

ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIÉTÉ (19)
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE



المملكة المغربية

المكتب المغربي
للملكية الصناعية والتجارية

(12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication : **MA 27205 A1** (51) Cl. internationale : **A61K 47/26; A61K 38/28**

(43) Date de publication :
03.01.2005

(21) N° Dépôt :
27953

(22) Date de Dépôt :
16.11.2004

(30) Données de Priorité :
18.06.2002 DE 102 27 232.8

(86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT:
PCT/EP03/05887 05.06.2003

(71) Demandeur(s) :
**SANOFI - AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH, BRUNINGSTRASSE 50 65929
FRANKFURT (DE)**

(72) Inventeur(s) :
LILL, Norbert ; BRUNNER-SCHWARZ, Anette

(74) Mandataire :
CABINET AKSIMAN

(54) Titre : **PREPARATIONS D'INSULINE ACIDES PRESENTANT UNE STABILITE
AMELIOREE**

(57) Abrégé : L'INVENTION CONCERNE UNE FORMULATION PHARMACEUTIQUE
CONTENANT UN POLYPEPTIDE SÉLECTIONNÉ DANS UN GROUPE COMPRENANT
L'INSULINE, UN MÉTABOLITE D'INSULINE, UN ANALOGUE D'INSULINE, UN DÉRIVÉ
D'INSULINE OU UNE COMBINAISON D'ENTRE EUX ; UN TENSIO-ACTIF OU
DES COMBINAISONS DE PLUSIEURS TENSIO-ACTIFS; ÉVENTUELLEMENT UN
AGENT DE CONSERVATION OU DES COMBINAISONS DE PLUSIEURS AGENTS
DE CONSERVATION; ET ÉVENTUELLEMENT UN AGENT D'ISOSOTONISATION, UN
TAMPON OU AUTRES AGENTS AUXILIAIRES OU DES COMBINAISONS D'ENTRE
EUX. LA FORMULATION PHARMACEUTIQUE A UNE VALEUR PH SITUÉE DANS LA
ZONE ACIDE.

WO 03/105888

PCT/EP03/05887

BT 2 2201

L 3 JAN 2005

Description

Préparations d'insuline acides présentant une stabilité améliorée

5 L'invention concerne une formulation pharmaceutique comprenant un polypeptide sélectionné parmi un groupe comprenant une insuline, un métabolite d'insuline, un analogue d'insuline, un dérivé d'insuline ou des combinaisons de ceux-ci; un tensioactif ou des combinaisons de deux ou plusieurs tensioactifs; de manière facultative un conservateur ou des

10 combinaisons de deux ou plusieurs conservateurs; et de manière facultative un agent d'isotonie, des tampons ou des excipients supplémentaires ou des combinaisons de ceux-ci, la formulation pharmaceutique présentant un pH dans le domaine acide. On peut utiliser ces formulations pour le traitement du diabète, et elles sont particulièrement appropriées pour des préparations dans lesquelles

15 une stabilité élevée à un stress thermique et/ou physico-mécanique est nécessaire. L'invention de même concerne des préparations parentérales qui contiennent de telles formulations et que l'on peut utiliser dans le diabète et concerne des procédés de production des préparations et d'amélioration de la stabilité de préparations d'insuline.

20 Dans le monde entier, approximativement 120 millions de personnes souffrent de diabète sucré. Parmi ceux-ci, approximativement 12 millions sont des diabétiques de type I, pour lesquels la substitution de la sécrétion manquante d'insuline endocrine est la seule thérapie actuellement possible. Les personnes atteintes sont dépendantes à vie

25 d'injections d'insuline, en règle générale plusieurs fois par jour. Par opposition au diabète de type I, on n'observe fondamentalement pas de déficience de l'insuline dans le diabète de type II, mais dans un grand nombre de cas, spécialement dans les stades avancés, on considère qu'un traitement avec de l'insuline, de manière facultative en combinaison avec

30 un antidiabétique oral, est la forme de thérapie la plus favorable.

Chez la personne saine, la libération de l'insuline par le pancréas est couplée de manière stricte à la concentration du glucose sanguin. Dans taux élevés de glucose sanguin, tels qu'ils se produisent après des repas, sont rapidement compensés par une augmentation

35 correspondante de la sécrétion d'insuline. A l'état de jeûne, le taux d'insuline du plasma tombe à une valeur basale qui est appropriée pour assurer un apport en continu de glucose aux organes et tissus sensibles à l'insuline et pour maintenir une production de glucose hépatique faible

durant la nuit. Le remplacement de la sécrétion endogène d'insuline par une administration exogène, principalement sous-cutanée de l'insuline en règle générale n'atteint approximativement pas la qualité de la régulation physiologique du glucose sanguin décrite ci-dessus. Souvent, des écarts

5 du glucose sanguin vers le haut ou vers le bas se produisent, qui dans leurs formes les plus sévères peuvent être mortels. De plus, cependant, des taux de glucose sanguin qui sont accrus pendant des années sans symptôme initial représentent un risque considérable pour la santé. L'étude à grande échelle DCCT aux Etats-Unis (The Diabetes Control and

10 Complications Trial Research Group (1993) N. Engl. J. Med. 329, 977-986) démontre clairement que des taux de glucose sanguin élevés de manière chronique sont essentiellement responsables du développement d'une lésion diabétique tardive. Une lésion diabétique tardive est une lésion microvasculaire et macrovasculaire qui se manifeste, en certaines

15 circonstances, sous forme de rétinopathie, néphropathie ou neuropathie et mène à une perte de vision, à une insuffisance rénale et à la perte des extrémités et s'accompagne en outre d'un risque accru de maladies cardiovasculaires. On doit déduire de ceci qu'une thérapie améliorée du diabète doit principalement viser à maintenir le glucose sanguin aussi

20 étroitement que possible dans le domaine physiologique. Selon le concept d'une thérapie renforcée d'insuline, on devrait atteindre ceci par des injections répétées quotidiennement de préparations d'insuline à action rapide et lente. On donne des formulations à action rapide aux repas afin d'équilibrer l'augmentation postprandiale du glucose sanguin. Des insulines

25 à action lente basales devraient assurer l'apport de base en insuline, en particulier durant la nuit, sans mener à une hypoglycémie.

L'insuline est un polypeptide de 51 acides aminés, qui sont divisés en 2 chaînes d'acides aminés : la chaîne A présentant 21 acides aminés et la chaîne B présentant 30 acides aminés. Les chaînes sont

30 connectées entre elles au moyen de 2 ponts disulfure. On a utilisé des préparations d'insuline pour une thérapie du diabète pendant de nombreuses années. On utilise ici non seulement des insulines existant dans la nature, mais récemment également des dérivés et des analogues d'insuline.

35 Des analogues d'insuline sont des analogues d'insulines existant dans la nature, notamment de l'insuline humaine ou d'insulines animales, qui diffèrent par une substitution d'au moins un résidu d'acide aminé existant dans la nature par d'autres acides aminés et/ou une addition/une suppression d'au moins un résidu d'acide aminé à partir de

l'insuline existant dans la nature correspondante, sinon identique. Les acides aminés peuvent dans ce cas également être ceux qui ne se trouvent pas naturellement.

5 Des dérivés d'insuline sont des dérivés d'une insuline existant dans la nature ou d'un analogue d'insuline que l'on obtient par modification chimique. La modification chimique peut comprendre, par exemple, l'addition d'un ou plusieurs groupements chimiques spécifiques à un ou plusieurs acides aminés. En règle générale, les dérivés d'insuline et les analogues d'insuline présentent une action légèrement modifiée par rapport à l'insuline humaine.

10 Des analogues d'insuline présentant un début d'action accéléré sont décrits dans les documents EP 0 214 826, EP 0 375 437 et EP 0 678 522. Le document EP 0 124 826 concerne, entre autres, des substitutions de B27 et B28. Le document EP 0 678 522 décrit des analogues d'insuline qui présentent en position B29 plusieurs acides aminés, de préférence la proline, mais pas l'acide glutamique.

15 Le document EP 0 375 437 comprend des analogues d'insuline présentant une lysine ou une arginine en B28, que l'on peut de manière facultative modifier en outre en B3 et/ou A21.

20 Dans le document EP 0 419 504, on divulgue des analogues d'insuline qui sont protégés vis à vis de modifications chimiques, dans lesquels l'asparagine en B3 et au moins un acide aminé supplémentaire dans les positions A5, A15, A18 ou A21 sont modifiés.

25 En règle générale, les dérivés d'insuline et les analogues d'insuline présentent une action légèrement modifiée par rapport à l'insuline humaine.

30 Dans le document WO 92/00321, on décrit des analogues d'insuline dans lesquels au moins un acide aminé des positions B1-B6 est remplacé par une lysine ou une arginine. Selon le document WO 92/00321, des insulines de ce type présentent une action prolongée. Les analogues d'insuline décrits dans le document EP-A 0 368 187 présentent également une action retardée.

35 Les préparations insuliniques d'insulines existant dans la nature sur le marché de la substitution d'insuline diffèrent dans l'origine de l'insuline (par exemple insuline bovine, porcine, humaine), et également dans la composition, par laquelle on peut influencer le profil d'action (début de l'action et durée de l'action). Par combinaison de plusieurs préparations d'insuline, on peut obtenir des profils d'action très différents et on peut établir des valeurs de glucose sanguin aussi physiologiques que possible.

Une technologie d'ADN recombinant rend aujourd'hui possible la préparation de telles insulines modifiées. Celles-ci comprennent l'insuline glargine (Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insuline humaine) présentant une durée d'action prolongée. On injecte l'insuline glargine sous forme d'une solution acide, claire et elle précipite à cause de ses propriétés en solution dans le domaine de pH physiologique du tissu sous-cutané sous forme d'un complexe hexamérique stable. On injecte l'insuline glargine une fois par jour et elle se distingue des autres insulines à action prolongée par son profil sérique plat et par la réduction du danger d'une hypoglycémie nocturne associée à celui-ci (Schubert-Zsilavec et al., 2:125-130 (2001)).

La préparation spécifique de l'insuline glargine, qui mène à la durée prolongée de l'action, se caractérise, au contraire des préparations décrites précédemment, par une solution claire présentant un pH acide. Spécialement à pH acide, des insulines, cependant, montrent une stabilité diminuée et une propension accrue à une agrégation sous l'effet d'un stress thermique et physico-mécanique, qui peut apparaître sous la forme d'une turbidité et d'une précipitation (formation de particules) (Brange et al., J. Ph.Sci 86:517-525 (1997)).

Des surfaces hydrophobes qui sont en contact avec la solution peuvent de plus promouvoir la propension à une agrégation (Sluzky et al., Proc.Natl.Acad.Sci. 88:9377-9381 (1991)). Des surfaces que l'on peut considérer comme hydrophobes sont les récipients en verre des préparations, la matière du bouchon des capuchons d'étanchéité ou la surface de séparation de la solution avec l'air surnageant. De plus, de très fines gouttelettes d'huile de silicone peuvent agir en tant que noyaux hydrophobes d'agrégation supplémentaires lors de la prise de la dose quotidienne d'insuline au moyen des seringues habituelles d'insuline, siliconées, et peuvent accélérer le processus.

Le document WO 01/43762 décrit des préparations pharmaceutiques aqueuses, parentérales comprenant un polypeptide et du glycérol, dans lesquelles on réalise la stabilisation de la préparation en éliminant les constituants déstabilisants du glycérol.

Le document WO 00/23098 décrit des préparations d'insuline stabilisées en utilisant du polysorbate 20 ou du poloxamère 188 pour une administration pulmonaire, mais ne décrit pas la stabilisation dans une solution acide vis à vis de noyaux d'agrégation.

La demande de brevet internationale PCT/EP02/02625 (non publiée) décrit des préparations d'insuline exemptes de zinc et pauvres en zinc présentant une stabilité améliorée par l'addition de tensioactifs à une

température ambiante et corporelle et à un stress mécanique, mais ne décrit pas la stabilisation de préparations acides d'insuline vis à vis de noyaux hydrophobes d'agrégation.

5 La présente invention se base ainsi sur l'objectif de trouver des préparations pour des insulines solubles en milieu acide contenant des tensioactifs, qui se distinguent par une stabilité à long terme à un stress dû à une température ou à une application d'un stress physico-mécanique et tolèrent un stress élevé avec des noyaux hydrophobes d'agrégation.

10 Il s'avère maintenant de manière surprenante que l'addition de tensioactifs peut augmenter grandement la stabilité de préparations acides d'insuline et ainsi on peut même produire des préparations qui assurent la stabilité supérieure à des noyaux hydrophobes d'agrégation pendant plusieurs mois sous un stress de température.

15 Les préparations pharmaceutiques contiennent 60-6000 nmol/ml, de préférence 240-3000 nmol/ml, d'une insuline, d'un métabolite d'insuline, d'un analogue d'insuline ou d'un dérivé d'insuline.

20 Les tensioactifs que l'on peut utiliser sont, entre autres, des tensioactifs non ioniques. En particulier, on préfère des tensioactifs pharmaceutiquement habituels, tels que, par exemple : des esters partiels et d'acides gras et des éthers de polyalcools tels que du glycérol, du sorbitol et similaires (Span[®], Tween[®], en particulier Tween[®] 20 et Tween[®] 80, Myrj[®], Brij[®]), du Crémophor[®] ou des poloxamères. Les tensioactifs sont présents dans la composition pharmaceutique en une concentration de 5 – 200 µg/ml, de préférence de 5 – 120 µg/ml et
25 particulièrement de préférence de 20 – 75 µg/ml.

La préparation peut de plus contenir des conservateurs (par exemple du phénol, du crésol, des parabènes), des agents d'isotonie (par exemple du mannitol, du sorbitol, du lactose, du dextrose, du tréhalose, du chlorure de sodium, du glycérol), des substances tampons, des sels, des
30 acides et des bases et également des excipients supplémentaires. Ces substances peuvent dans chaque cas être présentes individuellement ou alternativement sous forme de mélanges.

Les glycérol, dextrose, lactose, sorbitol et mannitol sont habituellement présents dans la préparation pharmaceutique en une
35 concentration de 100 – 250 mM, le NaCl en une concentration de jusqu'à 150 mM. Les substances tampons, telles que, par exemple, le phosphate, l'acétate, le citrate, l'arginine, la glycyglycine ou le tampon TRIS (c'est-à-dire le 2-amino-2-hydroxyméthyl-1,3-propanediol) et les sels correspondants, sont présents en une concentration de 5 – 250 mM, de

préférence 10 – 100 mM. Des excipients supplémentaires peuvent être, entre autres, des sels ou de l'arginine.

L'invention concerne par conséquent une formulation pharmaceutique comprenant un polypeptide sélectionné parmi un groupe
5 comprenant une insuline, un analogue d'insuline, un dérivé d'insuline, un métabolite actif d'insuline ou des combinaisons de ceux-ci; un tensioactif ou des combinaisons de deux ou plusieurs tensioactifs; de manière facultative un conservateur ou des combinaisons de deux ou plusieurs conservateurs; et de manière facultative un agent d'isotonie, des
10 substances tampons et/ou des excipients supplémentaires ou des combinaisons de ceux-ci, la formulation pharmaceutique étant une solution claire qui présente un pH dans le domaine acide (pH 1 – 6,8), de préférence un pH de 3,5 – 6,8, tout particulièrement de préférence 3,5 – 4,5.

On préfère une telle formulation pharmaceutique dans laquelle on sélectionne le tensioactif parmi un groupe comprenant des esters partiels et d'acides gras et des éthers de polyalcools tels que du glycérol et du sorbitol, des polyols; les esters partiels et d'acides gras et les éthers du glycérol et du sorbitol étant sélectionnés parmi un groupe
20 comprenant du Span[®], du Tween[®], du Myrj[®], du Brij[®], du Crémophor[®]; les polyols étant sélectionnés parmi le groupe des polypropylèneglycols, des polyéthylèneglycols, des poloxamères, des Pluronic, des Tetric; le conservateur étant sélectionné parmi un groupe comprenant du phénol, du crésol, des parabènes; l'agent d'isotonie étant sélectionné parmi un groupe
25 comprenant du mannitol, du sorbitol, du chlorure de sodium, du glycérol; les excipients étant sélectionnés parmi un groupe comprenant des substances tampons, des acides, des bases; l'analogue d'insuline étant sélectionné parmi un groupe comprenant la Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insuline humaine, la Lys(B3)-Glu(B29)-insuline humaine, la Lys^{B28}-Pro^{B29}-insuline humaine, la Asp(B28)-insuline humaine, l'insuline humaine dans laquelle on substitue la proline en position B28 par Asp, Lys, Leu, Val ou Ala et où en position B29 on peut substituer Lys par Pro, la Ala(B26)-insuline humaine, la des(B28-B30)-insuline humaine, la des(B27)-insuline humaine ou la des(B30)-insuline humaine; le dérivé d'insuline étant
30 sélectionné parmi un groupe comprenant la B29-N-myristoyl-des(B30)-insuline humaine, la B29-N-palmitoyl-des(B30)-insuline humaine, la B29-N-myristoyl-insuline humaine, la B29-N-palmitoyl-insuline humaine, la B28-N-myristoyl-Lys^{B28}Pro^{B29}-insuline humaine, la B28-N-palmitoyl-Lys^{B28}Pro^{B29}-insuline humaine, la B30-N-myristoyl-Thr^{B29}Lys^{B30}-insuline humaine, la

B30-N-palmitoyl-Thr^{B29}Lys^{B30}-insuline humaine, la B29-N-(N-palmitoyl-γ-glutamyl)-des(B30)-insuline humaine, la B29-N-(N-lithocholyl-γ-glutamyl)-des(B30)-insuline humaine, la B29-N-(ω-carboxyheptadécanoyl)-des(B30)-insuline humaine et la B29-N-(ω-carboxyheptadécanoyl)-insuline humaine.

5 Un objet supplémentaire de l'invention est une formulation pharmaceutique telle que décrite ci-dessus, dans laquelle l'insuline, l'analogue d'insuline, le métabolite actif d'insuline et/ou le dérivé d'insuline est présent en une concentration de 60 – 6000 nmol/ml, de préférence en une concentration de 240 – 3000 nmol/ml (ceci correspond
10 approximativement à une concentration de 1,4 – 35 mg/ml ou 40 – 500 unités/ml); dans laquelle le tensioactif est présent en une concentration de 5 – 200 µg/ml, de préférence de 5 – 120 µg/ml et particulièrement de préférence de 20 – 75 µg/ml.

15 Un objet supplémentaire de l'invention est une formulation pharmaceutique telle que mentionnée ci-dessus, dans laquelle le glycérol et/ou le mannitol est présent en une concentration de 100 – 250 mM, et/ou le NaCl est de préférence présent en une concentration de jusqu'à 150 mM.

20 Un objet supplémentaire de l'invention est une formulation pharmaceutique telle que mentionnée ci-dessus, dans laquelle une substance tampon est présente en une concentration de 5 – 250 mM.

25 Un objet supplémentaire de l'invention est une formulation pharmaceutique d'insuline qui contient des additifs supplémentaires tels que, par exemple, des sels qui retardent la libération de l'insuline. Des mélanges de telles insulines à libération retardée avec les formulations décrites ci-dessus sont comprises dans ce présent mémoire.

30 Un objet supplémentaire de l'invention est un procédé pour la production de telles formulations pharmaceutiques. De même, un objet supplémentaire de l'invention est l'utilisation de telles formulations pour le traitement du diabète sucré.

35 Un objet supplémentaire de l'invention est l'utilisation ou l'ajout de tensioactifs en tant que stabilisateurs durant le procédé pour la production d'une insuline, d'analogues d'insuline ou de dérivés d'insuline ou leurs préparations.

On décrit la demande ci-dessus à l'aide de quelques exemples, qui ne sont en aucune manière prévus pour agir de manière restrictive.

Exemples.

On prévoit les exemples suivants pour illustrer le concept de

l'invention de manière plus détaillée, sans agir de manière restrictive.

Recherches de comparaison : On prépare différentes préparations contenant l'analogue d'insuline insuline glargine (Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insuline humaine). A cette fin, on met en suspension
5 l'insuline glargine dans une part d'eau pour injection, on la dissout à pH 3 – 4, on ajoute les autres constituants, on ajuste le pH à 4,0 +/- 0,2 en utilisant de l'acide chlorhydrique/du NaOH et on porte le mélange au volume final. La concentration de l'insuline glargine dans chacune des expériences décrites ci-dessous est de 3,6378 mg/ml (correspond à 100 unités/ml). On
10 produit une deuxième préparation de manière identique, mais on ajoute de plus une quantité spécifique d'un tensioactif. On verse les solutions dans des récipients en verre de 10 ml (fioles) et on les munit de capuchons sertis. On expose maintenant ces récipients à des conditions simulées d'utilisation ou de stress physico-mécanique :

15 1. Evaluation d'utilisation : On classe les récipients dans des boîtes avec des couvercles tournés vers le haut et on les stocke durant la période de recherche de 28 jours à + 25°C et à une humidité ambiante contrôlée en absence de lumière. Pour simuler une prise par le patient, on enlève une fois par jour environ 5 IU des solutions en utilisant une seringue
20 habituelle d'insuline et on les jette. Au début et à la fin de la semaine de travail on effectue ce mode opératoire deux fois afin de simuler la prise du week-end. Avant chaque retrait, on réalise une évaluation visuelle de la turbidité et/ou de la formation de particules de la solution dans les récipients.

25 2. Evaluation d'agitation : On place les récipients dans une boîte avec un couvercle tourné vers le haut se trouvant sur un agitateur de laboratoire présentant un incubateur et un thermostat et on les agite à 25°C avec 90 mouvements/min parallèles au mouvement horizontal pendant une durée de 10 jours. Après des temps définis, on détermine la
30 valeur de turbidité des échantillons au moyen d'un photomètre à turbidité de laboratoire (néphélomètre) en unités néphélométriques de formaldazine (unité néphélométrique de formaldazine = FNU). La valeur de turbidité correspond à l'intensité du rayonnement de la lumière incidente dispersé sur les particules en suspension dans l'échantillon.

35 EXEMPLE 1.-

Stabilisation de la période d'utilisation de l'insuline glargine en utilisant du polysorbate 20 (Tween® 20).

a) On filtre de manière stérile la solution à travers une combinaison de filtres de 0,2 µm et 0,1 µm. On la verse ensuite dans des

fioles d'injection de 10 ml et on les ferme en utilisant des capuchons sertis présentant un disque d'étanchéité inséré.

5 b) On prépare de manière identique une solution de comparaison, mais on met d'abord en suspension une quantité appropriée de tensioactif (10 – 30 ppm de polysorbate 20) dans l'eau pour injection.

On stocke les échantillons à +5°C, 25°C et 37°C pour une durée déterminée. On soumet ensuite 10 échantillons dans chaque cas à une évaluation d'utilisation. On présente les résultats dans le tableau ci-dessous.

10

Stockage pendant 3 mois à 5°C.

Échantillon d'évaluation	Nombre de fioles présentant une formation de particules après			
	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours
Insuline glargine	7	10	10	10
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,015 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,020 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	1
Insuline glargine + 0,030 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0

Stockage pendant 6 mois à 5°C.

Échantillon d'évaluation	Nombre de fioles présentant une formation de particules après			
	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours
Insuline glargine	1	10	10	10
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	1
Insuline glargine + 0,015 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,020 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	1
Insuline glargine + 0,030 mg/ml de polysorbate 20	0	0	1	0

Stockage pendant 3 mois à 25°C.

Échantillon d'évaluation	Nombre de fioles présentant une formation de particules après			
	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours
Insuline glargine	9	10	10	10
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 20	2	2	2	2
Insuline glargine + 0,015 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	1
Insuline glargine + 0,020 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,030 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0

Stockage pendant 6 mois à 25°C.

Échantillon d'évaluation	Nombre de fioles présentant une formation de particules après			
	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours
Insuline glargine	10	10	10	10
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	1
Insuline glargine + 0,015 mg/ml de polysorbate 20	0	0	1	0
Insuline glargine + 0,020 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,030 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0

Stockage pendant 1 mois à 37°C.

Échantillon d'évaluation	Nombre de fioles présentant une formation de particules après			
	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours
Insuline glargine	0	10	10	10
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 20	0	3	3	5
Insuline glargine + 0,015 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0

Insuline glargine + 0,020 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,030 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0

Stockage pendant 3 mois à 37°C.

Échantillon d'évaluation	Nombre de fioles présentant une formation de particules après			
	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours
Insuline glargine	5	9	10	10
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 20	1	1	1	1
Insuline glargine + 0,015 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,020 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,030 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0

Stockage pendant 6 mois à 37°C.

Échantillon d'évaluation	Nombre de fioles présentant une formation de particules après			
	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours
Insuline glargine	10	10	10	10
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,015 mg/ml de polysorbate 20	0	0	1	0
Insuline glargine + 0,020 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,030 mg/ml de polysorbate 20	1	1	1	1

5 Sans ajout de polysorbate 20, une formation de particules peut se produire dans la solution même après 7 jours d'utilisation. Par ajout de polysorbate 20, on peut nettement supprimer la formation de particules durant la période d'utilisation.

On conserve l'action stabilisante du polysorbate 20 même suite au stockage à des températures élevées pendant une période de

3 mois.

On ne peut déterminer de diminution de l'action stabilisante due à une éventuelle hydrolyse du polysorbate dans le milieu acide de la solution en comparaison avec les données après un stockage pendant 1 mois.

EXEMPLE 2.-

Stabilisation de l'insuline glargine en utilisant du polysorbate 20 sous l'effet de l'application d'une charge de stress physico-mécanique.

a) On filtre de manière stérile la solution à travers une combinaison de filtres de 0,2 µm et 0,1 µm. On la verse ensuite dans des fioles d'injection de 10 ml et on les ferme en utilisant des capuchons sertis présentant un disque d'étanchéité inséré.

b) On prépare de manière identique une solution de comparaison, mais on met d'abord en suspension une quantité appropriée de tensioactif (0,010 – 0,030 mg/ml de polysorbate 20) dans l'eau pour injection.

On stocke les échantillons à +5°C, 25°C et 37°C pendant une durée déterminée. On soumet ensuite 5 échantillons dans chaque cas à une évaluation d'agitation. On présente les résultats dans le tableau ci-dessous, la limite de 15 FNU correspond à des turbidités que l'on peut discerner à la lumière du jour.

Stockage pendant 1 mois à 5°C.

Échantillon d'évaluation	Nombre de fioles > 15 FNU								
	0 jour	0,5 jour	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	6 jours	8 jours	10 jours
Insuline glargine	0	0	0	2	3	3	4	4	4
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	1	3	4	5
Insuline glargine + 0,015 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,020 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,030 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Stockage pendant 1 mois à 25°C.

CABINET AKSIMAN
 CONSEIL EN PROPRETE INDUSTRIELLE
 115 - Bd. Babou - El Moulini
 13000 - ALGER - ALGERIE

Échantillon d'évaluation	Nombre de fioles > 15 FNU								
	0 jour	0,5 jour	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	6 jours	8 jours	10 jours
Insuline glargine	0	0	0	1	1	1	1	2	3
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	0	1	2	3
Insuline glargine + 0,015 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,020 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,030 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Stockage pendant 1 mois à 37°C.

Échantillon d'évaluation	Nombre de fioles > 15 FNU								
	0 jour	0,5 jour	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	6 jours	8 jours	10 jours
Insuline glargine	0	0	0	2	5	5	5	5	5
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,015 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,020 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Insuline glargine + 0,030 mg/ml de polysorbate 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0

5 Sans ajout de polysorbate 20, même après 2 jours de stress physico-mécanique sévère, une turbidité visible peut se produire dans la solution. Par ajout de polysorbate 20, on peut nettement retarder la formation de turbidité durant l'application d'un stress physico-mécanique.

On conserve l'action stabilisante du polysorbate 20 même suite au stockage à des températures élevées.

10 On ne peut détecter de diminution de l'action stabilisante due à une éventuelle hydrolyse du polysorbate dans le milieu acide de la solution.

CABINET AKBIMAN
 SOCIÉTÉ EN PARTENARIAT
 ENTRE INDUSTRIELLS
 ET COMMERCIANTS

EXEMPLE 3.-

Comparaison de la stabilisation de la période d'utilisation de l'insuline glargine en utilisant du polysorbate 20 (Tween® 20) et en utilisant du polysorbate 80 (Tween® 20).

5 On ouvre 10 fioles dans chaque cas pour donner 5 ml de solution d'injection d'insuline glargine et

a) on ajoute 0,001 mg/ml de polysorbate 20

b) on ajoute 0,01 mg/ml de polysorbate 20

10

c) on ajoute 0,001 mg/ml de polysorbate 80

d) on ajoute 0,01 mg/ml de polysorbate 80

sous la forme d'une solution stock concentrée.

On soumet ensuite les échantillons à une évaluation d'utilisation.

On présente les résultats dans le tableau ci-dessous.

Échantillon d'évaluation	Fioles présentant une formation de particules après			
	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours
Insuline glargine + 0,001 mg/ml de polysorbate 20	non	oui	oui, des particules apparaissent de manière croissante	oui, des particules apparaissent de manière croissante
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 20	non	non	Non	non
Insuline glargine + 0,001 mg/ml de polysorbate 80	non	oui	oui, des particules apparaissent de manière croissante	oui, des particules apparaissent de manière croissante
Insuline glargine + 0,010 mg/ml de polysorbate 80	non	non	Non	non

15

Un ajout de polysorbate 20 ou de polysorbate 80 en une concentration de 0,01 mg/ml peut de manière égale stabiliser la solution vis à vis d'une formation de particules durant la période d'utilisation.

CABINET ALLOUMAN
BUREAU DE LA MAIRIE DE NARBONNE
15, rue de la République - 11100 NARBONNE
04 68 88 00 00
04 68 88 00 05

REVENDICATIONS

1. Formulation pharmaceutique comprenant un polypeptide sélectionné parmi un groupe comprenant une insuline (bovine, porcine ou humaine), un analogue d'insuline, un dérivé d'insuline, un métabolite actif d'insuline ou des combinaisons de ceux-ci;
5 un tensioactif ou des combinaisons de deux ou plusieurs tensioactifs;
de manière facultative un conservateur ou des combinaisons de deux ou plusieurs conservateurs; et
10 de manière facultative un agent d'isotonie, des tampons ou des excipients supplémentaires ou des combinaisons de ceux-ci,
la formulation pharmaceutique étant une solution claire qui présente un pH dans le domaine acide (pH 1 – 6,8).
2. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à la revendication 1, présentant un pH dans le domaine de pH 3,5 – 6,8.
3. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à la revendication 1, présentant un pH dans le domaine de pH 3,5 – 4,5.
4. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à l'une des revendications 1 à 3, le tensioactif étant sélectionné parmi un groupe
20 comprenant des esters partiels et d'acides gras et des éthers de polyalcools, de glycérol, de sorbitol et de sucrose, des polyols.
5. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à la revendication 4, les esters partiels et d'acides gras et les éthers de polyalcools, de glycérol et de sorbitol étant sélectionnés parmi un groupe
25 comprenant du Span[®], du Tween[®] (polysorbate), du Myrj[®], du Brij[®], du Triton[®], du Crémophor[®].
6. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à la revendication 5, les esters partiels et d'acides gras et les éthers de polyalcools, de glycérol et de sorbitol étant sélectionnés parmi un groupe
30 comprenant du Tween[®] 20 et du Tween[®] 80.
7. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à la revendication 4, les polyols étant sélectionnés parmi un groupe comprenant des polypropylèneglycols, des polyéthylèneglycols, des poloxamères, des Pluronic, des Tetronic.
8. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à l'une des revendications 1 à 7, le conservateur étant sélectionné parmi un groupe
35 comprenant du phénol, du crésol, du chlorocrésol, de l'alcool benzylique, des parabènes.

9. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à l'une des revendications 1 à 8, l'agent d'isotonie étant sélectionné parmi un groupe comprenant du mannitol, du sorbitol, du lactose, du dextrose, du tréhalose, du chlorure de sodium, du glycérol.
- 5 10. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à l'une des revendications 1 à 9, les excipients étant sélectionnés parmi un groupe comprenant des substances tampons telles que, par exemple, du TRIS, du phosphate, du citrate, de l'acétate, de la glycyglycine ou des substances supplémentaires telles que des acides, des bases, des sels.
- 10 11. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à l'une des revendications 1 à 10, l'analogue d'insuline étant sélectionné parmi un groupe comprenant la Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-insuline humaine, la Lys(B3)-Glu(B29)-insuline humaine, la Asp(B28)-insuline humaine, la Lys(B28)-Pro(B29)-insuline humaine, la des(B30)-insuline humaine.
- 15 12. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à l'une des revendications 1 à 10, le dérivé d'insuline étant sélectionné parmi un groupe comprenant la B29-N-myristoyl-des(B30)-insuline humaine, la B29-N-palmitoyl-des(B30)-insuline humaine, la B29-N-myristoyl-insuline humaine, la B29-N-palmitoyl-insuline humaine, la B28-N-myristoyl-Lys^{B28}Pro^{B29}-insuline humaine, la B28-N-palmitoyl-Lys^{B28}Pro^{B29}-insuline humaine, la B30-N-myristoyl-Thr^{B29}Lys^{B30}-insuline humaine, la B30-N-palmitoyl-Thr^{B29}Lys^{B30}-insuline humaine, la B29-N-(N-palmitoyl-γ-glutamyl)-des(B39)-insuline humaine, la B29-N-(N-lithocholyl-γ-glutamyl)-des(B30)-insuline humaine, la B29-N-(ω-carboxyheptadécanoyl)-des(B30)-insuline humaine et la B29-N-(ω-carboxyheptadécanoyl)-insuline humaine.
- 20 25 13. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à l'une des revendications précédentes, dans laquelle l'insuline, l'analogue d'insuline et/ou le dérivé d'insuline est présent en une concentration de 60 – 6000 nmol/ml.
- 30 14. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à la revendication 13, l'insuline, l'analogue d'insuline et/ou le dérivé d'insuline étant présent en une concentration de 240 - 3000 nmol/ml.
15. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à l'une des revendications précédentes, dans laquelle le tensioactif est présent en une concentration de 5 – 200 µg/ml.
- 35 16. Formulation pharmaceutique comme revendiquée à la revendication 15, dans laquelle le tensioactif est présent en une concentration de 5 – 120 µg/ml.

