



المملكة العربية السعودية
Kingdom of Saudi Arabia



الهيئة السعودية للملكية الفكرية
Saudi Authority for Intellectual Property

براءة اختراع

إن الرئيس التنفيذي للهيئة السعودية للملكية الفكرية و بموجب أحكام نظام براءات الاختراع و التصميمات التخطيطة للدارات المتكاملة و الأصناف النباتية و النماذج الصناعية الصادر بالمرسوم الملكي الكريم رقم م/27 وتاريخ 1425/05/29هـ و المعدل بقرار مجلس الوزراء رقم 536 و تاريخ 1439/10/19هـ ، و لائحته التنفيذية. يقرر منح :

نوفو نورديسك آيه / اس
NOVO NORDISK A/S

بتاريخ : 1444/05/11 هـ
الموافق : 2022/12/05 م

براءة اختراع رقم : SA 11564

عن الاختراع المسمى :

تركيبات هيدلية تحتوي على الإنسولين

Insulin Containing Pharmaceutical Compositions

وفق ما هو موضح في وصف الاختراع المرفق، ولمالك البراءة الحق في الانتفاع بكامل الحقوق النظامية في المملكة العربية السعودية خلال فترة سريان الحماية.

الرئيس التنفيذي:

د. عبدالعزيز بن محمد السويلم



[19] الهيئة السعودية للملكية الفكرية

[11] رقم البراءة: SA 11564 B1

[12] براءة اختراع

[45] تاريخ المنح: 1444/05/11 هـ

الموافق: 2022/12/05 م

[62] طلب مجزأ من الطلب رقم: 519401933 [86] رقم الطلب الدولي: PCT/EP2017/083013 تاريخ إيداع الطلب الدولي: 2017/12/15 م [87] رقم النشر الدولي: WO/2018/109162 تاريخ النشر الدولي: 2018/06/21 م [51] التصنيف الدولي (IPC): A61K 038/028 [56] المراجع: US 2012245085, US 2005065066 US 2006258561 الفاحص: معاذ بن محمد التركي	[21] رقم الطلب: 520420276 [22] تاريخ دخول المرحلة الوطنية: 1440/10/02 هـ الموافق: 2019/06/05 م [30] بيانات الأسبقية: EP 16204688.2 2016/12/16 م [72] اسم المخترع: ماتيئاس نورمان ، سوزان هستروب ، دورتي بيجير شتاينجارد ، هولجر مارتن ستراوس ، روزا ريبيكا إريتز هانسن ، سفيند هافيلوند ، مورتن شلاين ، يسبر سوندرغارد بدرسن [73] مالك البراءة: نوفو نورديسك إيه / اس عنوانه: وفو إلي، دي كي-2880 باجسفايرد، الدنمارك جنسيتها: دنماركية [74] الوكيل: مكتب المحامي سليمان إبراهيم العمار
---	--

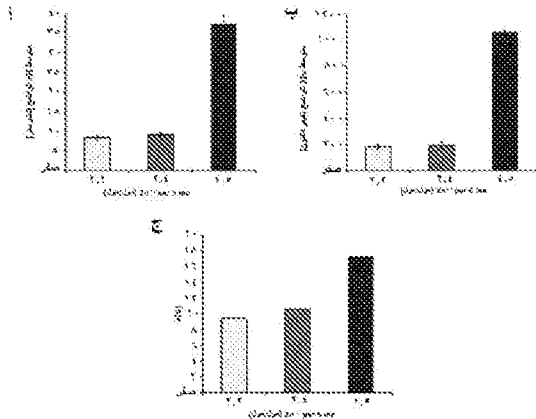
[54] اسم الاختراع: تركيبات صيدلية تحتوي على الأنسولين

Insulin Containing Pharmaceutical Compositions

[57] الملخص: يتعلق الاختراع الحالي بمجال التركيبات

الصيدلية لعلاج حالات طبية medical conditions تتعلق بمرض السكر diabetes. على نحو خاص يوفر الاختراع تركيبات صيدلية تشتمل على مشتق معالج بالأسيل ممتد التأثير long-acting acylated derivative من نظير للأنسولين البشري human insulin analogue ، وبلاستخدام الطبي لهذه التركيبات للعلاج بإعطاء أنسولين قاعدي basal insulin. الشكل (1)

عدد عناصر الحماية (20)، عدد الأشكال (9)



تركيبات صيدلية تحتوي على الأنسولين

Insulin Containing Pharmaceutical Compositions

الوصف الكامل

خلفية الاختراع

إن هذا الطلب هو طلب جزئي من الطلب الأصلي رقم 519401933 المودع بتاريخ 1440/10/2م، الموافق 2019/6/5م.

- يتعلق الاختراع الحالي بمجال التركيبات الصيدلية لعلاج حالات طبية تتعلق بمرض السكر. على
- 5 نحو خاص يوفر الاختراع تركيبات صيدلية تشتمل على مشتق معالج بالأسيل ممتد التأثير من نظير للأنسولين البشري، وبلاستخدام الطبي لهذه التركيبات للعلاج بإعطاء أنسولين قاعدي.
- يتمثل الهدف الرئيسي للمعالجة بالأنسولين في علاج اضطرابات الأيض في إنتاج مستوى سكر في الدم قريب من الطبيعي دائم عن طريق استبدال أو تكملة إفراز الأنسولين داخلي المنشأ بطريقة فيزيولوجية قدر المستطاع، بعد الوجبات إضافة إلى فيما بين الوجبات وطوال الليل. يمثل فصل
- 10 متطلبات (الجرعات الكبيرة من) الأنسولين القاعدي والمتعلق بالوجبات أسلوباً منهجياً نظامياً للعلاج بالأنسولين تحت الجلد.
- يتم بشكل كبير تحديد السمات المميزة الدوائية الأكثر صلة الخاصة ببداية تأثير أي أنسولين معطى، مواصفة التأثير عند الذروة، مدة التأثير، إلى غير ذلك - بواسطة حركات الامتصاص الخاصة به من موقع الحقن تحت الجلد في الدورة الدموية الجهازية.
- 15 تعتبر عملية التحويل إلى أوليجومرات ناتجة عن الزنك غير التساهمي خاصية موصوفة جيداً لمنتجات الأنسولين. في ظل الرقم الهيدروجيني الفيزيولوجي، يكون الأنسولين البشري قابلاً للذوبان إلا أن له ميل إلى الارتباط ذاتياً في الوحدات السداسية المعرفة جيداً (أي وحدة من ست جزيئات أنسولين)، عن طريق تنسيق أيونين من أيونات الزنك (Zn^{++}) مع مواقع الربط ($B10His$) عالية الألفة. يُعتبر من المعروف جيداً أن المركبات الترابطية الفينولية، بخاصة الفينول، ترتبط نوعياً
- 20 بوحدة سداسية من الأنسولين وتُعزز تكوين وحدة سداسية في حالة R. عند الحقن، تنتشر المركبات

الترابطية الفينولية سريعًا من موقع الحقن. في حالة عدم وجود فينول عند موقع الحقن، قد يتغير شكل وحجم أوليجومر الأنسولين، إضافة إلى لزوجة المحلول المحتوي على الأنسولين، مما يساهم في مواصفة تأثير مُطوّل.

- يصف 2012Jonassen et al, Pharm. Res. 29 2014-2114 آلية الإطالة الخاصة
- 5 بأنسولين ديجلوديك، مشتق أنسولين بسلسلة حمض ثنائي دهني معالج بالأسيتيل للإعطاء مرة يوميًا، ويصف العلاقة الارتباطية فيما بين تركيز الزنك العالي والإطالة. يصف الطلب الدولي 115469/2009 مشتقات أنسولين طويلة التأثير متنوعة بسلاسل حمض ثنائي دهني معالجة بالأسيتيل. يصف الطلب الدولي 153000/2013 صياغة مشتقات الأنسولين طويلة التأثير هذه للإعطاء تحت الجلد، والتي تحتوي على مستوى عالي من الزنك (ليس أقل من 3.5 Zn++ /ست
- 10 مولات من مشتقات الأنسولين). تم تصميمها من أجل الحصول على مدة التأثير المطولة التي تتساوى مع مواصفة الإعطاء مرة أسبوعيًا. يؤدي المحتوى العالي لـ Zn++ في الصيغ الموصوفة فيالطلب الدولي 115469/2009 إلى مواصفة PK مطولة.
- يكشف الطلب الدولي 063072/2009 عن تركيبات صيدلية للإعطاء بطريق الحقن غير المعوي تشتمل على مشتق أنسولين قاعدي (على سبيل المثال ديجلوديك) ومشتق GLP-1 (على سبيل المثال، ليراجلوتايد). لأن مونومر الليراجلوتايد يرتبط بالزنك لتكوين وحدة ثنائية-سباعية، يعتبر مستوى الزنك الأعلى من صيغة الجلوديك الأحادية ضروريًا في الصيغة المجمعة، لتحقيق مواصفة PK قابلة للمقارنة خاصة بالديجلوديك، وتحقيق ثبات فيزيائي مقبول.

الوصف العام للاختراع

- وفقًا للاختراع الحالي فقد تم تطوير صيغة جديدة من مشتقات الأنسولين طويلة المفعول، تكون قادرة على تعزيز حالة تشكيلية ونموذج تحويل إلى أوليجومرات تشابه على نحو أكثر دقة تلك الخاصة بالأنسولين البشري، أي الوحدات السداسية، بخاصة الوحدات السداسية R6.
- 20

في جانب آخر، يوفر الاختراع تركيبة صيدلية تشتمل على مشتق أنسولين طويل المفعول مختار في توليفة متميزة من السواغات المصاغة بحرص من أجل تقليل تكوين الأوليجومرات عند موقع الحقن، بينما يستمر إظهار خصائص PK/PD ملائمة للإعطاء مرة أسبوعيًا.

في جانب آخر، يوفر الاختراع تركيبية صيدلية بلزوجة مخفضة عند الحقن وبناءً على ذلك ميل منخفض لتكوين أي انزعاج عند الحقن.

في جانب آخر، يوفر الاختراع تركيبية صيدلية بثبات محسن.

في جانب آخر، يوفر الاختراع تركيبية صيدلية للاستخدام كدواء لعلاج اضطراب متعلق بالأبيض.

5 سوف تتضح الأهداف الأخرى الخاصة بالاختراع بالنسبة للشخص ذي المهارة في المجال من الوصف التفصيلي التالي والأمثلة التالية.

شرح مختصر للرسومات

يتم بشكل إضافي إيضاح الاختراع الحالي عن طريق الإشارة إلى الرسومات المصاحبة، حيث:

الشكل 1 يعرض عملية تحويل إلى أوليجومرات خاصة بالصيغ الأحادية من المركب 1: أ، ب، ج
10 عند ظروف موقع الحقن المحاكاة:

الشكل 1أ: متوسط نصف القطر الهيدروديناميكي الواضح (rH) [نانو متر] المقاس بواسطة DLS؛

الشكل 1ب: متوسط الوزن الجزيئي الواضح المقاس بواسطة CG-MALS؛

الشكل 1ج: متوسط معامل الترسيب الواضح (S) المقاس بواسطة AUC؛

الأعمدة البيضاء: المركب 1، الصيغة ج بها 2.2 من Zn^{++} لكل ست وحدات من الأنسولين
15 (مول:مول)؛

الأعمدة الرمادية: المركب 1، الصيغة ب بها 2.4 Zn^{++} لكل ست وحدات من الأنسولين
(مول:مول)؛

الأعمدة السوداء: المركب 1، الصيغة أ تحتوي على 4.5 Zn^{++} لكل ست وحدات من الأنسولين
(مول:مول)؛

20 الشكل 2 يعرض عملية تحويل إلى أوليجومرات خاصة بالصيغ الأحادية من المركب 1: 01-06
عند ظروف موقع الحقن المحاكاة:

الشكل 2أ: متوسط نصف القطر الهيدروديناميكي الواضح (Rh, avg) [نانو متر] المقاس بواسطة DLS؛

الشكل 2ب: متوسط معامل الترسيب الواضح (S*) المقاس بواسطة AUC

الشكل 3 يعرض اللزوجة الديناميكية الواضحة [cP] (الشكل 3أ، والشكل 3ج) واللزوجة النوعية [ηspec] (الشكل 3ب، الشكل 3د) للصيغ ذات المحلول المنظم المتبادل المختلفة من المركب 1 والمحلل المنظم من السائل الخلالي (ISF)، كدالة على درجة الحرارة [درجة مئوية]؛

الشكل 3أ والشكل 3ب: الصيغة أ؛ الصيغة ب؛ الصيغة ج؛ المحلول المنظم ISF؛

الشكل 3ج والشكل 3د: الصيغة 02؛ الصيغة 03؛ الصيغة 04؛ المحلول المنظم ISF؛

الشكل 4 يعرض حالة تشكيلية للمركب 1 في الصيغ:

الشكل 4أ: CD بالقرب من الأشعة فوق البنفسجية [Δε 251 نانو متر (1-M 1-سم)] يعرض تغييرات تشكيلية (الحالة T؛ الحالة TR المختلطة؛ الحالة R) كدالة على Zn++ لكل ست وحدات من الأنسولين (مول:مول) للصيغ 01-06؛

الشكل 4ب: CD بالقرب من الأشعة فوق البنفسجية [Δε 251 نانو متر (1-M 1-سم)] يعرض تغييرات تشكيلية (الحالة T؛ الحالة TR المختلطة؛ الحالة R) كدالة على Zn++ لكل ست وحدات من الأنسولين (مول:مول) للصيغ ب1-ب6، د1-د7، وصيغ الأنسولين البشري ذات مستوى الزنك المتنوع؛

الدوائر المفتوحة: الأنسولين البشري (600 نانو مول/مليلتر الأنسولين البشري، 30 مللي مولار من الفينول، 150 مللي مولار من NaCl، الرقم الهيدروجيني 7.4)؛

المربعات السوداء: المركب 1 المصاغ باستخدام 25 مللي مولار من الفينول، 25 مللي مولار من

m-كريزول و 20 مللي مولار من NaCl؛

الدوائر الرمادية: المركب 1 المصاغ باستخدام 60 مللي مولار من الفينول، 10 مللي مولار من m-كريزول و 20 مللي مولار من NaCl؛

الشكل 5 يعرض توزيع الأوليجومر الخاص بالمركب 1 في الصيغ بواسطة SEC:

الشكل 5 يعرض مخطط استشراب SEC الأصلي للصيغ 01، 02، 03، 04، 05، و06؛

الشكل 5ب يعرض مخطط استشراب SEC الأصلي للصيغ أ وب 1-ب6؛

الشكل 6 يعرض بيانات تشتيت SAXS [الشدة (وحدة تقريبية) في مقابل s (أنجستروم-1)] للمركب

5 1 والأنسولين البشري في الحالة المصاغة:

الشكل 6أ: منحنيات التشتيت الخاصة بالمركب 1 الصيغة أ المعروضة باللون الأسود وللأنسولين

البشري المعروض باللون الرمادي (المركب 1، 4.2 مللي مولار، Zn 4.5/وحدة سداسية؛

الأنسولين البشري 0.6 مللي مولار، Zn 2.2/وحدة سداسية)؛

الشكل 6ب: منحنيات التشتيت الخاصة بالمركب 1 الصيغة ج المعروضة باللون الأسود

10 وللأنسولين البشري المعروض باللون الرمادي (المركب 1، 4.2 مللي مولار، Zn 2.2/وحدة

سداسية؛ الأنسولين البشري 0.6 مللي مولار، Zn 2.2/وحدة سداسية (R6-وحدة سداسية))؛

الشكل 7 يعرض نقاء المركب 1 في الصيغ:

الشكل 7أ يعرض النقاء (% لإجمالي الببتيد) عند التخزين عند 30 درجة مئوية [النقطة الزمنية

(شهر)] للمركب 1 الصيغة أ (الخط الأسود)، الصيغة ب (الخط الرمادي) والصيغة ج (الخط

15 [النقطة)؛

الشكل 7ب يعرض النقاء (% لإجمالي الببتيد) عند التخزين عند 37 درجة مئوية [النقطة الزمنية

(أسابيع)] للمركب 1 للصيغ 01، 04، 05 و06؛

الدوائر البيضاء: الصيغة 01، الدوائر السوداء: الصيغة 04، المربعات البيضاء: الصيغة 05،

المربعات السوداء: الصيغة 06؛

20 الشكل 8 يعرض نقاء المركب 1 (% لإجمالي المركب 1) عند التخزين عند 37 درجة مئوية

[النقطة الزمنية (أسابيع)] في الصيغ المجمعة مع السيماجلوتيد:

الدوائر البيضاء: الصيغة المجمعة I، الدوائر السوداء: الصيغة المجمعة II، المثلثات البيضاء: الصيغة المجمعة III، المثلثات السوداء: الصيغة المجمعة IV، المربعات البيضاء: الصيغة المجمعة V، المربعات السوداء: الصيغة المجمعة VI؛

الشكل 9 يعرض عملية تحويل إلى أوليجومرات خاصة الصيغ المجمعة عند ظروف موقع الحقن المحاكاة: 5

الشكل 9أ: متوسط نصف القطر الهيدروديناميكي الواضح (rH) [نانو متر] المقاس بواسطة DLS؛
الشكل 9ب: يعرض حجم الأوليجومر الخاص الصيغ المجمعة بعد تبادل المحلول المنظم كما يُلاحظ بواسطة AUC (S*).
الوصف التفصيلي:

10 في الجانب الأول منه يوفر الاختراع تركيبة صيدلانية تشتمل على مشتق أنسولين مختار من المجموعة التي تتكون من
A14E، B16H، B25H، B29K ((Nε-إيكوزان دايل-γGlu-2)-2)-2}-2)-2)-أمينو
إيثوكسي)-إيثوكسي] أسيتيل أمينو {إيثوكسي} إيثوكسي] أسيتيل))، الأنسولين البشري desB30؛
(المركب 1)؛

15 A14E، B16H، B25H، B29K (Nε-هكسا ديكان دايل-γGlu)، الأنسولين البشري
desB30 (المركب 2)؛
A14E، B16H، B25H، B29K (Nε-إيكوزان دايل-γGlu)، الأنسولين البشري desB30
(المركب 3)؛ و

20 A14E، B25H، desB27، B29K (Nε-أوكتا ديكان دايل-γGlu)، الأنسولين البشري
desB30 (المركب 4)؛ وتتكون بشكل إضافي من حوالي 1 إلى حوالي 2% (وزن/وزن) من
جليسرول؛ من حوالي 45 إلى حوالي 75 مللي مولار من فينول؛ من حوالي صفر إلى حوالي 19
مللي مولار من m-كريزول؛ من حوالي 1.5 إلى حوالي 2.5 مول من أيونات الزنك لكل ست

مولات من مشتق الأنسولين المذكور؛ ما لا يزيد عن حوالي 75 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني في النطاق البالغ من 7.2 إلى 8.0.

في جانب آخر، يوفر الاختراع تركيبات صيدلية تشتمل بشكل إضافي على مركب GLP-1 مفرز للأنسولين، وتحديداً المركب GLP-1 المفرز للأنسولين المعروف بأنه سيماجلوتيد.

5 قد يتم وصف السيماجلوتيد بواسطة الصيغة البنائية Aib8، Lys26(OEG-OEG-جاما--Glu C18-حمض ثنائي)، Arg34(7-37)H-GLP-1 OH، التي يتم أيضًا التدايل عليها باعتبارها N-إيسيلون-26-2]-2)-2)-2)-2)-2)-2)-(S)-4-كربوكسي-4-(17-كربوكسي هبتا ديكانويل أمينو)بيوتيريل أمينو[إيثوكسي]{ إيثوكسي} أسيتيل أمينو[إيثوكسي]-أسيتيل][Aib8، Arg34]GLP-1-(7-37)، قارن الكشف في الطلب الدولي 097537/2006.

10 قد يتم بشكل إضافي تمييز الاختراع الحالي عن طريق الإشارة إلى واحدة أو أكثر من السمات المميزة التالية أو واحد أو أكثر من التجسيات التالية:

1. تركيبة صيدلانية خاصة بالاختراع تشتمل على مشتق أنسولين، يكون عبارة عن A14E، B29K، B25H، B16H ((Nε-إيكوزان دايول-Glu-γ[2]-[2]-[2]-[2]-أمينو إيثوكسي) [إيثوكسي] أسيتيل أمينو {إيثوكسي} إيثوكسي [أسيتيل])، الأنسولين البشري desB30 (المركب 1).

15 2. تركيبة صيدلية خاصة بالاختراع تشتمل على مشتق أنسولين، يكون عبارة عن A14E، B29K، B25H، B16H (Nε-هكسا ديكان دايلول-γGlu)، الأنسولين البشري desB30 (المركب 2).

3. تركيبة صيدلية خاصة بالاختراع تشتمل على مشتق أنسولين، يكون عبارة عن A14E، B25H، B16H، (Nε-إيكوزان دايول-γGlu)، الأنسولين البشري desB30 (المركب 20 3).

4. تركيبة صيدلية خاصة بالاختراع تشتمل على مشتق أنسولين، يكون عبارة عن A14E،
desB27، B25H، (Nε-أوكتا ديكان دايول-γGlu)، الأنسولين البشري desB30
(المركب 4).

5. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، حيث يكون مشتق الأنسولين واقعًا في النطاق البالغ من حوالي 3.5 إلى حوالي 5.0 مللي مولار.

6. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، حيث يكون مشتق الأنسولين واقعًا في النطاق البالغ من حوالي 4.0 إلى حوالي 4.5 مللي مولار.

5 7. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، حيث يبلغ مشتق الأنسولين حوالي 4.2 مللي مولار.

8. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 1 إلى حوالي 2% (وزن/وزن) من جليسرول.

9. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 1.4 إلى حوالي 1.8% (وزن/وزن) من جليسرول.

10 10. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 1.5% أو 1.6% (وزن/وزن) من جليسرول.

11. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 45 إلى حوالي 75 مللي مولار من فينول.

12 15. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 50 إلى حوالي 70 مللي مولار من فينول.

13. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 55 إلى حوالي 65 مللي مولار من فينول.

14. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 50، 51، 52، 53،

20 54، 55، 56، 57، 58، 59، 60، 61، 62، 63، 64، 65، 66، 67، 68، 69، أو 70 مللي مولار من فينول.

15. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي صفر إلى حوالي 19 مللي مولار من m-كريزول.

16. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على صفر مللي مولار، 1 مللي مولار، 2 مللي مولار، 3 مللي مولار، 4 مللي مولار من m-كريزول.

5 17. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي صفر إلى حوالي 15 مللي مولار من m-كريزول.

18. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 5 مللي مولار، 6 مللي مولار، 7 مللي مولار، 8 مللي مولار، 9 مللي مولار، 10 مللي مولار، 11 مللي مولار، 12 مللي مولار، 13 مللي مولار، 14 مللي مولار، 15 مللي مولار، 16 مللي مولار، 17 مللي مولار، 18 مللي مولار أو 19 مللي مولار من m-كريزول. 10

19. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 1.5 إلى حوالي 2.5 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين.

20. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 2.0 إلى حوالي 2.4 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين.

15 21. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 2.0 أو 2.1 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين.

22. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 2.2 أو 2.3 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين.

20 23. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 2.4 أو 2.5 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين.

24. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على أقل من حوالي 75 مللي مولار من صوديوم كلوريد.

25. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 5 إلى حوالي 50 مللي مولار من صوديوم كلوريد.
26. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 10 إلى حوالي 25 مللي مولار من صوديوم كلوريد.
- 5 27. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 15 إلى حوالي 25 مللي مولار من صوديوم كلوريد.
28. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 20 مللي مولار، 50 مللي مولار أو 75 مللي مولار من صوديوم كلوريد.
29. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، التي لها قيمة رقم هيدروجيني في النطاق البالغ من 7.2 إلى 8.0. 10
30. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، التي لها قيمة رقم هيدروجيني في النطاق البالغ من 7.2 إلى 7.6.
31. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، التي لها قيمة رقم هيدروجيني حوالي 7.2، 7.3، 7.4، 7.5، 7.6، 7.7، 7.8، أو 7.9.
- 15 32. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 4.0 إلى حوالي 4.5 مللي مولار من مشتق الأنسولين؛ من حوالي 1 إلى حوالي 2% (وزن/وزن) من جليسرول؛ من حوالي 50 إلى حوالي 70 مللي مولار من فينول؛ من حوالي صفر إلى حوالي 15 مللي مولار من m-كريزول؛
- 20 من حوالي 2.0 إلى حوالي 2.5 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين؛ أقل من حوالي 50 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ و

يكون لها قيمة رقم هيدروجيني في النطاق البالغ من 7.2 إلى 7.6.

33. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على

من حوالي 4.2 مللي مولار من مشتق الأنسولين؛

من حوالي 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛

5 من حوالي 60 مللي مولار من فينول؛

من حوالي صفر مللي مولار من m-كريزول؛

من حوالي 2.0 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين؛

من حوالي 20 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ و

يكون لها قيمة رقم هيدروجيني تبلغ حوالي 7.4.

10 34. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على

من حوالي 4.2 مللي مولار من مشتق الأنسولين؛

من حوالي 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛

من حوالي 60 مللي مولار من فينول؛

من حوالي 10 مللي مولار من m-كريزول؛

15 من حوالي 2.0 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين؛

من حوالي 20 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ و

يكون لها قيمة رقم هيدروجيني تبلغ حوالي 7.4.

35. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على

من حوالي 4.2 مللي مولار من مشتق الأنسولين؛

من حوالي 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛
من حوالي 60 مللي مولار من فينول؛
من حوالي صفر مللي مولار من m-كريزول؛
من حوالي 2.2 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين؛

5 من حوالي 20 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ و

يكون لها قيمة رقم هيدروجيني تبلغ حوالي 7.4.

36. التركيبة الصيدلانية التجسيديات السابقة، تشتمل على

من حوالي 4.2 مللي مولار من مشتق الأنسولين؛

من حوالي 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛

10 من حوالي 60 مللي مولار من فينول؛

من حوالي 10 مللي مولار من m-كريزول؛

من حوالي 2.2 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين؛

من حوالي 20 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ و

يكون لها قيمة رقم هيدروجيني تبلغ حوالي 7.4.

15 37. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على

من حوالي 4.2 مللي مولار من مشتق الأنسولين؛

من حوالي 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛

من حوالي 60 مللي مولار من فينول؛

من حوالي صفر مللي مولار من m-كريزول؛

من حوالي 2.4 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين؛

من حوالي 20 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ و

يكون لها قيمة رقم هيدروجيني تبلغ حوالي 7.4.

38. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على

5 من حوالي 4.2 مللي مولار من مشتق الأنسولين؛

من حوالي 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛

من حوالي 60 مللي مولار من فينول؛

من حوالي 10 مللي مولار من m-كريزول؛

من حوالي 2.4 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين؛

10 من حوالي 20 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ و

يكون لها قيمة رقم هيدروجيني تبلغ حوالي 7.4.

39. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تتكون من حوالي 4.2 مللي مولار من مشتق

الأنسولين؛ من حوالي 1 إلى حوالي 2% (وزن/وزن) من جليسرول؛ من حوالي 45 إلى حوالي 75

مللي مولار من فينول؛ من حوالي صفر إلى حوالي 15 مللي مولار من m-كريزول؛ من حوالي

15 1.5 إلى حوالي 2.5 مول من أيونات الزنك لكل ستة مولات من مشتق الأنسولين المذكور؛ ما لا

يزيد عن حوالي 50 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني في النطاق

البالغ من 7.2 إلى 8.0.

40. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي صفر مللي مولار من

m-كريزول.

20 41. التركيبة الصيدلية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 5 إلى حوالي 10

مللي مولار من m-كريزول.

42. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 10 مللي مولار من m-كربزول.

43. التركيبة الصيدلانية وفقاً للتجسيديات السابقة، تشتمل بشكل إضافي على سيماجلوتيد.

44. تركيبة صيدلانية تشتمل على B29K، B25H، B16H، A14E ((Nε-إيكوزان دايول-

5 -γGlu-2-2-2-2-2-أمينو إيثوكسي) إيثوكسي] أسيتيل أمينو{إيثوكسي} إيثوكسي] -

أسيتيل))، الأنسولين البشري desB30 (المركب 1)؛ وسيماجلوتيد؛ وتتكون بشكل إضافي من حوالي 1 إلى حوالي 2% (وزن/وزن) من جليسرول؛ من حوالي 45 إلى حوالي 75 مللي مولار من فينول؛ من صفر -15 مللي مولار من m-كربزول؛ من حوالي 1.5 إلى حوالي 2.5 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين المذكور؛ ما لا يزيد عن حوالي 25 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني في النطاق البالغ من 7.2 إلى 8.0. 10

45. التركيبة الصيدلانية وفقاً للتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 0.20 إلى حوالي 0.70 مللي مولار سيماجلوتيد.

46. التركيبة الصيدلانية وفقاً للتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 0.30 إلى حوالي 0.70 مللي مولار سيماجلوتيد.

47. التركيبة الصيدلانية وفقاً للتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 3.5 مللي مولار إلى حوالي 5.0 مللي مولار B29K، B25H، B16H، A14E ((Nε-إيكوزان دايول-2-γGlu-2-2-2-2-2-أمينو إيثوكسي) إيثوكسي] أسيتيل أمينو{إيثوكسي} إيثوكسي] - أسيتيل))، الأنسولين البشري desB30 (المركب 1). 15

48. التركيبة الصيدلانية وفقاً للتجسيديات السابقة، تشتمل على من حوالي 0.30 إلى حوالي 0.70 مللي مولار سيماجلوتيد، ومن حوالي 3.5 مللي مولار إلى حوالي 5.0 مللي مولار A14E، B29K، B25H، B16H ((Nε-إيكوزان دايول-2-γGlu-2-2-2-2-2-أمينو إيثوكسي) إيثوكسي] أسيتيل أمينو{إيثوكسي} إيثوكسي] - أسيتيل))، الأنسولين البشري desB30 (المركب 1). 20

49. التركيبة الصيدلانية وفقاً للتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 0.30 مللي مولار سيماجلوتيد، ومن حوالي 3.5 مللي مولار إلى حوالي 5.0 مللي مولار B25H، B16H، A14E، B29K ((Nε-إيكوزان دايول-γGlu-2-2-2-2-2-2-أمينو إيثوكسي) إيثوكسي] أسيتيل أمينو{إيثوكسي} إيثوكسي] أسيتيل))، الأنسولين البشري desB30 (المركب 1).

5 50. التركيبة الصيدلانية وفقاً للتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 0.40 مللي مولار سيماجلوتيد، و 4.2 مللي مولار B29K، B25H، B16H، A14E ((Nε-إيكوزان دايول-γGlu-2-2-2-2-2-2-أمينو إيثوكسي) إيثوكسي] أسيتيل أمينو{إيثوكسي} إيثوكسي] أسيتيل))، الأنسولين البشري desB30 (المركب 1).

10 51. التركيبة الصيدلانية وفقاً للتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 0.49 مللي مولار أو 0.50 مللي مولار سيماجلوتيد، و 4.2 مللي مولار B29K، B25H، B16H، A14E ((Nε-إيكوزان دايول-γGlu-2-2-2-2-2-2-أمينو إيثوكسي) إيثوكسي] أسيتيل أمينو{إيثوكسي} إيثوكسي] أسيتيل))، الأنسولين البشري desB30 (المركب 1).

15 52. 35. التركيبة الصيدلانية وفقاً للتجسيديات السابقة، تشتمل على حوالي 0.60 مللي مولار سيماجلوتيد، و 4.2 مللي مولار B29K، B25H، B16H، A14E ((Nε-إيكوزان دايول-γGlu-2-2-2-2-2-2-أمينو إيثوكسي) إيثوكسي] أسيتيل أمينو{إيثوكسي} إيثوكسي] أسيتيل))، الأنسولين البشري desB30 (المركب 1).

53. تركيبة (صيغة مشتركة) صيدلانية تشتمل على B29K، B25H، B16H، A14E ((Nε-إيكوزان دايول-γGlu-2-2-2-2-2-2-أمينو إيثوكسي) إيثوكسي] أسيتيل أمينو{إيثوكسي} إيثوكسي] إيثوكسي] أسيتيل))، الأنسولين البشري desB30 (المركب 1)؛ وسيماجلوتيد؛ وتشتمل بشكل إضافي على حوالي 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛ حوالي 60 مللي مولار من فينول؛ حوالي 20 صفر مللي مولار من m-كريزول؛ حوالي 2.2 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق الأنسولين المذكور؛ حوالي 20 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني تبلغ حوالي 7.4.

54. تركيبة (صيغة مشتركة) صيدلانية تشمل على B29K, B25H, B16H, A14E (N_E)

ایکوزان دایول-γGlu-[2]-2-{2-(2-امینو ایٹوکسی) [ایٹوکسی] آسیٹیل امینو}ایٹوکسی)

[[إيثوكسي] أسيتيل]], الأنسولين البشري desB30 (المركب 1)؛ وسيماجلوتيد؛ وتشتمل بشكل

إضافي على حوالي 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛ حوالي 60 مللي مولار من فينول؛ حوالي

5 10 ميلي مولار من m-كريزول؛ حوالي 2.2 مول من أيونات الزنك لكل ست مولات من مشتق

الأنسولين المذكور؛ حوالي 20 مللي مولار من صوديوم كلوريد؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني

7.4 تبلغ حوالی

55. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، للإعطاء إلى خاضع للعلاج في حاجة لذلك

عند فترات فاصلة أقل تكررًا من مرة يوميًا (أي عند فترات فاصلة أطول من 24 ساعة)، في

10 غرضون فترة زمنية تبلغ على الأقل 3 شهور، على الأقل 6 شهور، أو تبلغ على الأقل 1 عام.

56. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، للإعطاء إلى خاضع للعلاج في حاجة

للإعطاء إلى الخاضع للعلاج بتكرار يقع في النطاق البالغ من كل يوم بعد يوم إلى كل 11 يوم،

في المتوسط.

57. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، للإعطاء إلى خاضع للعلاج في حاجة

15 للإعطاء إلى الخاضع للعلاج بتكرار يقع في النطاق البالغ من كل ثلاثة أيام إلى كل 10 أيام، في

المتوسط.

58. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، للإعطاء إلى خاضع للعلاج في حاجة

للإعطاء إلى الخاضع للعلاج بتكرار يقع في النطاق البالغ من كل أربعة أيام إلى كل 9 أيام، في

المتوسط.

20 59. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، للإعطاء إلى خاضع للعلاج في حاجة

للإعطاء إلى الخاضع للعلاج بتكرار يقع في النطاق البالغ من كل خمسة أيام إلى كل 8 أيام، في

المتوسط.

60. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيديات السابقة، للإعطاء إلى خاضع للعلاج في حاجة للإعطاء إلى الخاضع للعلاج بتكرار يقع في النطاق البالغ من كل ستة أيام إلى كل 7 أيام، في المتوسط.

61. التركيبة الصيدلانية الخاصة بالتجسيذات السابقة، للإعطاء إلى خاضع للعلاج في حاجة

5 للإعطاء إلى الخاضع للعلاج مرة أسبوعيًا، أي كل 7 أيام، في المتوسط، في غضون فترة زمنية تبلغ على الأقل 3 شهور، على الأقل 6 شهور، أو تبلغ على الأقل 1 عام.

62. طريقة لإعداد تركيبة صيدلية قابلة للحقن تشتمل على:

(1) تحضير محلول عن طريق إذابة B29K، B25H، B16H، A14E ((Nε-إيكوزان دايول-

γ Glu-2)-2]-2)-2)-(2-أمينو إيثوكسي) إيثوكسي] أسيتيل أمينو إيثوكسي) إيثوكسي]

10 أسيتيل))، الأنسولين البشري desB30 في الماء

(2) تحضير محلول عن طريق إذابة مواد حافظة وعوامل مساوية للتوتر في الماء

(3) تحضير محلول عن طريق إذابة أيونات الزنك في الماء

(4) خلط المحلول (أ) والمحلول (ب)

(5) إضافة المحلول (ج) إلى المحلول أ+ب

15 (6) انحلال السيماجلوتيد في المحلول المدمج أ+ب+ج

(7) ضبط الرقم الهيدروجيني الخاص بالخليط و) على الرقم الهيدروجيني المطلوب، متبوعًا بعملية ترشيح بالتعقيم.

يتم اعتبار أية توليفة من اثنين أو أكثر من التجسيديات الموصوفة هنا واقعة في نطاق الاختراع الحالي.

20 النشاط البيولوجي

في جانب آخر يوفر الاختراع تركيبات صيدلية مفيدة كأدوية لعلاج الأمراض، الاضطرابات أو الحالات المتعلقة بالأيض، و، تحديداً، الأمراض، الاضطرابات أو الحالات ذات الصلة بمرض السكر.

5 في تجسيد واحد، تكون التركيبة الصيدلية الخاصة بالاختراع للاستخدام في علاج أو التخفيف من مرض، اضطراب أو حالة تتعلق بمرض السكر، مرض السكر من النوع 1، مرض السكر من النوع 2، ضعف تحمل الجلوكوز، فرط سكر الدم، خلل الدهون في الدم، السمنة، أو متلازمة الأيض (متلازمة الأيض X، متلازمة مقاومة الأنسولين).

في تجسيد آخر، تكون التركيبة الصيدلية الخاصة بالاختراع للاستخدام في علاج أو التخفيف من مرض، اضطراب أو حالة تتعلق بمرض السكر، وتحديداً مرض السكر من النوع 1، أو مرض السكر من النوع 2.

تعتمد الجرعة الفعلية على طبيعة وحدة المرض الذي يتم علاجه، وتكون واقعة في نطاق قرار الطبيب المعالج، قد تتنوع بمعايرة الجرعة إلى الظروف المحددة الخاصة بهذا الاختراع لإنتاج التأثير العلاجي المطلوب.

الأمثلة

15 يتم بشكل إضافي إيضاح الاختراع بالإشارة إلى الأمثلة التالية، والتي لا يُقصد أن تكون سبيلاً للحد من نطاق الاختراع كما ورد في عناصر الحماية.

المثال 1

الخصائص البيولوجية الفيزيائية المحسنة عند ظروف موقع الحقن المحاكاة

البروتوكول

20 يكون API للصيغ هو B29K، B25H، B16H، A14E ((Nε-إيكوزان دايلول-γGlu-2-
(2-2-2-2-أمينو إيثوكسي) إيثوكسي] أسيتيل أمينو{إيثوكسي} إيثوكسي] أسيتيل))، الأنسولين

البشري desB30 (المركب 1)، تم الحصول عليه كما وصف فيالطلب الدولي 115469/2009 على سبيل المثال، انظر المثال 33.

تم تحديد عملية التحويل إلى أوليجومرات الخاصة بالمركب 1 عند ظروف موقع الحقن المحاكاة. تم تحقيق ظروف موقع الحقن المحاكاة عن طريق استنفاد الفينول و/أو ميتا كريسول، على التوالي، وتبادل المحلول المنظم في المحلول المنظم من السائل الخلالي المحاكى. أدى هذا الإجراء افتراضياً إلى إزالة كل المركبات الترابطية الفينولية إلا أنه حافظ على نسبة الزنك/الأنسولين الخاصة بالصيغة الرئيسية.

5 يتم إجراء تبادل للمحلول المنظم في الصيغ في المحلول المنظم من السائل الخلالي (-ISF) عبر العمود PD-MidiTrap G-25 وفقاً لبروتوكول المُصنَّعين.

10 يتم توازن الأعمدة باستخدام المحلول المنظم المستهدف عن طريق غسيل العمود باستخدام حجم كاف من المحلول المنظم المستهدف، ويتم استخدام الصيغة بحجم ملائم وتصفيتهاتتابعياً باستخدام المحلول المنظم المستهدف. يتكون المحلول المنظم ISF من 140 مللي مولار من NaCl، 4 مللي مولار من KCl، 1 مللي مولار من MgSO₄، 2 مللي مولار من CaCl₂، 10 مللي مولار من Hepes، الرقم الهيدروجيني 7.4.

15 ما لم يُذكر ما يخالف ذلك، كان الإجراء كالتالي:

تبادل المحلول المنظم عند 22 درجة مئوية؛

عملية حضانة تالية عند 37 درجة مئوية لمدة 14-18 ساعة؛ و

عملية قياس تالية عند 22 درجة مئوية (فيما عدا إذ ذكر شيء بخلاف ذلك).

نمطياً تم إجراء عمليات القياس بعد حوالي 1 ساعة من إنهاء عملية الحضانة عند 37 درجة

20 مئوية. إذا لم يكن هذا ممكناً، يتم تخزين العينات عند 22 درجة مئوية حتى القياس.

ما لم يُذكر ما يخالف ذلك، يتم قياس العينات غير مخففة. ينبغي ملاحظة أن حجم الأوليجومر الناتج من إجراء استنفاد الفينول الموصوف يكون معتمداً على العملية، وبالنسبة لصيغة محددة فإنه

قد يتنوع بوجود عوامل مثل الزمن، درجة الحرارة، ودفعة العمود. لهذا، يكون من المطلوب أن تتم مقارنة عمليات القياس لمجموعة متوفرة من الصيغ في نطاق نفس التجربة وليس عبر التجارب. لهذا، لنفس المرجع تم اختبار الصيغة مع الصيغة المتنوعة الخاصة بالاختراع في تجارب مختلفة. على سبيل المثال، الصيغة أ في مقابل الصيغة ب وج؛ الصيغة 01 في مقابل الصيغ 02-06.

5 تم قياس متوسط نصف القطر الهيدروديناميكي الواضح (rH) بواسطة تشتيت الضوء الديناميكي

(DLS)، باستخدام DynaPro PR™ (Wyatt technology, Santa Barbara, CA,)

(USA USA). قبل التحليل تم إجراء طرد مركزي للعينات لمدة 5 دقائق عند 1200 لفة في

الدقيقة لإزالة أية جسيمات من الغبار في المحلول. تم إجراء عمليات القياس عند 25 درجة مئوية باستخدام 40 عملية اكتساب وزمن اكتساب يبلغ 2 ثانية.

10 متوسط الوزن الجزيئي الواضح (kDa) المقاس بواسطة تدرج التركيبية، تشتيت الضوء الاستاتيكي

متعدد الزوايا (CG-MALS) باستخدام نظام يتكون من وحدة معايرة من نوع Wyatt

Technology Corporation (WTC) Calypso II مقترنة بكاشف عن تشتيت الضوء من نوع

WTC DAWN8+ (يعمل عند 664 نانو متر) ومقياس الانكسار من نوع WTC Optilab T-

REX (يعمل عند 660 نانو متر) عند 25 درجة مئوية. تم ترشيح العينات من خلال مرشح 0.45

15 ميكرو متر متبوعاً بمرشح 0.22 ميكرو متر قبل القياس.

تم إجراء تجارب سرعة الترسيب (SV) باستخدام XL-I Analytical Ultracentrifuge

(BeckmanCoulter, Brea, CA) في قطع مركزية مزدوجة القطاع 12 مم أو 3 مم مغطاة

باستخدام بنوافذ بلون الزفير. تم تدوير العينات بسرعة عند 40000 لفة في الدقيقة و20 درجة

مئوية حتى اكتمال الترسيب ومراقبتها باستخدام بصريات التداخل الخاصة بأداة القياس. تم حساب

20 توزيعات معامل الترسيب (SCD) باستخدام SedFit، الإصدار 11.8

(www.analyticalultracentrifugation.com) باستخدام نموذج c(s) بشبكة من 100 قيمة

s على مدار نطاق كافي لوصف كل المادة المترسبة، كما يُقدر rmsd ونموذج التشغيل المتبقي.

تمت معاملة نسبة الاحتكاك f/fo باعتبارها متغير يتم الوصول به للمستوى الأمثل أثناء المواءمة

(P Schuck, MA Perugini, NR Gonzales, GJ Howlett and D Schubert: Size-

25 distribution analysis of proteins by analytical ultracentrifugation: strategies

على متوسط قيم معامل الترسيب عبر تضمين توزيعات $c(s)$ الناتجة. تم الحصول (and application to model systems; (Biophys. J. 2002 82:1096).

تم قياس قيم اللزوجة الديناميكية المعتمدة على درجة الحرارة باستخدام مقياس اللزوجة من النوع الكرة الدوّارة Lovis2000 (Anton Paar, Graz, Austria). تم خفض درجة الحرارة من 40 درجة مئوية إلى 4 درجة مئوية في خطوات تبلغ 2 درجة مئوية، مما يسمح بـ 5 دقائق من توازن درجة الحرارة فيما بين الخطوات. تم قياس كثافة المحلول المنظم في نفس الوقت باستخدام مقياس كثافة من نوع DMA5000، أيضًا من Anton Paar.

تم تحضير ثلاث صيغ أحادية، أي الصيغة أ الممثلة للفن السابق (انظر على سبيل المثال الطلب الدولي 153000/2013)، والصيغتين ب، ج الممثلتين للاختراع (60 مللي مولار من الفينول/10 مللي مولار من m-كريزول).

الجدول 1أ: الصيغ الأحادية المقارنة أ، ب، وج

المُكوّن	الصيغة أ الممثلة للفن السابق	الصيغة ب الممثلة للاختراع	الصيغة ج الممثلة للاختراع
المركب 1	4200 نانو مول/مليلتر (4.2 مللي مولار)	4200 نانو مول/مليلتر (4.2 مللي مولار)	4200 نانو مول/مليلتر (4.2 مللي مولار)
الزنك (في صورة زنك أسيتات)	206 ميكرو جرام/مليلتر (~4.5 من Zn^{++} /وحدة سداسية)	110 ميكرو جرام/مليلتر (~2.4 Zn^{++} /وحدة سداسية)	101 ميكرو جرام/مليلتر (~2.2 Zn^{++} /وحدة سداسية)
جليسرول	16 مجم/مليلتر (1.6%)	15 مجم/مليلتر (1.5%)	15 مجم/مليلتر (1.5%)

فينول	2.35 مجم/مليلتر (25 مللي مولار)	5.65 مجم/مليلتر (60 مللي مولار)	5.65 مجم/مليلتر (60 مللي مولار)
ميتا-كربزول	2.70 مجم/مليلتر (25 مللي مولار)	1.08 مجم/مليلتر (10 مللي مولار)	1.08 مجم/مليلتر (10 مللي مولار)
صوديوم كلوريد	1.17 مجم/مليلتر (20 مللي مولار)	1.17 مجم/مليلتر (20 مللي مولار)	1.17 مجم/مليلتر (20 مللي مولار)
الرقم الهيدروجيني	7.4	7.4	7.4

تم إعداد ست صيغ أحادية أخرى، أي الصيغة 01 (مثل الصيغة أ)، والصيغ 02، 03، 04، 05 و 06 الممثلة للاختراع، (الجدول 1ب). لقد تم تنويع محتوى الزنك من 4.5 من Zn^{++} /ست وحدات من الأنسولين إلى 2.4، 2.2، و 2.0 Zn^{++} /ست وحدات من الأنسولين. بالإضافة إلى ذلك، فقد تم اختبار النظم الحافظة البالغة إما 25/25 مللي مولار من الفينول/m-كربزول أو 0/60 مللي مولار من الفينول/m-كربزول.

5

الجدول 1ب: الصيغ المقارنة

الصيغة						المُكوّن
06	05	04	03	02	*01	
4.2	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2	المركب 1 (مللي مولار)
92	110	101	101	206	206	Zn (أسيئات) 2 (ميكرو جرام/مليلتر)
2.0~	2.4~	2.2~	2.2~	4.5~	4.5~	6/n Zn أنسولين (مول/مول)

فينول	25 مللي مولار	60 مللي مولار	25 مللي مولار	60 مللي مولار	60 مللي مولار	60 مللي مولار
m-كريزول	25 مللي مولار	0	25 مللي مولار	0	0	0
جليسرول	%1.6	%1.5	%1.6	%1.5	%1.5	%1.5
المادة الناقلة (كل الصيغ) 20 مللي مولار من NaCl الرقم الهيدروجيني 7.4						

* مثل الصيغة أ

حجم الأوليغومر المحسن الخاص بالصيغ الأحادية ذات المحلول المنظم المتبادل المحتوية على 60 مللي مولار من الفينول و 10 m-كريزول (الجدول 2أ؛ الشكل، 1أ، 1ب، و 1ج)

الجدول 2أ: حجم الأوليغومر عند موقع الحقن المحاكى

أ	ب	ج	
37.31	9.21	8.37	Rh(avg) [نانو متر]
17.32	10.53	9.41	[S] S*(avg)
1059.8	190.5	184.7	Mw (avg) [كيلو دالتون]

5 حجم الأوليغومر المحسن الخاص بالصيغ الأحادية ذات المحلول المنظم المتبادل المحتوية على 60 مللي مولار من الفينول وصفر m-كريزول (الجدول 2ب؛ الشكل 2أ و 2ب)

الجدول 2ب: حجم الأوليجومر عند موقع الحقن المحاكى

06	05	04	03	02	01	
3.98	5.20	4.51	5.83	14.20	19.42	Rh(avg) [نانو متر]
4.32	5.33	4.78	5.39	11.00	8.46	[S] S*(avg)

الاستنتاج

تم تقليل محتوى الزنك من 4.5 من Zn^{++} ست وحدات من الأنسولين في الصيغة أ إلى 2.4 و 2.2 Zn^{++} ست وحدات من الأنسولين في الصيغتين ب وج (مع فينول متزايد وميتا كريسول مخفض) على التوالي. كان هذا الانخفاض في الزنك مصحوبًا بانخفاض حجم الأوليجومر (انظر الشكل 1أ، 1ب و 1ج) كما يُحدد عند ظروف موقع الحقن المحاكاة بواسطة الطريقة الموصوفة فيما سبق.

أكدت النتائج من الصيغة 01-06 بشكل إضافي أنه تم تقليل حجم الأوليجومر عندما تم تقليل Zn من 4.5 من Zn^{++} ست وحدات من الأنسولين إلى 0.2 ± 2.2 من Zn^{++} ست وحدات من الأنسولين. بالنسبة لـ 0.2 ± 2.2 من Zn^{++} ست وحدات من الأنسولين يتم تقليل حجم الأوليجومر بشكل إضافي عندما يتم تقليل الفينول/الكريسول من 25 مللي مولار/25 مللي مولار إلى 60 مللي مولار/صفر مللي مولار. انظر الشكل 2أ و 2ب.

اللزوجة المحسنة الخاصة بالصيغ الأحادية ذات المحلول المنظم المتبادل المحتوية على 60 مللي مولار من الفينول و 10 مللي مولار من m-كريسول (انظر الجدول 3أ؛ الشكل 3أ و 3ب)

الجدول 3أ: لزوج الصيغ ذات المحلول المنظم المتبادل أ، ب، ج

اللزوجة النوعية	اللزوجة الديناميكية (سنتي بواز)	
الصيغة	الصيغة	

ج	ب	أ	المحلل المنظم ISF	ج	ب	أ	درجة الحرارة (درجة مئوية)
0.038 02	0.046 28	0.973 55	0.605	0.6 28	0.6 33	1.1 94	40
0.041 47	0.051 04	1.167 46	0.627	0.6 53	0.6 59	1.3 59	38
0.044 55	0.055 3	1.377 88	0.651	0.6 8	0.6 87	1.5 48	36
0.047 27	0.060 56	1.596 75	0.677	0.7 09	0.7 18	1.7 58	34
0.051 14	0.066 76	1.825 28	0.704	0.7 4	0.7 51	1.9 89	32
0.054 57	0.073 67	2.051 84	0.733	0.7 73	0.7 87	2.2 37	30
0.057 52	0.078 43	2.275 82	0.765	0.8 09	0.8 25	2.5 06	28
0.061 4	0.085 21	2.498 75	0.798	0.8 47	0.8 66	2.7 92	26
0.064 67	0.089 82	2.710 18	0.835	0.8 89	0.9 1	3.0 98	24

0.068 65	0.096 11	2.900 46	0.874	0.9 34	0.9 58	3.4 09	22
0.072 05	0.102 62	3.070 96	0.916	0.9 82	1.0 1	3.7 29	20
0.075 88	0.108 11	3.211 02	0.962	1.0 35	1.0 66	4.0 51	18
0.079 05	0.112 65	3.269 76	1.012	1.0 92	1.1 26	4.3 21	16
0.081 61	0.117 26	3.312 38	1.066	1.1 53	1.1 91	4.5 97	14
0.084 44	0.121 78	3.324 44	1.125	1.2 2	1.2 62	4.8 65	12
0.086 55	0.124 37	3.311 76	1.19	1.2 93	1.3 38	5.1 31	10
0.088 89	0.127 78	3.261 11	1.26	1.3 72	1.4 21	5.3 69	8
0.089 69	0.131 54	3.180 12	1.338	1.4 58	1.5 14	5.5 93	6
0.092 7	0.132 02	3.069 52	1.424	1.5 56	1.6 12	5.7 95	4

اللزوجة المحسنة الخاصة بالصيغ الأحادية ذات المحلول المنظم المتبادل المحتوية على 60 مللي

مولار من الفينول وصفر من m-كربزول (انظر الجدول 3ب؛ الشكل 3ج و3د)

الجدول 3ب: لزوجة الصيغ ذات المحلول المنظم المتبادل 02، 03 و 04

اللزوجة النوعية			اللزوجة الديناميكية (سنتي بواز)				
الصيغة			الصيغة				
04_	03_	02_	04_	03_	02_	ISF	
0.0538	0.2944 9	0.7764 6	1.627 8	1.999 6	2.744 1	1.544 7	3.9 9
0.05395	0.2767 2	0.7285 9	1.529 6	1.852 9	2.508 7	1.451 3	6
0.05458	0.2697 5	0.7187 6	1.441 4	1.735 5	2.349 2	1.366 8	8
0.05404	0.2646 1	0.7333	1.361 5	1.633 5	2.238 9	1.291 7	10
0.05611	0.2653	0.7711 5	1.289 4	1.544 8	2.162 4	1.220 9	12
0.05712	0.2702 7	0.8241 5	1.221 5	1.467 8	2.107 8	1.155 5	14
0.05708	0.2842 9	0.8812 8	1.157 5	1.406 3	2.06	1.095	16
0.05615	0.2996 2	0.9270 2	1.098 4	1.351 6	2.004 1	1.04	18

0.05428	0.3154 8	0.9478 4	1.043	1.301 4	1.927	0.989 3	20
0.05232	0.3233 6	0.9474 7	0.991 6	1.247	1.835 1	0.942 3	22
0.05072	0.3281 1	0.9153 6	0.944 7	1.194 1	1.722 1	0.899 1	24
0.04832	0.3279	0.8595 7	0.900 3	1.140 4	1.597	0.858 8	26
0.04601	0.3205 9	0.7950 3	0.859 4	1.085	1.474 8	0.821 6	28
0.04448	0.3024 5	0.7293 2	0.821 9	1.024 9	1.360 8	0.786 9	30
0.04282	0.2875 1	0.6694 1	0.786 7	0.971 3	1.259 4	0.754 4	32
0.04158	0.2729 7	0.6098 9	0.754	0.921 5	1.165 4	0.723 9	34
0.03312	0.2491 4	0.5412 6	0.723 6	0.874 9	1.079 5	0.700 4	36
-E4.32- 04	0.1970 9	0.4425 3	0.694 8	0.832 1	1.002 7	0.695 1	38

0.0598-	0.1153 8	0.3149	0.668 2	0.792 7	0.934 5	0.710 7	40
---------	-------------	--------	------------	------------	------------	------------	----

الاستنتاج

أظهرت هذه التجارب أن لزوجة الصيغة عند ظروف موقع الحقن المحاكاة وفقاً لهذه الطريقة تكون معتمدة بشكل كبير على محتوى الزنك بحيث يؤدي تقليل نسبة الزنك إلى لزوجة أقل.

المثال 2

5 tmax و t1/2 للاستبعاد

tmax تمثل الزمن إلى التركيز الأقصى (التعرض للبلازما الأقصى)، و t1/2 تمثل العمر النصفى للاستبعاد حيث يختفي نصف المركب من البلازما بعد الإعطاء.

تكون الخصائص البيولوجية الفيزيائية المتغيرة الموصوفة في المثال 1 متوافقة مع مواصفة PK تُظهر tmax مبكر في الخزائير (انظر الجدول 3). يوضح هذا أنه يتم تقليل زمن البقاء الخاص بالمركب 1 تحت الجلد عند صياغته وفقاً للاختراع، وعلى النقيض من نفس المركب الذي يتم توفيره في صيغة وفقاً للفن السابق.

على نحو مثير للدهشة، لا يكون لمستوى الزنك المخفض أي تأثير على مدة التأثير (أي لا يتم التأثير على t1/2 للاستبعاد)، مما يجعل الصيغة وفقاً للاختراع والصيغة الخاصة بالفن السابق ملائمتين على نحو مساوي للإعطاء مرة أسبوعياً.

15 الجدول 4

الصيغة	الأنواع	tmax (بالساعات)	t1/2 (بالساعات)
المركب 1، الصيغة أ	خزير	20	47
	إنسان	42	185

			4.5 من الزنك/وحدة سداسية، 25 مللي مولار من الفينول، 25 مللي مولار من m-كريزول
45	8	خنزير	المركب 1، الصيغة ج 2.2 من الزنك /وحدة سداسية، 60 مللي مولار من الفينول، 10 مللي مولار من m-كريزول، 20 مللي مولار من NaCl

الاستنتاج

أظهرت هذه التجارب أنه تم تقليل زمن البقاء تحت الجلد (t_{max}) الخاص بالمركب 1 بشكل كبير كنتيجة لتقليل Zn^{++} /وحدة سداسية. تكون الملاحظة متوافقة مع البيانات المقدمة في المثال 1، التي تُظهر انخفاض حجم الأوليجومرات المتكونة عند ظروف موقع الحقن المحاكاة.

5 ومن ثم، عند صياغته وفقاً للاختراع، يُكوّن المركب 1 أوليجومرات أصغر عند موضع الحقن مما يؤدي إلى مواصفة PK/PD بزمن بقاء أقصر تحت الجلد (t_{max} مخفض).

ولكن على نحو مثير للدهشة، بالرغم من أنه تم تقليل زمن البقاء تحت الجلد (t_{max}) الخاص بالمركب 1 بشكل كبير، حافظت عمليات التكوين الخاصة بالاختراع على نفس العمر النصفى للاستبعاد (لم يتأثر $t_{1/2}$ للاستبعاد). يعني هذا أن الصيغ الخاصة بالاختراع يمكن أن تُيسر مشتقات الأنسولين طويلة المفعول للوصول بسرعة أكبر إلى التركيز الأقصى في الدورة الدموية، بينما يستمر الحفاظ على التركيز الأقصى مع المدة الأطول.

أدى هذا الاكتشاف غير المتوقع إلى إمكانية الحد من تكوين أوليجومرات كبيرة عند موقع الحقن، بينما يستمر الحفاظ على مدة تأثير طويلة تبدأ بمواصفة الإعطاء مرة أسبوعياً. قد يؤدي تكوين أوليجومرات كبيرة بلزوجة عالية عند موضع الحقن إلى انزعاج عند الحقن.

15 المثال 3

حالة تشكيلية محسنة في الصيغة

بوجود الزنك، يوجد الأنسولين البشري في صورة وحدات سداسية في الصيغة. يمكن أن تتخذ الوحدات السداسية من الأنسولين البشري حالتين تشكيليتين مختلفتين اعتمادًا على تشكيل المونومرات. يمكن أن تكون الوحدات البنائية الثمانية للحمض الأميني عند الطرف N الخاصة بالسلسلة B لمونومر الأنسولين بتشكيل متمد (الحالة T) أو تشكيل إهليجي α (الحالة R). في وجود الفينول و NaCl، يتخذ الأنسولين البشري التشكيل R، الذي يعتبر التشكيل المفضل فيما يتعلق بالثبات الفيزيائي والكيميائي Dunn MF. Zinc-ligand interactions modulate assembly and stability of the insulin hexamer: A review. Biometals 2005; 18; 295-303.

البروتوكول

10 تلت التغييرات التشكيلية الخاصة بالوحدة السداسية من الأنسولين CD-signature 251 نانو متر Krüger P, Gilge G, Cabuk Y and Wollmer A; Biol. Chem. Hoppe-Seyler) 669-673 371 (1990). تم قياس العينات باستخدام أداة القياس Jasco 815 وطول مسار يبلغ 0.02 سم. تم طرح عينات المعايرة الخالية وتم تخطيط $\Delta\epsilon$ الناتج 251 نانو متر في مقابل Zn/6Ins (مول/مول).

15 الحالة التشكيلية للصيغ الأحادية المحتوية على 60 ملي مولار من الفينول/صفر m-كريزول يتم عرض الحالة التشكيلية للصيغ 01-06 في الجدول 5 والشكل 4.

الجدول 5: ميل الحالة التشكيلية في الصيغة 01-06 باستخدام 60 ملي مولار من الفينول/صفر m-كريزول

الصيغة	01	02	03	04	05	06
ميل الحالة R	-	-	-	-	-	-
$\Delta\epsilon$ (1-M 1-سم) @ 251 نانو متر	6.15-	6.65	7.63	8.12-	7.98-	8.19

الشكل 4 يعرض التغيرات التشكيلية (الحالة T؛ الحالة TR المختلطة؛ الحالة R) كدالة على Zn^{++} لكل ست وحدات من الأنسولين (مول:مول) للصيغ 01-06.

الحالة التشكيلية للصيغ الأحادية المحتوية على 60 مللي مولار من الفينول و 10 مللي مولار من m-كريزول

- 5 تم تحضير سلسلتين من الصيغ. تكونت كل الصيغ من 4.2 مللي مولار من المركب 1، 16 مجم/مليلتر (1.6%) من الجليسرول، 20 مللي مولار من NaCl، برقم هيدروجيني يبلغ 7.4. تكونت صيغ السلسلة ب من 60 مللي مولار من الفينول و 10 مللي مولار من m-كريزول، بمستوى زنك متنوع يبلغ 1.5 (ب1)، 2.0 (ب2)، 2.3 (ب3)، 2.5 (ب4)، 3.0 (ب5)، و 4.0 (ب6) لكل 6 أنسولين. تكونت السلسلة د من 25 مللي مولار من الفينول و 25 مللي مولار من m-كريزول، بمستوى زنك متنوع يبلغ 1.5، 2.0، 2.3، 2.5، 3.0، 4.0 و 4.5 لكل 6 أنسولين. تم أيضًا تحضير سلسلة من صيغ الأنسولين البشري، بمستوى زنك متنوع. يتم عرض الحالة التشكيلية في الجدول 5ب والشكل 4ب.

الجدول 5ب ميل الحالة التشكيلية في الصيغ ب1-ب6 باستخدام 60 مللي مولار من الفينول و 10 m-كريزول، والصيغ د1-د7 باستخدام 25 مللي مولار من الفينول و 25 m-كريزول

ميل الحالة R	السلسلة ب	السلسلة د
$\Delta\epsilon$ (1-M 1-سم) @ 251 نانو متر		
Zn/6Ins	10/60 فينول/كريزول	25/25 فينول/كريزول
1.5*	6.83- (ب1)	6.58- (د1)
2.0	7.67- (ب2)	7.06- (د2)
2.3	7.42- (ب3)	6.88- (د3)

2.5	7.23- (ب4)	6.67- (د4)
3.0	7.54- (ب5)	6.45- (د5)
4.0	6.72- (ب6)	5.58- (د6)
4.5	غير متاح	5.03- (د7)

* غير متضمن في الشكل 4ب

يعرض الشكل 4ب التغييرات التشكيلية (الحالة T؛ الحالة TR المختلطة؛ الحالة R) كدالة على Zn^{++} لكل ست وحدات من الأنسولين (مول:مول) لصيغ السلسلة ب والسلسلة د، وصيغ الأنسولين البشري.

5 الاستنتاج

أظهرت بيانات CD بالقرب من الأشعة فوق البنفسجية أن التشكيل T/R الخاص ب المركب 1 كان معتمدًا على تركيز الزنك. كان انخفاض في الزنك مصحوبًا بتغير في الحالة التشكيلية للمركب 1 في الصيغة من حالة T/R مختلطة إلى الحالة R، الأمر الذي كان مصحوبًا أيضًا بمستوى أعلى من الوحدة السداسية المتكونة في الصيغ (انظر المثال 4 التالي). تم تعزيز الحالة R ومستوى الوحدة السداسية بشكل إضافي بواسطة تغير في نسبة الفينول/الميتا-كريزول من 25/25 مللي مولار إلى 10/60 مللي مولار (الشكل 4ب).

أظهرت بيانات الصيغ 06-01 أنه يتم إثراء الحالة R الخاصة بالمركب 1 في الصيغ بشكل إضافي عن طريق تقليل Zn من 4.5 إلى $Zn \pm 2.2$ 6/Zn0.2 المركب 1 وعن طريق حذف m-كريزول (الشكل 4أ).

15 المثال 4

توزيع الأوليجومر المحسن في الصيغة

البروتوكول

يعتبر استشراب الاستبعاد على أساس الحجم طريقة حساسة لتحديد كم توزيع الأوليغومر غير التساهمي الخاص بصيغ الأنسولين. تم إجراء SEC باستخدام عمود BEH200، 1.7 ميكرو متر 4.6×150 مم مع محلول منظم للتشغيل يتكون من 8.0 مللي مولار من الفينول، 140 مللي مولار من NaCl، 10 مللي مولار من Tris-HCl، الرقم الهيدروجيني 7.4. تم إجراء الاستشراب عند 22 درجة مئوية باستخدام حجم حقن يبلغ 2 ميكرو لتر وتدفق يبلغ 0.3 مللي لتر/دقيقة. كموا 5 قياسية ذات وزن جزيئي تم استخدام ألبومين، وحدة أنسولين سداسية تساهمية، وأنسولين مونومري. تم تحليل مخططات الاستشراب عن طريق التضمين لتمثيل الأنواع الأكبر من الوحدة السداسية (3.0-3.8 دقيقة)، الوحدة السداسية (3.8-4.3 دقيقة)، والأنواع الأصغر من الوحدة السداسية (4.3-5.5 دقيقة). برجا ملاحظة أن حدود التضمين الدقيقة لكل مجموعة بيانات ستتوحد على نحو طفيف بسبب التتويجات في أداء العمود. 10

تم تجميع بيانات تشتيت الأشعة السينية صغير الزاوية (SAXS) باستخدام أداة قياس من نوع BioSAXS-2000 مزودة بخلية تدفق وكاشف من نوع Dectris 100K يغطي نطاق q يبلغ 0.008-0.661 أنجستروم⁻¹. تم طرح قياسات المحلول المنظم من قياسات العينة للحصول على مواصفات تشتيت البروتين. تم تجميع البيانات من عينة مرجعية من الأنسولين البشري في حالة وحدة سداسية بتشكيل R وفقاً لنفس الإجراء، من عينة تبلغ 0.6 مللي مولار من الأنسولين البشري، 3 من Zn^{++} ست وحدات من الأنسولين، 16 مللي مولار من الفينول، 20 مللي مولار من NaCl و 7 مللي مولار المحلول المنظم بالفوسفات الرقم الهيدروجيني 7.4. 15

توزيع الأوليغومر للصيغ المشتتة على 60 مللي مولار من الفينول وصفر m-كربونول لقد تم الحصول على مخطط الاستشراب SEC الأصلي الذي يُقارن الصيغ 01، 02، 03، 04، 05، و 06 (انظر الجدول 6 والشكل 5أ). 20

الجدول 6: توزيع الأنواع كما تم الحصول عليها بواسطة SEC الأصلي عن طريق تضمين مخططات الاستشراب

الصيغة	تعيين الذروة	
--------	--------------	--

06	05	04	03	02	01		
% للأنواع في الصيغة							
0.2	0.7	0.6	1.1	9.4	8.8	الأكبر من الوحدة السداسية	3.8-3.0) (دقيقة)
98.9	95.9	98.1	95.1	48.9	34.5	الوحدة السداسية	4.3-3.8) (دقيقة)
0.9	3.5	1.3	3.8	41.7	56.8	الأصغر من الوحدة السداسية	5.5-4.3) (دقيقة)

توزيع الأوليجومر للصيغ المشتملة على 60 مللي مولار من الفينول و10 مللي مولار من m-
كريزول

لقد تم الحصول على مخطط الاستشراب SEC الأصلي الذي يُقارن الصيغ ب1-ب6 والصيغة أ
(انظر الجدول 6 والشكل 5ب). تكون المساحة تحت المنحنى مشابهة لكل مخططات الاستشراب.
5 تم تحليل مخططات الاستشراب عن طريق التضمين لتمثيل الأنواع الأكبر من الوحدة السداسية
(3.8-3.0 دقيقة)، الوحدة السداسية (3.8-4.3 دقيقة)، والأنواع الأصغر من الوحدة السداسية
(4.3-5.5 دقيقة). برجاء ملاحظة أن حدود التضمين الدقيقة لكل مجموعة بيانات ستتنوع على
نحو طفيف بسبب التتويجات في أداء العمود.

الجدول 7: توزيع الأوليجومر بواسطة SEC

الصيغة							تعيين الذروة
1ب	2ب	3ب	4ب	5ب	6ب	أ	

% للأنواع في الصيغة							
18.2	4.9	2.2	0.7	0.8	0.5	0.2	الأكبر من الوحدة السداسية
22.0	41.8	65.5	82.1	86.7	94.8	80.3	الوحدة السداسية
59.8	53.3	32.3	17.2	12.5	4.8	19.5	الأصغر من الوحدة السداسية

الاستنتاج

تُظهر بيانات SEC الخاصة بالصيغ 01-06 (الجدول 6، الشكل 15) أنه يتم تمييز توزيع الأوليجومر الخاص بالمركب 1 الصيغة 01 بواسطة نطاقات شاملة بدون أنواع أوليجومر واضحة سائدة. يعتبر توزيع الأوليجومر الخاص بالمركب 1 في الصيغ 03-06 محدودًا بصورة أكبر مقارنة بالصيغ 01 و02. يكون زمن الاحتجاز الخاص بصيغ الذروة الرئيسية 03-06 متوافقًا مع وحدة سداسية وتكون الذروة الصغيرة ذات زمن الاحتجاز البالغ 5 دقائق متوافقة مع مونومر أو دايمر.

تُظهر أيضًا بيانات SEC الخاصة بالصيغ ب1-ب6 وأ (الجدول 7، الشكل 5ب) أنه باستخدام 2.0-2.5 زنك/6 وحدات أنسولين، يتم إثراء ذروة الوحدة السداسية، مقارنة بقيمة 4.0 أو 4.5 من Zn.

لهذا، يتم إثراء ذروة الوحدة السداسية عند محتوى الزنك المنخفض (على سبيل المثال، من 2.0 من Zn إلى 2.5 من Zn) مقارنة بمحتوى الزنك العالي (على سبيل المثال 4.0 أو 4.5 من Zn). لكل من 4.5 من Zn و2.2 من Zn يتم إثراء الوحدة السداسية عند 60 مللي مولار/صفر أو 10 مللي مولار من فينول-m-كربزول بالنسبة إلى 25/25 مللي مولار من الفينول-m-كربزول. عند صياغتها وفقًا للاختراع تتم زيادة محتوى الوحدة السداسية وتصبح عملية التحويل إلى أوليجومرات أكثر تحديدًا بصورة جيدة.

تؤكد أيضًا بيانات SAXS أن نموذج التحويل إلى أوليجومرات الخاص بالصيغة أ للمركب 1 باستخدام 4.5 من Zn^{++} /وحدة سداسية لا يشبه الوحدة السداسية التقليدية من الأنسولين البشري بينما تعتبر صيغة بنائية معتمدة على وحدة سداسية خاصة بالمركب 1 سائدة في الصيغة ج (الشكل 6). عند صياغته وفقًا للاختراع (الصيغة ج) يصبح نموذج التحويل إلى أوليجومرات أكثر تحديدًا بصورة جيدة ومتوافقًا مع الصيغة البنائية المعتمدة على الوحدة السداسية المشابهة للأنسولين البشري.

المثال 5

الثبات الكيميائي والثبات الفيزيائي المحسنين

أظهرت النتائج التجريبية في هذا المثال أنه يتم تحسين كلا الثبات الكيميائي والثبات الفيزيائي للمركب 1 للصيغ الجديدة مقارنة بالصيغة أ المرجعية. تحديدًا، بمستوى عالي من الفينول ومستوى منخفض من m-كريزول، يزداد كلا الثبات الكيميائي والثبات الفيزيائي للمركب 1 عندما ينخفض تركيز الزنك.

البروتوكول

تم تحديد النقاء بواسطة استشراب بوسائل عالي الأداء على نحو فائق بطور عكسي (RP-UHPLC) حيث تم تحليل العينات باستخدام فلورو فينيل من نوع Acquity CSH، 130 أنجستروم، 1.7 ميكرو متر، عمود 2.1×150 مم، الفصل التتابعي لتدرج بواسطة أسيتو نيتريل في طور متحرك من أسيتو نيتريل ومحلول منظم بالفوسفوريك في الماء مع كاشف لاحق بالأشعة فوق البنفسجية (215 نانومتر) في ظل تدفق يبلغ 0.30 مليلتر/دقيقة بحجم حقن عينة يبلغ 2-3 ميكرو لتر. تم تقييم النقاء باعتباره مساحة الذروة الرئيسية مقسومة على مساحة كل الذروات $\times 100\%$.

الثبات الكيميائي لصيغة المركب 1 باستخدام 60 مللي مولار من الفينول و 10 مللي مولار من m-كريزول

يُظهر الثبات المقاس باعتباره % لنقاء إجمالي الببتيد مع RP-UHPLC ثباتًا متزايدًا بشكل كبير للمركب 1 في الصيغة ب والصيغة ج، التي تتكون من 60 مللي مولار من الفينول و 10 مللي مولار من m-كريزول، مقارنة بالصيغة أ للمركب 1، التي تتكون من 25 مللي مولار من الفينول و 25 مللي مولار من m-كريزول. انظر الجدول 8 والشكل 7أ.

5 الجدول 8: % لنقاء المركب 1

الصيغة	زمن التخزين عند 30 درجة مئوية (بالشهور)			
	صفر	1	2	3
أ	95.4	93.8	93.3	91.3
ب	95.3	94.3	95.0	94.3
ج	95.7	94.7	95.0	94.6

الثبات الكيميائي لصيغ المركب 1 باستخدام 60 مللي مولار من الفينول وصفر m-كريزول

يؤكد ثبات الصيغ المقدمة في الجدول 9 المقاس باعتباره % لنقاء إجمالي الببتيد مع RP-UHPLC بشكل إضافي أن الثبات الكيميائي للمركب 1 يزداد كدالة على تركيز الزنك في الصيغ مع مستوى عالي نسبيًا من الفينول ومستوى منخفض من m-كريزول. تُظهر النتائج ثباتًا متزايدًا للمركب 1 عندما تم تقليل الزنك من 4.5 من Zn^{++} /ست وحدات من الأنسولين إلى 2.4، 2.2 و 2.0 من Zn^{++} /ست وحدات من الأنسولين في الصيغ مع تغير في النظام الواقي من 25/25 مللي مولار من الفينول/m-كريزول إلى 60 مللي مولار من الفينول وصفر m-كريزول. انظر الجدول 9 والشكل 7ب.

الجدول 9: % لنقاء المركب 1

الصيغة	زمن التخزين عند 37 درجة مئوية (أسابيع)			
	صفر	2	4	6
01	97.5	96.1	94.3	92.8
04	97.4	96.7	96.0	95.3
05	97.6	96.7	96.0	95.3
06	97.3	96.7	96.0	95.2

الاستنتاج

عند صياغته وفقاً للاختراع (انظر الصيغ ب، ج، 04، 05، و06؛ الجدولين 8 و9، والشكل 7أ والشكل 7ب) يزداد الثبات الكيميائي مقارنة بالفن السابق (الصيغ أ والصيغة 01).

الثبات الفيزيائي

5 البروتوكول:

تم اختبار صيغ المركب 1 في طبق بعيار دقيق مكون من 96 عين بعدد 4 نسخ متطابقة من 200 ميكرو لتر. إلى 1.0 مليلتر من كل صيغة، تمت إضافة ThT (ثيو فلافين T) إلى 1 ميكرو مولار. تم إجراء تجربة ثيو فلافين (ThT) T بالنسبة للميل لتكوين لُييفات نشوانية على Thermo Fluoroskan، مع الرج بسرعة 960 لفة في الدقيقة، 37 درجة مئوية، لمدة 45 ساعة. تم فحص انبعاث ThT بالمسح قبل وبعد التجربة. يمثل زمن التأخير حتى بداية انبعاث فلورة ThT قياساً للثبات الفيزيائي. تم تحديد أزمنة التأخير من منحنيات الفلورة التي تم أخذ متوسط لها على مدار 4 نسخ مطابقة. يعد زمن تأخير أطول دالاً على ثبات فيزيائي أعلى.

ينبغي ملاحظة أن نتائج ThT التي تم الحصول عليها من البروتوكول الموصوف قد تختلف فيما بين التجارب. لهذا، يكون من المطلوب مقارنة القياسات لمجموعة متوفرة من الصيغ في نفس التجربة وليس عبر التجارب. في هذا المثال، تم اختبار نفس الصيغة المرجعية مع الصيغ المتنوعة

الخاصة بالاختراع في تجارب مختلفة. على سبيل المثال، الصيغة أ في مقابل الصيغة ج؛ الصيغة 01 في مقابل الصيغ 04-06.

يتم عرض أزمنة التأخير في الجدول 10 التالي. الصيغة أ أو الصيغة 01 باعتبارها الصيغة المرجعية للمقارنة.

5 يتم عرض النتائج في الجدول 10 أ والجدول 10 ب.

الثبات الفيزيائي للمركب 1 في الصيغ باستخدام 60 مللي مولار من الفينول و 10 m-كربزول

الجدول 10 أ: أزمنة التأخير ThT (1)

الصيغة أ	الصيغة ج	
10.0	11.3	زمن التأخير (بالساعات)

الجدول 10 ب: أزمنة التأخير ThT (2)

06	05	04	01	
45 <	13.3	29.3	9.7	زمن التأخير (بالساعات)

الاستنتاج

10 توضح أزمنة التأخير التي تم الحصول عليها في تجربة ThT أنه يتم تحسين الثبات الفيزيائي للمركب 1 في الصيغ ذات المستوى المنخفض من الزنك، المستوى العالي من الفينول، والمستوى المنخفض من m-كربزول. أظهرت البيانات أنه عند تقليل الزنك من 4.5 Zn/6Ins إلى 2.2 Zn/6Ins 0.2± والزيادة المصاحبة للفينول من 25 مللي مولار إلى 60 مللي مولار وتقليل m-كربزول من 25 مللي مولار إلى 10 مللي مولار أدى ذلك إلى زمن تأخير أطول وبالتالي ثبات

فيزيائي محسن. بإزالة m-كريزول، تم تحسين الثبات الفيزيائي للمركب 1 بشكل إضافي في الصيغ ذات مستوى الزنك المنخفض (انظر الجدول 10ب).

المثال 6

الصيغ المجمعة والثبات الكيميائي والفيزيائي لها

5 قد تتم صياغة المركب 1 على نحو مشترك مع سيماجلوتيد نظير GLP-1 مرة أسبوعيًا لتوليفة بنسبة ثابتة.

تم تحضير الصيغ المجمعة التالية من 1 إلى 6 من المركب 1 والسيماجلوتيد. تم أيضًا تحضير الصيغة الأحادية من المركب 1 باعتبارها الصيغة الأحادية المرجعية 1. يتم عرض القيم المستهدفة المطلوبة في الجدول 11، فيما يلي.

10 الجدول 11: الصيغ المجمعة من المركب 1 والسيماجلوتيد

الصيغة الأحادية المرجعية 1	الصيغة المجمعة 1	الصيغة المجمعة 2	الصيغة المجمعة 3	الصيغة المجمعة 4	الصيغة المجمعة 5	الصيغة المجمعة 6
المركب 1 (مللي مولار)	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2
سيماجلوتيد (مللي مولار)/	غير متاح	2./0.49 0	1./0.4 6	2./0.6 4	1.2/0.3 5	2./0.49 0

(مجم/ملليل تر)							
Zn(أسيتات 2(ملي مولار)	1.54	1.54	1.54	1.54	1.54	1.4	1.75
6/n Zn أنسولين	2.2~	2.2~	2.2~	2.2~	2.2~	2.0~	2.5~
60 مللي مولار من الفينول 10 مللي مولار من m-كريزول 1.5% جليسرول 20 مللي مولار من NaCl الرقم الهيدروجيني 7.4							المادة الناقلة (كل الصيغ)

تم قياس تركيزات المركب 1 والسيماجلوتيد في الصيغ المنتجة باستخدام RP-HPLC والمواد المرجعية. يتم ذكر هذه التركيزات في الجدول 12 وأ و12ب، فيما يلي.

الجدول 12أ: التركيزات المقاسة للمركب 1 والسيماجلوتيد

الصيغة الأحادية المرجعية 1	الصيغة المجموعة 1	الصيغة المجموعة 2	الصيغة المجموعة 3	الصيغة المجموعة 4	
4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	المركب 1

					(ملي مولار) المقاس
0.3	0.6	0.4	0.5	غير متاح	سيماجلوتيد (ملي مولار) المقاس

الجدول 12ب: التركيزات المقاسة للمركب 1 والسيماجلوتيد (دفعة منفصلة من الجدول 12أ)

الصيغة الأحادية المرجعية 1	الصيغة المجمعة 5	الصيغة المجمعة 6
المركب 1 (ملي مولار) المقاس	4.2	4.3
سيماجلوتيد (ملي مولار) المقاس	0.49	0.49

وبالتالي، تنحرف التركيزات المقاسة عن أقل من 3% من القيم المستهدفة المطلوبة.

تم أيضًا تحضير الصيغ المجمعة التالية I-VI من المركب 1 والسيماجلوتيد لاحقًا. تم تحضير

الصيغة الأحادية من المركب 1 باعتبارها الصيغة الأحادية المرجعية 2. يتم عرض القيم

5 المستهدفة المطلوبة في الجدول 13، فيما يلي.

الجدول 13

الصيغة الأحادية المرجعية 2	الصيغة المجمعة I	الصيغة المجمعة II	الصيغة المجمعة III	الصيغة المجمعة IV	الصيغة المجمعة V	الصيغة المجمعة VI
المركب 1 (ملي مولار)	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2
سيماجلوتيد (ملي مولار)/ (مجم/ملليل تر)	غير متاح	2/0.49 0.	2/0.49 0.	1./0.3 25	2/0.49 0.	1./0.3 25
Zn(أسيتات 2) (ميكرو جرام/ملليلتر)	101	206	101	101	110	110
6n Zn/ أنسولين	2.2~	4.5~	2.2~	2.2~	2.4~	2.4~

60 مللي مولار	60 مللي مولار	25 مللي مولار	60 مللي مولار	60 مللي مولار	25 مللي مولار	60 مللي مولار	فينول
0	0	25 مللي مولار	0	0	25 مللي مولار	0	m-كربون
1.5% جليسرول 20 مللي مولار من NaCl الرقم الهيدروجيني 7.4							المادة الناقلة (كل الصيغ)

الثبات الفيزيائي

البروتوكول:

- تم اختبار الصيغ في طبق بعيار دقيق مكون من 96 عين باستخدام 8 نسخ مطابقة من 200 ميكرو لتر. إلى 1.0 ملليلتر من كل صيغة، تمت إضافة ThT (ثيو فلافين T) إلى 1 ميكرو مولار. تم إجراء تجربة ثيو فلافين T (ThT) بالنسبة للميل لتكوين لُييفات نشوانية على Thermo 5 Fluoroskan، مع الرج بسرعة 960 لفة في الدقيقة، 37 درجة مئوية، لمدة 45 ساعة. تم فحص انبعاث ThT بالمسح قبل وبعد التجربة. يمثل زمن التأخير حتى بداية انبعاث فلورة ThT (تكوين لُييفات نشوانية) قياساً للثبات الفيزيائي. تم تحديد أزمنة التأخير من منحنيات الفلورة التي تم أخذ متوسط لها على مدار 8 نسخ مطابقة. تم اختبار أزمنة التأخير مرتين للصيغ المجمعة 1-4 والصيغ المجمعة 5 و6، على التوالي؛ ومع اختبار كل صيغ أحادية باعتبارها صيغة مرجعية، 10 لجعل النتائج قابلة للمقارنة. يعد زمن تأخير أطول دالاً على ثبات فيزيائي أعلى.
- تم اختبار الصيغة الأحادية المرجعية والصيغ المجمعة للمركب 1 في تجربة ثيو فلافين T (ThT) باستخدام طبق بعيار دقيق مكون من 96 عين بالنسبة للميل لتكوين لُييفات نشوانية.
- يتم عرض أزمنة التأخير في الجدول 14أ، 14ب، 14ج فيما يلي.

الجدول 14: أزمنة التأخير للصيغة المجمعة

الصيغة الأحادية المرجعية 1	الصيغة المجموعة 1	الصيغة المجموعة 2	الصيغة المجموعة 3	الصيغة المجموعة 4	
11.0	19.3	18.0	21.6	23	زمن التأخير (بالساعات)

الجدول 14ب: أزمنة التأخير للصيغة المجمعة

الصيغة الأحادية المرجعية 1	الصيغة المجمعة 5	الصيغة المجمعة 6	
9.9	20.6	45	زمن التأخير (بالساعات)

الجدول 14ج: أزمنة التأخير للصيغة المجمعة

الصيغة المجموعة I	الصيغة المجموعة II	الصيغة المجموعة III	الصيغة المجموعة IV	الصيغة المجموعة V	الصيغة المجموعة VI	الصيغة الأحادية المرجعية 2	
44.3	45	45	28.6	45	45	29.3	زمن التأخير (بالساعات)

الاستنتاج:

- 5 أوضحت تجربة ThT أنه بدون زيادة مستوى الزنك، لم تُعرض الصيغ المجمعة من المركب 1 والسيماجلوتيد الثبات الفيزيائي للمركب 1 للخطر مقارنة بذلك الخاص بالصيغة الأحادية للمركب 1. في حقيقة الأمر، كانت أزمنة التأخير الخاصة بالصيغ المجمعة أطول كثيراً من تلك الخاصة

بالصيغة الأحادية للمركب 1، مما يُظهر أن الصياغة المشتركة للمركب 1 مع السيماجلوتيد أدت في الحقيقة إلى تثبيت الصيغة تجاه تكوين الألياف النشواني غير المطلوب. مقارنة بالصيغة المجمعة من مشتق أنسولين آخر ممتد التأثير والمشتق GLP-1 (على سبيل المثال ديجلوديك وليراجلوتايد)، يعتبر هذا الاكتشاف غير متوقع ومثير للدهشة.

5 تُظهر نتائج الجدول 14 ج أن خفض مستوى m-كريزول يمكن أن يُحسن بشكل إضافي من الثبات الفيزيائي للصيغة المجمعة من المركب 1 والسيماجلوتيد؛ وتحسن زيادة مستوى الفينول أيضًا من الثبات الفيزيائي للصيغة المجمعة من المركب 1 والسيماجلوتيد.

تُظهر أيضًا نتائج الجدول 14 ج أنه عند صياغة المركب 1 على نحو مشترك مع السيماجلوتيد في صيغة وفقًا للاختراع، يزداد الثبات الفيزيائي للمركب 1، مقارنة باستخدام صيغة الفن السابق (الصيغة ا) للصيغة المجمعة من المركب 1 والسيماجلوتيد.

10

الثبات الكيميائي

البروتوكول

تم تحديد النقاء بواسطة استشراب بوسائل عالي الأداء على نحو فائق بطور عكسي (RP-UHPLC) حيث تم تحليل العينات باستخدام فلورو فينيل من نوع Acquity CSH، 130 أنجستروم، 1.7 ميكرو متر، عمود 2.1×150 مم، الفصل التتابعي لتدرج بواسطة أسيتو نيتريل في طور متحرك من أسيتو نيتريل ومحلول منظم بالفوسفوريك في الماء مع كاشف لاحق بالأشعة فوق البنفسجية (215 نانومتر) في ظل تدفق يبلغ 0.30 مليلتر/دقيقة بحجم حقن عينة يبلغ 2-3 ميكرو لتر. تم تقييم النقاء باعتباره مساحة الذروة الرئيسية مقسومة على مساحة كل الذروات $\times 100\%$.

15

20 تم قياس ثبات الصيغ المقدمة في الجدول 15 باعتباره % لنقاء إجمالي المركب 1 مع RP-UHPLC.

تؤكد النتائج ثبات كيميائي متزايد للمركب 1 في الصيغ المجمعة عندما يتم تقليل الزنك من 4.5 من Zn^{++} ست وحدات من الأنسولين إلى 2.4، 2.2 و 2.0 من Zn^{++} ست وحدات من

الأنسولين (الجدول 15، الشكل 8). يؤدي تغير في النظام الواقي من 25/25 مللي مولار من الفينول/m-كريزول إلى 60 مللي مولار من الفينول وصفر m-كريزول إلى تحسين إضافي في الثبات الكيميائي للمركب 1 في الصيغة المجمعة.

الجدول 15: نقاء المركب 1 في الصيغة المجمعة

الصيغة المجمعة	النقاء مع زمن التخزين عند 37 درجة مئوية (أسابيع)			
	صفر	2	4	6
I	%97.5	%96.1	%94.4	%92.9
II	%97.6	%96.6	%95.8	%95.0
III	%97.6	%96.7	%95.9	%95.2
IV	%97.2	%96.4	%95.4	%94.4
V	%97.3	%96.6	%95.9	%95.1
VI	%97.3	%96.6	%95.9	%95.2

5 الاستنتاج

عند الصياغة المشتركة للمركب 1 مع السيماجلوتيد في صيغة وفقاً للاختراع، يزداد الثبات الكيميائي للمركب 1، مقارنة باستخدام صيغة الفن السابق (الصيغة I) للصيغة المجمعة من المركب 1 والسيماجلوتيد.

المثال 7

10 خصائص PK للصيغ المشتركة مع السيماجلوتيد في نموذج PK لخنزير LYD

من الصيغ المنتجة في المثال 6، تم تمييز الصيغ الأحادية المرجعية والصيغة المجمعة 1 والصيغة المجمعة 2 من المركب 1 في نموذج حيواني لـ PK خاص بخنزير LYD. من المهم ألا

يتم تغيير متغيرات PK: t_{max} و $t_{1/2}$ للمركب 1، إضافة إلى متوسط زمن البقاء (MRT) للمركب 1 بشكل كبير عند الصياغة المشتركة مع السيماجلوتيد.

تم إجراء دراسة تَعَابُرِيَّة باستخدام 16 حيوان ($n = 8$ لكل صيغة).

الجدول 16: متغيرات PK للمركب 1

الصيغة الأحادية المرجعية 1	الصيغة المجمعة 1	الصيغة المجمعة 2	
7.0 ± 13.0	2.0 ± 9.0	2.0 ± 8.0	t_{max} (بالساعة)
4.1 ± 48.0	3.2 ± 48.6	5.3 ± 47.9	$t_{1/2}$ (بالساعة)
6 ± 71	4.0 ± 69.0	4.0 ± 68.0	MRT (بالساعة)

5 يتم عرض متوسط القيم $\pm$ الانحراف القياسي.

لم يتم تغيير متغيرات PK للمركب 1 عند الصياغة المشتركة مع السيماجلوتيد في الصيغة المجمعة 1 والصيغة المجمعة 2 بشكل كبير مقارنة بالمركب 1 المعطى في صورة صيغة أحادية. كانت قيم t_{max} أقل نوعًا ما للصيغ المشتركة، ولكن مع الانحراف القياسي للصيغة المرجعية للمركب 1 تكون القيم متداخلة. كانت $t_{1/2}$ و MRT متشابهة للغاية للمركب 1 في الصيغ المشتركة مقارنة بالصيغة الأحادية المرجعية. في الختام، لم تتأثر خصائص PK للمركب 1 بشكل كبير بواسطة الصياغة المشتركة مع السيماجلوتيد.

المثال 8

حجم الأوليجومر المحسن الخاص بالصيغ المشتركة ذات المحلول المنظم المتبادل 0/60

تم تحديد عملية التحويل إلى أوليجومرات الخاصة بالصيغ المجمعة I-VI المتكونة عند ظروف موقع الحقن المحاكاة للمركب 1 وفقاً للبروتوكول الموصوف في المثال 1. يتم عرض النتائج في الجدول 17 والشكل 9أ والشكل 9ب.

الجدول 17: حجم الأوليجومر الخاص بالصيغ المجمعة

الصيغة المجمعة VI	الصيغة المجمعة V	الصيغة المجمعة IV	الصيغة المجمعة III	الصيغة المجمعة II	الصيغة المجمعة I	
4.7	4.5	4.6	4.0	4.1	13.7	Rh(avg) [نانو متر]
4.96	4.67	4.72	4.40	4.30	8.32	[S] S*(avg)

5 الاستنتاج

أظهرت هذه التجارب أن حجم الأوليجومرات المتكونة عند ظروف موقع الحقن المحاكاة تكون معتمدة بشكل كبير على محتوى الزنك.

يتم خفض متوسط حجم الأوليجومرات التي تتكون من الصيغ المجمعة عند ظروف موقع الحقن المحاكاة بشكل كبير في الصيغ ذات المستوى المنخفض من الزنك (على سبيل المثال، 2.4 و 2.2 من Zn^{++} /ست وحدات من الأنسولين) مقارنة بالصيغ ذات مستوى الزنك العالي (على سبيل المثال 4.5 من Zn^{++} /ست وحدات أنسولين). أدت زيادة مستوى فينول وتقليل مستوى $-m$ كريسول بشكل إضافي إلى خفض متوسط حجم الأوليجومرات التي تتكون من الصيغ المجمعة عند ظروف موقع الحقن المحاكاة.

- 11564

7- التركيبة الصيدلانية وفقًا لعنصر الحماية 1، حيث تكون كمية سيماجلوتايد في مدى من 0.30 إلى 0.70 ملي مولار.

8- التركيبة الصيدلانية وفقًا لعنصر الحماية 7، تشمل من 4.0 إلى 4.5 ملي مولار من المركب 5 1؛ من 1 إلى 2% (وزن/وزن) من جليسرول؛ من 50 إلى 70 ملي مولار من فينول؛ من صفر إلى 15 ملي مولار من ميتا-كريزول؛ من 2.0 إلى 2.5 مول من أيونات زنك لكل ست مولات من المركب 1؛ 25 ملي مولار من كلوريد الصوديوم؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني في مدى من 7.2 إلى 7.6.

9- التركيبة الصيدلانية وفقًا لعنصر الحماية 7، تشمل من 4.2 ملي مولار من المركب 1؛ 10 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛ من 60 ملي مولار من فينول؛ ولا تشتمل على ميتا-كريزول؛ 2.2 مولات من أيونات زنك لكل ست مولات من المركب 1؛ 20 ملي مولار من كلوريد الصوديوم؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني يبلغ 7.4.

10- التركيبة الصيدلانية وفقًا لعنصر الحماية 7، تشتمل على 4.2 ملي مولار من المركب 1؛ 15 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛ 60 ملي مولار من فينول؛ 10 من ملي مولار ميتا-كريزول؛ 2.2 مولات من أيونات زنك لكل ست مولات من المركب 1؛ 20 ملي مولار من كلوريد الصوديوم؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني يبلغ 7.4.

11- التركيبة الصيدلانية وفقًا لعنصر الحماية 1، تشمل من 2.0 إلى 2.5 مولات من أيونات 20 الزنك لكل ست مولات من المركب 1.

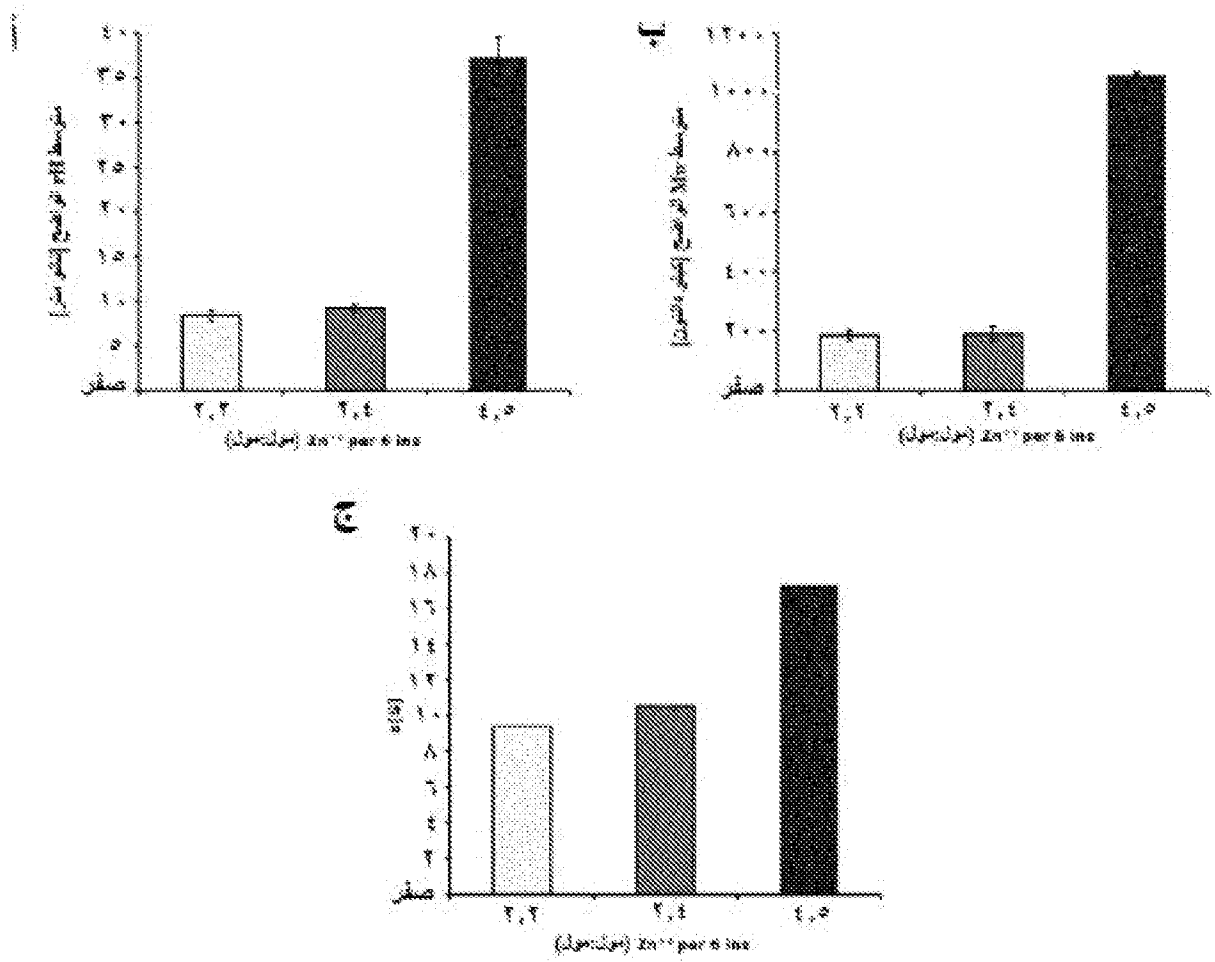
12- التركيبة الصيدلانية وفقًا لعنصر الحماية 1، تشتمل على 60 ملي مولار من فينول و 10 ملي مولار من m-كريزول.

- 13- التركيبة الصيدلانية وفقاً لعنصر الحماية 1، تشتمل على 60 ملي مولار من فينول ولا تشتمل على ميتا-كريزول.
- 14- التركيبة الصيدلانية وفقاً لعنصر الحماية 1، تشتمل من 4.0 إلى 4.5 ملي مولار من المركب 1؛ من 1 إلى 2% (وزن/وزن) من جليسرول؛ من 50 إلى 70 ملي مولار من فينول؛ من صفر إلى 15 ملي مولار من ميتا-كريزول؛ من 2.0 إلى 2.5 مول من أيونات زنك لكل ست مولات من المركب 1؛ 25 ملي مولار من كلوريد الصوديوم؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني في مدى من 7.2 إلى 7.6.
- 15- التركيبة الصيدلانية وفقاً لعنصر الحماية 1، تشتمل على 4.2 ملي مولار من المركب 1؛ 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛ 60 ملي مولار من فينول؛ ولا تشتمل على ميتا-كريزول؛ 2.2 مولات من أيونات زنك لكل ست مولات من المركب 1؛ 20 ملي مولار من كلوريد الصوديوم؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني 7.4.
- 16- التركيبة الصيدلانية وفقاً لعنصر الحماية 1، تشتمل على 4.2 ملي مولار من المركب 1؛ 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛ 60 ملي مولار من فينول؛ 10 ملي مولار ميتا-كريزول؛ 2.2 مولات من أيونات زنك لكل ست مولات من المركب 1؛ 20 ملي مولار من كلوريد الصوديوم؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني يبلغ 7.4.
- 17- التركيبة الصيدلانية وفقاً لعنصر الحماية 1، تشتمل على 4.2 ملي مولار من المركب 1 و 1.25 مجم/مل من سيماجلوتايد؛ وكذلك تشتمل على 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛ 60 ملي مولار من فينول؛ 10 من ملي مولار ميتا-كريزول؛ 2.2 مولات من أيونات زنك لكل ست مولات من المركب 1؛ ونحو 20 ملي مولار من كلوريد الصوديوم؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني 7.4.
- 18- دواء لمعالجة اضطراب أبيض، يشتمل على التركيبة الصيدلانية وفقاً لعنصر الحماية 17.

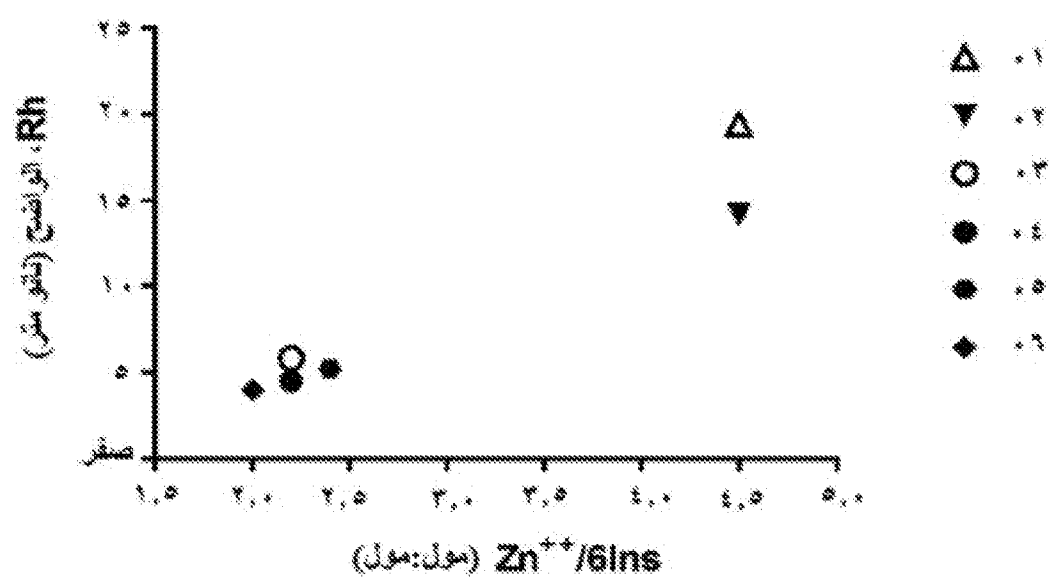
19- التركيبة الصيدلانية وفقاً لعنصر الحماية 1، تشتمل على 4.2 ملي مولار من المركب 1 و 2 مجم/مل من سيماجلوتايد؛ وكذلك تشتمل على 1.5% (وزن/وزن) من جليسرول؛ 60 ملي مولار من فينول؛ 10 من ملي مولار ميتا-كريبزول؛ 2.2 مولات من أيونات زنك لكل ست مولات من المركب 1؛ 20 ملي مولار من كلوريد الصوديوم؛ ويكون لها قيمة رقم هيدروجيني 7.4.

5

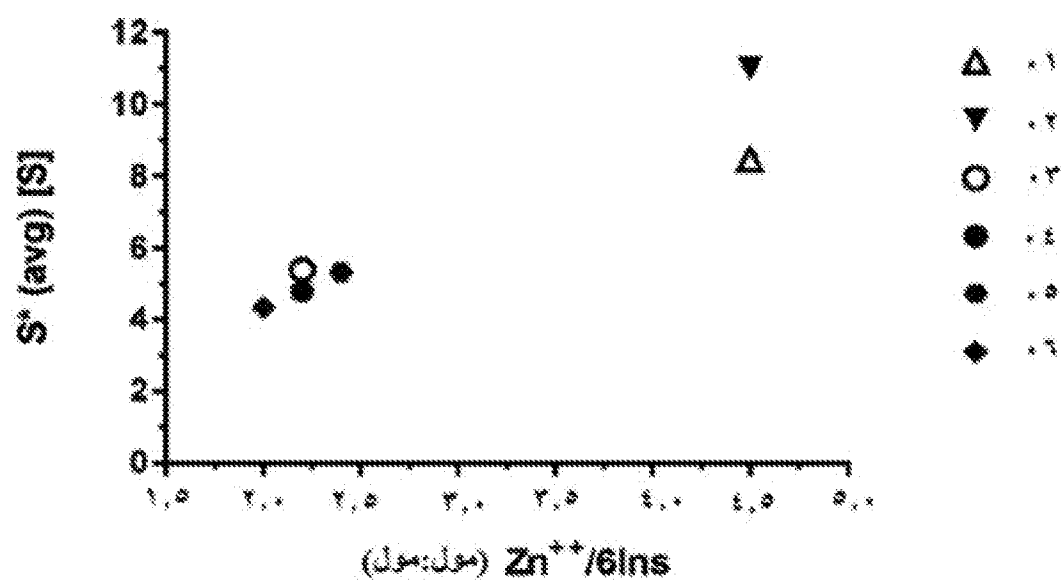
20- دواء لمعالجة اضطراب أبيض، يشتمل على التركيبة الصيدلانية وفقاً لعنصر الحماية 19.



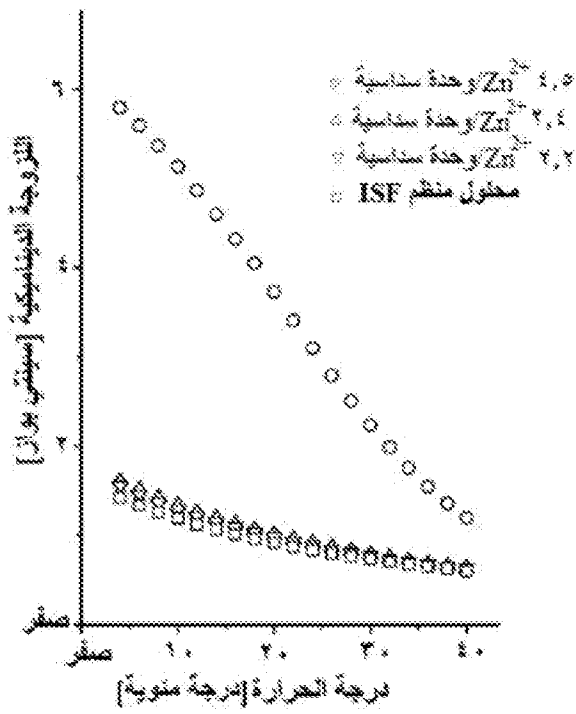
الشكل ١



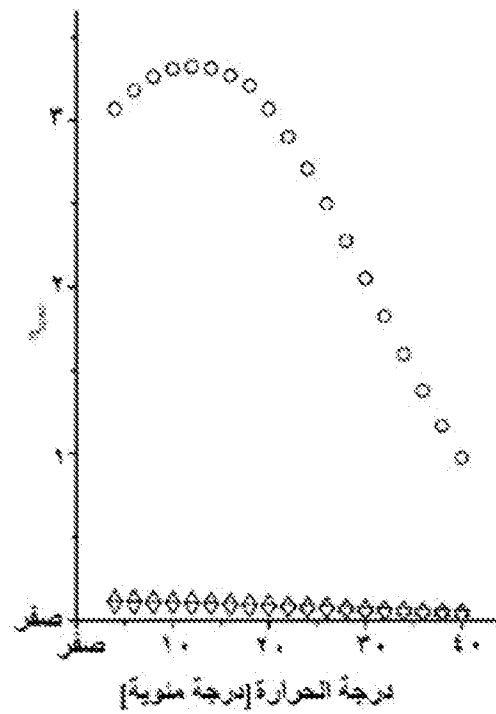
الشكل ٢ أ



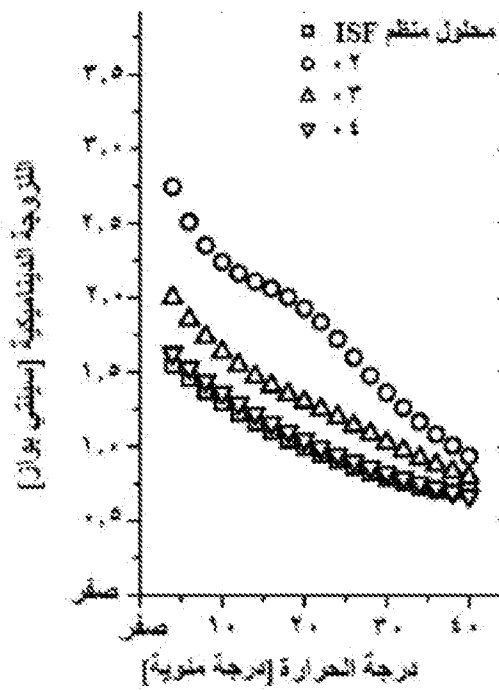
الشكل ٢ ب



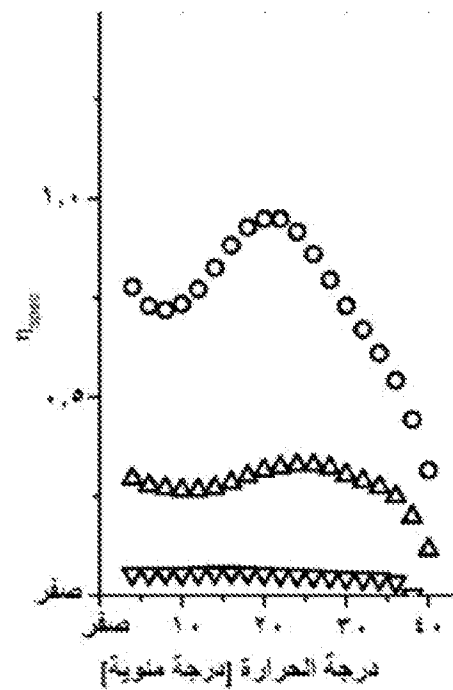
الشكل ٣ أ



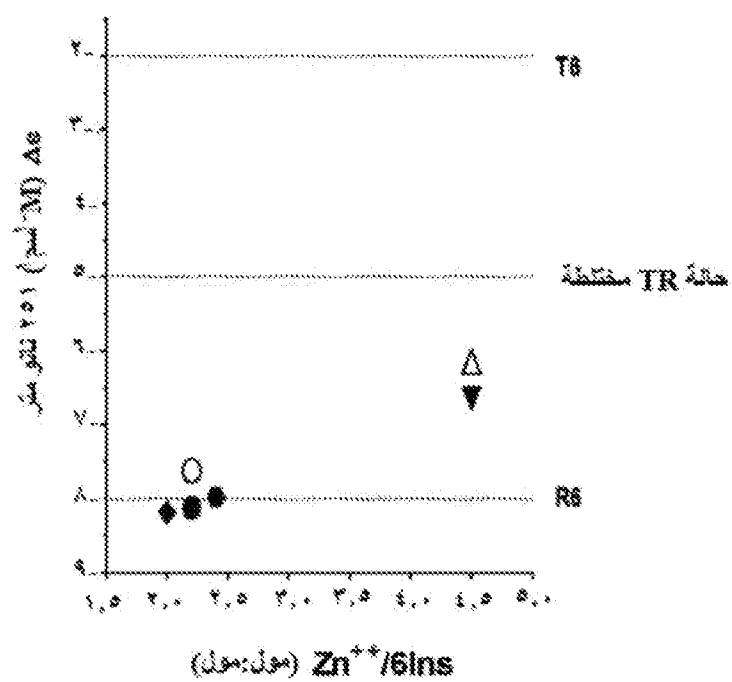
الشكل ٣ ب



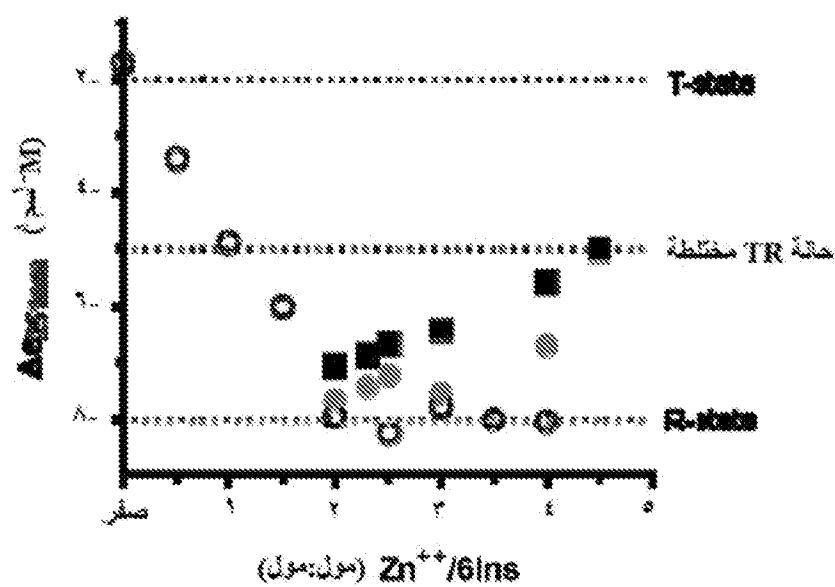
الشكل ٣ ج



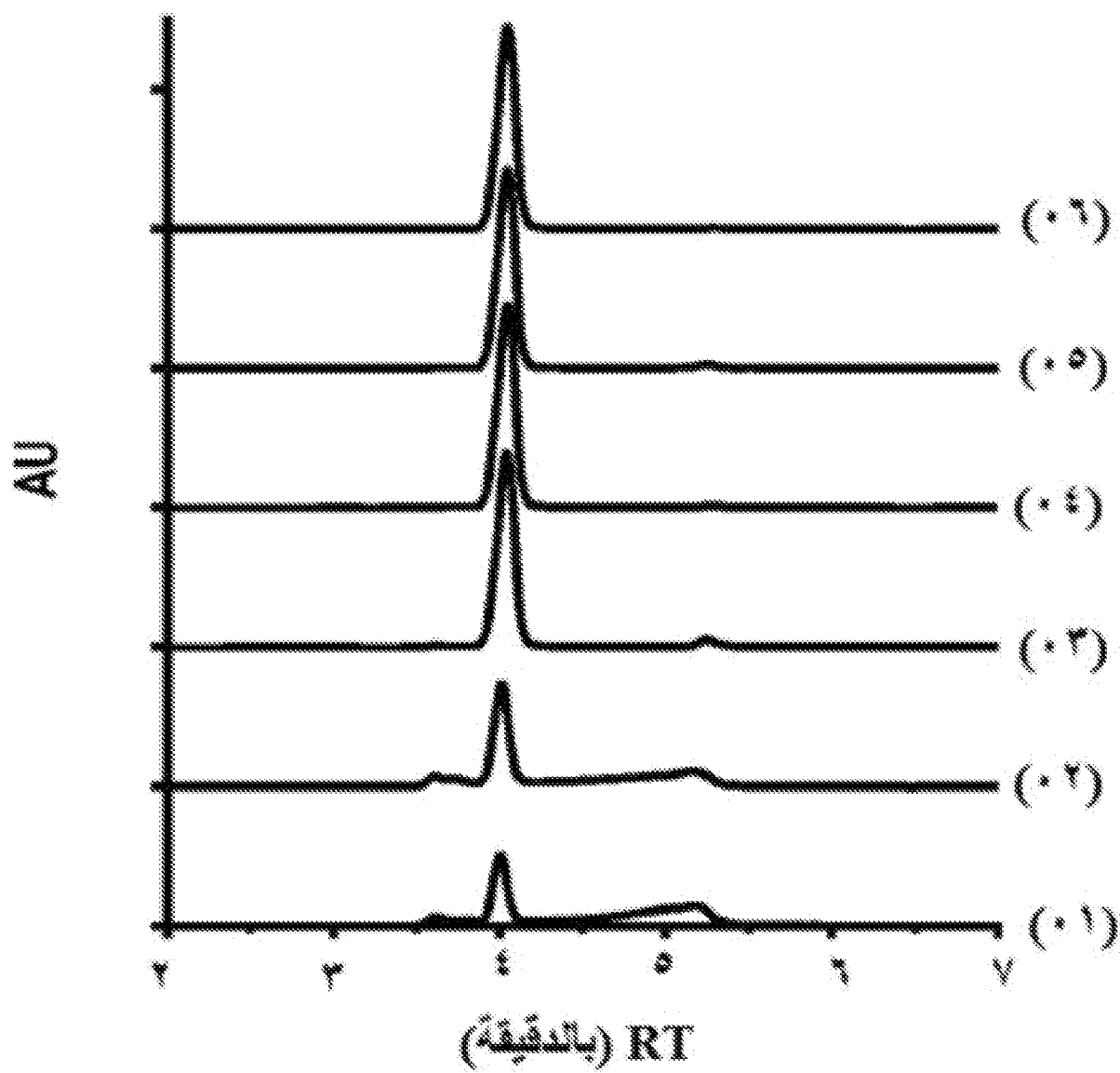
الشكل ٣ د



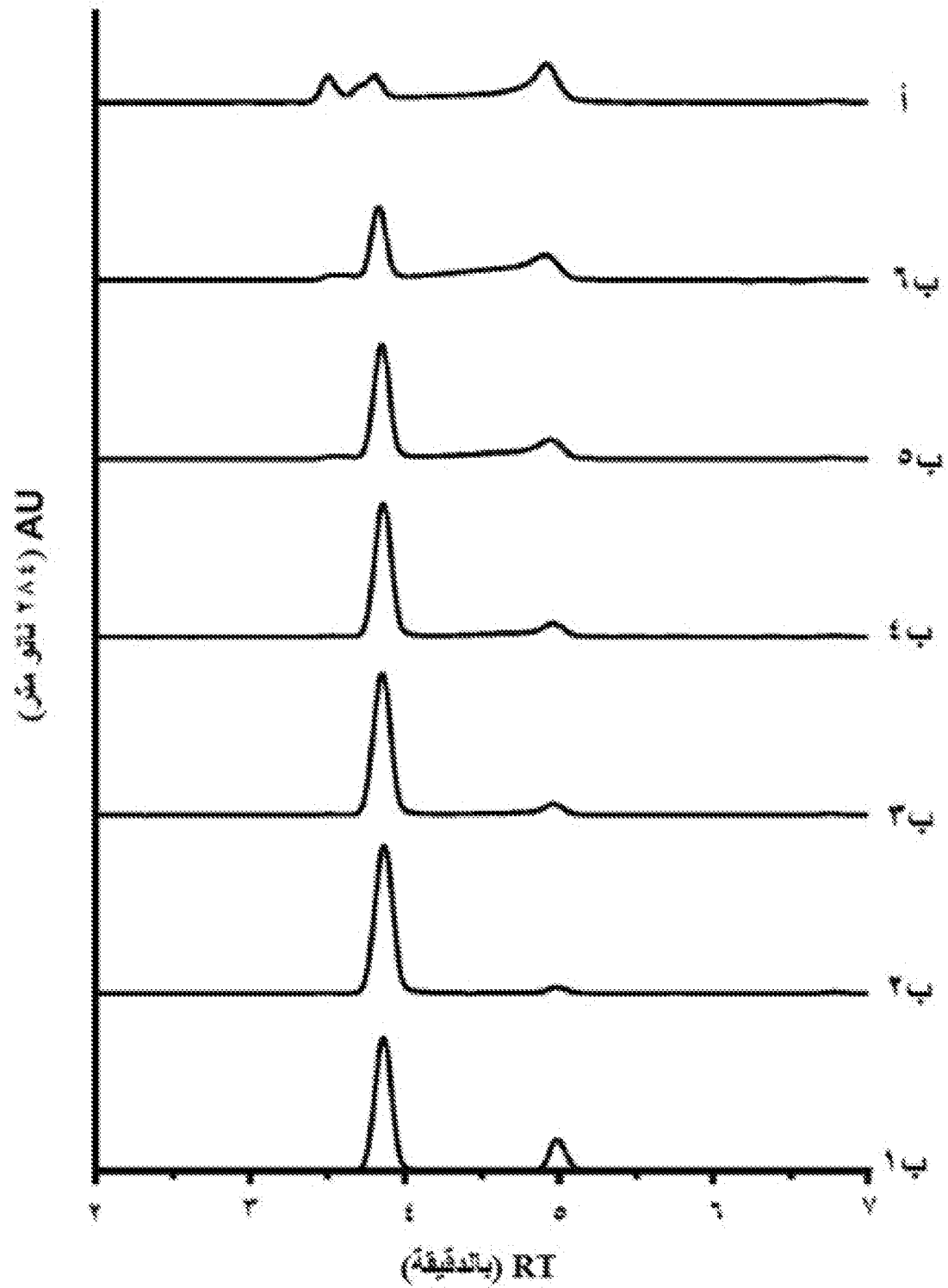
الشكل ٤ أ



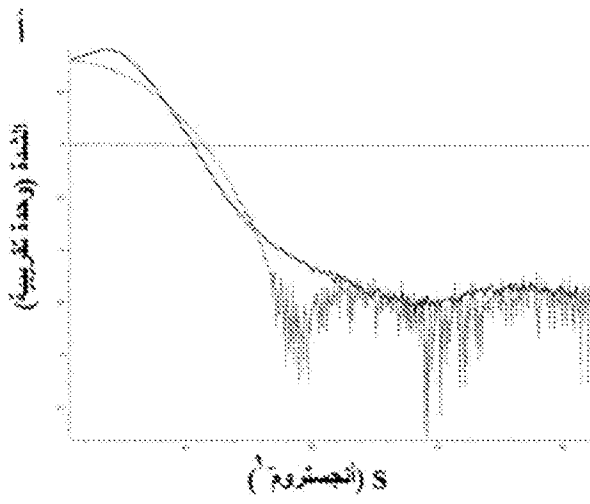
الشكل ٤ ب



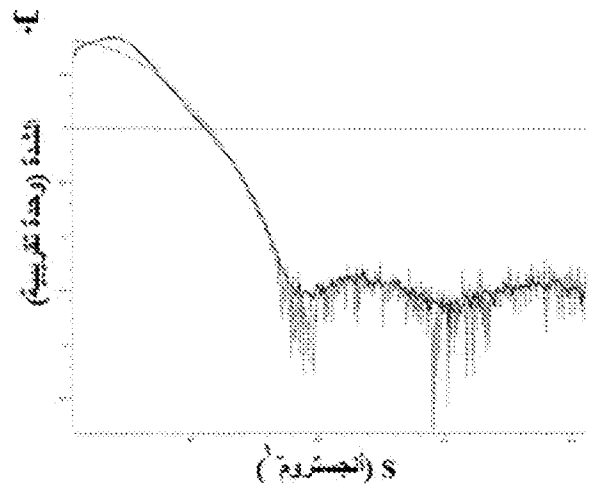
الشكل ٥ أ



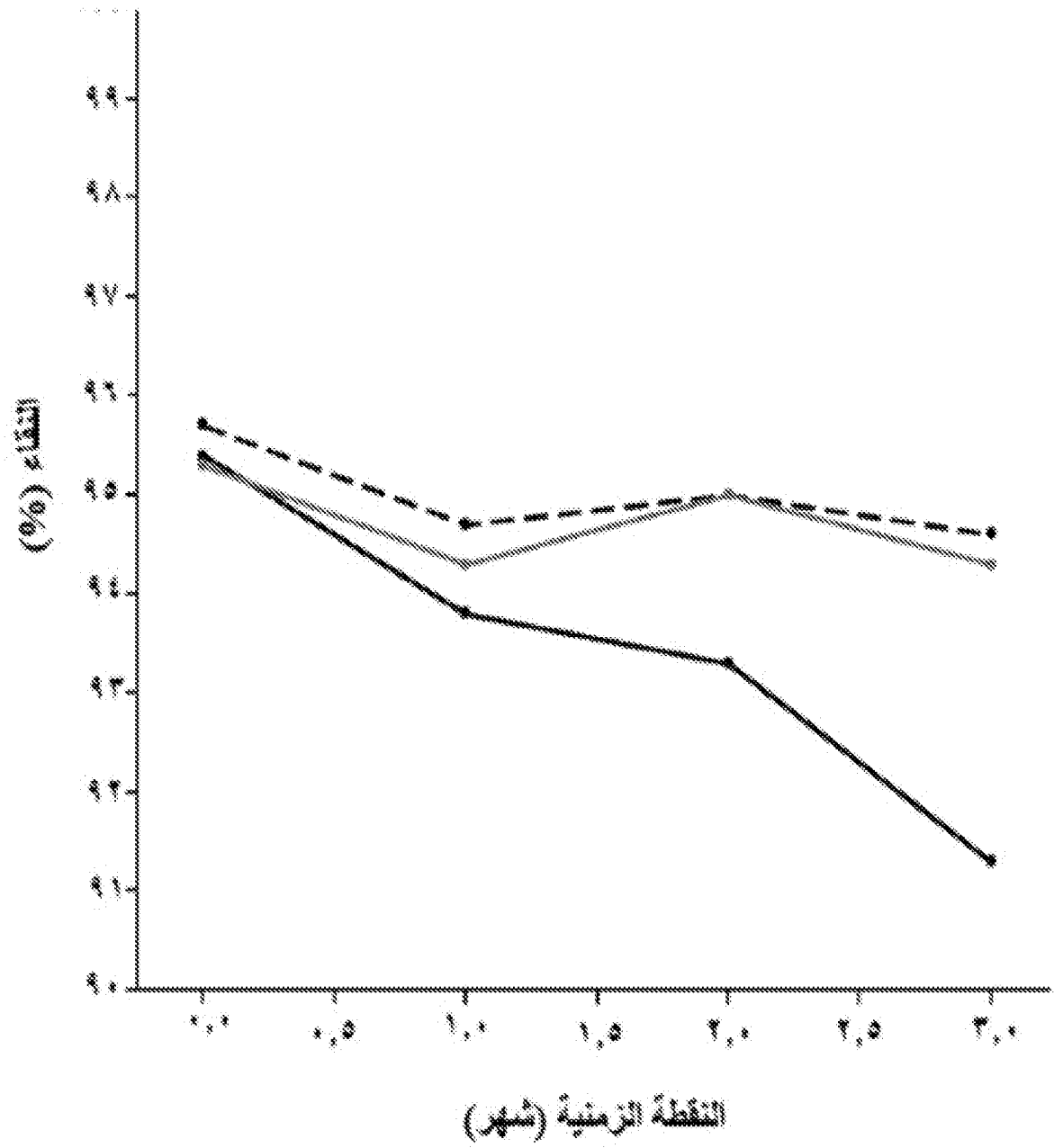
الشكل ٥ ب



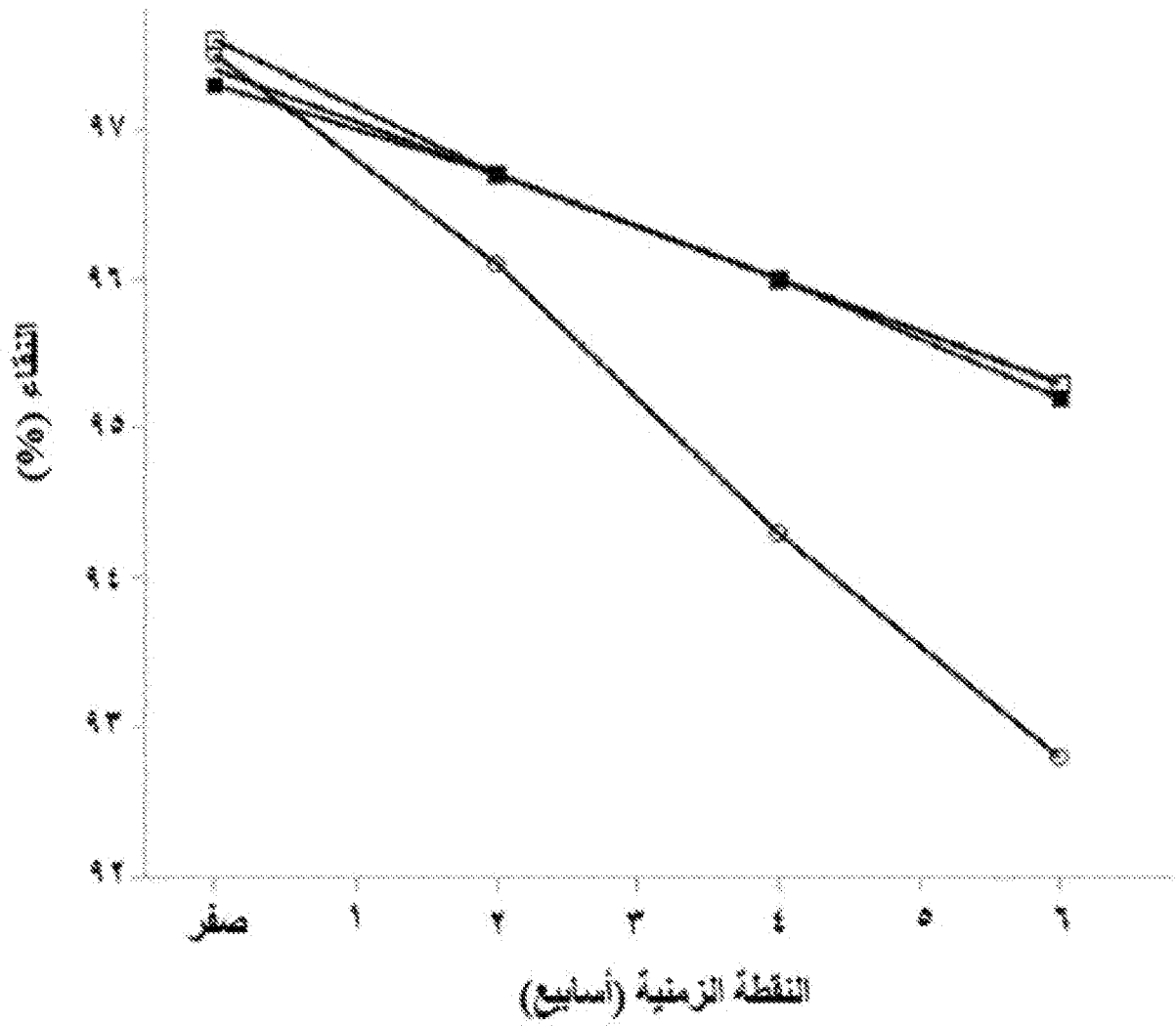
الشكل ٦ أ



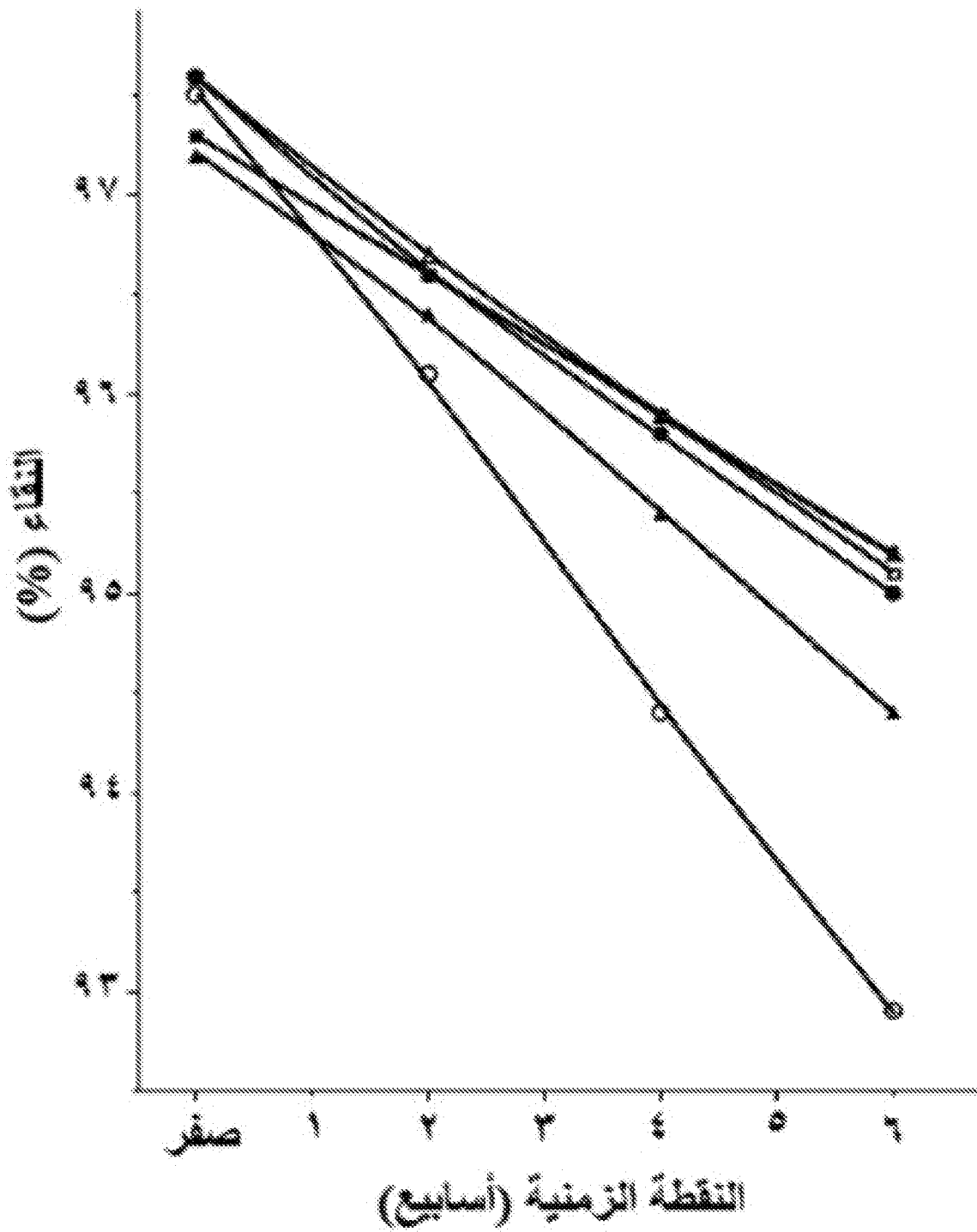
الشكل ٦ ب



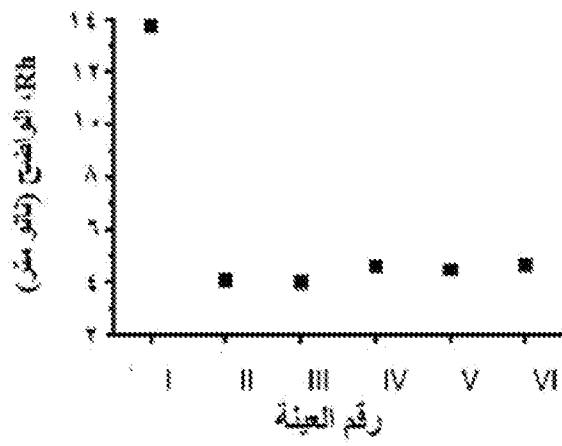
الشكل ٧ أ



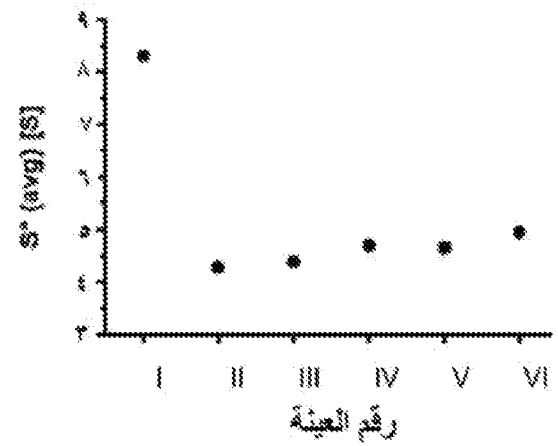
الشكل ٧ ب



الشكل ٨



الشكل ٩ أ



الشكل ٩ ب



مدة سريان هذه البراءة عشرون سنة من تاريخ إيداع الطلب

وذلك بشرط تسديد المقابل المالي السنوي للبراءة وعدم بطلانها أو سقوطها لمخالفتها لأي من أحكام نظام براءات الاختراع والتصميمات التخطيطية للدارات المتكاملة والأصناف النباتية والنماذج الصناعية أو لائحته التنفيذية.

صادرة عن
الهيئة السعودية للملكية الفكرية

ص ب ٦٥٣١ ، الرياض ١٣٣٢١ ، المملكة العربية السعودية

SAIP@SAIP.GOV.SA