



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61109 (13) C2

(51) 7 A61K38/28, A61P3/10

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СТИЙКА ІНСУЛІНОВА ЛІКАРСЬКА ФОРМА ТА СПОСІБ ЇЇ ОДЕРЖАННЯ (ВАРІАНТИ)

1

2

(21) 99126744

(22) 11 06 1998

(24) 17 11 2003

(86) PCT/US98/12218, 11 06 1998

(31) 60/053,089

(32) 13 08 1997

(33) US

(46) 17 11 2003, Бюл. № 11, 2003 р

(72) Дефеліппіс Майкл Розаріо, US, Доббінз Майкл
Аппен, US, Френк Брюс Хілл, US, Лі Шан, US, Ре-
бан Дон Марі, US

(73) ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ, US

(56) US, A, 5 461 031, 24 10 1995

US, A, 5 474 978, 12 12 1995

(57) Стийка рідка лікарська форма, яка включає

(i) фізіологічно прийнятний буфер, вибраний з гру-
пи, до складу якої входять тріс-буфер та аргінін,(ii) мономерний аналог інсуліну, вибраний з групи,
до складу якої входять людський інсулін, де Pro у
положенні B28 замінено Asp, Lys, Leu, Val або
Ala, та де Lys у положенні B29 є Lys, або його за-
міщено Pro,Ala^{B28}-людський інсулін,

des(B28-B30)-людський інсулін та

des(B27)-людський інсулін,

(iii) цинк та

(iv) фенольний консервант

2 Лікарська форма за п. 1, де мономерним анало-
гом інсуліну є Lys^{B28}Pro^{B29}-людський інсулін3 Лікарська форма за п. 2, де згаданим буфером є
тріс-буфер4 Лікарська форма за пп. 2 або 3, яка додатково
включає до свого складу ізотонічний агент, причо-
му рН згаданої лікарської форми становить від рН
7,0 до рН 8,0 у разі визначення при температурі 22
°C5 Лікарська форма за п. 4, де концентрація
Lys^{B28}Pro^{B29}-людського інсуліну становить від при-
близно 1,2 мг/мл до приблизно 50 мг/мл6 Лікарська форма за п. 5, де концентрація
Lys^{B28}Pro^{B29}-людського інсуліну становить від при-
близно 3 мг/мл до приблизно 35 мг/мл7 Лікарська форма за п. 6, де фенольним консер-
вантом є суміш m-крезолу та фенолу8 Лікарська форма за п. 7, де тріс-буфер присут-
ний у концентрації приблизно 2 мг/мл, гліцерин є
ізотонічним агентом і присутній у концентрації
приблизно 16 мг/мл, m-крезол присутній у концен-
трації приблизно 1,76 мг/мл та фенол присутній у
концентрації приблизно 0,715 мг/мл9 Лікарська форма за п. 1, де мономерним анало-
гом інсуліну є Asp^{B28}-людський інсулін10 Лікарська форма за п. 9, де згаданим буфером
є тріс-буфер11 Лікарська форма за п. 9 або 10, яка додатково
містить ізотонічний агент, причому рН згаданої
лікарської форми становить від 7,0 до 8,0 у разі
визначення при температурі 22 °C12 Лікарська форма за п. 11, де концентрація
Asp^{B28}-людського інсуліну становить від приблизно
1,2 мг/мл до приблизно 50 мг/мл13 Лікарська форма за п. 12, де концентрація
Asp^{B28}-людського інсуліну становить від приблизно
3 мг/мл до приблизно 35 мг/мл14 Лікарська форма за п. 1, яка додатково вклю-
чає протамін15 Лікарська форма за п. 14, де аналогом інсуліну
є Lys^{B28}Pro^{B29}-людський інсулін16 Лікарська форма за п. 14, де аналогом інсуліну
є Asp^{B28}-людський інсулін17 Лікарська форма за будь-яким з пп. 14-16, де
згаданим буфером є аргінін18 Лікарська форма за будь-яким з пп. 1-13 для
використання у системі безперервного впливання19 Лікарська форма за будь-яким з пп. 1-17 для
використання як засобу для лікування діабету або
гіперглікемії20 Спосіб одержання лікарської форми мономер-
ного аналогу інсуліну за будь-яким з пп. 1-13, який
включає стадію змішування зазначеного буферу з
мономерним аналогом інсуліну, цинком та фено-
льним консервантом21 Спосіб одержання лікарської форми мономер-
ного аналогу інсуліну за будь-яким з пп. 14-17,
який включає стадію змішування зазначеного бу-
феру з мономерним аналогом інсуліну, цинком,
фенольним консервантом та протаміном

(13) C2

(11) 61109

(19) UA

Цей винахід має відношення до галузі медицини людини, зокрема, до лікування діабету та гіперглікемії шляхом введення мономерних аналогів інсуліну. Зокрема, цей винахід має відношення до лікарських форм мономерних аналогів інсуліну, які демонструють чудову довгострокову фізичну стійкість у разі піддання впливу високого рівня підведеної механічної енергії та високої температури.

Стиї лікарські форми терапевтичних лікувальних засобів є особливо необхідними для використання у пристроях для доставки препаратів, які піддають згадані лікувальні засоби впливу підвищених температур та/або механічного напруження. Наприклад, стійкі інсулінові лікарські форми є необхідними для використання у системах безперервного впливання та ін'єкторних пристроях для доставки препарату. Сучасні лікарські форми демонструють лише обмежену стійкість у пристроях для доставки лікарських препаратів згаданого типу.

У системах для безперервного впливання рідини, до складу якої входить терапевтичний засіб, накачується з поємника, як правило, до підшкірного, інтравенозного або внутрішньоочеревинного депо. Згаданий поємник, який повинен періодично дозаправлятися, закріплюється до тіла пацієнта або імплантується у тіло пацієнта. У будь-якому випадку температура тіла та рухи пацієнта плюс турбулентність у трубопроводі та насосі забезпечують згадану лікарську форму відносно великою кількістю термомеханічної енергії. З метою зведення частоти дозаправлення згаданого поємника, а також його розмірів до мінімуму, надзвичайно велику перевагу мають лікарські форми з відносно високою концентрацією терапевтичного лікарського засобу.

У патенті США № 4,839,341 (Eli Lilly and Company, 1989), що його було видано на ім'я Масеї (Massey) та Шеліга (Sheliga), обговорюються проблеми, пов'язані з забезпеченням стійких інсулінових лікарських форм для безперервного впливання, і надається докладний огляд стану у цій галузі до приблизно 1984 року. Зараз ці проблеми значно зросли, оскільки на сьогоденному етапі існує потреба у інсулінових лікарських формах, які зберігають стійкість впродовж 1-3 місяців.

Було розроблено ін'єктори, які допомагають діабетикам відмірювати та вводити точну та контрольовану дозу інсуліну. У загальних рисах згадані ін'єктори кріпляться до герметичного патрону, який вміщує певну кількість рідкого лікарського засобу. Згаданий патрон споряджено плунжером та механізмом для переміщення згаданого плунжеру у патроні таким чином, що забезпечується вприскування згаданого лікарського засобу. Згадані ін'єктори можуть бути придатними для одно- або багаторазового використання. У ін'єкторах, придатних для багаторазового використання, користувач може замінити вичерпаний патрон та зворотно встановлювати гвинт подачі ін'єктора до вихідного положення. У ін'єкторах, призначених для одноразового використання, згаданий патрон постійно закріплено у ін'єкторі, від якого позбавляється після того, як вміст згаданого патрону виче-

рпано. Лікарські форми інсуліну, які використовуються у таких ін'єкторах, піддаються впливу фізичного напруження, і вони, як правило, демонструють обмежену стійкість.

З введенням нових мономерних аналогів інсуліну для лікування діабету, виникла необхідність застосування згаданих сполук у схемах лікування, які можуть скомпрометувати стійкість, впасти в згаданим лікарським формам. У цій галузі є широко відомими швидкодіючі інсуліни, так звані мономерні аналоги інсуліну, які розкриваються у патенті США № 5,514,646, що його було видано 7 травня 1996 року на ім'я Чанса (Chance), роботи Бремза (Brems) та інших, Protein Engineering, 6 527-533 (1992), публікації патента EP № 214826 на ім'я Бренжа (Brange) та інших (публікація від 18 березня 1987 року), та роботи Бренжа (Brange) та інших, Current Opinion in Structural Biology, 1 934-940 (1991). Мономерні аналоги інсуліну абсорбуються набагато швидше, ніж інсулін, і є ідеально придатними для контролювання рівнів глюкози у крові після прийняття їжі у пацієнтів, які цього потребують. Крім того, згадані мономерні аналоги інсуліну є особливо придатними для введення шляхом безперервного впливання з метою контролювання як вихідного рівня глюкози у крові, так і контролювання її рівня у крові після прийняття їжі завдяки їхньому швидкому абсорбуванню з місця введення.

На жаль, лікарські форми мономерних аналогів інсуліну мають схильність до агрегування та перетворення на нестійкі у разі піддання впливу термомеханічної напруги [патент СІПА № 5,474,978, що його" було видано 12 грудня 1995 року на ім'я Бакайса (Bakaysa) та інших]. Агрегування може проявлятися навіть у вигляді випадання до осаду різновидів інсуліну більш високого порядку. Таким чином, агрегування може запобігати відтворенню доставки ефективних терапевтичних доз мономерних аналогів інсуліну, і може також викликати подразнення у місці введення або більш системні імунологічні реакції. Необхідними є лікарські форми аналогів інсуліну, стабілізовані проти агрегування.

Лікарські форми мономерних аналогів інсуліну для застосування у системах безперервного впливання повинні залишатись розчинними та по суті вільними від ознак агрегування, навіть у разі піддання впливу рухів та температури тіла пацієнта впродовж періодів часу, тривалість яких становить від декількох днів до декількох місяців. Нестійкість стимулюється підвищеними концентраціями білку, які є бажаними для систем безперервного впливання, та термомеханічною напругою, впливу якої згадані лікарські форми піддаються у системах безперервного впливання. Таким чином, поліпшення фізичної та хімічної стійкості концентрованих лікарських форм аналогів інсуліну є нагальною потребою для забезпечення можливості їхнього успішного використання у системах безперервного впливання. Благотворним є також поліпшення стійкості лікарських форм мономерних аналогів інсуліну для інших варіантів їхнього застосування, окрім безперервного впливання.

Відомими є стабілізовані швидкодіючі лікарські

форми мономерних аналогів інсуліну. У патенті США № 5,474,978, що його було видано на ім'я Бакайса (Bakaysa) та інших, розкривається та заявляється комплексний аналог людського інсуліну, який включає шість молекул аналогу людського інсуліну (гексамерний комплекс), два атоми цинку та як мінімум три молекули фенольного консерванту, причому згадані лікарські форми включають гексамерний комплекс та способи лікування цукрового діабету шляхом введення згаданих лікарських форм Бакайса та інші також заявили лікарські форми гексамерного комплексу, який додатково включає ізотонічний агент та фізіологічно прийнятний буфер.

У описі до патенту США № 5,474,978 розкривається, що згадані комплекси цинку та мономерних аналогів інсуліну можуть вводитись до складу лікарської форми у присутності "фізіологічно прийнятної буферу". Серед буферів, які згадуються у числі придатних для застосування у лікарських формах, знаходяться фосфат натрію, ацетат натрію, цитрат натрію та трис-буфер. Серед прикладів у патенті США № 5,474,978 наведено лише опис лікарських форм, де згаданим буфером є фосфат натрію, і у пунктах формули до цього винаходу заявлено лише фосфат натрію (пункт формули винаходу 5). У жодному з прикладів патенту США № 5,474,978, зокрема, не розкривається використання трис-буферу у лікарських формах комплексів цинку-мономерних аналогів інсуліну.

Було одержано також лікарські форми мономерних аналогів інсуліну, до складу яких входить протамін для забезпечення, у процесі використання, проміжної тривалості дії. Опис лікарських форм мономерних аналогів інсуліну з протаміном наведено у патенті США № 5,461,031. У цій галузі є відомими способи кристалізування мономерних аналогів інсуліну з основним пептидом протаміном для одержання нейтральних суспензій протаміну. На додаток до цього, можна одержати двофазні суміші, які складаються з розчину мономерного аналогу інсуліну та суспензії мономерного аналогу інсуліну та протаміну. Ці суміші мають оптимальні властивості часової дії згаданого аналогу у поєднанні з основною активністю. Опис сумішей мономерних аналогів інсуліну також наведено у патенті США № 5,461,031.

Лікарські форми у вигляді суспензій мономерних аналогів інсуліну та протаміну, та двофазні суміші є придатними для застосування у конструктивних варіантах патронного поємнику. Однак оскільки згадані пристрої потребують частого маніпулювання з боку пацієнта, наслідком є підвищення напруги, впливу якої піддаються згадані препарати. Лікарські форми солі протаміну, зокрема, мають обмежену стійкість у разі піддання впливу термомеханічної напруги. Таким чином, існує необхідність розробки стійких лікарських форм мономерних аналогів інсуліну та протаміну проміжної тривалості дії, а також лікарських форм у вигляді двофазних сумішей.

Автори винаходу відкрили, що у разі, коли у лікарських формах комплексів мономерних аналогів інсуліну та цинку, лікарських формах солі протаміну або двофазних сумішах мономерного аналогу інсуліну застосовуються певні фізіологічне прийнятні буфери, за виключенням фосфату, фізична стабільність згаданих лікарських форм підвищується неочікувано та у значно більшій мірі, ніж у разі застосування фосфатного буферу. Найбільша перевага нашого відкриття полягає у тому, що, на відміну від розчинних лікарських форм комплексів мономерних аналогів інсуліну та цинку з фосфатним буфером, опис яких, наприклад, наведено у патенті США № 5,474,978, які не мають достатньої фізичної стійкості для довгострокового введення за допомогою систем безперервного вливання, розчинні лікарські форми, які забезпечуються цим винаходом, мають достатню стійкість для безпечного застосування впродовж тривалих періодів вливання інсуліну. Ми також відкрили, що наслідком додання аргініну до лікарських форм солі протаміну мономерних аналогів інсуліну є дуже значне поліпшення як хімічної, так і фізичної стійкості лікарських форм.

Відповідним чином, цей винахід надає рідку лікарську форму, до складу якої входить фізіологічно прийнятний буфер, який вибирають з групи, до складу якої входять трис-буфер та аргінін, мономерний аналог інсуліну, цинк, та фенольний консервант.

Об'єм цього винаходу включає також лікарську форму аналогу інсуліну, до складу якої входять мономерний аналог інсуліну, цинк, фенольний консервант, протамін, та буфер, який вибирають з групи, до складу якої входять трис-буфер та аргінін.

Цей винахід додатково надає способи застосування згаданих лікарських форм аналогу інсуліну для лікування діабету та гіперглікемії у пацієнта, який цього потребує, які включають введення згаданому пацієнту стійкої лікарської форми за цим винаходом.

Для цілей цього винаходу, які розкрито та заявлено у цьому описі, використано такі терміни, визначення яких наведено далі.

Згаданий термін "вводити" означає введення лікарської форми за цим винаходом до тіла пацієнта, який цього потребує, для лікування хвороби або стану.

Різні згадані форми дієслова "агрегуватись" означають процес, під час якого окремі молекули або комплекси об'єднуються з утворенням агрегатів. Агрегат представляє собою полімерну сукупність, яка включає молекули або комплекси мономерного аналогу інсуліну. Для цілей цього винаходу, гексамер мономерного аналогу інсуліну не є агрегатом, але комплексом. Мономерні аналоги інсуліну та їхні гексамерні комплекси мають схильність до агрегування у разі піддання впливу термомеханічної напруги. Агрегування може набувати масштабів утворення видимого осаду.

Згаданий термін "аргінін" означає амінокислоту та охоплює як D- та L-енантиомери, так і їхні суміші. Згаданий термін включає також будь-які їхні фармакологічно прийнятні солі. Аргінін у цій галузі є також відомим як 1-аміно-4-гуанідинвалеріанова кислота. Аргінін легко утворює солі, наприклад, хлористоводневу сіль.

Згаданий термін "комплекс" означає сполуку, у якій метал перехідного ряду скоординовано як мінімум з одним лігандом. До лігандів належать

молекули, які вміщують азот, наприклад, білки, пептиди, амінокислоти та трис-буфер, серед багатьох інших сполук. Мономерний аналог інсуліну може бути лігандом двовалентних іонів цинку.

Згаданий термін "система для безперервного вливання" означає пристрій для безперервного введення рідини пацієнту парентеральним шляхом впродовж тривалого періоду часу або для періодичного введення рідини пацієнту парентеральним шляхом впродовж тривалого періоду часу без утворення нового місця введення кожного разу, коли вводиться згадана рідина. Згадана рідина включає терапевтичний засіб або засоби. Згаданий пристрій включає pojemник для зберігання згаданої рідини перед її впорскуванням, насос, катетер або інші трубопроводи для сполучення згаданого pojemника з місцем введення через насос, та контрольні елементи для регулювання згаданого насосу. Згаданий пристрій конструктивно може призначатись для імплантування, як правило, підшкірно. У такому разі pojemник для інсуліну, як правило, пристосовується для черезшкірного дозоправлення. Зрозуміло, що у разі імплантування згаданого пристрою, вміст згаданого pojemника буде мати температуру тіла пацієнта та піддаватись впливу рухів пацієнта.

Термін "ізотонічний агент" означає сполуку, яка є фізіологічне переносною та надає лікарській формі відповідний рівень ізотонічності для запобігання проходженню сумарного потоку води через клітинні мембрани, які контактують зі згаданою лікарською формою. Сполуки, наприклад, гліцерин, широко застосовуються з цією метою у відомих концентраціях. До інших можливих ізотонічних агентів належать солі, наприклад, хлорид натрію, декстроза та лактоза.

Терміни "мономерний аналог людського інсуліну", "мономерний аналог інсуліну" та "аналог людського інсуліну" є добре відомі у цій галузі і означають, взагалі, швидкодіючі аналоги людського інсуліну, до яких належать

людський інсулін, де Pro у положенні B28 заміщено Asp, Lys, Leu, Val або Ala, та де у положенні B29 знаходиться Lys або його заміщено Pro,

AlaB26-людський інсулін

des(B28-B30) людський інсулін, та

des(B27) людський інсулін

Такі мономерні інсулінові аналоги розкриваються у патенті США № 5,514,646, що його було видано 7 травня 1996 року на ім'я Чанса (Chance), заявці на патент США № 08/255,297, яку було подано на ім'я Чанса (Chance) та інших, роботи Бремза (Brems) та інших, Protein Engineering, 6 527-533 (1992), публікації EP № 214826 на ім'я Бренжа (Brange) та інших (публікація від 18 березня 1987 року), та роботи Бренжа (Brange) та інших, Current Opinion in Structural Biology, 1 934-940 (1991). Згадані мономерні аналоги інсуліну, які застосовуються у цьому винаході, є відповідним чином структуровані. Відповідно структурований аналог інсуліну має три дисульфідні мости: один між положенням 7 А-ланцюгу та положенням 7 В-ланцюгу, другий між положенням 20 А-ланцюгу та положенням 19 В-ланцюгу, та третій між положеннями 6 та 11 А-ланцюгу.

Згаданий термін "фенольний консервант",

який застосовано у цьому описі, означає хлоркрезол, m-крезол, фенол або їхні суміші.

Згаданий іменник "стійкість", який застосовано у цьому описі, означає фізичну стійкість лікарських форм мономерних аналогів інсуліну. Фізична нестійкість лікарської форми білку може спричинюватись агрегуванням згаданих білкових молекул з утворенням полімерів більш високого порядку або навіть осадів. "Стійкою" лікарською формою є така форма, де ступінь агрегування білків, які входять до її складу, є прийнятно контрольованим і з часом не підвищується до рівня неприйнятності. Лікарські форми мономерного аналогу інсуліну мають схильність до агрегування у разі піддання впливу термомеханічної напруги. Фізична стійкість може оцінюватись за допомогою методів, добре відомих у цій галузі, у тому числі, шляхом визначення уявного послаблення світла (спектральна поглинальна здатність або оптична густина). Таке визначення послаблення світла має відношення до каламутності лікарської форми. Каламутність викликається агрегуванням або випаданням до осаду білків або комплексів, які входять до складу згаданої лікарської форми. Інші методи оцінки фізичної стійкості є добре відомими у цій галузі.

Згаданий термін "лікування" означає догляд та піклування про пацієнта, який має діабет або гіперглікемію, або інший стан, у разі якого показаним є введення інсуліну, з метою подолання або полегшення симптомів та ускладнень згаданих станів. Лікування включає введення лікарської форми за цим винаходом з метою запобігання появі симптомів або ускладнень, полегшення симптомів або ускладнень, або ліквідування хвороби, стану або розпаду.

Згаданий термін "трис-буфер" означає 2-аміно-2-гідроксиметил-1,3-пропандіол, або будь-яку його фармакологічно прийнятну сіль. Двома поширеними формами трис-буферу є вільна основа та хлористоводнева форма. Трис-буфер є також відомим у цій галузі як триметилполамінометан, трометамін та трис(гідроксиметил)амінометан.

Те, що цей винахід надає лікарські форми мономерних аналогів інсуліну, які мають значно підвищену фізичну стійкість порівняно до відомих у цій галузі, буде легко зрозуміло з наведених далі даних.

Лікарські форми, до складу яких входять мономерний аналог інсуліну, Lys^{B28}Pro^{B29} - аналог людського інсуліну, та трис-буфер, які було одержано, по суті, за описом, який наведено у Прикладі 3, було піддано прискореному випробуванню на стійкість, як описано далі. Зразки одержаних лікарських форм вносили до двох попередньо очищених 2мл скляних пробірок автоматичного пробовідбірника для вискоєфективного рідинного хроматографування. У кожній пробірці знаходилось три тефлонові (Teflon®) кульки діаметром приблизно 3/16 дюйма (1,5875мм). Повтря зі згаданих пробірок було повністю витіснено згаданими зразками лікарської форми. Після герметизування згаданих пробірок піддавали безперервному збовтуванню з частотою 40Гц (20gx, середнє прямолінійне прискорення) при повному розмаху коливань, який дорівнював 12мм, та при температурі 37°C, для забезпечення відносно високого рівня підве-

дення механічної енергії до згаданих лікарських форм при температурі, яка сприяє агрегуванню та фізичній нестабільності. Згадані пробірки розміщували на шейкері таким чином, що їхній довший розмір (тобто, від верху до дна) було зорієнтовано паралельно напрямку прямолінійного прискорення, тобто, вони лежали боком на поверхні згаданого шейкера. У разі лікарських форм інсуліну було показано, що підвищена стійкість за вищенаведених умов прискорення корелює зі значно підвищеною стійкістю під час використання.

Оптичну густину зразків лікарських форм та контрольних лікарських форм періодично визначали при 450 нм за допомогою спектрофотометру Shimadzu 1201. Контрольні лікарські форми було одержано таким же чином, що і лікарські форми, відібрані як зразки, однак вони зберігались при температурі 4°C без збовтування. Сумарну оптичну густину зразку вираховували шляхом віднімання показника оптичної густини контролю від показника оптичної густини зразку. Значення у Таблиці 1 представляють собою середню сумарну оптичну густину та стандартне відхилення для наведеної кількості (n) зразків.

Зразки та контрольні лікарські форми, до складу яких як буфер було включено фосфат (pH 7,4±0,1), було одержано, по суті, як описано у Прикладі 4.

Таблиця 1

Вплив буферу та тривалості піддання впливу високого рівня підведення механічної енергії при температурі 37°C на каламутність (оптичну густину при 450 нм) лікарських форм Lys^{B28}Pro^{B29}-аналогу людського інсуліну

		Оптична густина	при 450 нм	
	16 годин	70 годин	100 годин	500 годин
Приклад 3 (трис-буфер)	0,02±0,01 n=5	0,03±0,02 n=5	0,01±0,01 n=5	0,04±0,01 n=4
Приклад 4 (фосфат)	0,81±0,71 n=5	не визначено	не визначено	не визначено

За вищенаведених умов каламутність лікарських форм, які мали у своєму складі фосфатний буфер, досягала до 16 години дуже високих та неприйнятних рівнів (Таблиця 1, Приклад 4) порівняно до контрольних лікарських форм, до складу яких входив фосфат та які зберігались при температурі 4°C без збовтування. З іншого боку, оптична густина лікарських форм, які включали трис-буфер, залишалась фактично такою ж, як і оптична густина контрольних лікарських форм, до складу яких входив трис-буфер, впродовж 500 годин (Приклад 3). Дані у Таблиці 1 наглядно демонструють, що заміна фосфатного буферу на трис-буфер у лікарських формах Lys^{B28}Pro^{B29}-аналогу людського інсуліну значно підвищує стійкість згаданих лікарських форм. Виходячи зі спостережень, здійснених з іншими інсуліновими лікарськими формами, гадають, що подиву гідна та значна стійкість лікарських форм мономерного аналогу інсуліну у трис-буфері при здійсненні прискорених випробувань буде відтворена у стійкості "під час використання" впродовж набагато більшого періоду часу, аніж 500 годин, оскільки енергетичне підведення під час прискорених випробувань перевищує те, яке спостерігається під час очікуваного використання.

Лікарські форми, до складу яких входив мономерний аналог інсуліну, Lys^{B28}Pro^{B29}-аналог людського інсуліну, та трис-буфер, фосфат або L-аргінин як буфер, було одержано, по суті, як описано у Прикладах 3, 4 та 5 відповідно. Для одержання згаданих лікарських форм було використано три партії Lys^{B28}Pro^{B29}-аналогу людського інсуліну. По шість зразків кожної комбінації партії аналогу та буферу було піддано випробуванню на стійкість, як було описано перед тим. Для підведення механічної енергії до згаданих пробірок було застосовано чотири різні шейкери. Кожен шейкер мав як мінімум один зразок кожної комбінації партії аналогу та буферу. Стійкість згаданих лікарських форм періодично оцінювали шляхом вимірювання оптичної густини зразків та контролів, як було описано перед тим. Результати наведено у Таблиці 2. Значення у Таблиці 2 представляють собою середню сумарну оптичну густину та стандартне відхилення шести зразків для кожної партії та буферу.

Таблиця 2

Вплив буферу, партії аналогу та тривалості піддання впливу високого рівня підведення механічної енергії при температурі 37°C на каламутність (оптичну густину при 450 нм) лікарських форм Lys^{B28}Pro^{B29}-аналогу людського інсуліну

Буфер	Партія аналогу	Оптична густина при 450 нм			
		23 години	47 годин	87 годин	139 годин
Трис-буфер	Партія 1	0,02±0,02	0,06±0,02	0,05±0,02	0,00±0,02
	Партія 2	0,00±0,01	0,04±0,02	0,03±0,01	0,00±0,02
	Партія 3	0,02±0,02	0,05±0,03	0,04±0,03	0,01±0,02
Аргінін	Партія 1	0,01±0,02	0,04±0,02	0,04±0,02	2,12±1,03
	Партія 2	0,01±0,02	0,04±0,02	0,06±0,08	1,80±0,60
	Партія 3	0,00±0,02	0,03±0,02	1,84±0,66	не визначено
Фосфат	Партія 1	0,13±0,06	2,68±0,17	2,61±0,11	не визначено
	Партія 2	0,21±0,24	2,14±0,75	2,75±0,14	не визначено
	Партія 3	0,29±0,23	2,75±0,14	2,79±0,11	не визначено

За вищенаведених умов каламутність лікарських форм, які мали у своєму складі фосфатний буфер, досягала до 23 годин дуже високих та неприйнятних рівнів незалежно від партії аналогу інсуліну, яку було використано (Таблиця 2). У протилежність до цього каламутність лікарських форм, які мали у своєму складі трис-буфер, залишалась, по суті, незмінною впродовж 139 годин незалежно від партії інсуліну, яку було використано. Лікарські форми, до складу яких входив L-аргініновий буфер, демонстрували кращу фізичну стійкість порівняно до лікарських форм, які включали фосфат, і тривалість їхньої стійкості у деякій мірі залежала від партії інсулінового аналогу, яку було використано. Дані у Таблиці 2 наглядно демонструють, що лікарські форми $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -аналогу людського інсуліну, до складу яких входив трис-буфер або L-аргініновий буфер при pH 7,4 зберігали стійкість до агрегування впродовж значно триваліших періодів часу, аніж лікарські форми, до складу яких входив фосфатний буфер. І, знов-таки, гадають, що подиву підна та значна стійкість лікарських форм мономерного аналогу інсуліну у трис-буфері та L-аргініновому буфері буде відтворена у стійкості "під час використання" впродовж набагато більшого періоду часу, аніж той, що спостерігається під час здійснення прискорених випробувань, оскільки енергетичне підведення під час прискорених випробувань перевищує те, яке спостерігається під час очікуваного використання.

Сприйнятливості до змін морфології та зовнішнього вигляду суспензійних лікарських форм $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ оцінювали шляхом випробувань на фізичну стійкість під напругою (PSST). Відповідно до цього термомеханічного методу, препарати герметично закривали у поємнику встановленого об'єму зі скляними кульками без вільного простору над продуктом. Згадані поємники вміщували до камери при підвищеній температурі (приблизно 37°C), центрифугували при визначеній швидкості (приблизно 300 об/хв) впродовж визначеного часу (приблизно 4 години), після чого впродовж 24 годин витримували у нерухомому стані. Згадані поємники оцінювали за змінами, які у них відбувались, і видаляли їх з подальшого випробування у тому разі, коли у них відбувалось агрегування (скупчення). Триваліші періоди часу без вилучення з випробування, а також більша кількість поємників, які залишались для випробування, прирівнювались до підвищеної фізичної стійкості.

Випробуванням піддавали дві різні суміші, до складу яких входили $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ та $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -кристали протаміну. Співвідношення $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ до $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -протаміну у бідній суміші становило 25/75, у той час як у збагаченій суміші воно дорівнювало 75/25. Згадані суміші було одержано, як описано у Прикладах 6 та 7. Під час випробувань бідних сумішей за методом PSST, через 18 днів залишались лише поємники, які вміщували лікарські форми, до складу яких входив аргінін. До 44 днів залишались лише поємники з двома експериментальними зразками. Під час випробувань збагачених сумішей за методом PSST було одержано подібні ж результати з лікарськими формами, до складу яких входив аргінін, через 36 днів випробу-

вань залишилось приблизно 50% поємників, у той час як з контрольними лікарськими формами, до складу яких входив фосфатний буфер, у випробуваннях після 36 днів залишилось лише від 0% до 5% поємників.

Переважними мономерними аналогами інсуліну для використання у лікарських формах за цим винаходом є $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -людський інсулін, Asp^{B28} -людський інсулін та Ala^{B26} -людський інсулін.

Концентрація мономерного аналогу інсуліну у лікарських формах за цим винаходом коливається у межах від 1,2 мг/мл до 50 мг/мл. Переважний діапазон концентрацій аналогу становить від приблизно 3,0 мг/мл до приблизно 35 мг/мл. Більш переважні концентрації становлять приблизно 3,5 мг/мл, приблизно 7 мг/мл, приблизно 14 мг/мл, приблизно 17,5 мг/мл та приблизно 35 мг/мл, що відповідає лікарським формам, які мають приблизно 100 одиниць, приблизно 200 одиниць, приблизно 300 одиниць, приблизно 500 одиниць та приблизно 1000 одиниць інсулінової активності на мл відповідно.

Концентрація цинку у згаданих лікарських формах становить від приблизно 4,5 мг/мл до приблизно 370 мг/мл, і повинна бути на такому рівні, який забезпечував би доступність як мінімум двох атомів цинку для комплексу з шістьма молекулами інсуліну у кожному гексамері. Співвідношення загального цинку (цинк, який входить до комплексу, плюс цинк, який до комплексу не входить) до гексамеру інсулінового аналогу повинно бути у межах від 2 до 4. Перевага надається співвідношенню від приблизно 3 до приблизно 4 атомів загального цинку до комплексу гексамеру інсулінового аналогу.

Для одержання гексамеру мономерного інсулінового аналогу у цих лікарських формах необхідною є мінімальна концентрація фенольного консерванту. Для деяких цілей, наприклад, для задоволення одночасних вимог до ефективності консерванту для універсальних лікарських форм, концентрація фенольного консерванту у лікарських формах за цим винаходом може перевищувати необхідну для одержання гексамерів на таку кількість, яка є необхідною для збереження ефективності консерванту. Концентрація консерванту, яка є необхідною для ефективного консервування, залежить від застосованого консерванту, pH лікарської форми, та присутності або відсутності речовин, які зв'язують або блокують згаданий консервант. Взагалі, необхідна кількість може бути знайдена, наприклад, у роботі Уоллхаузера КД (Wallhauser KDH), Develop Biol Standard, 24, стор 9-28 (Базель, видавництво S. Krager, 1974). У разі введення до складу лікарської форми, комплекс гексамеру інсулінового аналогу, який використовують у лікарській формі за цим винаходом, зв'язує сім фенольних груп, у той час як взагалі зі згаданим гексамером зв'язується лише шість фенольних груп. Для одержання гексамеру необхідно як мінімум приблизно три фенольні групи. У разі необхідності застосування консерванту для забезпечення протимікробної ефективності, концентрація переважного фенольного консерванту становить від приблизно 23 мМ до приблизно 35 мМ.

Переважними консервантами, окремо або у сумішах, є *m*-крезол та фенол

До складу згаданих лікарських форм факультативно може входити ізотонічний агент. До складу згаданих лікарських форм, за переважним варіантом, входить ізотонічний агент, і найпреважнішим ізотонічним агентом є гліцерин. Концентрація гліцерину, у разі його використання, знаходиться у межах, відомих у цій галузі для інсулінових лікарських форм, і становить, за переважним варіантом, приблизно 16 мг/мл

pH згаданих лікарських форм регулюється буфером, наприклад, трис-буфером або L-аргініном. Гадають, що концентрація згаданих буферів не відіграє критичної ролі при досягненні цілі цього винаходу, і повинна бути такою, яка б забезпечувала підтримку pH під час збереження на рівні цільового $pH \pm 0,1$ одиниці pH. Переважний pH коливається у межах від приблизно 7 до приблизно 8 у разі визначення при температурі приблизно 22°C

До складу згаданих лікарських форм можуть факультативно вводитись інші добавки, наприклад, фармацевтичне прийнятні розчинники типу Твін 20 (Tween 20®) (сорбітанмонолаурат поліоксиетилєну 20), Твін 40 (Tween 40®) (сорбітанмонопальмітат поліоксиетилєну 20), Твін 80 (Tween 80®) (сорбітанмоноолеат поліоксиетилєну 20), Пліуронік F68 (Pluronic F68®) (блок-співполімери поліоксиетилєну та поліоксипропілєну) та поліетилєнглїколь (PEG). Згадані добавки не є потрібними для досягнення великої переваги за цим винаходом, однак вони можуть бути придатними у разі, коли згадані лікарські форми будуть контактувати з пластмасами

До об'єму цього винаходу входять також лікарські форми протамінової солі з різними пропорціями розчинних фракцій мономерних аналогів інсуліну. Для стабілізування лікарської форми з аргініном інсулінова молекула не повинна відповідати ніяким специфічним конформаційним вимогам, хоча наповнювачі, наприклад, цинк, та консерванти, які, як правило, додаються до інсулінових лікарських форм (які було обговорено перед тим), можуть працювати у співдружності з аргініном по підсиленню стабілізації. Концентрація аргініну у лікарських формах, до складу яких входить протамін, може коливатись у діапазоні від 1мМ до 100мМ. Найпреважнішою є концентрація аргініну у межах від 5мМ до 25мМ. Аргінін може додаватись як доповнення до розчинів або преципітованих суспензій, до складу яких вже включено іони цинку та фенольні консерванти

Введення може здійснюватись будь-яким шляхом, ефективність якого є відомою пересічному лікарю. Перевага надається парентеральному введенню. Під парентеральним введенням традиційно розуміють введення будь-яким шляхом, за виключення шлунково-кишкового. До переважних парентеральних шляхів для введення лікарських форм за цим винаходом належать інтравенозний, внутрішньом'язовий, підшкірний, внутрішньоочеревинний, інтраартеріальний, назальний, легеневий та трансбуккальний шляхи. Найпреважнішими шляхами введення сполук за цим винаходом є інтравенозний, внутрішньоочеревинний, внутрі-

шньом'язовий та підшкірний шляхи. Ще більш переважними шляхами введення лікарських форм за цим винаходом є інтравенозний, внутрішньоочеревинний та підшкірний шляхи

Введення певними парентеральними шляхами може залучати введення лікарських форм за цим винаходом до тіла пацієнта через голку або катетер, з приведенням до руху за допомогою стерильного шприцу або іншого механічного пристрою, наприклад, системи для безперервного вливання. Лікарська форма, яка надається цим винаходом, може вводитись за допомогою шприцу, ін'єктору, насоса або будь-якого іншого пристрою, який у цій галузі визнається придатним для парентерального введення. Лікарська форма за цим винаходом може також вводитись у вигляді аерозолі для абсорбування у легенях або носовій порожнині. Згадані лікарські форми можуть також вводитись для абсорбування через слизові оболонки, наприклад, шляхом трансбуккального введення

Кількість лікарської форми за цим винаходом, яка вводиться для лікування діабету або гіперглікемії, залежить від ряду факторів, до яких належать, без обмеження, стать пацієнту, маса та вік, етіологічні причини стану або хвороби, яка лікується, шлях введення та біодоступність, стійкість введеного мономерного аналогу інсуліну у тілі, лікарська форма та активність згаданого мономерного аналогу інсуліну. У разі періодичного введення при визначенні кількості на введення необхідно враховувати інтервал між дозами та біодоступність згаданого мономерного аналогу інсуліну зі згаданої лікарської форми. Введення згаданої лікарської форми за цим винаходом повинно бути безперервним. Пересічний лікар здатний відтитрувати дозу та швидкість вливання або частоту введення згаданої лікарської форми за цим винаходом для досягнення бажаного клінічного результату

Мономерні аналоги інсуліну, які використовуються у цьому винаході, можна одержати за допомогою будь-якого з численних визнаних методів синтезування пептидів, у тому числі, за класичними методами синтезування з фази розчину, за твердофазними методами, напівсинтетичними методами та методами рекомбінантних ДНК. У патенті США № 5,514,646, що його було видано 7 травня 1996 року на ім'я Чанса (Chance) та інших, розкривають одержання різноманітних мономерних аналогів інсуліну з докладністю, достатньою для того, щоб фахівець у цій галузі зміг одержати будь-який зі згаданих мономерних аналогів інсуліну, які використовуються у цьому винаході

Як цинк, так і фенольний консервант є невід'ємними для одержання комплексу, який є стійким та здатним до швидкого розкладення та започаткування дії. Згаданий гексамерний комплекс включає два іони цинку на гексамер аналогу людського інсуліну та як мінімум три молекули фенольного консерванту, який вибирають з групи, до складу якої входить *m*-крезол, *p*-крезол, фенол та їхні суміші

Розчинний мономерний аналог інсуліну перетворюють на згаданий гексамерний комплекс шляхом розчинення згаданого мономерного аналогу інсуліну у розріджувачі, який включає згаданий

фенольний консервант у відповідній кількості при рН на рівні від приблизно 7 до приблизно 8, з подальшим додаванням цинку. Цинк, за переважним варіантом, додають у вигляді солі цинку, наприклад, без обмежень, ацетату цинку, бромиду цинку, хлориду цинку, фториду цинку, йодиду цинку та сульфату цинку. Досвідченому фахівцю зрозуміло, що існує багато інших солей цинку, які також можуть бути використані для одержання комплексів мономерних аналогів інсуліну, які є частиною цього винаходу. За переважним варіантом використовують ацетат цинку, оксид цинку або хлорид цинку, оскільки згадані сполуки не додають нових хімічних іонів до промислово прийнятних процесів.

Розчиненню згаданого мономерного аналогу інсуліну можна сприяти тим, що традиційно називають "кислотним розчиненням". Для кислотного розчинення рН водного розчинника за допомогою фізіологічне прийнятної кислоти, за переважним варіантом HCl, зменшують до рівня від приблизно 3,0 до 3,5 для сприяння розчиненню згаданого мономерного аналогу. До інших фізіологічно прийнятних кислот належать, без обмеження, оцтова кислота, лимонна кислота та сірчана кислота. Для регулювання рН під час одержання лікарських форм за цим винаходом фосфорну кислоту, за переважним варіантом, не використовують. Далі, рН, за допомогою фізіологічно прийнятної основи, за переважним варіантом, гідроксиду натрію, доводять до рівня приблизно 7,3-7,5. До інших фізіологічно прийнятних основ належать, без обмеження, гідроксид калію та гідроксид амонію. У подальшому додають фенольний консервант та цинк.

Парентеральні лікарські форми за цим винаходом можна одержувати за допомогою традиційних процедур розчинення та змішування. Для одержання відповідної лікарської форми, наприклад, відміряну кількість мономерного аналогу інсуліну у воді об'єднують з необхідним консервантом, сполукою цинку та буфером у воді у достатній кількості для одержання згаданого гексамерного комплексу. Перед введенням згадану лікарську форму, як правило, піддають стерилізаційному фільтруванню. Пересічному фахівцю у цій галузі є зрозумілими варіанти цього процесу. Наприклад, порядок додавання згаданих компонентів, порядок регулювання рН, у разі його існування, температури та іонної сили, за яких одержують згадану лікарську форму, можуть оптимізуватись у залежності від концентрації та засобів введення, які застосовуються.

Наведені далі приклади та препарати надано виключно з метою додаткового ілюстрування одержання згаданих лікарських форм за цим винаходом. Об'єм цього винаходу не обмежується наведеними далі прикладами.

Приклад 1

Одержання розчинної лікарської форми U100, до складу якої входить $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -аналог людського інсуліну та трис-буфер.

Кількість $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -аналогу людського інсуліну-кристалів цинку з розрахунку одержання 100 одиниць інсулінової активності на мілілітр кінцевої лікарської форми суспендували у водному розчині, до складу якого входило 0,715 мг/мл фенолу, 1,76

мг/мл m-крезолу, 16 мг/мл гліцерину та оксид цинку.

До складу згаданої суміші аналогу інсуліну-кристалів цинку входило приблизно 0,36% (мас) цинку. Концентрація оксиду цинку у водному розріджувачі була такою, що забезпечувала кінцеву концентрацію іонів цинку у згаданій лікарській формі на рівні приблизно 0,025мг/100 одиниць інсулінової активності. 10% об'єм хлористоводневої кислоти додавали з метою доведення рН до рівня 2,8-3,0. Після перемішування для розчинення кристалів, для доведення рН до рівня 7,4-7,7 обережно додавали 10% аліквоти розчину гідроксиду натрію. До одержаного розчину інсулінового аналогу додавали об'єм концентрованого розчину трис-буферу (50мг/мл, рН 7,4, визначено при температурі довколишнього середовища, тобто при температурі приблизно 22°C) з розрахунку одержання концентрації трис-буферу у кінцевій лікарській формі на рівні 2мг/мл. Для розбавлення згаданої лікарської форми до кінцевого об'єму додавали воду. Одержану лікарську форму піддавали стерилізаційному фільтруванню за допомогою 0,2мкм фільтру.

Приклад 2. Одержання розчинної лікарської форми U100, до складу якої входить $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -аналог людського інсуліну та L-аргінін.

Було здійснено процес, опис якого наведено у Прикладі 1, до додавання буферу. Після цього, замість додавання об'єму концентрованого розчину трис-буферу, до одержаного розчину інсулінового аналогу додавали об'єм концентрованого розчину L-аргініну (200 мМ, рН 7,4), з розрахунку одержання концентрації L-аргініну у кінцевій лікарській формі на рівні 20мМ. Для розбавлення згаданої лікарської форми до кінцевого об'єму додавали воду. Одержану лікарську форму піддавали стерилізаційному фільтруванню за допомогою 0,2мкм фільтру.

Приклад 3

Одержання розчинної лікарської форми U400, до складу якої входить $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -аналог людського інсуліну та трис-буфер.

Кількість $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -аналогу людського інсуліну-кристалів цинку з розрахунку одержання 400 одиниць інсулінової активності на мілілітр кінцевої лікарської форми суспендували у водному розчині, до складу якого входило 0,715мг/мл фенолу, 1,76мг/мл m-крезолу, 16мг/мл гліцерину та оксид цинку. До складу згаданої суміші аналогу інсуліну-кристалів цинку входило приблизно 0,36% (мас) цинку. Концентрація оксиду цинку у водному розріджувачі була такою, що забезпечувала кінцеву концентрацію іонів цинку у згаданій лікарській формі на рівні приблизно 0,025мг/100 одиниць інсулінової активності. 10% об'єм хлористоводневої кислоти додавали з метою доведення рН до рівня 2,8-3,0. Після перемішування для розчинення кристалів, для доведення рН до рівня 7,4-7,7 обережно додавали 10% аліквоти розчину гідроксиду натрію. До одержаного розчину інсулінового аналогу додавали об'єм концентрованого розчину трис-буферу (50мг/мл, рН 7,4, визначено при температурі довколишнього середовища, тобто при температурі приблизно 22°C) з розрахунку одержання концентрації трис-буферу у кінцевій лікарській фо-

рмі на рівні 2мг/мл Для розбавлення згаданої лікарської форми до кінцевого об'єму додавали воду Одержану лікарську форму піддавали стерилізаційному фільтруванню за допомогою 0,2мкм фільтру

Приклад 4

Одержання розчинної лікарської форми U400, до складу якої входить $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -аналог людського інсуліну та фосфат

Кількість $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -аналогу людського інсуліну-кристалів цинку з розрахунку одержання 400 одиниць інсулінової активності на мілілітр кінцевої лікарської форми суспендували у водному розчині, до складу якого входило 0,715 мг/мл фенолу, 1,76 мг/мл m-крезолу, 16 мг/мл гліцерину та оксид цинку До складу згаданої суміші аналогу інсуліну-кристалів цинку входило приблизно 0,36% (мас.) цинку Концентрація оксиду цинку у водному розріджувачі була такою, що забезпечувала кінцеву концентрацію іонів цинку у згаданій лікарській формі на рівні приблизно 0,025мг/100 одиниць інсулінової активності 10% об'єм хлористоводневої кислоти додавали з метою доведення рН до рівня 2,8-3,0 Після перемішування для розчинення кристалів, для доведення рН до рівня 7,4-7,7 обережно додавали 10% аликвоти розчину гідроксиду натрію До одержаного розчину інсулінового аналогу додавали об'єм концентрованого розчину двоосновного фосфату натрію з розрахунку одержання концентрації двоосновного фосфату натрію у кінцевій лікарській формі на рівні 3,78 мг/мл, рН $7,4 \pm 0,1$ Для розбавлення згаданої лікарської форми до кінцевого об'єму додавали воду Одержану лікарську форму піддавали стерилізаційному фільтруванню за допомогою 0,2мкм фільтру

Приклад 5 Одержання розчинної лікарської форми U400, до складу якої входить $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -аналог людського інсуліну та L-аргінін

Було здійснено процес, опис якого наведено у Прикладі 3, до додання буферу Після цього, замість додання об'єму концентрованого розчину трис-буферу, до одержаного розчину інсулінового аналогу додавали об'єм концентрованого розчину L-аргінину (200 мМ, рН 7,4), з розрахунку одержання концентрації L-аргінину у кінцевій лікарській формі на рівні 20мМ Для розбавлення згаданої лікарської форми до кінцевого об'єму додавали воду

Одержану лікарську форму піддавали стерилізаційному фільтруванню за допомогою 0,2мкм фільтру

Приклад 6

Одержання лікарської форми U100, у вигляді збагаченої суміші $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -аналогу людського інсуліну (75% (у об'ємному відношенні) розчинного, 25% (у об'ємному відношенні) нейтрального протаміну $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$), до складу якої входить L-аргінін

А Одержання нейтрального розчину протаміну $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ Кількість $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -інсуліну-кристалів цинку з розрахунку вмісту 200 Од/мл суспендували у водному розчині, до складу якого входило 0,715 мг/мл фенолу, 1,76 мг/мл m-крезолу, 16 мг/мл гліцерину та оксид цинку, який було підкислено хлористоводневою кислотою з одержанням кінцевої концентрації іонів цинку на

рівні 0,025 мг/100 Од 10% об'єм хлористоводневої кислоти додавали з метою доведення рН до рівня 2,8-3,0 Після перемішування для розчинення кристалів, для доведення рН одержаного розчину до рівня 7,4-7,7 додавали 10% розчин гідроксиду натрію Додавали 75,6 мг/мл розчину двоосновного фосфату натрію, рН 7,2, з розрахунку одержання концентрації у кінцевій лікарській формі на рівні 3,78 мг/мл Після розчинення твердих речовин, які випали до осаду, та титрування з метою підтримання рН на рівні 7,4, для розбавлення згаданої лікарської форми до кінцевого об'єму додавали воду, після чого одержаний розчин фільтрували

Твердий протамінсульфат, який, за розрахунками, вміщував 0,6 мг/100 Од протамінової основи, розчиняли у водному розчині, який вміщував 0,715 мг/мл фенолу, 1,76 мг/мл m-крезолу та 16 мг/мл гліцерину Твердий двоосновний фосфат натрію додавали таким чином, щоб концентрація у згаданій лікарській формі дорівнювала 3,78 мг/мл 10% об'єм хлористоводневої кислоти додавали з метою доведення рН одержаного розчину до рівня 7,4, розбавляли водою до кінцевого об'єму та фільтрували

Розчин $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ (200 одиниць) та розчин протаміну зрівноважували при температурі 15°C Згаданий розчин протаміну додавали до розчину $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ і одержану суспензію інкубували без перемішування при температурі 15°C впродовж 24 годин

В Одержання збагаченої суміші $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ Кількість розчину $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ (100 одиниць), до складу якого входив L-аргінін, який було одержано у Прикладі 2, яка відповідала 75% кінцевому об'єму, додавали до розрахованого об'єму 100 Од/мл нейтрального розчину протаміну $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ Одержану суспензію перемішували при температурі довколишнього середовища

Приклад 7

Одержання лікарської форми U100 у вигляді бідної суміші $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -аналогу людського інсуліну (25% (у об'ємному відношенні) розчинного, 75% (у об'ємному відношенні) нейтрального протаміну $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$), до складу якої входить L-аргінін

А Одержання нейтрального розчину протаміну $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$

Кількість $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ -інсуліну-кристалів цинку з розрахунку вмісту 200 Од/мл суспендували у водному розчині, до складу якого входило 0,715 мг/мл фенолу, 1,76 мг/мл m-крезолу, 16 мг/мл гліцерину та оксид цинку, який було підкислено хлористоводневою кислотою з одержанням кінцевої концентрації іонів цинку на рівні 0,025 мг/100 Од 10% об'єм хлористоводневої кислоти додавали з метою доведення рН до рівня 2,8-3,0 Після перемішування для розчинення кристалів, для доведення рН одержаного розчину до рівня 7,4-7,7 додавали 10% розчин гідроксиду натрію Додавали 75,6 мг/мл розчину двоосновного фосфату натрію, рН 7,2, з розрахунку одержання концентрації у кінцевій лікарській формі на рівні 3,78 мг/мл Після розчинення твердих речовин, які випали до осаду, та титрування з метою підтримання рН на рівні 7,4, для розбавлення згаданої лікарської форми до кінцевого об'єму додавали воду, після чого одер-

жаний розчин фільтрували

Твердий протамінсульфат, який, за розрахунками, вміщував 0,6 мг/100 Од протамінової основи, розчиняли у водному розчині, який вміщував 0,715 мг/мл фенолу, 1,76 мг/мл m-крезолу та 16 мг/мл гліцерину. Твердий двоосновний фосфат натрію додавали таким чином, щоб концентрація у згаданій лікарській формі дорівнювала 3,78 мг/мл. 10% об'єм хлористоводневої кислоти додавали з метою доведення рН одержаного розчину до рівня 7,4, розбавляли водою до кінцевого об'єму та фільтрували.

Розчин $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ (200 одиниць) та розчин

протаміну зрівноважували при температурі 15°C. Згаданий розчин протаміну додавали до розчину $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ і одержану суспензію інкубували без перемішування при температурі 15°C впродовж 24 годин.

В Одержання бідної суміші $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$

Кількість розчину $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$ (100 одиниць), до складу якого входив L-аргнін, який було одержано у Прикладі 2, яка відповідала 25% кінцевому об'єму, додавали до розрахованого об'єму 100 Од/мл нейтрального розчину протаміну $\text{Lys}^{\text{B28}}\text{Pro}^{\text{B29}}$. Одержану суспензію перемішували при температурі довколишнього середовища.