сполуки катіону та інсуліну в органічному розчиннику з використанням PVP-K-30 у якості зв'язувальної речовини для формування вологої маси

3. Гранулювання одержаних компонентів з використанням PVP-K30 як зв'язувальної речовини.

4. Протирання висушених гранул капринової солі натрієвої кислоти через 45# (355  $\mu$ m)

5. Змішування гранул капринової солі натрієвої кислоти з допоміжними речовинами.

6. Формування суміші у таблетку, шліфування та пакування.

Важливим аспектом цього дослідження є те, що термін "стабільний", що застосовується до винайденої сполуки, означає те, що формула залишається нерозщепленою або не розщеплюється до неприйнятного рівня навіть після піддаванню ряду умов зберігання, відібраних з групи, що складається з (i) температури 2-8 °C, 25 °C, 30 °C та 40 °C (ii) відносної вологості (RH) 25 °C/60 %, відносної вологості 30 °C/65 %, відносної вологості 40 °C/75 % протягом як мінімум одного року, чи поєднання вищезазначених умов. У контексті цього дослідження поняття "нерозщеплена" або "не розщеплюється до неприйнятного рівня" означає, що дозовані компоненти залишаються в застосовних межах стабільності протягом періоду випробування.

Одним з аспектів цього дослідження є те, що випробування стабільності виконуються протягом періоду тривалістю 1-2 місяці, краще 1 місяць, краще 2 місяці, краще 3 місяці, краще 4 місяці, краще 5 місяців, краще 6 місяців, краще 7 місяців, краще 9 місяців, краще 11 місяців, оптимально 12 місяців. Винахід передбачає, що властивості стабільності дозованої форми залишатимуться незмінними протягом періоду до 2 років.

Властивості стабільності фармацевтичної сполуки за цим дослідженням оцінюються у різних тестових умовах, в тому числі при нижньому температурному діапазоні 2-8 °C, кімнатній температурі 25-30 °C та дещо підвищеній температурі 40 °C. Спеціалісти можуть побачити, що температурні умови та стабільність, встановлена за певних температурних умов, можуть не бути строго пов'язані із наведеними в цьому дослідженні результатами випробувань. За результатами дослідження, властивості стабільності, встановлені при тестових умовах, можуть поширюватися на широкий діапазон температур, в тому числі знижені та підвищені. Сполука та її стабільність не зазнають значних змін при температурах у діапазоні 2-40 °C. Властивості стабільності фармацевтичної сполуки за цим дослідженням оцінюються у різних тестових умовах, в тому числі при відносній вологості (RH) 25 °C/60 %, відносній вологості 30 °C/65 %, відносній вологості 40 °C/75 % протягом як мінімум одного року, чи поєднання вищезазначених умов. Спеціалісти можуть побачити, що відносна вологість та стабільність, встановлена за певних температурних умов, можуть не бути строго пов'язані із наведеними в цьому дослідженні результатами випробувань при певних значеннях відносної вологості. За результатами дослідження, властивості стабільності, встановлені при тестових умовах, можуть поширюватися на широкий діапазон температур відносної вологості, в тому числі знижені та підвищені. Сполука та її стабільність не зазнають значних змін при температурах та значеннях відносної вологості у діапазоні 25 °C/60 %-40 °C/75 %.

Ще одним аспектом дослідження є те, що як мінімум 95 $\pm$ 2 % сполуки залишається нерозщепленою при застосуванні умов, відібраних з групи, яка складається з

(a) температурного діапазону 2-8 °C чи 25C-40 °C

(b) відносної вологості (RH) 25 °C/60 %, відносної вологості 30 °C/65 %, відносної вологості 40 °C/75 % протягом періоду тривалістю мінімум 6 місяців.

Ще одним аспектом дослідження є те, що як мінімум 95 % $\pm$ 2 % сполуки залишається нерозщепленою при застосуванні умов, відібраних з групи, яка складається з

(a) температурного діапазону 2-8 чи 25-40 °C

(b) відносної вологості (RH) 25 °C/60 %, відносної вологості 30 °C/65 %, відносної вологості 40 °C/75 % протягом періоду тривалістю мінімум 6 місяців.

Ще одним аспектом цього винаходу є те, що різні властивості стабільності, за якими було проведено випробування сполуки, включають такі властивості, як твердість, час розпадання, профіль розчинення та хроматографічна чистота.

Відповідно, різні приклади втілення цього винаходу надають різні переваги стосовно дозування та зручного методу застосування. Винахід надає подальші переваги, які полягають в тому, що автори дослідження стверджують, що розумно створена формула IN-105 для перорального застосування із вимірними компонентами допоміжних речовин та процес

5 виробництва таблеток для перорального застосування мають легко підлягати масштабуванню без змінення профілю вивільнення in-vitro або in-vivo. Окрім цього, у відношенні цієї формули препарату для перорального застосування та процесу його виробництва, фактор масштабування не впливає на дію препарату in-vivo або його профіль вивільнення in-vivo. Ще

10 один важливих аспект цього дослідження відноситься до розпилювальної сушки сполуки для одержання однорідної аморфної суміші комплексної сполуки катіону та інсуліну. Можна застосовувати різні параметри з метою модифікування середнього розміру крапель. Розмір крапель можна змінити, наприклад, шляхом застосування майже надкритичного тиску рідини або тиску газу під високим тиском, врегулювання тиску суспензії чи розчину, врегулювання швидкості потоку суспензії чи розчину, підбору внутрішнього діаметра трубки насадки,

15 врегулювання температури осушувального газу, настройки тиску в посуді, в якому формуються частки, зміни концентрації складових суспензії чи розчину тощо. Наприклад, швидкість суспензії або розчину у змішувальній камері може бути від 0,5 мл/хв. до 40 мл/хв., а розпилення може здійснюватися із насадки з внутрішнім діаметром 100  $\mu\text{m}$ ; нижчі значення застосовуються для крапель меншого розміру, а вищі - для крапель більшого розміру. Рекомендовано утворювати

20 краплі із діаметром від 1  $\mu\text{m}$  до 200  $\mu\text{m}$ .

В цьому дослідженні розпилювальне сушіння зазвичай проводилася при температурі від 80 °C до 300 °C, оптимально - в діапазоні від 100 °C до 180 °C. Контроль температурного режиму може бути надзвичайно важливим для забезпечення стабільності часток препарату, які містять речовини, що відрізняються високою температурною чутливістю.

25 Фармацевтичні сполуки, що можна одержати шляхом застосування результатів цього дослідження, можна випробувати на будь-якій істоті. В першу чергу такими істотами є люди, проте дослідження не є обмеженим.

Метод приготування часток формули у вигляді порошку може передбачати приготування водної суспензії або розчину біологічно активного матеріалу та поліолу з можливим доданням

30 однієї або більше прийнятих фармацевтичних допоміжних речовин, утворення суміші розчину або суспензії та газу під тиском, розпилення ультрадрібних крапель шляхом разгерметизації суміші, та перетворення крапель на частки у вигляді порошку шляхом обміну розпилювальних газів та осушувальних газів, наприклад, шляхом розпилення у осушувальну камеру апарату для розпилювальної сушки.

35 Термін "розчинник" належить до рідини, в якій матеріал, що утворює основну масу частки, одержаної методом розпилювального сушіння, можна розчинити, суспендувати або емульгувати перед використанням у пульверизаторі чи апараті для розпилювального сушіння, та яка випарюється після застосування осушувального газу незалежно від того, чи є така рідина розчинником для конкретного матеріалу. Вибір розчинника залежить від основного матеріалу та

40 від форми матеріалу, що закладається у пульверизатор, а також від того, чи потрібно розчинити, суспендувати або емульгувати матеріал у розчиннику. Рекомендованим розчинником в цілях цього дослідження є вода.

При використанні методу розпилювального сушіння вихідна речовина у формі розчину, що містить мінімум один активний інгредієнт, відібраний з групи, що складається з комплексної

45 сполуки катіону та інсуліну у поєднанні з розчинниками, розпилюється в апараті для розпилювального сушіння для утворення часток.

Розмір часток у розчині препарату залежить від пульверизатора, що використовується для розпилення полімерного розчину, тиску пульверизатора, швидкості потоку, використаних інгредієнтів, їхньої концентрації, типу розчинника, тягучості, температури розпилення

50 (внутрішньої та зовнішньої) та молекулярної маси терапевтичного агента. Взагалі, чим вища молекулярна маса, тим більший розмір частки (за умови одного рівня концентрації).

Один з аспектів цього винаходу належить до порівняльного дослідження з випробуванням на собаках двох прототипних формул препаратів на основі комплексної сполуки катіону та інсуліну для перорального застосування, приготовлених методом прямої компресії та методом

55 розпилювального сушіння.

Було здійснено вимірювання наступних параметрів: швидкість надходження глюкози, концентрація інсуліну в плазмі та рівень глюкози в плазмі (для забезпечення оцінки вивільнення ендогенної сполуки інсуліну). Показник швидкості надходження інсуліну необхідний для підтримання нормоглікемії та надає показник дії сполуки інсуліну. Показники швидкості

60 надходження глюкози та рівню інсуліну в плазмі було зафіксовано та порівняно.

Прототипні формули, підготовлені методом розпилювального сушіння, демонструють стійкі рівні абсорбції препарату та відповідну швидкість надходження глюкози без втрати стабільності чи біологічної активності.

Прототипна формула I (Формула 862) має наступний склад

5

Інгредієнт	Кількість (мг) на таблетку
IN-105	6
Капринова сіль натрієвої кислоти	150
Манітол	150
Explotab (Croscarmellose sodim)	25

Результати дослідження продемонстровано у Прикладах нижче. Хоча ці Приклади визначають рекомендовані методи застосування винаходу, їх наведено з метою пояснення винаходу. З вищенаведеного та цих Прикладів спеціалісти можуть визначити основні

10

характеристики цього винаходу та не змінюючи його обсягів та сфери застосування можуть внести потрібні зміни з метою його адаптації під конкретні потреби та умови.

Наведені нижче Приклади дозволяють краще зрозуміти суть дослідження. Спеціалісти побачать, що ці Приклади мають виключно пояснювальний характер, як наведено у

15

твердженнях нижче.

Наведені нижче Приклади відображають рекомендовані методи застосування цього винаходу.

Приклад 1:

Було підготовлено та випробувано формули препарату за засадами цього дослідження. Відповідно, необхідну точну кількість капринової солі натрієвої кислоти було додано у

20

планетарну суміш та грануляту з 700 мл ізопропілового спирту. Було розраховано кількість ізопропілового спирту, необхідного для перетворення порошкової суміші у гранулярну форму.

Вологу масу перемішували кожні 5 хвилин з тим, щоб вона не прилипла до стінок ємності.

Вологу масу пропустили через решето 18# та просушували на повітрі під ковпаком протягом

ночі.

25

Вміст води в гранулах: Вага зразка = 0,662 г; % вмісту води = 2.27 %

Відповідну кількість IN-105, гранул капринової солі натрієвої кислоти, Kollidon CL та pearlitol

було зважено та пропущено через решето 60#, після чого змішано у двоконічному

змішувальному апараті протягом 20 хвилин при 12 обертах за хвилину. Після досягнення

однорідності суміш змащували Aerosil та стеаратом магнію протягом 3 хвилин при 88-90

обертах за хвилину.

30

Таблица 1

Інгредієнти	На таблетку (мг)	На 1000 г
IN-105*	5,8207	17,27
Гранули капринової солі натрієвої кислоти	150,000	445,10
Kollidon CL	33,700	100,00
Pearlitol SD 200	144,1093	427,62
Aerosil 200 Pharma	1,685	5,00
Стеарат магнію	1,685	5,00
	Всього - 337 мг	Всього - 1000 г

Таблетки, приготовлені у Прикладі 1, було випробувано на шести здорових гончих собаках чоловічої статі, яких не годували протягом 26 годин. Кожну таблетку давали з 20 мл води. Було

35

взято зразки крові для вимірювання рівню глюкози в крові та рівню інсуліну в плазмі. Як

наведено на Мал. 1 та Мал. 2, таблетка викликала різке зростання рівню інсуліну в плазмі із

Тmax при 100 mU/мл та Тmax 20 хвилин після прийому ліків, що викликало падіння концентрації

глюкози в плазмі на 35 %.

Вироблені таблетки пройшли випробування на стабільність за регламентом ICH.

Довгострокові дослідження виконувалися при 2-8 градусів Цельсію та 25 градусах Цельсію, а

прискорені випробування стабільності було проведено при 30 °C/65 % RH та 40 °C/75 % RH.

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 2-8 °C.

40

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	5,08	102 %	99,1 %
1	1,58	1,50	0,052	94,8	5,07	101 %	92,6 %
3	1,51	1,50	0,059	94,5	5,07	101 %	104,9 %
6	1,42	1,44	0,065	94,5	5,14	103 %	103,7 %
9	1,38	1,41	0,056	94,7	5,1	102 %	99,3 %
12	1,40	1,45	0,060	94,4	5,08	102 %	95,6 %

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 25 °C та відносній вологості 60 %.

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	5,08	102,0	99,1
1	1,70	1,40	0,13	94,8	5,06	101,0	77,2
2	1,63	1,38	0,26	94,0	5,04	101,0	85,6
3	1,66	1,36	0,23	94,5	5,09	102,0	95,9
6	1,84	1,34	0,19	94,7	4,71	94,0	84,7
9	1,59	1,33	0,19	94,0	4,69	94,0	85,2
12	1,74	1,38	0,25	94,3	4,85	97,0	85,6

5

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 30 °C та відносній вологості 65 %.

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	5,08	102,0	99,1
1	1,69	1,48	0,06	95,2	5,10	102,0	84,1
2	1,55	1,50	0,059	94,8	5,12	102,0	82,6
3	1,55	1,50	0,070	94,6	5,13	102,0	100,4
6	1,63	1,44	0,130	94,3	4,92	98,0	94,3

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 40 °C та відносній вологості 70 %.

10

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	5,08	102,0	99,1
1	1,58	1,43	0,110	94,2	4,84	97,0	86,0
2	1,54	1,45	0,130	93,8	4,79	96,0	90,0
3	1,51	1,48	0,150	93,9	4,64	93,0	79,0
6	1,42	1,53	0,200	93,3	4,75	96,0	78,0

Приклад 2:

Подрібнену капринову сіль натрієвої кислоти зважили у потрібній кількості та змішували у змішувальному пристрої протягом 2 хвилин. Зважена необхідна кількість IN-105 була додана до ізопропанолу разом із 0,35 масової частки полівінілпіролідону, після чого утворену суспензію перемішували протягом 30 хвилин за допомогою магнітного змішувального пристрою. Під час грануляції додавали потрібну кількість ізопропанолу.

15

Гранули протягом 15 хвилин перемішували у планетарному змішувальному пристрої, пересипали через решето 14# та висушували у гарячій пічці протягом 2 годин при 30 °С.

Таблиця 2

Інгредієнти	Кількість (на таблетку)	Кількість (г)
Капринова сіль натрієвої кислоти	150 мг	192.67
IN-105	5,7078 мг	7.33
PVP-K 30	5,45 мг	7.00

5 Швидкість планетарного змішуючого пристрою = 4 протягом 15 хв. Обсяг додання IPA = 200 мл.

0,7 г (0,35 %) PVP+7,33 г IN-105 суспендували у 80 мл IPA. 6,3 г PVP суспендували у 40 мл IPA. Залишок IPA додали для утворення твердої вологої маси.

ПРОЦЕС ЗМІШУВАННЯ:

10 Точно розраховану кількість IN-105 + капринова сіль натрієвої кислоти + PVP K-30 гранул, Pearlitol та Kollidon CL просіяли через решето 45# та змішали в восьмикутному змішувальному пристрої. Після того, як маса стала однорідною, її змастили Aerosil та стеаратом магнію, перемішали та сформували у таблетки.

Таблиця 3

Інгредієнти	На таблетку (мг)	На 50 г (г)
IN-105	5,7078	0,92
Гранули капринової солі натрієвої кислоти	150,00	24,19
PVP K-30	5,45	0,88
Pearlitol	114,742	18,51
Kollidon CL	31	5,00
Aerosil 200 Pharma	1,55	0,25
Стеарат магнію	1,55	0,25
	Всього - 310 мг	Всього - 50 г

15 Таблетки, приготовлені у Прикладі 2, було випробувано на шести здорових гончих собаках чоловічої статі, яких не годували протягом 26 годин. Кожну таблетку давали з 20 мл води. Було взято зразки крові для вимірювання рівня глюкози в крові та рівня інсуліну в плазмі. Як наведено на МАЛ. 3 та МАЛ. 4, таблетка викликала різке зростання рівня інсуліну в плазмі із 20 Стах при 75 mU/мл та Tmax 20 хвилин після прийому ліків, що викликало падіння концентрації глюкози в плазмі на 35 %.

Вироблені таблетки пройшли випробування на стабільність за регламентом ICH. Довгострокові дослідження виконувалися при 2-8 градусів Цельсію та 25 градусах Цельсію, а прискорені випробування стабільності було проведено при 30 °C/65 % RH та 40 °C/75 % RH.

25 Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 2-8 °C.

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,88	2,10	0,13	95,3	5,34	107,0	94,0 %
1	1,58	1,50	0,052	94,8	5,07	102,0	90,0 %
3	1,51	1,50	0,059	94,5	5,07	102,0	102,0 %
6	1,42	1,44	0,065	94,5	5,14	103,0	86,0
9	1,38	1,41	0,056	94,7	5,21	104,0	95,0
12	1,40	1,45	0,060	94,4	5,18	104,0	89,0

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 25 °C та відносній вологості 60 %.



Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,88	2,1	0,13	95,3	5,34	107,0	94,0 %
1	1,60	1,40	0,13	94,8	5,26	105,0	89,0
2	1,60	1,38	0,26	94,0	5,22	105,0	91,0
3	1,52	1,36	0,23	94,5	5,29	106,0	94,0
6	1,48	1,34	0,19	94,7	5,17	103,0	90,0
9	1,45	1,33	0,19	94,0	5,13	103,0	103,0
12	1,48	1,38	0,25	94,3	5,20	104,0	87,0

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 30 °C та відносній вологості 65 %.

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,88	2,1	0,13	95,3	5,34	107,0	94,0 %
1	1,61	1,48	0,06	95,2	4,97	99,0	90,0 %
2	1,58	1,50	0,059	94,8	4,92	98,0	102,0 %
3	1,51	1,50	0,070	94,6	4,88	98,0	86,0 %
6	1,42	1,44	0,130	94,3	4,79	96,0	79,0 %

5

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 40 °C та відносній вологості 75 %.

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,88	2,1	0,13	95,3	5,34	107,0	94,0 %
1	1,58	2,0	0,17	94,2	5,09	102,0	96,0 %
2	1,54	2,3	0,19	93,7	5,06	101,0	84,0 %
3	1,51	2,2	0,16	93,9	5,01	100,0	89,0 %
6	1,42	1,9	0,29	93,3	4,91	98,0	92,0 %

Приклад 3:

10

Точно розраховану кількість IN-105 + капринова сіль натрієвої кислоти + комплекс бета-циклодекстрину, бікарбонату натрію та Kollidon CL просіяли через решето 45# та змішали в поліетиленовому пакеті. Після того, як маса стала однорідною, її змастили Aerosil та стеаратом магнію, перемішали та сформували у таблетки.

Таблиця 4

Інгредієнти	На таблетку (МГ)	На 50 Г (Г)
IN-105	5,7078	1,30
Бета-циклодекстрин	40,38	9,18
Гранули капринової солі натрієвої кислоти	75,00	17,05
Бікарбонат натрію	74,71	16,98
Kollidon CL	22	5,00
Aerosil 200 Pharma	1,1	0,25
Стеарат магнію	1,1	0,25
	Всього - 220 мг	Всього - 50 г

15

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 2-8 °C

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	4,99	99,0	95,0 %
1	1,58	1,50	0,052	94,8	4,99	99,0	91,0 %
3	1,51	1,50	0,059	94,5	5,01	100,0	85,0 %
6	1,42	1,44	0,065	94,5	4,96	99,0	101,0 %
9	1,38	1,41	0,056	94,7	4,93	99,0	92,0 %
12	1,40	1,45	0,060	94,4	4,97	99,0	89,0 %

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 25 °C та відносній вологості 60 %.

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	4,99	99,0	95,0 %
1	1,60	1,40	0,13	94,8	5,06	101,0	89,0 %
2	1,60	1,38	0,26	94,0	4,93	99,0	91,0
3	1,52	1,36	0,23	94,5	4,92	98,0	101,0
6	1,48	1,34	0,19	94,7	4,95	99,0	87,0
9	1,45	1,33	0,19	94,0	4,91	98,0	90,0
12	1,48	1,38	0,25	94,3	4,87	97,0	85,0

5 Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 30 °C та відносній вологості 65 %.

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	4,99	99,0	95,0 %
1	1,61	1,48	0,06	95,2	5,00	100,0	94,0 %
2	1,58	1,50	0,059	94,8	4,81	96,0	92,0 %
3	1,51	1,50	0,070	94,6	4,83	96,0	84,0 %
6	1,42	1,44	0,130	94,3	4,72	94,0	90,0 %

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 40 °C та відносній вологості 75 %.

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	НМWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	4,99	99,0	95,0 %
1	1,58	1,50	0,110	94,2	4,88	98,0	90,0
2	1,57	1,48	0,130	93,6	4,92	94,0	81,0
3	1,51	1,50	0,150	93,9	4,77	95,0	79,0
6	1,42	1,44	0,200	93,3	4,64	92,8	76,0

10

Приклад 4:

Точно розраховану кількість IN-105, лаурилсульфату натрію, Kollidon CL та Pearlitол просіяти через решето 45# та змішати в восьмикутному змішувальному пристрої. Після того, як маса стала однорідною, її змастили Aerosil та стеаратом магнію, перемішали та сформували у таблетки.

15

Таблиця 5

Інгредієнти	На Таблетку (МГ)	НА 50 Г (Г)
IN-105 60#	5,7078	1,90
Лаурилсульфат натрію	50,0	16,67
Kollidon CL	15,00	5,00
Pearlitol SD 200	77,7922	25,93
Aerosil 200 Pharma	0,75	0,25
Стеарат магнію	0,75	0,25
	Всього - 150 мг	Всього - 50 г

Таблетки, приготовлені у Прикладі 4, було випробувано на шести здорових гончих собаках чоловічої статі, яких не годували протягом 26 годин. Кожну таблетку давали з 20 мл води. Було взято зразки крові для вимірювання рівня глюкози в крові та рівня інсуліну в плазмі. Результати наведено на фіг. 5 та фіг. 6. Вироблені таблетки пройшли випробування на стабільність за регламентом ICH. Довгострокові дослідження виконувалися при 2-8 градусів Цельсію та 25 градусів Цельсію, а прискорені випробування стабільності було проведено при 30 °C/65 % RH та 40 °C/75 % RH.

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 2-8 °C.

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	HMWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,64	1,62	0,064	95,7	5,16	103,2	97,6 %
1	1,61	1,58	0,068	95,2	5,24	104,8	98,4 %
2	1,62	1,56	0,072	95,5	5,20	104,0	97,2 %
3	1,59	1,49	0,070	95,3	5,01	100,0	95,0 %
6	1,59	1,54	0,076	94,8	4,94	98,8	92,7 %
9	1,55	1,42	0,082	94,2	5,10	102,0	88,4 %
12	1,50	1,46	0,090	94,1	4,91	98,2	90,0 %

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 25 °C та відносній вологості 60 %

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	HMWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,64	1,62	0,064	95,7	5,16	103,2	97,6 %
1	1,62	1,66	0,070	95,1	5,26	105,2	90,0 %
2	1,60	1,54	0,074	95,0	5,14	102,8	94,1 %
3	1,64	1,59	0,072	95,2	4,97	99,6	89,1 %
6	1,57	1,56	0,081	94,6	4,82	96,4	92,0 %
9	1,49	1,42	0,086	94,1	4,98	99,6	96,0 %
12	1,44	1,47	0,092	93,7	4,87	97,4	98,4 %

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 30 °C та відносній вологості 65 %

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	HMWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,64	1,62	0,064	95,7	5,16	103,2	97,6 %
1	1,62	1,62	0,072	95,3	5,10	102,0	98,6 %
2	1,62	1,60	0,076	94,8	5,01	100,2	92,4 %
3	1,50	1,46	0,082	94,4	4,84	96,8	94,0 %
6	1,44	1,29	0,094	93,6	4,79	95,8	88,4 %

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 40 °С та відносній вологості 70 %

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	HMWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,64	1,62	0,064	95,7	5,16	103,2	97,6 %
1	1,58	1,59	0,072	95,1	5,08	102,0	92,0 %
2	1,52	1,54	0,079	94,5	4,92	98,4	94,5 %
3	1,42	1,48	0,086	94,0	4,86	97,2	89,7 %
6	1,38	1,46	0,102	93,2	4,64	92,8 %	90,1 %

Приклад 5:

- 5 Приготування капринової солі натрієвої кислоти, бікарбонату натрію та гранул pearlitol з доданням рvp к-30 (2 %w/w) як зв'язувальної речовини та рег 6000 (1 % по масі) як пластифікатора та з доданням in-105 у процесі гранулювання.

- 10 Виміряну кількість подрібненої капринової солі натрієвої кислоти, бікарбонату натрію та Pearlitol поклали у планетарний змішувальний пристрій та здійснювали сухе змішування протягом 5 хв. Тим часом PVP K 30 було розчинено в IPA, а IN-105 суспендованою PEG 6000 розчинили у воді (5 % за об'ємом). Розчин перемішали за допомогою магнітного змішувального пристрою. Капринову сіль натрієвої кислоти, бікарбонат натрію та Pearlitol піддали гранулюванню з використанням PVPK та розчину PEG як грануляційної речовини. Тривалість процесу - 20 хвилин. Утворену вологу масу пропустили через решето 18# у вологому

- 15 грануляторі та висушили в LAF.  
Об'єм додання IPA - 130 мл.  
100 мл = IN-105+PVP к. 6 мл = PEG у воді. Швидкість планетарного змішуючого пристрою = 2-4 на 20 хв.

- 20 Швидкість вологого гранулятора - 200 обертів на хвилину

Вміст води у гранулах.

Маса зразка - 0,525 г.

% Вміст води - 1,99 %.

Таблиця 6

Інгредієнти	Кількість на таблетку (мг)	На партію 250 г
IN-105	10,6952	8,60
Капринова сіль натрієвої кислоти	150	120,55
Бікарбонат натрію	90	72,33
Pearlitol 200 SD	60,37	48,52
PVP k-30 (2 % w/w)	6,22	5
PEG 6000 (1 %w/w)	3,11	2,5

Таблиця 7

ІНГРЕДІЄНТИ	НА ТАБЛЕТКУ (МГ)	На 200 г (г)
IN-105	10,6952	5,94
Капринова сіль натрієвої кислоти	150,00	83,33
Бікарбонат натрію	90,00	50,00
Pearlitol 200 SD	60,37	33,54
PVP K 30	6,22	3,46
PEG 6000	3,11	1,73
Kollidon CL	36,00	20,00
Aerosil 200 Pharma	1,8	1,00
Стеарат магнію	1,8	1,00
	Всього - 360 мг	Всього - 200 г

25 Відповідну кількість IN-105, капринової солі натрієвої кислоти, бікарбонату натрію + Pearlitol+PVP K 30 та гранул PEG було пропущено через решето 35#, після чого змішано із

Kollidon CL у двоконічному змішувальному апараті. Після досягнення однорідності суміш змащували Aerosil та стеаратом магнію та сформували у таблетки.

- Вироблені таблетки пройшли випробування на стабільність за регламентом ICH. Довгострокові дослідження виконувалися при 2-8 градусів Цельсія та 25 градусах Цельсія, а прискорені випробування стабільності було проведено при 30 °C/65 % RH та 40 °C/75 % RH.

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 2-8 °C.

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	HMWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	5,08	102,0	96,0 %
1	1,58	1,50	0,052	94,8	5,07	102,0	92,0 %
3	1,51	1,50	0,059	94,5	5,07	102,0	86,7 %
6	1,42	1,44	0,065	94,5	5,14	103,0	90,3 %
9	1,38	1,41	0,056	94,7	5,1	103,0	98,0 %
12	1,40	1,45	0,060	94,4	5,08	102,0	89,2 %

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 25 °C та відносній вологості 60 %

10

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	HMWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	5,08	102,0	96,0 %
1	1,60	1,40	0,13	94,8	5,06	102,0	102,0 %
2	1,60	1,38	0,26	94,0	5,04	101,0	93,1 %
3	1,52	1,36	0,23	94,5	5,09	102,0	91,2 %
6	1,48	1,34	0,19	94,7	4,71	94,0	84,6 %
9	1,45	1,33	0,19	94,0	4,69	94,0	81,9 %

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 30 °C та відносній вологості 65 %

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	HMWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	5,08	102,0	96,0 %
1	1,61	1,48	0,06	95,2	5,10	104,0	89,2 %
2	1,54	1,52	0,070	94,4	5,08	104,0	92,0 %
3	1,51	1,50	0,070	94,6	5,13	104,0	89,0 %
6	1,42	1,44	0,130	94,3	4,71	94,2	84,7 %

15

Стабільність таблеток IN-105 5 мг при 40 °C та відносній вологості 75 %

Інтервали тестування	Твердість	Час розпадання	HMWP	Хроматографічна чистота	Аналіз	% Аналіз	Розчинення
Місяців	NMT 5,0 кг/см <sup>2</sup>	NMT 15 хв.	NMT 3,0 %	NLT 93 %	(в мг)	(w.r.t Label Claim)	NLT 75,0 % за 15 хвилин
0	1,58	1,49	0,053	95,3	5,08	102,0	96,0 %
1	1,58	1,50	0,110	94,2	4,84	97,0	98,0 %
2	1,50	1,48	0,12	93,6	4,78	96,0	87,6 %
3	1,51	1,50	0,150	93,9	4,64	88,0	84,7 %
6	1,42	1,44	0,200	93,3	4,75	96,0	80,0 %

Це є рекомендованими дозами препарату, які забезпечують необхідні профілі вивільнення лікарської речовини. Ці формули надають відносно стає вивільнення IN-105.

Приклад 6: 1,663 г IN-105 та 50 г капринової солі натрієвої кислоти розчинили у воді з доведенням показника рН до 8,28 за допомогою гідроксиду натрію. Розчин піддали розпилювальному сушінню при 80 °С. Тиск розпилення був на рівні 1,5 кг/см<sup>2</sup>, а швидкість потоку подачі розчину у апарат для розпилювального сушіння була на рівні 2 мл/хв. Чистота зразка, одержаного у результаті розпилювального сушіння, була ~98 %, та з загальної прогнозованої кількості 52 г було одержано 16 г гранул та 1,5 г дрібного порошку.

Порошок, одержаний в результаті розпилювального сушіння, було змішано з допоміжними речовинами, такими як Манітол, explotab, колоїдний кремнезем та стеарат магнію та сформовано у таблетки. Ці таблетки було випробовано на собаках для встановлення фармакінетичних та фармакодинамічних реакцій.

Приклад 7: Суспензію IN 105 з концентрацією 35 г/л використали для одержання зразків методом розпилювального сушіння. Як допоміжні речовини застосовувався манітол та капринова сіль натрієвої кислоти. У суміш 1050 мг капринової солі натрієвої кислоти та 1015 мг манітолу додали 20 мл розчину, що містив 1 мл суспензії, та добре перемішали. Розчин піддали розпилювальному сушінню при 80 °С. Тиск розпилення був на рівні 1,5 кг/см<sup>2</sup>, а швидкість потоку подачі розчину у апарат для розпилювального сушіння була на рівні 2 мл/хв. Вибудуток зразка був на рівні 60 %, а чистота зразка, одержаного у результаті розпилювального сушіння, була ~98 %.

Приклад 8: Суспензію IN105 з концентрацією 35 г/л використали для одержання зразків методом розпилювального сушіння. Як допоміжні речовини застосовувався манітол та капринову сіль натрієвої кислоти. У суміш 1050 мг капринової солі натрієвої кислоти та 945 мг манітолу додали 20 мл розчину, що містив 3 мл суспензії, та добре перемішали. Розчин піддали розпилювальному сушінню при 80 °С. Тиск розпилення був на рівні 1,2 кг/см<sup>2</sup>, а швидкість потоку подачі розчину у апарат для розпилювального сушіння була на рівні 2 мл/хв. Вибудуток зразка був на рівні 60 %, а чистота зразка, одержаного у результаті розпилювального сушіння, була ~98,6 %.

Приклад 9: Суспензію IN 105 з концентрацією 35 г/л використали для одержання зразків методом розпилювального сушіння. Як допоміжні речовини застосовувався манітол та капринова сіль натрієвої кислоти. У суміш 1050 мг капринової солі натрієвої кислоти та 1015 мг манітолу додали 20 мл розчину, що містив 1 мл суспензії, та добре перемішали. Розчин піддали розпилювальному сушінню при 120 °С. Тиск розпилення був на рівні 1,5 кг/см<sup>2</sup>, а швидкість потоку подачі розчину у апарат для розпилювального сушіння була на рівні 2 мл/хв. Вибудуток зразка був на рівні 60 %, а чистота зразка, одержаного у результаті розпилювального сушіння, була ~99,5 %.

Приклад 10: Суспензію IN105 з концентрацією 35 г/л використали для одержання зразків методом розпилювального сушіння. Як допоміжні речовини застосовувався манітол та капринова сіль натрієвої кислоти. У суміш 1050 мг капринової солі натрієвої кислоти та 945 мг манітолу додали 20 мл розчину, що містив 3 мл суспензії, та добре перемішали. Розчин піддали розпилювальному сушінню при 120 °С. Тиск розпилення був на рівні 1,2 кг/см<sup>2</sup>, а швидкість потоку подачі розчину у апарат для розпилювального сушіння була на рівні 2 мл/хв. Вибудуток зразка був на рівні 60 %, а чистота зразка, одержаного у результаті розпилювального сушіння, була ~98,3 %.

Приклад 11: Суспензію IN105 з концентрацією 11,5 г/л використали для одержання зразків методом розпилювального сушіння. Як допоміжні речовини застосовувався манітол та капринова сіль натрієвої кислоти. У суміш 3000 мг капринової солі натрієвої кислоти та 2885 мг маннітолу додали 50 мл розчину, що містив 10 мл суспензії, та добре перемішали. Розчин піддали розпилювальному сублімаційному сушінню при 150 °С. Тиск розпилення був на рівні 0,86 кг/см<sup>2</sup>, а швидкість потоку подачі розчину у апарат для розпилювального сушіння була на рівні 4 мл/хв. Чистота зразка була ~94,71 %.

Дві формули прототипів [Таблетку за формулою -862 приготовано методом прямої компресії] та [Таблетку за формулою -872 - приготовано методом розпилювального сублімаційного сушіння], які було досліджено у ході випробувань на собаках, показали, що формула -872, приготована методом розпилювального сублімаційного сушіння, продемонструвала відносно сталий рівень абсорбції лікарської речовини та надходження глюкози без втрати стабільності біологічної активності, що дозволяє використовувати економічний, комерційно вигідний та раціональний метод виробництва комплексних сполук катіону та інсуліну.

Таблиця 8

Час	862		872	
	Інсулін в плазмі	SEM	Інсулін в плазмі	SEM
60	8,2	1,5	6,0	1,1
80	7,0	1,4	5,8	1,5
85	21,2	6,2	22,5	12,4
90	48,5	15,1	53,7	8,5
100	52,4	18,1	46,0	18,4
110	39,5	25,7	35,7	5,4
125	44,3	39,0	14,3	1,5
170	30,7	29,1	10,8	2,5
200	17,0	12,8	10,8	4,0
205	26,2	15,9	11,4	2,2
210	54,6	32,3	30,8	20,8
220	49,7	23,6	70,7	83,5
230	15,0	6,2	76,8	76,4
245	9,7	1,1	47,9	57,8
290	8,5	3,5	8,0	4,1
320	6,8	0,5	8,2	3,0

Таблиця 9

Час	862		872	
	GIR	SEM	GIR	SEM
60	0,00	0,00	0,00	0,00
80	0,00	0,00	0,00	0,00
85	0,00	0,00	0,00	0,00
90	0,00	0,00	0,00	0,00
100	3,20	0,86	2,52	1,14
110	2,49	1,03	4,72	1,04
125	1,72	1,58	1,02	0,02
170	2,82	2,87	0,00	0,00
200	1,92	2,16	0,00	0,00
205	0,05	0,06	0,00	0,00
210	0,46	0,56	0,00	0,00
220	2,16	1,41	1,52	0,68
230	1,95	1,74	4,90	1,75
245	2,05	1,16	4,80	6,78
290	0,43	0,41	1,03	1,46
320	0,43	0,41	0,35	0,49

Таблиця 10

Час	862		872	
	Глюкоза в плазмі	SEM	Глюкоза в плазмі	SEM
60	111,3	1,8	106,5	2,1
80	108,8	2,0	106,0	1,4
85	108,5	2,2	105,0	1,4
90	106,8	2,6	102,0	1,4
100	109,5	5,3	99,5	4,9
110	110,8	2,7	111,5	3,5
125	109,8	1,6	105,5	2,1
170	108,8	2,4	107,5	2,1
200	107,8	1,8	106,5	0,7
205	106,3	2,5	104,5	0,7
210	103,3	3,9	103,5	0,7
220	106,3	4,7	99,0	1,4

Продовження таблиці 10

230	105,7	3,5	112,0	19,8
245	111,3	4,5	102,5	0,7
290	110,3	4,1	106,5	3,5
320	107,3	1,1	103,5	2,1

Приклад 12:

Діалізовані протягом ночі DS, формульовані як Інсуген (R) та IN105, у 10 mM Tris, pH 8, було надано із концентраціями, визначеними кількісним аналізом HPLC.

Таблиця 11

Концентрація мг/мл	Зразки інсуліну		
	Інсуген	IN-105	HIM-2
	2.84	2.65	20

Таблиця 11: Концентрації діалізованого інсуліну, використані для мітогенного аналізу

Клітини 3T3-A31 було одержано від ATCC (мишачий фібробласт, ATCC CCL-163). Від Invitrogen було одержано модифіковане способом Дульбекко середовище Ігла (DMEM), термічно інактивовану ембріональну бичачу сироватку (FBS) та синю фарбу Alamar. Розчин IGF1 та 1M HEPES було надано компанією Sigma Aldrich. Клітини 3T3-A31 утримували у 10 mM HEPES-буферному DMEM із додаванням 10 % FBS у вологих умовах при 37 °C з вмістом 5 % CO<sub>2</sub> в атмосфері. Для виконання аналізу клітини 3T3-A31 було трипсинізовано за допомогою 0,25 % трипсин-EDTA. Кількість клітин було пораховано за допомогою гемоцитометра з використанням трипанового синього фарбника. 10 000 клітин на стінці було просіяно з використанням 10 mM HEPES буферного DMEM із додаванням 0,5 % FBS у 96 вічкових пластинах. Додавалися різні концентрації відповідного інсуліну у трьох екземплярах. Після 20 годин витримування із різними концентраціями факторів росту було додано синій фарбник Alamar (10 % за об'ємом), а пластини витримали ще 4 години при 37 °C. Флуоресценцію (довжина хвилі збудження = 530 нм; довжина хвилі виділення = 590 нм) було виміряно за допомогою зчитувального пристрою для пластини на 96 вічок.

Таблиця 12

Порівняльне співвідношення мітогенних властивостей Інсугену проти IN-105 проти HIM-2, одержане за результатами аналізу PLA з використанням 4 точок у лінійному діапазоні.

Інсуген	IN-105	HIM-2
1	0,237	0,044
1	0,256	0,021
1	0,286	0,048
В середньому	0,259±0,020	0,0376±0,020

Приклад 13:

Діалізовані протягом ночі DS, формульовані як Інсуген (R) та IN 105, у 10 mM Tris, pH 8, було надано із концентраціями, визначеними кількісним аналізом HPLC. ДИВ ТАБЛИЦЮ 13.

Таблиця 13

Діалізовані концентрації, використані для метаболічного аналізу

Концентрація мг/мл	Зразки інсугену		
	Інсуген	IN-105	HIM-2
	2.84	2.65	20

Клітини 3T3-L1 було одержано від ATCC (мишачий фібробласт, ATCC CCL-163). Від Invitrogen було одержано модифіковане способом Дульбекко середовище Ігла (DMEM), термічно інактивовану ембріональну бичачу сироватку (FBS), розчин 10X пеніцилін-



стрептоміцин та 1М розчин HEPES. Sigma Aldrich було надано дексаметазон, ізобутилметилксантин, 4-аміноантипін, N-етил N-етил сульфопропіл m-толуїдин та реагент оксидази/пероксидази глюкози. Клітини 3T3-L1 утримували у 10 mM HEPES-буферному DMEM із додаванням 10 % FBS, 100U/100  $\mu$ g комплексу спеніцилін-стрептоміцин (середовище утримання) у вологих умовах при 37 °C з вмістом 5 % CO<sub>2</sub> в атмосфері. В цілях метаболічного аналізу клітини 3T3-L1 мали бути диференційовані від адипоцитів. Клітини 3T3-L1 було трипсонізовано із 0,25 % трипсин-EDTA. Кількість клітин було пораховано за допомогою гемоцитометра з використанням трипанового синього фарбника. 25 000 клітин на стінці було залишено в середовищі утримання у пластинах на 96 вічок. Протягом наступних 2 днів клітини зливалися. На день 3 клітини перемістили у диференційне середовище (0,5 mM дексаметазону та 0,25  $\mu$ M ізобутил метил ксантину в середовищі утримання) протягом наступних чотирьох днів. На день 7 диференційне середовище помістили зворотно в середовище утримання на три дні. На день 9 клітини промили 1X PBS та різними концентраціями відповідного інсуліну, приготовленого у трубах центрифуги 15 мл у буферному розчині з низьким вмістом глюкози та 0,5 % FBS, 2 mM L-глутаміну та 1X Pen-Strep. Розчини було додано у трьох дозах на поверхню стінок. Після 22 годин витримання з додавання різних концентрацій інсуліну на пластинах було проведено аналіз глюкози. Вміст глюкози було встановлено за допомогою реагенту GOPOD, який перетворює глюкозу, яка міститься в середовищі, на глюконову кислоту та перекис водню. Утворений переви́с водню реагує із основою (4-аміно антипін та N-етил N-сульфопірил m-толуїдин) та створює фіолетову сполуку, яку можна зчитати при довжині хвилі 55 нм. Розрахунки метаболічної діяльності: % глюкози, що залишилася у середовищі, було виміряно при прийнятті значення "без інсуліну" на 100 %.

Результати цього аналізу демонструють, що метаболічні властивості Інсугену (R), IN 105 та HIM-2 є подібними та знаходяться в межах прийнятних обмежень (0,8-1,2) аналізу PLA, що доводить, що Інсуген та IN-105 мають рівні метаболічні можливості, як проілюстровано на фіг. 14. На фіг. 14 видно, що метаболічні властивості Інсугену (R) у порівнянні з IN 105, та Інсугену (R) у порівнянні з HIM-2 є однаковими. Співвідношення метаболічних властивостей Інсугену (R) та IN 105 встановлено на рівні 1,166, і Інсугену (R) та HIM-2 - на рівні 1,149. Середнє значення  $\pm$ SEM потрібних визначень експерименту. На фіг. 15 продемонстровано паралелізм та лінійність біоаналізу стосовно різних концентрацій Інсугену (R) та IN 105, визначених засобами ПЗ PLA. Дані відображають середнє значення  $\pm$  SEM потрібних значень, одержаних в результаті експерименту.

Таблиця 14:

Порівняльне співвідношення метаболічних властивостей Інсугену та IN-105 та HIM-2, одержане за результатами аналізу PLA з використанням 4 точок у лінійному діапазоні.

Інсуген	IN-105	HIM-2
1	1,121	1,19
1	1,2	1,104
1	1,179	1,153
В середньому	1,166 $\pm$ 0,041	1,149 $\pm$ 0,043

#### Приклад 14:

Пробірки з інсуліном очищують з використанням кристалічної оцтової кислоти (pH ~3,4). Очищений розчин поміщують в зворотнофазову силікогелну колонку C8 та відокремлюють за допомогою градієнтного елюювання з використанням 250 mM оцтової кислоти та 100 % етанолу. В процесі елюювання необхідно відібрати крихти та досягти 99 % або вищої чистоти. Розчин діалізують протягом 15 годин за допомогою фільтраційної оболонки 1KD та 10 mM Tris, pH 8,0. Одержаний в результаті діалізу інсулін з pH 8,0 без домішок цинку та допоміжних речовин аналізують за допомогою RP-HPLC. Після діалізу протягом ночі розчин не містить цинку та формулюється як Інсуген (R), IN 105 та HIM-2 у 10 mM Tris, pH 8 з концентраціями, визначеними у результаті кількісного аналізу HPLC, як визначено в таблиці 15.

Таблиця 15

Концентрація мг/мл	Зразки інсуліну		
	Інсуген	IN-105	HIM-2
	0,82	1,38	3,4

З ATCC було одержано клітини HepG2 (№ за каталогом ATCC HB-8065). Від Invitrogen було одержано модифіковане способом Дульбекко середовище Ігла (DMEM), термічно інактивовану ембріональну бичачу сироватку (FBS), розчин 100X пеніцилін-стрептоміцин та 100X сольовий розчин HEPES. Sigma Aldrich було надано альбумін бичачої сироватки, гідрооксид натрію, Triton-X 100 та бікарбонат натрію.

Компанія Immunotech (Beckman Coulter) надасть відмічений радіоактивною міткою рекомбінантний людський інсулін із радіоактивністю 2200 Ci/ммоль (номер за каталогом NEX420

Клітини HepG2 утримують у 10 mM HEPES-буферному DMEM з доданням 10 % FBS та 1X розчину пеніциліну-стрептоміцину у вологому середовищі при 37 °C з вмістом CO<sub>2</sub> на рівні 5 %. В цілях аналізу клітини трипсинізують та просіюють при щільності 400 000 клітин на вічко 24-вічкової пластини. Після 3 днів інкубації на клітинах здійснюється радіолігандний аналіз зв'язування (1, 2).

Перед проведенням аналізу середовище видаляється, а клітини двічі промивають зв'язуючим буферним розчином (DMEM, 2,2 мг/мл бікарбонату натрію, 1 мг/мл альбуміну бичачої сироватки та 50 mM HEPES) для видалення будь-яких залишків факторів росту з середовища. Паралельні досліді проводяться двічі з використанням встановленої кількості радіоліганду (0,325 nM) та різних концентрацій холодної лікарської речовини інсуліну (від 10<sup>-12</sup> M до 10<sup>-7</sup> M). Остаточний об'єм доводиться до 1 мл. Після чого, пластини витримують ніч при температурі 15 °C та кількості обертів 100 обертів на хвилину (2). На наступний день вміст усіх вічок виливається та кожне вічко двічі промивається холодним зв'язувальним буферним розчином.

В кожне вічко вливається 1 мл солюбілізаційного реагенту (0,5 M гідроксиду натрію, 0,5 % Triton-X 100). Солюбілізовані клітинні гранули переміщують у трубку для радіоіммунологічного аналізу, а показник зв'язаної радіоактивності зчитують за допомогою гамма-зчитувача (Strattec BioMedical Systems, Німеччина). Встановлено, що відкалібрований інструмент має ефективність 80 %.

Розрахунок зв'язувальних властивостей: з метою нормалізації кількості імпульсів за хвилину (показників CPM) при різних концентраціях інсуліну, відсоткове відношення зв'язування було розраховано за допомогою такого рівняння:

$$\% \text{ Bound} = (\text{CPM}_{\text{sample}} - \text{CPM}_{\text{blank}}) / (\text{CPM}_{\text{control}} - \text{CPM}_{\text{blank}}) \times 100.$$

Де CPM<sub>control</sub> є середнім значенням кількості імпульсів за хвилину (CPM) для вічок, які містили клітини з інсуліном, відміченим радіоактивною міткою, без додання охолодженого інсуліну, CPM<sub>blank</sub> є середнім значенням кількості імпульсів за хвилину (CPM) для вічок, які не містили інсулін з радіоактивною міткою та охолоджений інсулін, а CPM<sub>sample</sub> є середнім значенням кількості імпульсів за хвилину (CPM) для вічок, які містили з інсуліну, відмічений радіоактивною міткою, та різні концентрації охолодженого інсуліну.

Таблиця 16

Порівняння зв'язувальних властивостей для EC<sub>50</sub> та 95 % довірчого інтервалу.

	EC <sub>50</sub> (M)	95 % CI для EC <sub>50</sub> (M)
Інсуген(R)	1,246 × 10 <sup>-10</sup>	(1,005, 1,544) X 10 <sup>-10</sup>
IN 105	1,185 × 10 <sup>-10</sup>	(0,863, 1,626) X 10 <sup>-10</sup>
HIM-2	1,157 × 10 <sup>-10</sup>	(0,896, 1,495) X 10 <sup>-10</sup>

Вищенаведений опис та Приклад було надано для полегшення розуміння. Вони не передбачають непотрібних обмежень, оскільки спеціалісти зможуть зрозуміти, як пристосувати цей винахід до їхніх вимог.

Вищенаведений опис дає розуміння про рекомендовані сфери застосування винаходу, відомі заявнику на момент подання заявки, та наданий з ілюстративною та описовою метою. Цей перелік може бути неповним та не обмежує винахід, оскільки в результаті цього дослідження можна ввести ряд модифікацій. Ці приклади було наведено з метою пояснення принципів та можливостей практичного застосування винаходу для спеціалістів з огляду на конкретні цілі та задачі та з урахуванням необхідних модифікацій.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Висушена розпилюванням композиція, яка містить по суті аморфні висушені розпилюванням часточки кон'югата сполуки катіон-інсулін і включає приблизно 0,01-20 мас. % IN-105, приблизно

10-60 мас. % насичених або ненасичених C4-C12 жирних кислот, естерів жирних кислот або їх солей та принаймні один фармацевтично прийнятний наповнювач, вибраний з групи, яка складається принаймні з 10 мас. % дезінтегранта, 10 мас. % розріджувача, 0,5 мас. % змащувача, де IN-105 є молекулою інсуліну, кон'югованою при епсилон-амінокислоті лізині на позиції B29 B-ланцюга інсуліну з олігомером структурної формули  $\text{CH}_3\text{O}-(\text{C}_4\text{H}_2\text{O})_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ .

2. Висушена розпилюванням композиція за п. 1, де по суті аморфні висушені розпилюванням часточки є гомогенними.

3. Висушена розпилюванням композиція за п. 1, де жирною кислотою є натрію капрат.

4. Висушена розпилюванням композиція за п. 1, яка додатково містить принаймні одну складову, вибрану із групи, яка складається зі зв'язуючих, пластифікаторів, підсилювачів проникнення та солюбілізаторів.

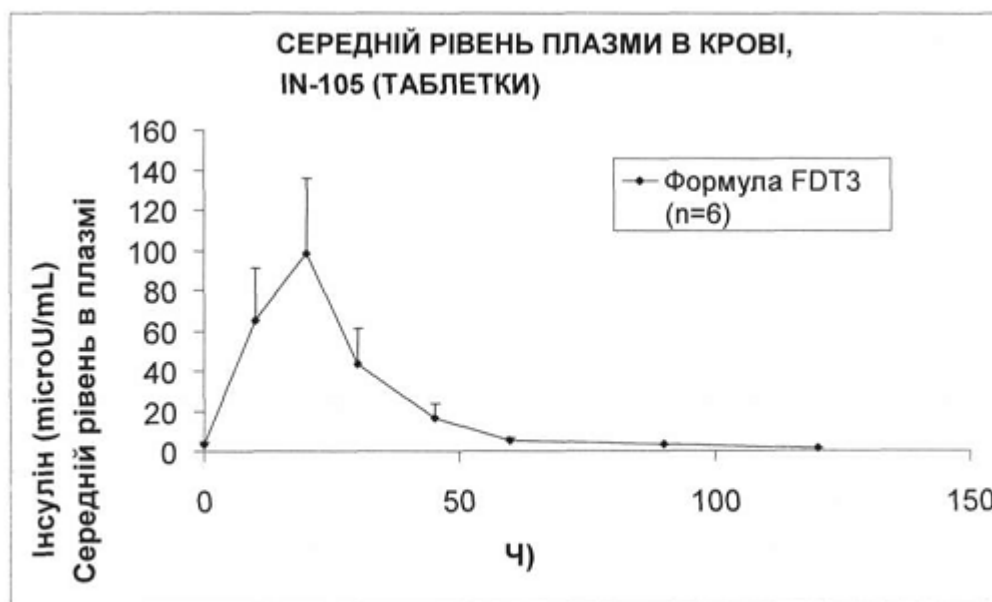
5. Висушена розпилюванням композиція за п. 1, де розріджувачі вибрано із групи, яка містить солі кальцію, целюлозу або похідні целюлози, палатинозу, органічні кислоти, цукор, цукрові спирти, пектати та їх комбінації.

6. Висушена розпилюванням композиція за п. 1, де розріджувачем є манітол.

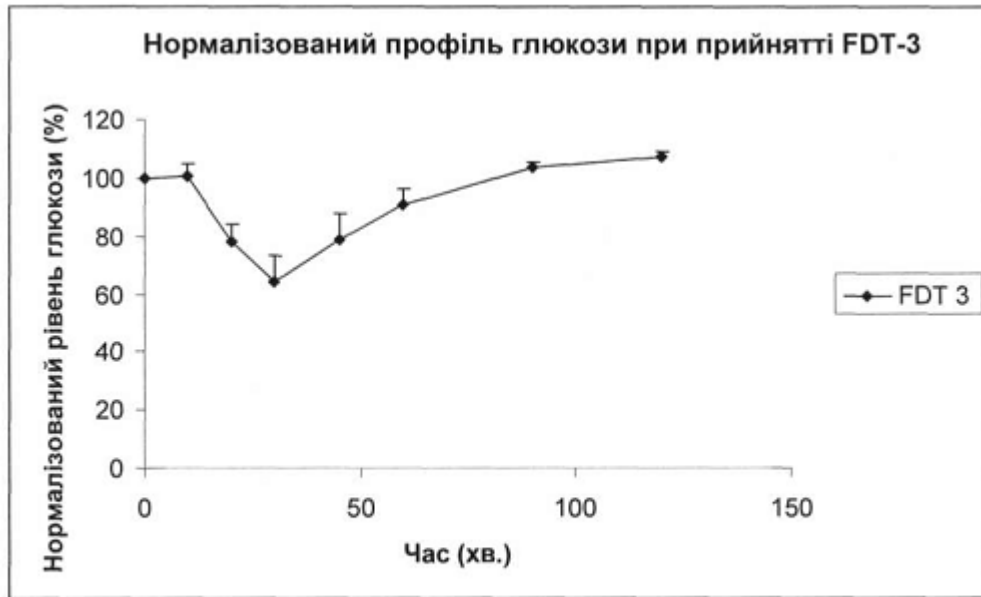
7. Висушена розпилюванням композиція за п. 1, де змащувачем є магній стеарат.

8. Висушена розпилюванням композиція за п. 1, де дезінтегрантом є полівінілпіролідон.

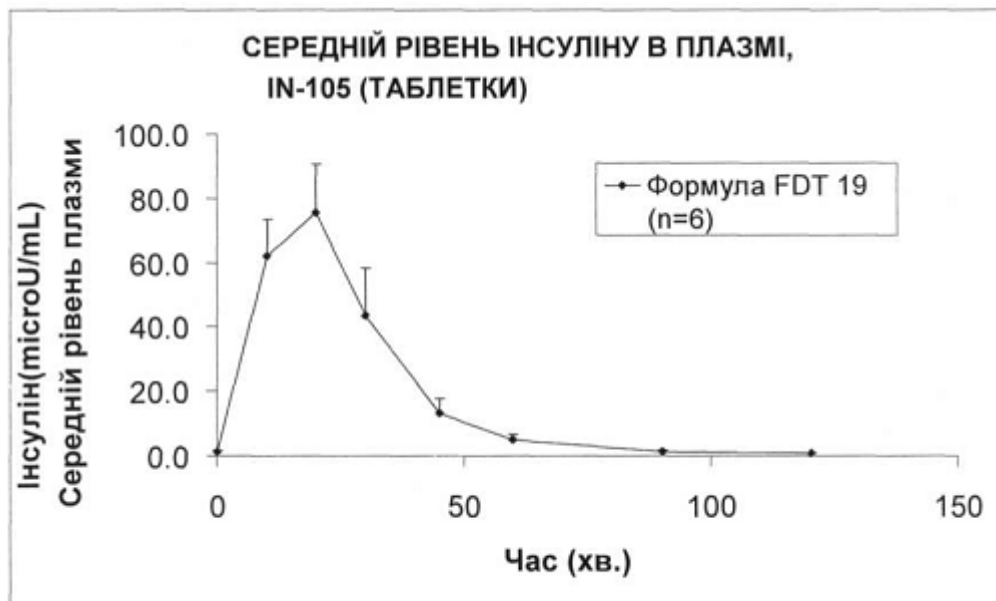
9. Висушена розпилюванням композиція за п. 1, де розмір висушених розпилюванням часточок дорівнює приблизно 100-250 мкм.



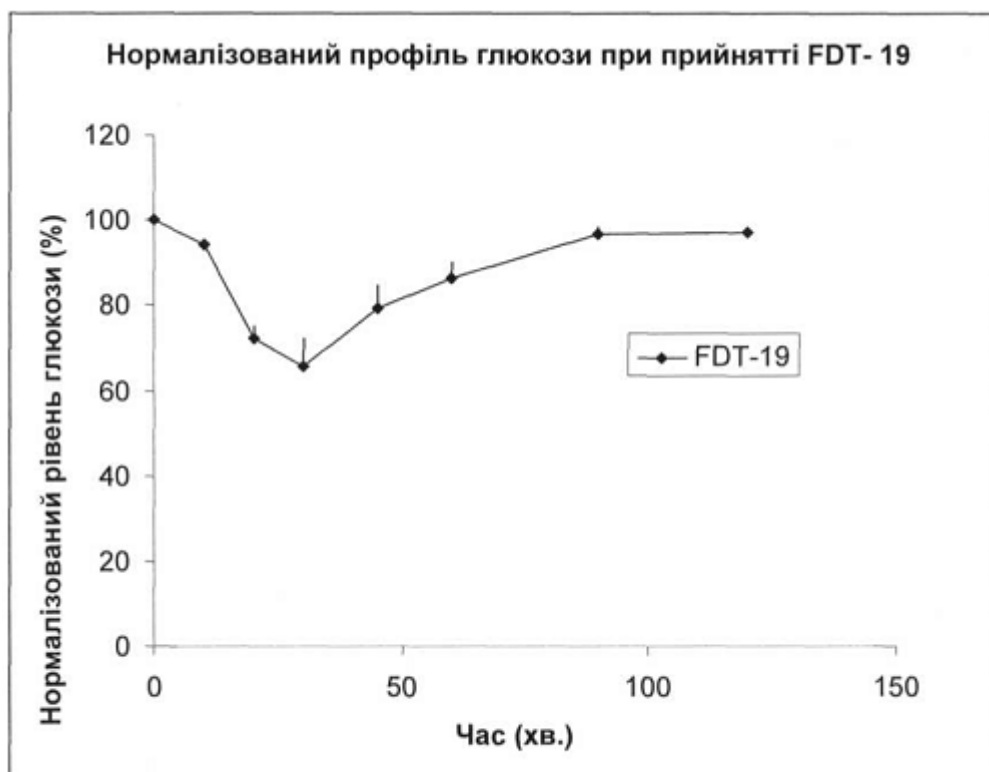
Фіг. 1: Середній профіль інсуліну в плазмі - таблетки IN-105 (FDT-3)



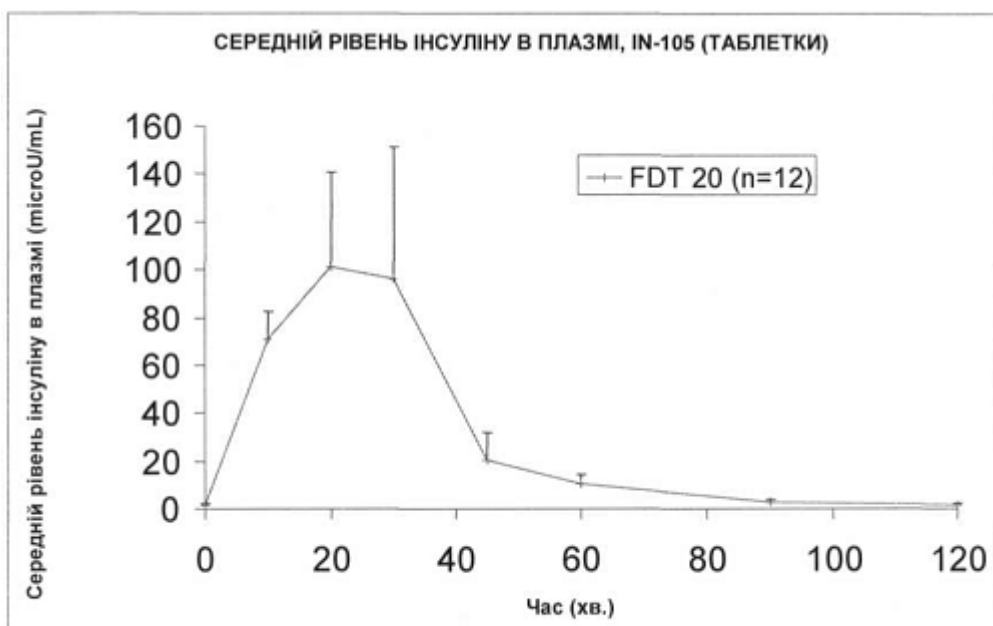
Фіг. 2: Нормалізований профіль глюкози при прийнятті FDT-3



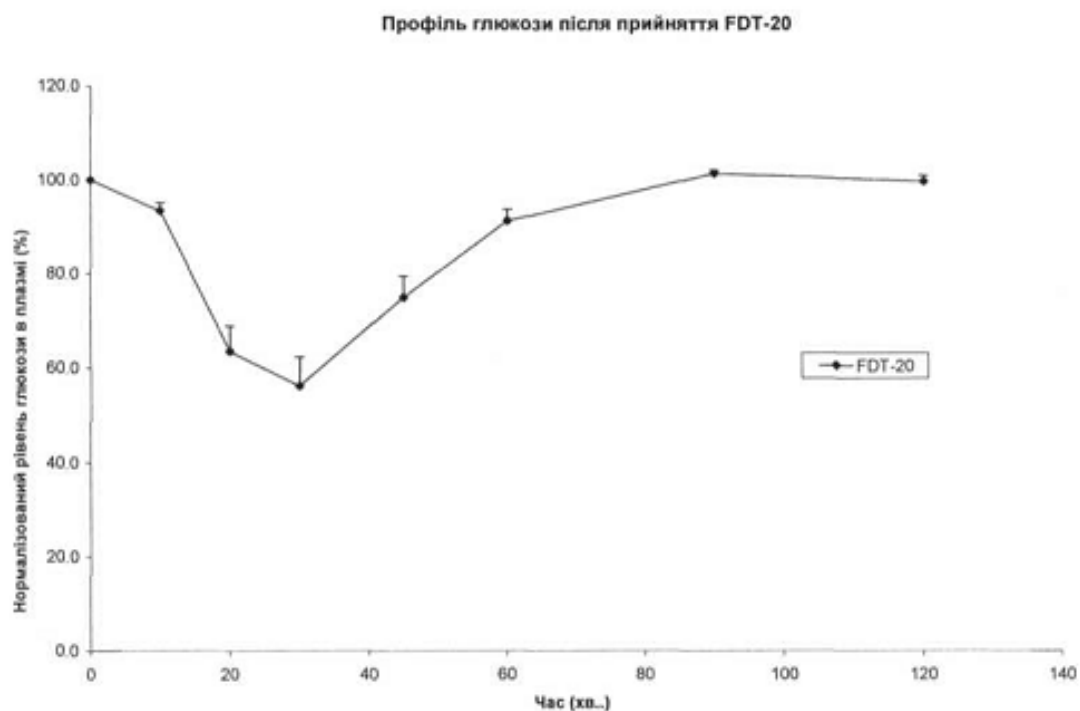
Фіг. 3: Середній профіль інсуліну в плазмі - таблетки IN-105 (FDT-19)



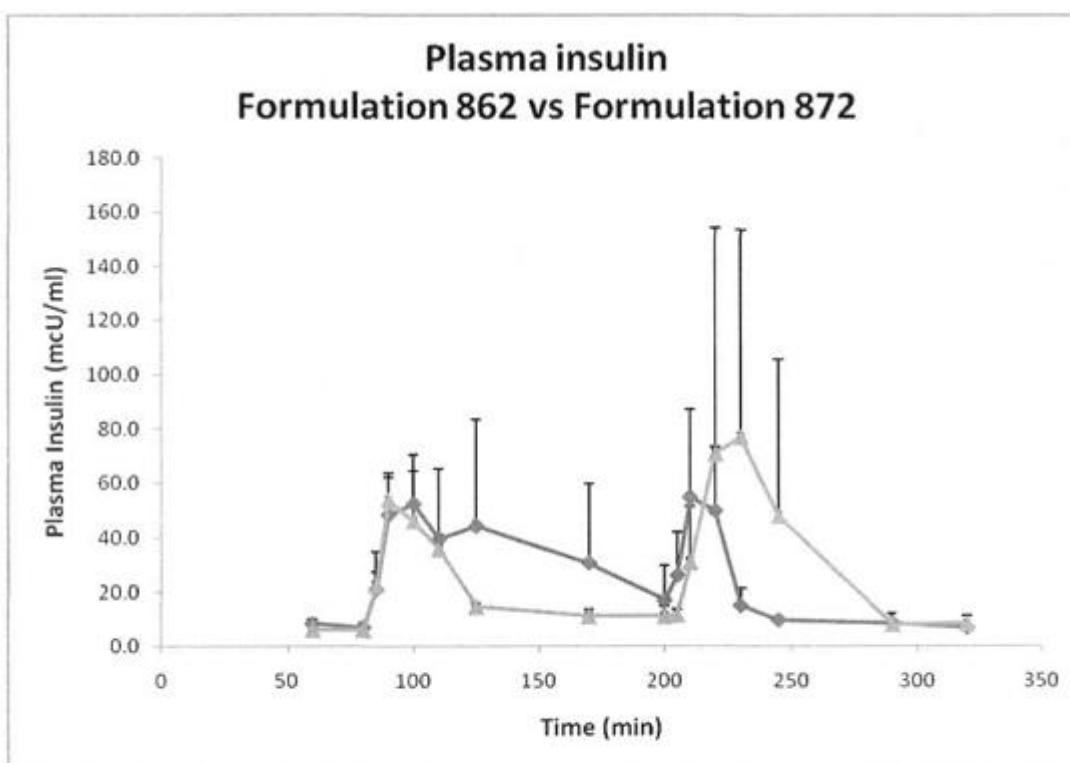
Фіг. 4: Нормалізований профіль глюкози при прийнятті FDT-19



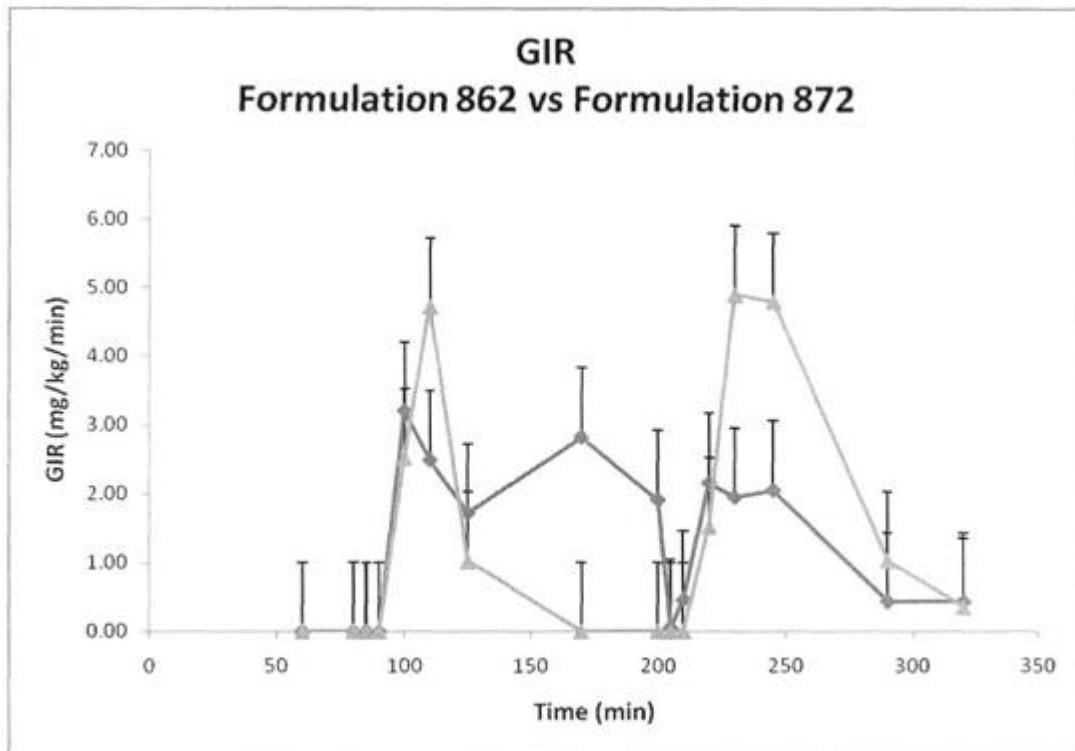
Фіг. 5: Середній профіль інсуліну в плазмі - таблетки IN-105 (FDT-20)



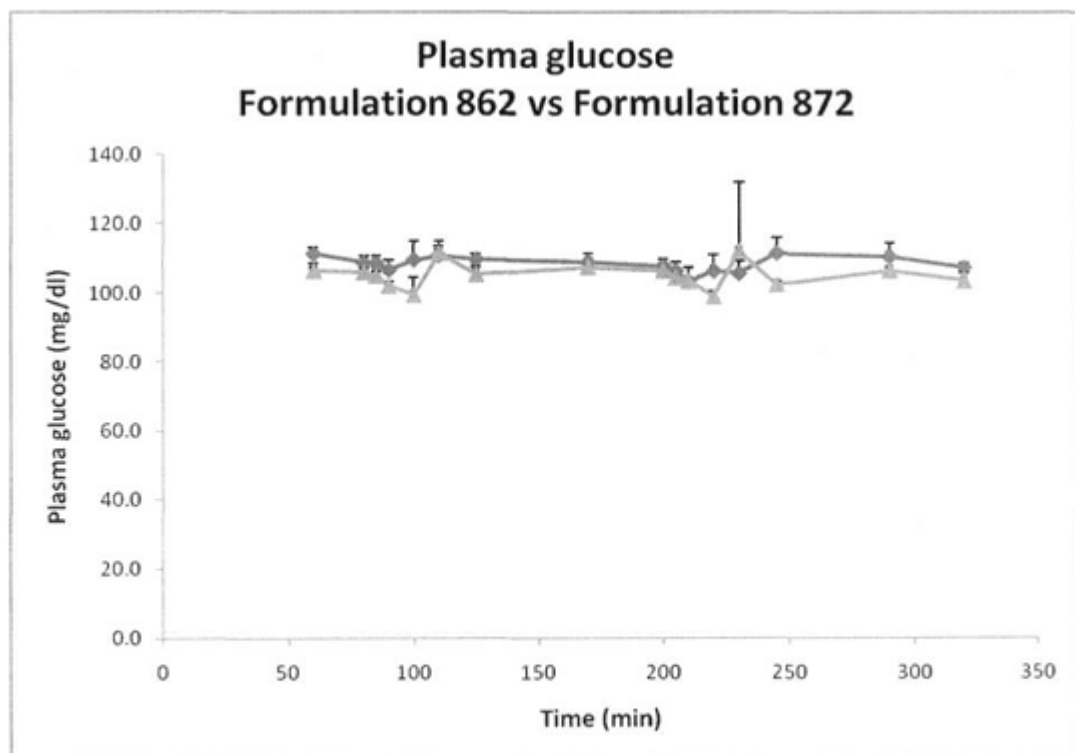
**Фіг. 6: Рівень глюкози після прийняття FDT-20**



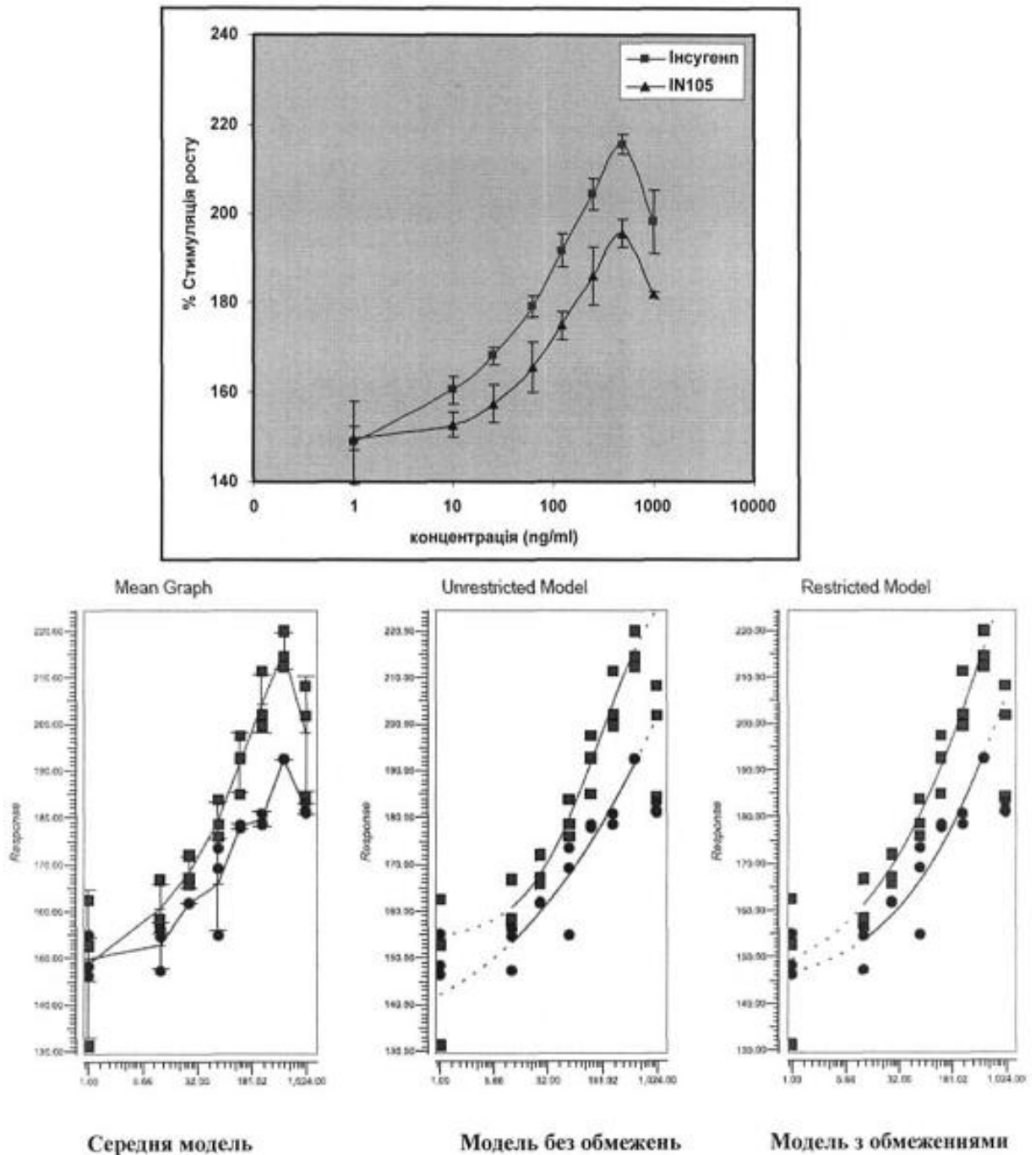
**Рівень інсуліну в плазмі  
Порівняння формули 862 та формули 872  
Фіг. 7 Профіль інсуліну в плазмі**



Фіг. 8 Профіль рівню введення глюкози  
Рівень надходження глюкози (GIR). Порівняння формули 862 та формули 872

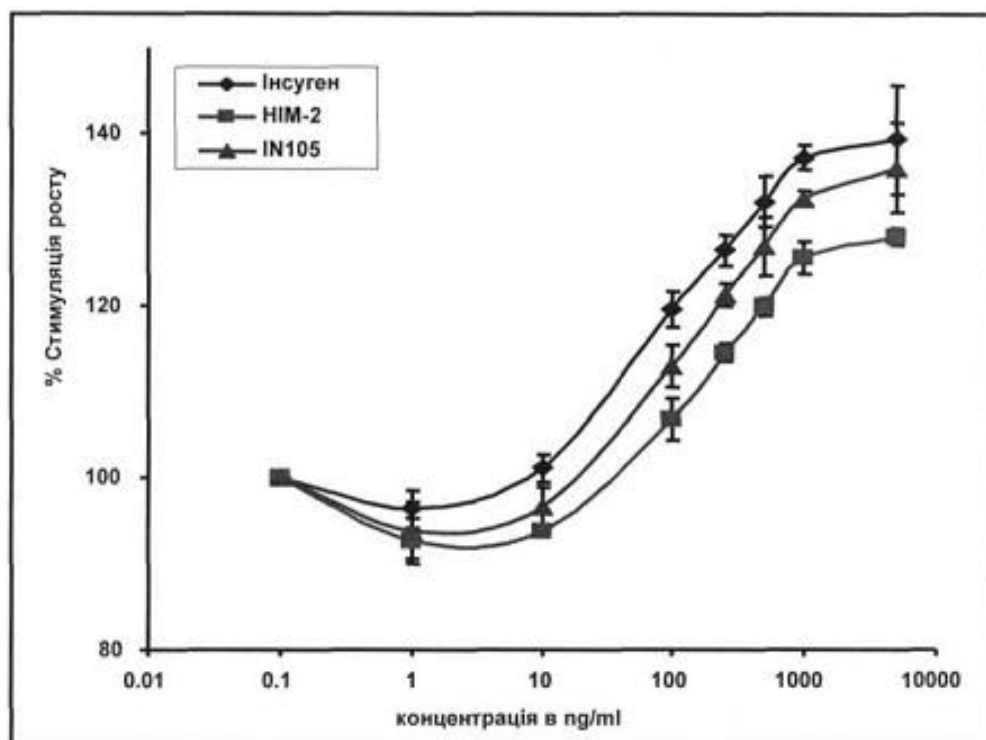


Рівень глюкози в плазмі. Порівняння формули 862 та формули 872  
Фіг. 9 Профіль глюкози в плазмі

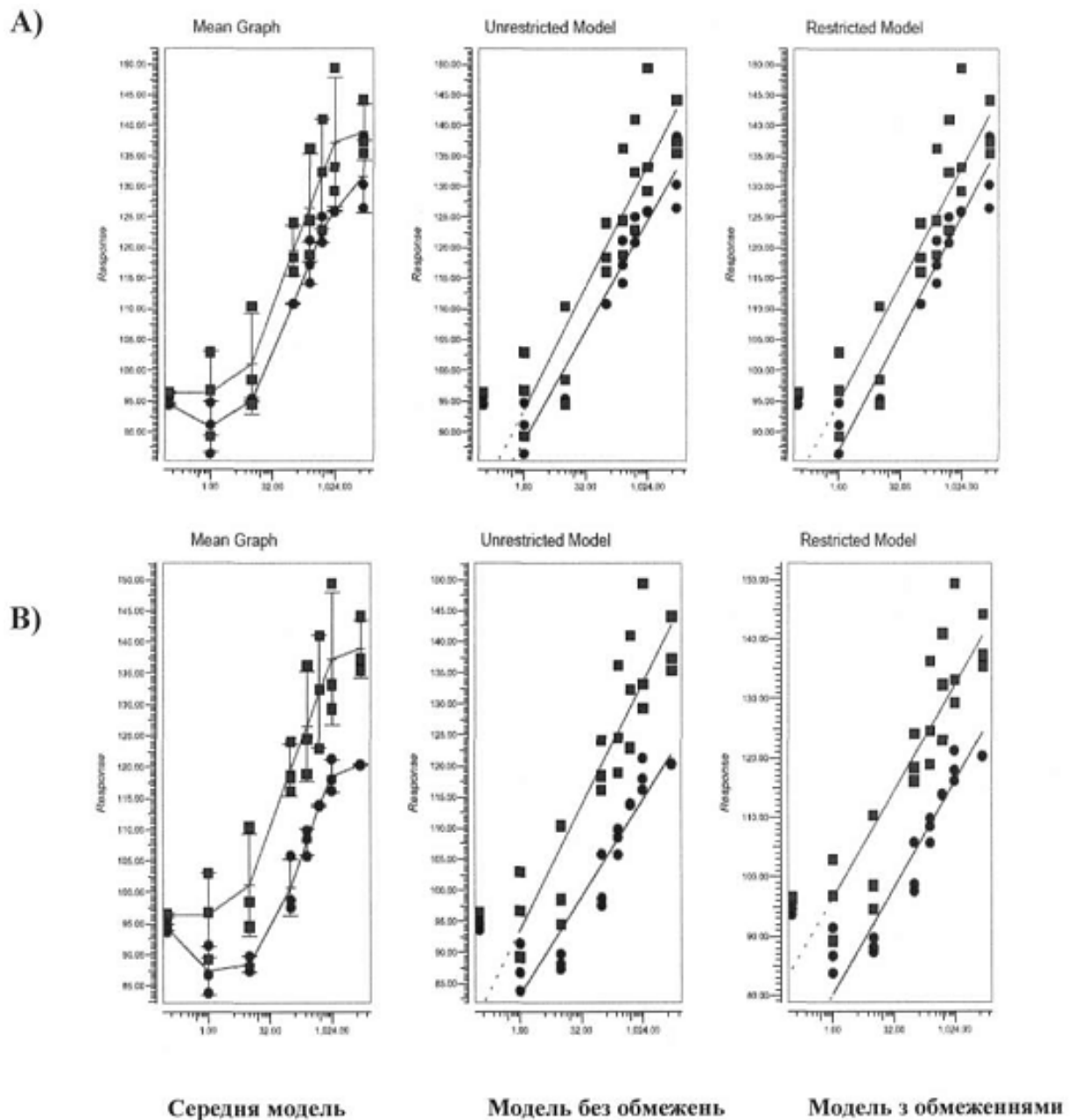


Фіг. 10: Паралелізм та лінійність біологічного аналізу різних концентрацій Інсугену (R) та IN105 на ПЗ PLA. Дані представляють середні значення  $\pm$  SEM трьох значень, одержаних у ході експерименту.

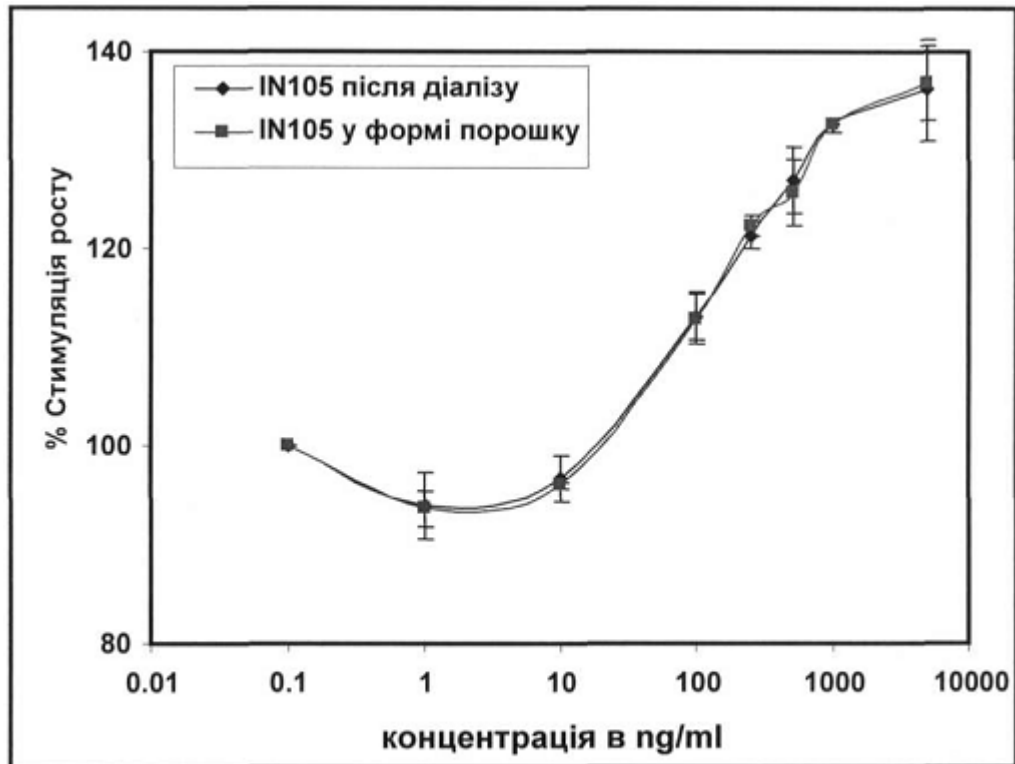




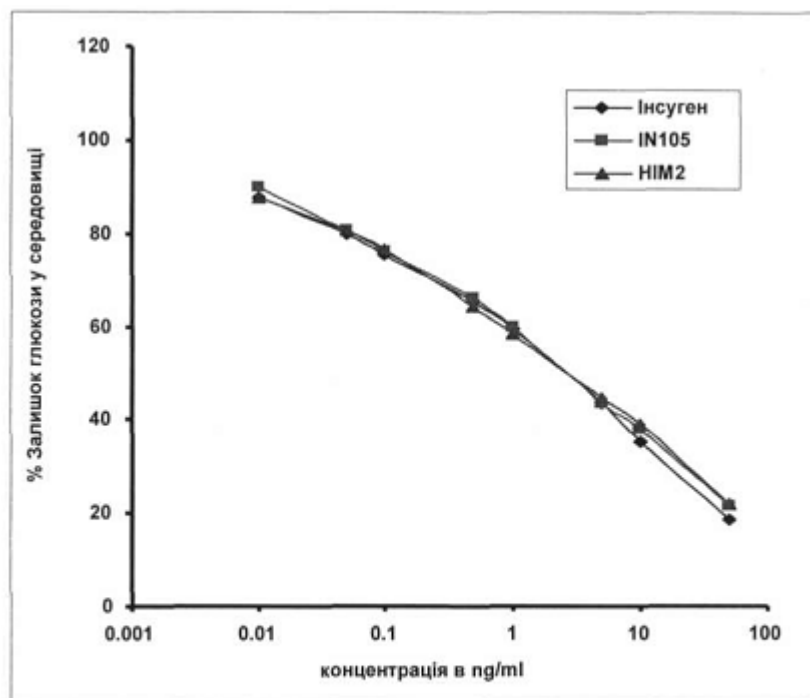
Фіг. 11: Мітогенні властивості Інсугену у порівнянні з IN-105 та HIM-2 з аналізу PLA з використанням 4 точок у лінійному ряді.



**Фіг. 12:** Паралелізм та лінійність біологічного аналізу різних концентрацій Інсугену (R) у порівнянні з IN105 (A) та Інсугену у порівнянні з HIM-2 (B) на ПЗ PLA. Дані представляють середнє значення  $\pm$  SEM трьох значень, одержаних у ході експерименту.

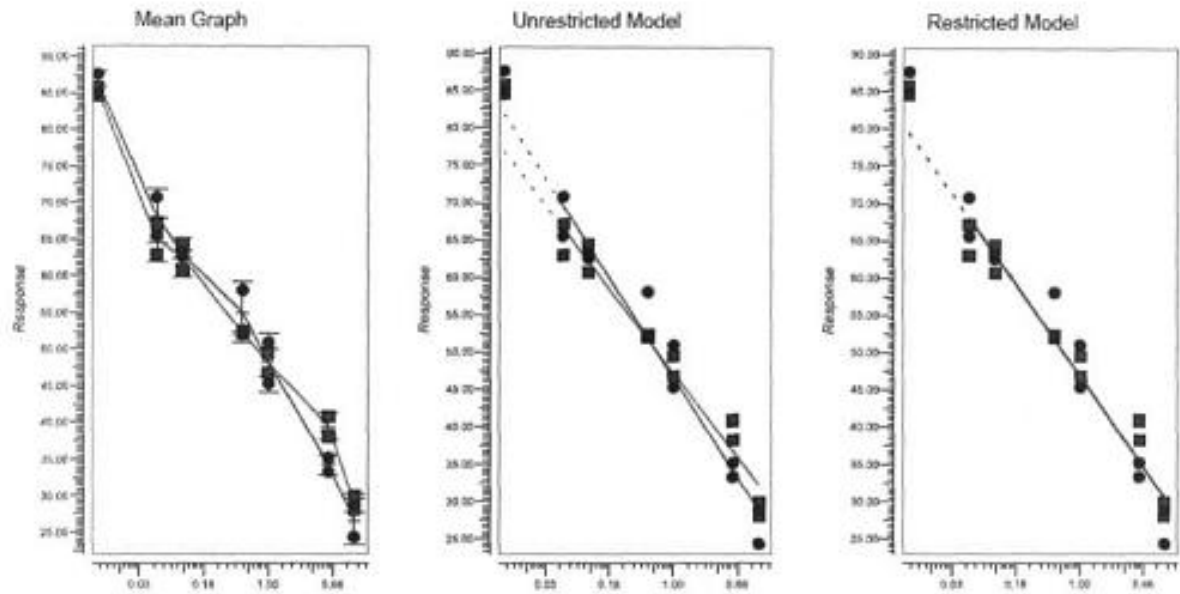


Фіг. 13: Мітогенна діяльність діалізованого IN-105 у порівнянні із порошком IN-105 для аналізу PLA з використанням 4 точок у лінійному ряді.

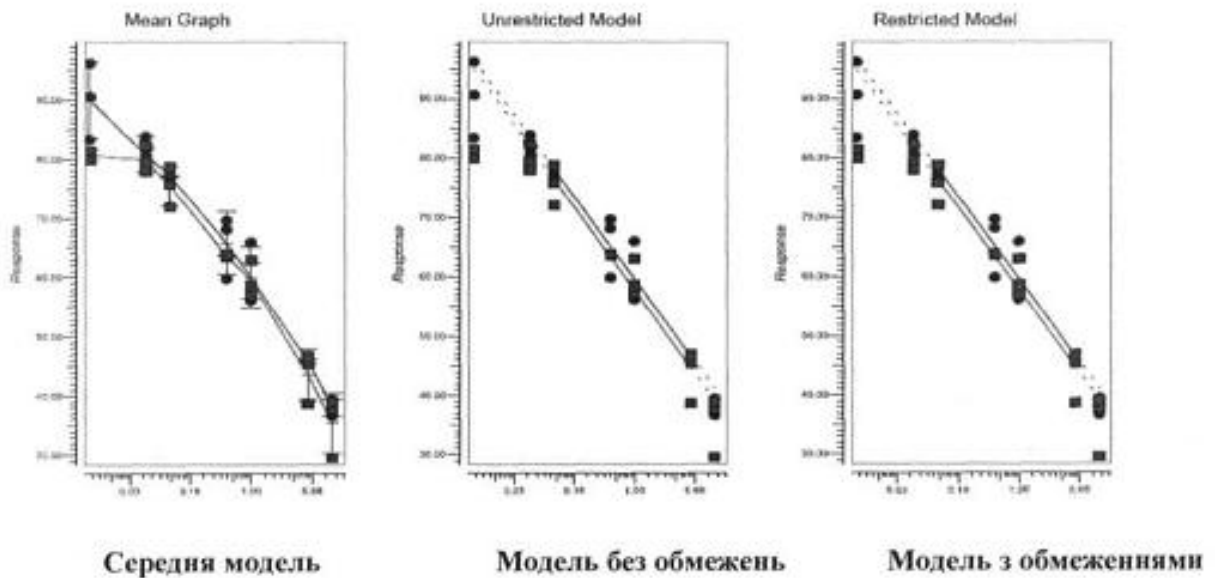


Фіг. 14: Порівняння метаболічних властивостей Інсугену (R), IN105 та HIM-2.

A)



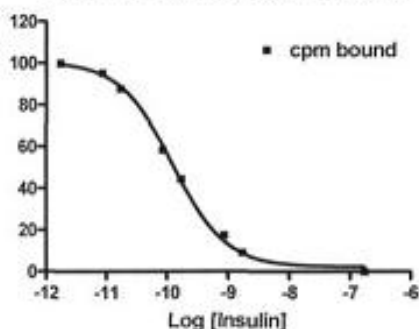
B)



Фіг. 15: Паралелізм та лінійність біологічного аналізу різних концентрацій Інсугену (R) у порівнянні з IN105 (A) та Інсугену у порівнянні з HIM-2 (B) на ПЗ PLA. Дані представляють середнє значення  $\pm$  SEM трьох значень, одержаних у ході експерименту.

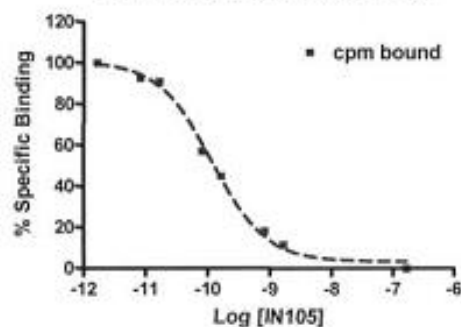
A)

Binding Curve of Radiolabeled Perkin  
Elmer Insulin with cold Insulin R



B)

Binding Curve of Radiolabeled Perkin  
Elmer Insulin with cold IN105



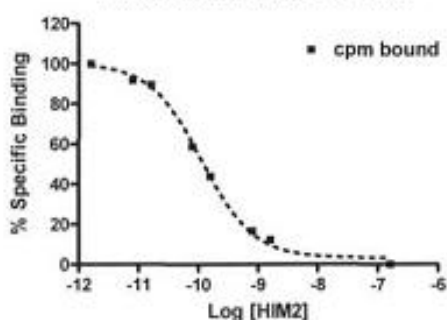
A) Зв'язувальна крива інсуліну Perkin Elmer, відміченого радіоактивною міткою, з охолодженням інсуліном R

B) Зв'язувальна крива інсуліну Perkin Elmer, відміченого радіоактивною міткою, з охолодженням IN105

C) Зв'язувальна крива інсуліну Perkin Elmer, відміченого радіоактивною міткою, з охолодженням HIM2

C)

Binding Curve of Radiolabeled Perkin  
Elmer Insulin with cold HIM2



**Фіг. 16: Конкурентні криві (A) Інсугену (R), (B) IN105 та (C) HIM-2, відповідно. Криві було побудовано з використанням ПЗ Graph Pad version-4. Дані відображають середнє значення трьохкратних значень, одержаних у результаті випробування.**