



УКРАЇНА

(19) UA (11) 49890 (13) C2

(51) 6 A61K38/28, A61K47/10

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**(54) ВОДНА ІНСУЛІНОВА КОМПОЗИЦІЯ, ПАРЕНТЕРАЛЬНА ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ТА СПОСІБ ПОЛІПШЕННЯ ХІМІЧНОЇ СТАБІЛЬНОСТІ ІНСУЛІНОВОЇ КОМПОЗИЦІЇ**

1

(21) 98126686
(22) 19 06 1997
(24) 15 10 2002
(86) PCT/DK97/00268, 19 06 1997
(31) 0885/96
(32) 20 06 1996
(33) DK
(46) 15 10 2002, Бюл. № 10, 2002 р.
(72) Норуп Елсебет, DK, Лангкйер Ліселотте,
DK, Хавелунн Свен, DK
(73) НОВО НОРДІСК А/С, DK
(56) US, A, 4439181, 27 03 1984
WO, A1, 9500550, 5 01 1995
"Effekt of solvent additives on the thermal stability of insulin", Centre for Biotechnology, Vinita Gupta et al

(57) 1 Водна інсулінова композиція, що містить інсулін людини, його аналог та/або його похідну, гліцерин та/або мантол, та від 5 до 100 мМ галогеніду

2 Інсулінова композиція по п. 1, яка відрізняється тим, що галогенідом є переважно галогенід лужного або лужноземельного металу, краще хлорид, наприклад, хлорид натрію

3 Інсулінова композиція по п. 1 або 2, яка відрізняється тим, що вона містить від 100 до 250 мМ, краще від 140 до 250 мМ, ще краще від 160 до 200 мМ гліцерину та/або мантолу

4 Інсулінова композиція по будь-якому з попередніх пп., яка відрізняється тим, що вона містить аналог інсуліну людини, де позиція B28 - це Asp, Lys, Leu, Val або Ala, та позиція B29 - це Lys або Pro, або дез(B28-B30), дез(B27) або дез(B30) інсулін людини

5 Інсулінова композиція по п. 4, яка відрізняється тим, що вона містить аналог інсуліну людини, де позиція B28 це Asp або Lys, та позиція B29 це Lys або Pro, краще інсулін людини з Asp^{B28} або інсулін людини Lys^{B28} Pro^{B29}

6 Інсулінова композиція по п. 4, яка відрізняється тим, що вона містить дез(B30) інсулін людини

7 Інсулінова композиція по будь-якому попередньому п., яка відрізняється тим, що вона містить від 5 до 60 мМ, краще від 5 до 40 мМ галогеніду

8 Інсулінова композиція по будь-якому з пп. 1-

2

3, яка відрізняється тим, що вона містить похідну інсуліну людини, яка має одне або більше ліпофільних замісників, краще ацильований інсулін

9 Інсулінова композиція по п. 8, яка відрізняється тим, що похідна інсуліну вибрана з групи, що складається з B29-N^ε-міристоіл-дез(B30) інсуліну людини, B29-N^ε-пальмітоіл-дез(B30) інсуліну людини, B29-N^ε-міристоіл інсуліну людини, B29-N^ε-пальмітоіл інсуліну людини, B29-N^ε-міристоіл-Lys^{B28}Pro^{B29} інсуліну людини, B29-N^ε-пальмітоіл-Lys^{B28}Pro^{B29} інсуліну людини, B30-N^ε-міристоіл-Thr^{B29}Lys^{B30} інсуліну людини, B30-N^ε-пальмітоіл-Thr^{B29}Lys^{B30} інсуліну людини, B29-N^ε-(N-пальмітоіл-Y-глутаміл)-дез(B30) інсуліну людини, B29-N^ε-(N-літохоліл-Y-глутаміл)-дез(B30) інсуліну людини, B29-N^ε-(ω-карбоксигептадеканоіл)-дез(B30) інсуліну людини та B29-N^ε-(ω-карбоксигептадеканоіл) інсуліну людини

10 Інсулінова композиція по п. 9, яка відрізняється тим, що похідна інсуліну являє собою B29-N^ε-міристоіл-дез(B30) інсулін людини

11 Інсулінова композиція по будь-якому з пп. 8-10, яка відрізняється тим, що вона містить від 10 до 100 мМ, краще від 10 до 70 мМ галогеніду

12 Інсулінова композиція по будь-якому попередньому п., яка відрізняється тим, що містить аналог інсуліну, також як і похідну інсуліну

13 Інсулінова композиція по будь-якому з попередніх пп., яка відрізняється тим, що вона містить від 60 до 3000 нмоль/мл, краще від 240 до 1200 нмоль/мл інсуліну людини, аналогу інсуліну або похідної інсуліну

14 Інсулінова композиція по будь-якому з попередніх пп., яка відрізняється тим, що вона містить від 10 до 40 мкг Zn/100U інсуліну, краще від 10 до 26 мкг Zn/100U інсуліну

15 Інсулінова композиція по будь-якому з попередніх пп., яка відрізняється тим, що вона містить від 0 до 5 мг/мл, краще від 0 до 4 мг/мл фенольної сполуки

16 Інсулінова композиція по п. 15, яка відрізняється тим, що вона містить від 0,5 до 4,0 мг/мл, краще від 0,6 до 4,0 мг/мл м-крезолу або від 0,5 до 4,0 мг/мл, краще від 1,4 до 4,0 мг/мл фено-

(13) C2

(11) 49890

(19) UA

пу або їх суміші

17 Парентеральна фармацевтична композиція, яка відрізняється тим, що вона містить композицію інсуліну по будь-якому з попередніх пп

18 Спосіб поліпшення хімічної стабільності

Цей винахід стосується водних композицій інсуліну, що містять інсулін людини, або його аналог, або його похідну, препарати якого мають кращу хімічну стабільність. Винахід надалі стосується парентеральних рецептур, що містять такі композиції інсуліну, та способу вдосконалення хімічної стабільності препаратів інсуліну.

Діабет - це загальна назва хвороби людини, яка має надлишок екскреції сечі як при цукровому діабеті, так і нецукровому діабеті. Цукровий діабет - це метаболічний розлад, в якому здатність утилізувати глюкозу майже повністю втрачена. Приблизно 2% всіх людей страждають на діабет.

За час, що пройшов від впровадження інсуліну в 1920 роки були досягнуті величезні успіхи у вдосконаленні лікування цукрового діабету. Щоб запобігти надмірній гікемії діабетичні пацієнти часто застосовують багаточисельну ін'єкційну терапію, при якій інсулін вводиться з кожним вживанням їжі.

Для лікування цукрового діабету було запропоновано та використано багато препаратів інсуліну, наприклад, інсулін для постійного введення, інсулін Semilente®, ізопан інсулін, цинкові суспензії інсуліну, протамінний цинковий інсулін та інсулін Ultralente®. Оскільки пацієнти, що хворіють на діабет, лікуються інсуліном протягом кількох десятиріч, головною потребою є безпечні і такі, що покращують життя, препарати інсуліну. Деякі препарати інсуліну, що серійно виробляються, характеризуються швидким початком дії, інші препарати мають відносно повільний початок, але виявляють більш або менш тривалу дію. Швидкодійні препарати інсуліну є зазвичай розчинами інсуліну, в той час як препарати інсуліну, що діють із затримкою, можуть бути суспензіями, що лише солей цинку, або додаванням протаміну, або комбінацією обох. Крім того, деякі пацієнти використовують препарати, що мають як швидкий початок дії, так і більш тривалий. Такий препарат може бути розчином інсуліну, де суспендовані протамінні кристали інсуліну. Деякі пацієнти самі готують кінцевий препарат змішуванням розчину інсуліну із суспензією препарату в співвідношенні, що є бажаним для конкретного пацієнта.

Інсулін людини складається з двох поліпептидних ланцюгів, так званих А та В ланцюгів, які містять 21 та 30 амінокислот, відповідно. А та В ланцюги зв'язані двома цистеїновими дисульфідними містками. Інсулін багатьох інших видів має подібну структуру, але може не містити тих же амінокислот у позиціях, що відповідають позиціям в ланцюгах інсуліну людини.

Розвиток процесу, відомого як генна інженерія, зробив можливим легке приготування великої різ-

номантності сполук інсуліну, аналогічних інсуліну людини. Ці аналоги інсуліну мають одну або більше амінокислот, заміщених на інші амінокислоти, які можуть бути закодовані нуклеотидними послідовностями. Оскільки інсулін людини, як пояснено вище, містить 51 амінокислотний залишок, є очевидним, що велика кількість аналогів інсуліну можлива, й дійсно було виготовлено велику кількість аналогів з потрібними властивостями. У розчинах інсуліну людини з потрібною концентрацією для ін'єкції препаратів молекула інсуліну присутня в асоційованій формі як гексамер (Brange et al., Diabetes Care 13, (1990), 923 - 954). Після підшкірної ін'єкції, вважається, що швидкість поглинання кровотоком залежить від розміру молекул, і було виявлено, що аналоги інсуліну з амінокислотними заміщеннями, які протидіють або інгібують утворення цього гексамеру, мають незвично швидкий початок дії (Brange et al. Ibid). Це має велике терапевтичне значення для пацієнта, що хворіє на діабет.

Фармацевтичні препарати, що мають за основу аналоги інсуліну людини, були, наприклад, представлені Heinemann et al., Lutteman et al. та Wiefels et al., "Frontiers in Insulin Pharmacology" Міжнародний симпозиум в Гамбурзі, 1992.

Крім того, патент США 5 474 978 описує швидкодійну парентеральну рецептуру, яка містить аналог гексамерного комплексу інсуліну людини, що складається з шести мономерних аналогів інсуліну, іонів цинку та принаймні трьох молекул фенольних похідних.

Зазвичай препарати інсуліну вводяться підшкірною ін'єкцією. Для пацієнта важливим є характер дії препарату інсуліну, що є впливом інсуліну на метаболізм глюкози як функцію часу після ін'єкції. При цьому важливими є, між іншим, час початку дії, максимальне значення та загальна тривалість дії. Пацієнти бажають та потребують різноманітні препарати інсуліну з різним характером дії. Один пацієнт може в той самий день використовувати препарати інсуліну з дуже різними характеристиками дії. Потрібний характер дії, наприклад, залежить від години доби, кількості та складу їжі, що споживається пацієнтом.

Також важливою для пацієнта є хімічна стабільність препаратів інсуліну, особливо завдяки поширеному використанню пристроїв для ін'єкції, схожих на авторучку, наприклад, пристроїв, які містять картриджі Penfill®, в якому композиція інсуліну зберігається доти, доки картридж не стане цілком порожнім. Це може тривати протягом принаймні від 1 до 2 тижнів для пристроїв, що містять 1,5-3,0 мл картриджі. Протягом зберігання відбу-

ваються ковалентні хімічні зміни у структурі інсуліну. Це може призвести до утворення молекул, які є менш активними та потенційно імуногенними, наприклад, продукти деамідування та продукти трансформації більшої молекулярної маси (димери, полімери, тощо). Детальне вивчення хімічної стабільності інсуліну наведено у книзі Jens Brange "Stability of Insulin", Kluwer Academic Publishers, 1994.

Acta Pharmaceutica Nordica 4(4), 1992, стор 149-158 описує препарати інсуліну, в яких концентрації хлориду натрію можуть змінюватися від 0 до 250 мМ. Проте більша частина препаратів, включаючи всі препарати, які, окрім цього, містять гліцерил, містять досить велику кількість хлориду натрію, тобто 0,7%, що приблизно відповідає концентрації 120 мМ. У цьому документі зазначено, що тоді, як хлорид натрію загалом має стабілізуючий вплив на препарати інсуліну, гліцерин та глюкоза призводять до прискореного хімічного розпаду.

Однак нещодавно несподівано було показано, що препарати інсуліну з поліпшеною хімічною стабільністю, можуть бути одержані в присутності гліцерину та/або манітолу та досить низьких концентрацій галогеніду.

"Аналог інсуліну людини", як використано тут, це інсулін людини, в якому одна або більше амінокислот були видалені та/або заміщені на інші амінокислоти, включаючи амінокислоти, що не кодуються, або інсулін людини, що містить додаткові амінокислоти, тобто більше, ніж 51 амінокислоту.

"Похідна інсуліну людини", як використано тут, це інсулін людини або його аналог, в якому принаймні один органічний замісник є зв'язаним з однією або більше амінокислотою.

У цьому контексті одиниця "U" відповідає 6 нмоль.

Цей винахід стосується водного препарату інсуліну, що містить

інсулін людини, його аналог та/або його похідну,

гліцерин та/або манітол, та

від 5 до 100 мМ галогеніду.

Вищезгаданий препарат інсуліну має високу хімічну стабільність, яка, наприклад, проявляється у зменшенні утворення димерів, полімерів та дезамідованих інсулінів після зберігання. Крім того, при довготривалому зберіганні фізична стабільність не погіршується в присутності досить низької кількості галогеніду, й інсулін не осаджується.

Галогенід - це переважно галогенід лужного або лужноземельного металу, ще краще хлорид, наприклад, хлорид натрію.

Гліцерин та/або манітол переважно присутній в кількості, що відповідає концентрації від 100 до 250 мМ, ще краще від 140 до 250 мМ, ще краще від 160 до 200 мМ.

Цей винахід має особливу перевагу, якщо препарати містять аналоги та/або похідні інсуліну людини. Таким чином, препарат інсуліну згідно з винаходом переважно містить один або більше швидкодіючих аналогів інсуліну людини, зокрема аналоги, де позиція B28 це Asp, Lys, Leu, Val або Ala, та позиція B29 це Lys або Pro, або дез(B28-B30), дез(B27) або дез(B30) інсулін людини. Ана-

лог інсуліну краще вибирати з аналогів інсуліну людини, де позиція B28 це Asp або Lys, та позиція B29 це Lys або Pro. Найкращими аналогами є інсулін людини з Asp^{B28} або інсулін людини Lys^{B28} Pro^{B29}.

У цьому варіанті винаходу препарат інсуліну переважно містить від 5 до 60 мМ, ще краще від 5 до 40 мМ галогеніду.

У іншому втіленні, препарат інсуліну згідно з винаходом містить похідну інсуліну, що має тривалий характер дії, наприклад, інсуліни, які мають одне або більше ліпофільних замісників. Кращими ліпофільними інсулінами є ацильовані інсуліни, включаючи ті, що описані у WO 95/07931 (Novo Nordisk A/S), наприклад, похідні інсуліну людини, де ε-аміногрупа Lys^{B29} містить ацильний замісник, який включає принаймні 8 атомів вуглецю.

Кращими похідними інсулінів є наступні:

B29-M^ε-міристоіл-дез(B30) інсулін людини, B29-N^ε-пальмітоіл-дез(B30) інсулін людини, B29-N^ε-міристоіл інсулін людини, B29-N^ε-пальмітоіл інсулін людини, B28-N^ε-міристоіл Lys^{B28} Pro^{B29} інсулін людини, B28-N^ε-пальмітоіл Lys^{B28} Pro^{B29} інсулін людини, B30-N^ε-MipncTOM-Thr^{B29} Lys^{B30} інсулін людини, B30-N^ε-пальмітоіл-Trp^{B28} Lys^{B30} інсулін людини,

B29-N^ε-(N-пальмітоіл-γ-глутаміл)-дез(B30) інсулін людини, B29-N^ε-(N-лїтохолїл-γ-глутамїл)-дез(B30) інсулін людини та B29-N^ε-(ω-карбоксигептадеканоїл)-дез(B30) інсулін людини, B29-N^ε-(ω-карбоксигептадеканоїл) інсулін людини, найкращим є B29-N^ε-міристоїл-дез(B30) інсулін людини.

У цьому варіанті краще, щоб препарат інсуліну мівив від 10 до 100 мМ, ще краще від 10 до 70 мМ галогеніду.

В іншому варіанті препарат інсуліну винаходу містить аналог інсуліну, також як і похідну інсуліну.

У кращому варіанті реалізації винаходу препарат інсуліну містить

від 60 до 3000 нмоль/мл, краще від 240 до 1200 нмоль/мл інсуліну людини або аналогу інсуліну, або похідної,

від 10 до 40 мкг Zn/100 U інсуліну, краще від 10 до 26 мкг Zn/100 U інсуліну та

від 0 до 5 мг/мл, краще від 0 до 4 мг/мл фенольної сполуки.

Як фенольну сполуку краще застосувати від 0,5 до 4,0 мг/мл, краще від 0,6 до 4,0 мг/мл м-крезолу або від 0,5 до 4,0 мг/мл, краще від 1,4 до 4,0 мг/мл фенолу або їх суміш.

Препарат інсуліну цього винаходу може, окрім цього, містити інші інгредієнти, спільні для препаратів інсуліну, наприклад, комплексоутворюючі агенти цинку, такі як цитратні та фосфатні буфери.

Цей винахід, окрім того, стосується парентеральної фармацевтичної композиції, що містить препарат інсуліну даного винаходу.

Окрім того, цей винахід стосується способу вдосконалення хімічної стабільності препаратів інсуліну, що містять інсулін людини, або його аналог, або його похідну, що являє собою додавання до вищезгаданого препарату гліцерину та/або манітолу та від 5 до 100 мМ галогеніду.

Винахід надалі ілюструється наступними прикладами, які, проте, не є обмежувочими.

Приклад I

Готували розчини, що містили 100 U/мл Asp^{B28} інсуліну людини, 2,6мг/мл фенолу, 16мг/мл гліцерину та різні кількості Zn та хлориду натрію Вели-

чину pH змінювали від 7,2 до 7,5 Дані щодо стабільності за 4 тижні при 37°C наведені у наступній Таблиці 1

Таблиця 1

MKZn/100 U інсуліну	NaCl (mM)	pH	Утворені Asp ^{B28} дезамідоінсуліни(%)	Утворені ди- і полімери (%)
13,1	0	7,2	3,44	1,35
		7,5	3,57	1,36
	5	7,2	3,48	1,53
		7,5	3,31	1,49
	20	7,2	2,54	1,72
		7,5	2,47	1,26
16,3	0	7,2	3,35	1,44
		7,4	3,41	1,46
	5	7,2	1,74	0,95
		7,5	2,58	1,38
	20	7,2	1,91	1,05
		7,5	2,00	1,31
19,6	0	7,2	3,07	1,57
		7,5	2,85	1,80
	5	7,2	2,71	1,36
		7,5	2,24	1,46
	20	7,2	1,56	1,15
		7,5	1,68	1,13
22,8	0	7,2	2,71	2,52
		7,5	2,34	1,45
	а	7,2	2,18	1,95
		7,5	1,90	1,19
	20	7,2	1,51	1,05
		7,5	1,46	1,09

Приклад II

Готували препарати інсуліну, що містили розчинений Asp^{B28} інсулін людини з різними концентраціями хлориду натрію, таким чином

370,4мг Asp^{B28} інсуліну людини розчиняли у воді додаванням 1,6мл 0,2 N HCl та 49мкл розчину хлориду цинку (40мг Zn/мл) 40г розчину, що містив 40мг/мл гліцерину, 3,75мг/г фенолу та 4,30мг/г м-крезолу, додавали до розчину інсуліну при перемішуванні Додавали при перемішуванні 20 г розчину, що містив а) 12,0мг/г дигдрату двозаміщеного фосфату натрію + 5мкл/г 2 N гідроксиду

натрію, б) 12,0мг/г дигдрату двозаміщеного фосфату натрію + 5 мкл/г 2 N гідроксиду натрію + 5мг/г хлориду натрію або в) 12,0мг/г дигдрату двозаміщеного фосфату натрію 4-5мкл/г 2 N гідроксиду натрію + 10мг/г хлориду натрію Величину pH доводили до pH 7,40±0,05 та додавали воду до 100мл Композицію Asp^{B28} інсуліну людини вводили у картридж Penfill® та проводили тести на стабільність при 25°C та 37°C Дані про стабільність одержані при двох різних температурах та при концентрації фосфату 13,5мМ, 19,6 мкг Zn/100 U інсуліну та pH=7,4, наведені в Таблиці 2

Таблиця 2

Доданий NaCl (mM)	Загальна концентрація Cl (mM)	Утворені Asp ^{B28} дезамідоінсуліни (%)	Утворені ди- і полімери (%)
Дані за 8 тижнів при 37°C			
0	4,4	7,0	1,86
17	20,8	4,2	1,29
34-	37,8	3,5	1,07
Дані за 8 місяців при 25°C			
0	4,4	6,4	1,0
17	20,8	4,1	0,8
34	37,8	3,7	0,8

Приклад III

Готували препарати інсуліну, що містили розчинений Asp^{B28} інсулін людини з різними концент-

раціями хлориду натрію, таким чином

369,4мг Asp^{B28} інсуліну людини розчиняли у воді додаванням 1,6мл 0,2 N HCl та 49мкл розчину

хлориду цинку (40мг Zn/мл) 40г розчину, що містив 40мг/г гліцерину, 3,75мг/г фенолу та 4,30мг/г м-крезолу, додавали до розчину при перемішуванні. Додавали при перемішуванні 10г розчину, що містив 24,0 мг/г дигідрату двозаміщеного фосфату натрію та 11мкл/г 2 N гідроксиду натрію. Різні кінцеві кількості (від 0г до 4,38г) розчину, що містив 40мг/г хлориду натрію, додавали при перемішуванні до концентрації хлориду натрію, що наведе-

на в Таблиці 4. Величину pH доводили до $7,40 \pm 0,05$ та додавали воду до 100мл. Композиції Asp^{B28} інсуліну людини вводили у картриджі Penfill® та проводили тести на стабільність при 25°C та 37°C. Дані про стабільність одержані при двох різних температурах та при концентрації фосфату 13,5мМ, наведені в Таблиці 3.

Таблиця 3

Доданий NaCl (мМ)	Загальна, концентрація Cl (мМ)	Утворені Asp ^{B28} дезамідоінсуліни (%)	Утворені ди- і полімери (%)
Дані про стабільність за 6 тижнів при 37°C			
5	8,5	4,1	0,99
12,5	16,3	3,6	0,92
20	23,8	3,0	0,87
25	28,8	3,0	0,82
30	33,8	2,8	0,80
Дані про стабільність за 12 тижнів при 25°C			
0	3,8	2,7	0,36
5	8,5	2,3	0,32
12,5	16,3	1,8	0,39
20	23,8	1,7	0,39
25	28,8	1,8	0,38
30	33,8	1,7	0,38

Приклад IV

Готували композиції інсуліну, що містили розчинений Asp^{B28} інсулін людини з різними концентраціями хлориду натрію, таким чином:

375,7мг Asp^{B28} інсуліну людини розчиняли у воді додаванням 1,6мл 0,2 N HCl та 49мкл розчину хлориду цинку (40мг Zn/мл). 2г розчину, що містив 80 мг/г гліцерину, 7,50мг/г фенолу та 8,60мг/г м-крезолу, додавали до розчину при перемішуванні. Різні кількості (від 3,71г до 6,71г) розчину, що містив 24,0мг/г дигідрату двозаміщеного фосфату натрію та 11мкл/г 2 N гідроксиду натрію, додавали

при перемішуванні, нарешті при перемішуванні додавали різні кількості (від 0г до 3,85г) розчину, що містив 40мг/г NaCl, щоб одержати концентрацію хлориду натрію, яка наведена у таблиці 6. Величину pH доводили до $7,40 \pm 0,05$ та додавали воду до 100мл. Композицію Asp^{B28} інсуліну людини вводили у картриджі Penfill® та проводили тести на стабільність при 25°C та 37°C. Дані про стабільність одержані при двох різних температурах і при трьох різних концентраціях фосфату та при 19,6мкг Zn/100 U інсуліну, та pH=7,4,

Таблиця 4

Доданий NaCl (мМ)	Загальна концентрація Cl (мМ)	Концентрація фосфату (мМ)	Утворені Asp ^{B28} дезамідоінсуліни (%)	Утворені ди- і полімери (%)
Дані за 6 тижнів при 37°C				
0	3,8	5	4,7	1,4
5	8,8	5	3,7	1,3
10	13,8	5	3,4	1,2
15	18,8	5	3,1	1,1
20	23,8	5	2,7	1,1
25	28,8	5	3,0	0,9
Дані за 12 тижнів при 25°C				
0	3,8	5	2,2	0,5
5	8,8	5	1,7	0,4
10	13,8	5	1,5	0,4
15	18,8	5	1,4	0,4
20	23,8	5	1,3	0,4
25	28,8	5	1,3	0,4

Таблиця 5

Доданий NaCl (мМ)	Загальна концентрація СГ (мМ)	Концентрація фосфату (мМ)	Утворені Asp ^{B28} дезамідоінсуліни (%)	Утворені ди- і полімери (%)
Дані за 6 тижнів при 37°C				
0	3,8	7	4,3	1,2
5	8,8	7	3,6	1,2
10	13,8	7	3,1	1,1
15	18,8	7	3,1	1,0
20	23,8	7	2,9	1,0
25	28,8	7	2,8	1,1
Дані за 12 тижнів при 25°C				
0	3,8	7	2,0	0,5
5	8,8	7	1,7	0,4
10	13,8	7	1,4	0,4
15	18,8	7	1,5	0,4
20	23,8	7	1,4	0,4
25	28,8	7	1,3	0,4

Таблиця 6

Доданий NaCl (мМ)	Загальна концентрація СГ (мМ)	Концентрація фосфату (мМ)	Утворені Asp ^{B28} дезамідоінсуліни (%)	Утворені ди- і полімери (%)
Дані за 6 тижнів при 37°C				
0	3,8	9	4,9	1,2
5	8,8	9	4,0	1,1
10	13,8	9	3,7	1,0
15	18,8	9	3,5	1,0
20	23,8	9	3,5	1,0
25	28,8	9	3,1	0,9
Дані за 12 тижнів при 25°C				
0	3,8	9	не визначено	0,4
5	8,8	9	1,8	0,4
10	13,8	9	1,5	0,4
15	18,8	9	1,5	0,4
20	23,8	9	1,6	0,4
25	28,8	9	1,4	0,4

Приклад V

Готували розчини, що містили 0,6мМ В29-N^ε-міристоіл-дез(В30) інсуліну людини, 1,5 або 4,0мг/мл фенолу, 5мМ фосфату натрію, 13,1мкг/мл Zn та різні кількості хлориду натрію та

мантолу. Величину рН доводили до 7,4. Дані про стабільність (утворення димерів та полімерів) після зберігання при 25°C протягом 13 тижнів або при 37°C протягом 8 тижнів наведені у наступній таблиці 7

Таблиця 7

NaCl (мМ)	Мантол (мг/мл)	Фенол 1,5мг/мл	Фенол 4,0мг/мл
		Ди- та полімери (%), що утворилися за 8 тижнів при 37°C	
20	31	0,77	0,77
50	22	0,71	0,71
75	13	0,65	0,70
100	5	0,66	0,68
		Ди- та полімери (%), що утворилися за 13 тижнів при 25°C	
20	31	0,40	0,42
50	22	0,35	0,37
75	13	0,34	0,39
100	5	0,31	0,37

Приклад VI

Готували розчини, що містили 0,6мМ В29-N^ε-міристоіл-дез(В30) інсуліну людини, 1,5мг/мл

фенолу, 1,72мг/мл м-крезолу, 16мг/мл гліцерину або 36мг/мл мантолу, 13,1мкг/мл Zn, 7мМ фосфату натрію та різні кількості хлориду натрію

Величину рН доводили до 7,5 Дані про стабільність (утворення димерів та полімерів) після зберігання при 25°C протягом 13 тижнів або при

37°C протягом 8 тижнів наведені у наступній таблиці 8

Таблиця 8

NaCl (mM)	Гліцерин 16 мг/мл	Мантол 36 мг/мл
	Ди- та полімери (%), що утворилися за 8 тижнів при 37°C	
5	2,55	2,28
10	2,25	1,90
20	1,82	1,61
30	1,83	не визначено
40	1,78	1,56
50	1,68	не визначено
NaCl (mM)	Ди- та полімери (%), що утворилися за 13 тижнів при 25°C	
5	1,08	1,05
10	0,98	0,84
20	0,80	0,71
30	0,80	не визначено
40	0,79	0,70
50	0,72	не визначено

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)
вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна
(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»
вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна
(044) 216 – 32 – 71