



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0410972-4 B1

(22) Data do Depósito: 03/06/2004

(45) Data de Concessão: 30/01/2018



* B R P I 0 4 1 0 9 7 2 B 1 *

(54) Título: MÉTODO PARA AUMENTAR A VIDA DE PRATELEIRA DE UMA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, E, MÉTODO PARA TRATAMENTO DE HIPERGLICEMIA

(51) Int.Cl.: A61K 38/26

(30) Prioridade Unionista: 03/06/2003 DK PA 2003 00819, 19/01/2004 DK PA 2004 00075

(73) Titular(es): NOVO NORDISK A/S

(72) Inventor(es): CLAUD JUULMORTENSEN; DORTE KOT ENGELUND

“MÉTODO PARA AUMENTAR A VIDA DE ARMAZENAGEM DE UMA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, E, MÉTODO PARA TRATAMENTO DE HIPERGLICEMIA”

CAMPO DA INVENÇÃO

[0001] A presente invenção refere-se ao campo das composições farmacêuticas. Mais especificamente a invenção refere-se aos métodos para preparar composições farmacêuticas estáveis que são preparadas a partir de um produto de peptídeo em volume que tem sido submetido ao tratamento em pH acima de pH neutro.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[0002] Peptídeos terapêuticos são amplamente usados em prática médica. É requerido que as composições farmacêuticas de tais peptídeos farmacêuticos tenham uma vida de armazenagem de vários anos com o propósito de serem adequadas para uso comum. Contudo, as composições de peptídeo são inerentemente instáveis devido à sensibilidade à degradação química e física. Degradação química envolve a mudança de ligações covalentes, tais como oxidação, hidrólise, racemização ou reticulação. Degradação física envolve mudanças conformacionais relativas à estrutura nativa do peptídeo, i.e. estruturas secundária e terciárias, tais como agregação, precipitação ou adsorção em superfícies.

[0003] Glucagon tem sido usado há décadas em prática médica dentro de diabetes e vários peptídeos semelhantes a glucagon estão sendo desenvolvidos para várias indicações terapêuticas. O gene de preproglucagon codifica glucagon e também peptídeo 1 semelhante a glucagon (GLP-1) e peptídeo 2 semelhante a glucagon (GLP-2). Análogos e derivados de GLP-1 bem como peptídeo de lagartixa homólogo, exendina-4, estão sendo desenvolvidos para o tratamento de hiperglicemia dentro de diabetes de tipo 2. GLP-2 é potencialmente útil no tratamento de doenças gastrintestinais. Entretanto, todos estes peptídeos incluindo 29-39 aminoácidos possuem um grau alto de homologia e compartilham numerosas propriedades, notavelmente sua tendência para se agregarem e formarem fibrilas insolúveis. Esta propriedade parece incluir uma transição de uma conformação de

hélice-alfa predominante para folhas-beta (Blundell T. L. (1983) “The conformation of glucagon”; em Lefévre P. J. (Ed) Glucagon I. Springer Verlag, pp 37-5, Senderoff R. I. et al., J. Pharm. Sci. 87 (1998) 183-189, WO 01/55213). Agregação dos peptídeos semelhantes a glucagon é principalmente vista quando soluções dos peptídeos são agitadas ou vascolejadas na interface entre a solução e a fase gasosa (ar), e em contato com superfícies hidrofóbicas tal como Teflon®.

[0004] Assim, vários excipientes têm sido muitas vezes adicionados em composições farmacêuticas de peptídeos semelhantes a glucagon com o propósito de melhorar sua estabilidade. A vida de armazenagem de formulações líquidas parenterais destes peptídeos tem que ser de pelo menos um ano, preferivelmente mais longa. O período em uso onde o produto pode ser diariamente transportado e vascolejado em temperatura ambiente preferivelmente deve ser de várias semanas. Assim, há uma necessidade de composições farmacêuticas de peptídeos semelhantes a glucagon que possuam estabilidade melhorada.

[0005] Verificou-se de modo surpreendente que os produtos de peptídeo em volume que têm sido tratados em um pH acima de 8,0 aumentaram a estabilidade das composições farmacêuticas preparadas a partir destes produtos de peptídeo em volume.

DEFINIÇÕES

[0006] A seguir é apresentada uma definição detalhada dos termos usados no relatório descritivo.

[0007] O termo “quantidade efetiva” como aqui usado significa uma dosagem que é suficiente para ser efetiva para o tratamento do paciente comparado sem tratamento.

[0008] O termo “reconstituído” como aqui usado referindo a uma composição farmacêutica significa uma composição aquosa que tem sido formada pela adição de água ou de uma solução aquosa apropriada em um material sólido compreendendo o ingrediente ativo farmacêutico. Composições farmacêuticas para reconstituição são aplicadas onde uma composição líquida com vida de armazenagem aceitável não pode ser produzida. Um exemplo de uma

composição farmacêutica reconstituída é a solução que resulta quando se adiciona água ou uma solução aquosa apropriada em uma composição seca por congelamento. A solução é muitas vezes para administração parenteral e assim água para injeção ou qualquer outro solvente apropriado é usado para a reconstituição do material sólido.

[0009] O termo “tratamento de doença” como aqui usado significa o manejo e o cuidado de um paciente tendo desenvolvido a doença, a condição ou o distúrbio. O propósito do tratamento é combater a doença, a condição ou o distúrbio. Tratamento inclui a administração dos compostos ativos para eliminar ou controlar a doença, a condição ou o distúrbio bem como para aliviar os sintomas ou as complicações associados(as) com a doença, a condição ou o distúrbio.

[0010] O termo “peptídeo semelhante a glucagon” como aqui usado refere-se aos peptídeos homólogos derivados do gene de preproglucagon, exendinas e análogos e derivados dos mesmos. Os peptídeos derivados do gene de preproglucagon é glucagon, peptídeo 1 semelhante a glucagon (GLP-1), peptídeo-2 semelhante a glucagon (GLP-2) e oxintomodulina (OXM). As exendinas que são encontradas no monstro de Gila são homólogas ao GLP-1 e também exercem um efeito insulínico. Exemplos de exendinas são exendina-4 e exendina-3.

[0011] Os peptídeos semelhantes a glucagon possuem as seguintes sequências:

	1	5	10	15	20	25	30	35
Glucagon	HSQGT	FTSDY	SKYLD	SRRAQ	DFVQW	LMNT-NH2		
GLP-1	HAEGT	FTSDV	SSYLE	GQAAK	EFIAW	LVKGR	G	
GLP-2	HADGS	FSDEM	NTILD	NLAAR	DFINW	LIQTK	ITD	
Exendin-4	HGEGT	FTSDL	SKQME	EEAVR	LFIEW	LKNGG	PSSGA	PPPS-NH2
Exendin-3	HSDGT	FTSDL	SKQME	EEAVR	LFIEW	LKNGG	PSSGA	PPPS-NH2
OXM	HSQGT	FTSDY	SKYLD	SRRAQ	DFVQW	LMDTK	RNKNN	IA

[0012] O termo “análogo” como aqui usado referindo-se a um peptídeo significa um peptídeo modificado no qual um ou mais resíduos de aminoácido do peptídeo têm sido substituídos por outros resíduos de aminoácido e/ou no qual um ou mais resíduos de aminoácido têm sido deletados do peptídeo e/ou no qual um ou mais resíduos de aminoácido têm sido deletados do peptídeo e ou no qual um ou mais

resíduos de aminoácido têm sido adicionados no peptídeo. Tal adição ou deleção de resíduos de aminoácido podem ocorrer na terminação-N do peptídeo e/ou na terminação-C do peptídeo. Dois sistemas simples e diferentes são muitas vezes utilizados para descrever os análogos: por exemplo Arg³⁴-GLP-1(7-37) ou K34R-GLP-1(7-37) designa um análogo de GLP-1 no qual os resíduos de aminoácido na posição 1-6 têm sido deletados, e lisina de ocorrência natural na posição 34 tem sido substituída por arginina (abreviação de letra única padrão para aminoácidos usada de acordo com a nomenclatura da IUPAC-IUB).

[0013] O termo “derivado” como aqui usado em relação a um peptídeo parental significa uma proteína parental quimicamente modificada ou um seu análogo, no qual pelo menos um substituinte não está presente na proteína parental ou um seu análogo, i.e. uma proteína parental que tem sido covalentemente modificada. Modificações típicas são amidas, carboidratos, grupos alquila, grupos acila, ésteres, peguilações e semelhantes. Um exemplos de um derivado de GLP-1(7-37) é Arg³⁴,Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu-(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37).

[0014] O termo “peptídeo GLP-1” como aqui usado significa GLP-1(7-37), um análogo de GLP-1, um derivado de GLP-1 ou um derivado de um análogo de GLP-1.

[0015] O termo “peptídeo GLP-2” como aqui usado significa GLP-2(1-33), um análogo de GLP-2, um derivado de GLP-2 ou um derivado de um análogo de GLP-2.

[0016] O termo “peptídeo exendina-4” como aqui usado significa exendina-4(1-39), um análogo de exendina-4, um derivado de exendina-4 ou um derivado de um análogo de exendina-4.

[0017] O termo “composto de exendina-4 estável” como aqui usado significa exendina-4(1-39) quimicamente modificada, i.e. um análogo ou um derivado que exibe uma meia-vida de eliminação em plasma in vivo de pelo menos 10 horas em homem, conforme determinada pelo seguinte método. O método de determinação de meia-vida de eliminação em plasma de um composto de exendina-4 em homem é: o composto é dissolvido em um tampão isotônico, pH 7,4, PBS ou qualquer outro tampão adequado. A dose é injetada perifericamente, preferivelmente na coxa superior ou abdominal. Amostras de sangue para a determinação de composto ativo

são retiradas em intervalos freqüentes, e por uma duração suficiente para cobrir a parte de eliminação terminal (por exemplo pré-dose, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 24 (dia 2), 36 (dia 2), 48 (dia 3), 60 (dia 3), 72 (dia 4) e 84 (dia 4) horas após a dose). Determinação da concentração de composto ativo é realizada como descrito em Wilken et al., Diabetologia 43(51):A143, 2000. Parâmetros farmacocinéticos derivados são calculados dos dados de concentração -tempo para cada sujeito individual pelo uso de métodos não-compartimentais, usando o programa de computadores comercialmente disponível WinNonlin Version 2.1 (Pharsight, Cary, NC, USA). A constante de velocidade de eliminação terminal é estimada por regressão de linear em log sobre parte linear em log terminal da curva de concentração-tempo, e usada para calcular a meia-vida de eliminação.

[0018] O termo “composto de exendina-4-protegido contra DPP-IV” como aqui usado significa um composto de exendina-4 que tem sido quimicamente modificado para tornar o dito composto resistente à peptidase de plasma dipeptidil-amino-peptidase-4 (DPP-IV).

[0019] O termo “composto de exendina-4 imunomodulado” como aqui usado significa um composto de exendina-4 que é um análogo ou um derivado de exendina-4(1-39) possuindo uma resposta imune reduzida em humanos em comparação com exendina-4-(1-39). O método para avaliar a resposta imune é medir a concentração de anticorpos reativos ao composto de exendina-4 após 4 semanas de tratamento do paciente.

[0020] O termo “produto em volume” ou “produto de peptídeo em volume” como aqui usado significa o produto de peptídeo purificado que é para ser utilizado para a manufatura de uma composição farmacêutica. Assim, o produto em volume é normalmente obtido como o produto da etapa final de purificação, secagem ou condicionamento. O produto em volume pode ser cristais, precipitado, solução ou suspensão. O produto em volume é também conhecido na técnica como a substância de droga.

[0021] O termo “ponto isoelétrico” como aqui usado significa o valor de pH onde a carga efetiva total de uma macromolécula tal como um peptídeo é zero. Em

peptídeos pode haver muitos grupos carregados, e no ponto isoelétrico a soma de todas as cargas é zero, i.e. o número de cargas negativas é igual ao número de cargas positivas. Em um pH acima do ponto isoelétrico a carga efetiva total do peptídeo será negativa, enquanto que em valores de pH abaixo do ponto isoelétrico a carga efetiva total do peptídeo será positiva. O ponto isoelétrico de um peptídeo pode ser determinada por focalização isoelétrica ou pode ser estimado da sequência do peptídeo por algoritmos computacionais conhecidos na técnica.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[0022] Em um aspecto a presente invenção refere-se a um método para aumentar a vida de armazenagem de uma composição farmacêutica que compreende um peptídeo semelhante a glucagon, um tampão farmacêuticamente aceitável e um conservante farmacêuticamente aceitável, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é preparada a partir de um produto de peptídeo em volume que tem sido submetido ao tratamento em um pH dentro da faixa de 8,1 a 9,6.

[0023] Em outro aspecto a presente invenção refere-se a um método para aumentar a vida de armazenagem de uma composição farmacêutica que compreende um peptídeo semelhante a glucagon e um conservante farmacêuticamente aceitável, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é preparada a partir de um peptídeo em volume que tem sido submetido ao tratamento em um pH dentro da faixa de 8,1 a 9,6.

[0024] Em outro aspecto a presente invenção refere-se a um método para aumentar a vida de armazenagem de uma composição farmacêutica que compreende um peptídeo, um tampão farmacêuticamente aceitável e um conservante farmacêuticamente aceitável, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é preparada a partir de um produto de peptídeo em volume que tem sido submetido ao tratamento em um pH dentro da faixa de 8,1 a 9,6.

[0025] Em outro aspecto a presente invenção refere-se a um método para aumentar a vida de armazenagem de uma composição farmacêutica que

compreende um peptídeo e um conservante farmacêuticamente aceitável, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é preparada a partir de um peptídeo em volume que tem sido submetido ao tratamento em um pH dentro da faixa de 8,1 a 9,6.

[0026] Em outro aspecto a presente invenção refere-se a um método para aumentar a vida de armazenagem de uma composição farmacêutica que compreende um peptídeo semelhante a glucagon, um tampão farmacêuticamente aceitável e um conservante farmacêuticamente aceitável, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é preparada a partir de um produto de peptídeo em volume que tem sido submetido ao tratamento em um pH dentro da faixa de 8,5 a 9,6.

[0027] Em outro aspecto a presente invenção refere-se a um método para aumentar a vida de armazenagem de uma composição farmacêutica que compreende um peptídeo semelhante a glucagon, um tampão farmacêuticamente aceitável e um conservante farmacêuticamente aceitável, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é preparada a partir de um produto de peptídeo em volume que tem sido submetido ao tratamento em um pH dentro da faixa de 9,0 a 9,6.

[0028] Em outro aspecto a presente invenção refere-se a um método para aumentar a vida de armazenagem de uma composição farmacêutica que compreende um peptídeo semelhante a glucagon, um tampão farmacêuticamente aceitável e um conservante farmacêuticamente aceitável, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é preparada a partir de um produto de peptídeo em volume que tem sido submetido ao tratamento em um pH dentro da faixa de 8,1 a 11,5.

[0029] Em uma modalidade o produto de peptídeo em volume tem sido submetido a um pH dentro da faixa de 8,1 a 10,0.

[0030] Em outra modalidade o produto de peptídeo em volume tem sido submetido a um pH dentro da faixa de 8,5 a 11,5.

[0031] Em outra modalidade o produto de peptídeo em volume tem sido

submetido a um pH dentro da faixa de 8,5 a 10,0.

[0032] Em outra modalidade da invenção o produto de peptídeo em volume tem sido submetido ao tratamento em um pH na faixa especificada por um período de cerca de 1 minuto a cerca de 12 horas, e em uma temperatura maior do que a temperatura de nucleação (quer como nucleação heterogênea quer como nucleação homogênea) do peptídeo em volume a cerca de 25°C.

[0033] Em outra modalidade da invenção o produto de peptídeo em volume tem sido submetido ao tratamento em um pH na faixa especificada por um período de 1 minuto a 30 minutos, e em uma temperatura de cerca de 5°C a cerca de 25°C.

[0034] É para ser entendido que a invenção pode ser realizada por meio de várias combinações de valores de pH, de temperatura e de tempo. Estas três variáveis podem ser combinadas dentro das faixas acima mencionadas. Contudo, enquanto que uma ou duas das variáveis pode(m) ser adequadamente escolhida(s) na extremidade alta das faixas, a uma ou duas variáveis restantes são tipicamente menores. Por exemplo, se um valor de pH alto tal como pH 10 for usado ele será preferivelmente combinado com uma temperatura menor tal como cerca de 5-10°C e/ou tempo curto tal como menor do que cerca de 1 minuto a cerca de 6 horas. Combinações úteis de variáveis são: pH 10,0 a 5°C por cerca de 3 horas, pH 10,0 a 15°C por cerca de 1 hora, ou pH 11,0 a 5°C por cerca de 1 hora.

[0035] O crescimento de cristais de gelo, seja um cristal único ou um policristal, é o processo de nucleação inicial, apenas gelo é produzido com o congelamento de água ou de uma solução aquosa em pressões baixas, em congelamento tanto lento quanto rápido. A nucleação de soluções pode ocorrer em duas maneiras, dependendo da concentração do soluto e da temperatura. Se uma solução saturada for esfriada, então ela poderá se tornar não apenas superesfriada com respeito à fase de gelo, mas também supersaturada com respeito ao soluto. Na ausência de núcleos de congelamento apropriados, a solução pode superesfriar. Assim a temperatura usada durante o tratamento do peptídeo em pH maior é para ser mantida acima da temperatura de nucleação do peptídeo nas condições prevalecentes. A temperatura de nucleação é conhecida por uma pessoa experiente

na técnica, e pode ser rotineiramente determinada para o peptídeo relevante por experimentos em temperaturas diferentes.

[0036] Em uma modalidade a composição farmacêutica é uma solução.

[0037] Em outra modalidade a composição farmacêutica é uma suspensão.

[0038] Em outra modalidade a composição farmacêutica é uma formulação sólida, por exemplo seca por congelamento na qual o medido ou paciente adiciona solvente antes do uso. O solvente utilizado para a reconstituição pode ser água para injeção ou outro solvente adequado.

[0039] Em outra modalidade o produto de peptídeo em volume é preparado por liofilização de uma solução ou suspensão de dito peptídeo semelhante a glucagon em dito pH.

[0040] Em outra modalidade o produto de peptídeo em volume é tratado no dito pH durante a manufatura de dita composição farmacêutica.

[0041] Em outra modalidade o produto de peptídeo em volume é tratado no dito pH após a etapa de purificação final no processo de manufatura.

[0042] Em outra modalidade o produto de peptídeo em volume é tratado no dito pH antes de ser misturado com o dito tampão farmacêuticamente aceitável.

[0043] Em outra modalidade o pH da composição farmacêutica é menor do que o pH no qual a solução ou suspensão do peptídeo em volume é tratada.

[0044] Em outra modalidade o pH da composição farmacêutica está pelo menos 0,8 unidade de pH abaixo do pH no qual a solução ou suspensão do peptídeo em volume é tratada.

[0045] Em outra modalidade o pH da composição farmacêutica está pelo menos 1,5 unidades de pH abaixo do pH no qual a solução ou suspensão do peptídeo em volume é tratada.

[0046] Composições farmacêuticas compreendendo um peptídeo semelhante a glucagon de acordo com a presente invenção podem ser administradas parenteralmente aos pacientes em necessidade de tal tratamento. Administração parenteral pode ser realizada por injeção subcutânea, injeção intramuscular, ou injeção intravenosa por meio de uma seringa, opcionalmente uma seringa

semelhante à caneta. Administração alternativa pode ser realizada por infusão, por exemplo pelo uso de uma bomba de infusão.

[0047] Em uma modalidade o pH da dita composição farmacêutica ou de uma solução reconstituída da dita composição farmacêutica é de pH 7,0 a pH 8,0, preferivelmente de pH 7,2 a pH 7,8. Em outra modalidade o pH da dita composição farmacêutica ou de uma solução reconstituída da dita composição farmacêutica é de pH 7,2 a pH 7,6. Em outra modalidade o pH da dita composição farmacêutica ou de uma solução reconstituída da dita composição farmacêutica é de pH 7,4 a pH 7,8.

[0048] Em outra modalidade o ponto isoelétrico de dito peptídeo semelhante a glucagon é de 3,0 a 7,0, preferivelmente de 4,0 a 6,0.

[0049] Em uma modalidade o dito peptídeo semelhante a glucagon é glucagon, um análogo de glucagon ou um derivado do mesmo.

[0050] Em outra modalidade o dito peptídeo semelhante a glucagon é oxintomodulina.

[0051] Em uma modalidade o dito peptídeo semelhante a glucagon é GLP-1, uma análogo de GLP-1, um derivado de GLP-1 ou um derivado de um análogo de GLP-1.

[0052] Em outra modalidade o dito análogo de GLP-1 é selecionado do grupo consistindo de Gly⁸-GLP-1(7-36)-amida, Gly⁸-GLP-1(7-37), Val⁸-GLP-1 (7-36)-amida, Val⁸-GLP-1(7-37), Val⁸Asp²²-GLP-1(7-36)-amida, Val⁸Asp²²-GLP-1(7-37), Val⁸Glu²²-GLP-1(7-36)-amida, Val⁸Glu²²-GLP-1(7-37), Val⁸Lys²²-GLP-1(7-36)-amida, Val⁸Lys²²-GLP-1(7-37), Val⁸Arg²²-GLP-1(7-36)-amida, Val⁸Arg²²-GLP-1(7-37), Val⁸His²²-GLP-1(7-36)-amida, Val⁸His²²-GLP-1(7-37), Val⁸Trp¹⁹Glu²²-GLP-1(7-37), Val⁸Glu²²Val²⁵-GLP-1(7-37), Val⁸Tyr¹⁶Glu²²-GLP-1 (7-37), Val⁸Trp¹⁶Glu²²-GLP-1(7-37), Val⁸Leu¹⁶Glu²²-GLP-1(7-37), Val⁸Tyr¹⁸Glu²²-GLP-1(7-37), Val⁸Glu²²His³⁷-GLP-1(7-37), Val⁸Glu²²Ile³³-GLP-1(7-37), Val⁸Trp¹⁶Glu²²Val²⁵Ile³³-GLP-1 (7-37), Val⁸Trp¹⁶Glu²²Val²⁵Ile³³-GLP-1(7-37), Val⁸Glu²²Val²⁵Ile³³-GLP-1(7-37), Val⁸Trp¹⁶Glu²²Val²⁵-GLP-1(7-37), e seus análogos.

[0053] Em outra modalidade o dito derivado de um análogo de GLP-1 é Arg³⁴,Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu-(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37).

[0054] Métodos para a preparação de GLP-1, de seus análogos bem como de derivados de GLP-1 podem ser encontrados por exemplo em WO 99/43706, WO 0/55119, WO 00/34331 e WO 03/18516.

[0055] Em outra modalidade a dita solução ou suspensão de produto de peptídeo em volume é submetida ao tratamento em um pH de 9,5, e o pH da dita composição farmacêutica é 7,4.

[0056] Em outra modalidade o peptídeo semelhante a glucagon é um peptídeo GLP-1 e a composição farmacêutica ou uma sua composição reconstituída possui uma concentração de peptídeo semelhante a glucagon de 0,1 mg/ml a 50 mg/ml, de 0,1 mg/ml a 25 mg/ml, de 1 mg/ml a 25 mg/ml, de 1 mg/ml a 10 mg/ml, ou de 3 mg/ml a 8 mg/ml.

[0057] Em uma modalidade o peptídeo semelhante a glucagon é GLP-2, um análogo de GLP-2, um derivado de GLP-2 ou um derivado de análogo e GLP-2.

[0058] Em outra modalidade o derivado de GLP-2 ou um derivado de análogo e GLP-2 possui um resíduo de lisina, tal como uma lisina, no qual um substituinte lipofílico opcionalmente via um espaçador está ligado no epsilon-aminoácido de dita lisina.

[0059] Métodos para a preparação de GLP-2, de seus análogos bem como de derivados de GLP-2 podem ser encontrados em WO 99/43361 e WO 00/55119.

[0060] Em outra modalidade o peptídeo semelhante a glucagon é um peptídeo GLP-2 e a composição farmacêutica ou uma sua composição reconstituída possui uma concentração de peptídeo semelhante a glucagon de 0,1 mg/ml a 100 mg/ml, de 0,1 mg/ml a 25 mg/ml, ou de 1 mg/ml a 25 mg/ml.

[0061] Em uma modalidade o peptídeo semelhante a glucagon é exendina-4, um análogo de exendina-4, um derivado de exendina-4, ou um derivado de um análogo de exendina-4.

[0062] Em outra modalidade o peptídeo semelhante a glucagon é exendina-4. Em outra modalidade o peptídeo semelhante a glucagon é uma exendina-4 estável. Em outra modalidade o peptídeo semelhante a glucagon é uma exendina-4 protegida contra DPP-IV. Em outra modalidade o peptídeo semelhante a glucagon é

uma exendina-4 imunomodulada. Em outra modalidade o peptídeo semelhante a glucagon é ZP-10 ([Ser³⁸Lys³⁹]Exendin-4(1-39)LysLysLysLysLys-amida).

[0063] Métodos para a preparação de exendina-4, de seus análogos bem como de derivados de exendina-4 podem ser encontrados em WO 99/43708, WO 00/41546 e WO 00/55119.

[0064] Em outra modalidade o peptídeo semelhante a glucagon é um peptídeo de exendina-4 e a composição farmacêutica ou uma sua composição reconstituída possui uma concentração de peptídeo semelhante a glucagon de 5 µg/ml a 10 mg/ml, de 5 µg/ml a 5 mg/ml, de 5 µg/ml a 5 mg/ml, de 0,1 mg/ml a 3 mg/ml, ou de 0,2 mg/ml a 1 mg/ml.

[0065] Tampões adequados para uso em composições farmacêuticas são conhecidos por aquelas pessoas experientes na técnica e incluem, mas não são limitados a, orto-fosfato, TRIS, glicina, N-glicil-glicina, citrato acetato de sódio, carbonato de sódio, glicil-glicina, histidina, lisina, arginina, fosfato de sódio, e citrato de sódio ou suas misturas. Em uma modalidade a composição farmacêutica compreende um tampão que é Tris. Em outra modalidade a composição farmacêutica compreende um tampão que é Bicine.

[0066] Conservantes para uso nas composições farmacêuticas são conhecidos por aquelas pessoas experientes na técnica e incluem, mas não são limitados a, fenol, m-cresol, p-hidróxi-benzoato de metila, p-hidróxi-benzoato de propila, 2-fenóxi-etanol, p-hidróxi-benzoato de butila, 2-fenil-etanol, benzil-álcool, cloro-butanol, e tiomerosal, ou misturas dos mesmos.

[0067] Em uma modalidade a composição farmacêutica compreende um agente de isotonicidade.

[0068] Em uma modalidade a composição farmacêutica compreende um agente de isotonicidade que é cloreto de sódio, xilitol, manitol, sorbitol, glicerol, glucose, maltose, sacarose, L-glicina, L-histidina, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptofano, treonina, dimetil-sulfona, poli(etileno-glicol), propileno-glicol ou misturas dos mesmos.

[0069] Em outra modalidade da presente invenção a composição farmacêutica

compreende adicionalmente um estabilizador.

[0070] Em uma outra modalidade da invenção a formulação compreende adicionalmente um estabilizador selecionado do grupo de polímeros de peso molecular alto ou compostos de peso molecular baixo.

[0071] Em uma outra modalidade da invenção o estabilizador é selecionado de poli(etileno-glicol) (por exemplo PEG 3350), poli(vinil-álcool) (PVA), poli(vinil-pirrolidona), carbóxi-metil-celulose, sais diferentes (por exemplo cloreto de sódio), L-glicina, L-histidina, imidazol, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptofano, treonina e misturas dos mesmos. Cada um destes estabilizadores específicos constitui uma modalidade alternativa da invenção. Em uma modalidade preferida da invenção o estabilizador é selecionado do grupo consistindo de L-histidina, imidazol e arginina.

[0072] Em outra modalidade da presente invenção o estabilizador é selecionado do grupo consistindo de PEG 3350, poli(vinil-álcool), poli(vinil-pirrolidona), carbóxi-metil-celulose, cloreto de sódio, L-glicina, L-histidina, imidazol, L-arginina, L-lisina, L-isoleucina, ácido L-aspártico, L-triptofano, L-treonina e misturas dos mesmos.

[0073] Em uma outra modalidade da invenção a formulação compreende adicionalmente um agente quelante.

[0074] Em uma outra modalidade da invenção o agente quelante é selecionado de sais de ácido etileno-diamino-tetraacético (EDTA), ácido cítrico, e ácido aspártico, e misturas dos mesmos. Cada um destes agentes quelantes constitui uma modalidade alternativa da invenção.

[0075] Em outra modalidade da presente invenção a composição farmacêutica compreende adicionalmente um tensoativo. Em uma outra modalidade da invenção o tensoativo é selecionado de um detergente, óleo de rícino etoxilado, glicerídeos poliglicolizados, monoglicerídeos acetilados, ésteres de ácido graxo-sorbitano, poloxâmeros, tais como 188 e 407, ésteres de ácido graxo-polioxietileno-sorbitano, derivados de polioxietileno tais como derivados alquilados e alcoxilados (tweens, por exemplo Tween-20, ou Tween-80), monoglicerídeos ou seus derivados etoxilados, diglicerídeos ou seus derivados de polioxietileno, glicerol, ácido cólico ou seus

derivados, lecitinas, alcoóis e fosfolipídeos, glicerofosfolipídeos (lecitinas, cefalinas, fosfatidil-serina), gliceroglicolipídeos (galactopiranosídeo), esfingofosfolipídeos (esfingomielina), e esfingoglicolipídeos (ceramidas, gangliosídeos), DSS (docusato de sódio, Registro no CAS No.[577-11-7]), docusato de sódio, registro no CAS No [128-49-4]), docusato de potássio registro no CAS No [7491-09-0]), SDS (dodecil-sulfato de sódio ou lauril-sulfato de sódio), ácido dipalmitoil-fosfatídico, caprilato de sódio, ácidos biliares e seus sais e conjugados de taurina ou glicina, ácido ursodesoxicólico, colato de sódio, desoxicolato de sódio, taurocolato de sódio, glicocolato de sódio, N-hexadecil-N,N-dimetil-3-amônio-1-propano-sulfonato, tensoativos monovalentes aniônicos (alquil-aril-sulfonatos), palmitoil-lisofosfatidil-L-serina, lisofosfolipídeos (por exemplo, 1-acil-sn-glicero-3-fosfato-ésteres de etanol-amina, colina, serina ou treonina), alquil, alcóxi (alquil-éster), alcóxi (alquil-éter)-derivados de lisofosfatidil e fosfatidil-colinas, por exemplo lauroil e miristoil derivados de lisofosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina, e modificações do grupo de cabeça polar, isto é colinas, etanol-aminas, ácido fosfatírico, serinas, treoninas, glicerol, inositol, e os positivamente carregados DODAC, DOTMA, DCP, BISHOP, lisofosfatidilserina e lisofosfatidiltreonina, tensoativos zwitteriônicos (por exemplo, N-alquil-N,N-dimetil-amônio-1-propano-sulfonatos, 3-colamido-1-propil-dimetil-amônio-1-propano-sulfonato, dodecil-fosfo-colina, miristoil-lisofosfatidil-colina, lisolecitina de ovo de galinha), tensoativos catiônicos (bases de amônio quaternário) (por exemplo brometo de cetil-trimetil-amônio, cloreto de cetil-piridínio), tensoativos não-iônicos, copolímeros em bloco de poli(óxido de etileno)/poli(óxido de propileno) (Pluronic / Tetronics, Triton X-100, Dodecil-β-D-glicopiranosídeo) ou tensoativos poliméricos (Tween-40, Tween-80, Brij-35), derivados de ácido fusídico (por exemplo tauro-di-hidro-fusidato de sódio, etc.), ácidos graxos de cadeia longa e seus sais C6-C12 (por exemplo ácido oléico e ácido caprílico), acil-carnitina e derivados, derivados N^α-acetilados de lisina, arginina ou histidina, ou derivados acilados em cadeia lateral de lisina ou arginina, derivados N^α-acetilados de dipeptídeos compreendendo qualquer combinação de lisina, arginina ou histidina e um aminoácido neutro ou ácido, derivado N^α-acetilado de tripeptídeo compreendendo qualquer combinação de um

aminoácido neutro e dois aminoácidos carregados, ou o tensoativo pode ser selecionado do grupo de derivados de imidazol, ou suas misturas. Cada um destes tensoativos específicos constitui uma modalidade alternativa da invenção.

[0076] O uso de excipientes tais como conservantes, agentes isotônicos e tensoativos em composições farmacêuticas é bem conhecido pela pessoa experiente na técnica. Por conveniência referência é feita a Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995.

[0077] Em um outro aspecto a presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende um peptídeo semelhante a glucagon, um tampão farmaceuticamente aceitável e um conservante farmaceuticamente aceitável, caracterizada pelo fato de que a dita composição farmacêutica é preparada por um método de acordo com a presente invenção.

[0078] Em um outro aspecto a presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica possuindo um pH entre cerca de 7,2 a cerca de 7,8, a dita composição compreendendo um peptídeo semelhante a glucagon e pelo menos um excipiente farmaceuticamente aceitável, na qual a dita composição é estável em armazenagem conforme medição por um aumento menor do que o dobro de fluorescência em um teste de Tioflavina T do peptídeo semelhante a glucagon contido na dita composição após armazenagem da composição por um mês a 37°C.

[0079] Em um outro aspecto a presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende um peptídeo, um tampão farmaceuticamente aceitável e um conservante farmaceuticamente aceitável, caracterizada pelo fato de que a composição farmacêutica é preparada por um método de acordo com a presente invenção.

[0080] Em um outro aspecto a presente invenção refere-se a um método para o tratamento de hiperglicemia compreendendo a administração parenteral de uma quantidade efetiva da composição farmacêutica de acordo com a presente invenção.

[0081] O peptídeo semelhante a glucagon parental pode ser produzido por síntese de peptídeo, por exemplo síntese de peptídeo em fase sólida usando a química de t-Boc ou de F-Moc ou outras técnicas bem estabelecidas. O peptídeo

semelhante a glucagon parental também pode ser produzido por um método que compreende cultivar uma célula hospedeira contendo uma sequência de DNA codificadora de polipeptídeo e capaz de expressar o polipeptídeo em um meio nutriente adequado sob condições que permitem a expressão do peptídeo, após o qual o peptídeo resultante é recuperado da cultura. O meio usado para cultivar as células pode ser qualquer meio convencional adequado para o crescimento de células hospedeiras, tais como meios mínimos ou complexos contendo suplementos apropriados. Meios adequados estão disponíveis em fornecedores comerciais ou podem ser preparados de acordo com receitas publicadas (por exemplo em catálogos da American Type Culture Collection). O peptídeo produzido pelas células pode ser então recuperado do meio de cultura por procedimentos convencionais incluindo separação das células hospedeiras do meio por centrifugação ou filtração, precipitação dos componentes proteináceos do sobrenadante ou do filtrado por intermédio de um sal, por exemplo sulfato de amônio, purificação por uma variedade de procedimentos cromatográficos, por exemplo cromatografia de troca iônica, cromatografia de filtração em gel, cromatografia de afinidade, ou semelhantes, dependendo do tipo de peptídeo em questão.

[0082] A sequência de DNA codificadora do peptídeo parental pode ser adequadamente de origem genômica ou de cDNA, por exemplo obtida pela preparação de uma biblioteca genômica ou de cDNA e triagem de sequências de DNA codificadoras de todo ou de parte do peptídeo por hibridização usando sondas de oligonucleotídeo sintéticas de acordo com técnicas padrão (veja por exemplo, Sambrook, J., Fritsch, E. F., e Maniatis, T., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989). A sequência de DNA codificadora do peptídeo também pode ser preparada sinteticamente por métodos padrão estabelecidos, por exemplo o método de fosfoamidito descrito por Beaucage e Caruthers, *Tetrahedron Letters* 22 (1981), 1859-1869, ou o método descrito por Matthes et al., *EMBO Journal* 3 (1984), 801-805. A sequência de DNA também pode ser preparada por reação em cadeia de polimerase usando iniciadores específicos, por exemplo como descrito em US 4.683.202 ou Saiki et al., *Science* 239 (1988),

487-491.

[0083] A sequência de DNA pode ser inserida em qualquer vetor que pode ser convenientemente submetido aos procedimentos de DNA recombinante, e a escolha do vetor muitas vezes dependerá da célula hospedeira na qual ele é para ser introduzido. Assim, o vetor pode ser um vetor de replicação autônoma, i.e. um vetor que existe como uma entidade extracromossômica, cuja replicação é independente da replicação cromossômica, por exemplo um plasmídeo. Alternativamente, o vetor pode ser um que, quando introduzido em uma célula hospedeira, é integrado no genoma da célula hospedeira e replicado juntamente com o(s) cromossomo(s) no(s) qual(ais) ele tem sido integrado.

[0084] O vetor é preferivelmente um vetor de expressão no qual a sequência de DNA codificadora do peptídeo está operacionalmente ligada em segmentos adicionais requeridos para transcrição do DNA, tal como um promotor. O promotor pode ser qualquer sequência de DNA que mostra atividade de transcrição na célula hospedeira escolhida e pode ser derivado de genes codificadores de proteínas quer homólogas quer heterólogas à célula hospedeira. Exemplos de promotores adequados para dirigir a transcrição do DNA codificador do peptídeo da invenção em uma variedade de células hospedeiras são bem conhecidos na técnica, cf. por exemplo Sambrook et al., supra.

[0085] A sequência de DNA codificadora do peptídeo também pode, se necessário, estar operacionalmente conectada em um terminador adequado, sinais de poliadenilação, sequências intensificadoras de transcrição, e sequências intensificadoras de tradução. O vetor recombinante da invenção pode compreender adicionalmente uma sequência de DNA permitindo que o vetor se replique na célula hospedeira em questão. O vetor também pode compreender um marcador selecionável, por exemplo um gene cujo produto complementa um defeito na célula hospedeira ou um que confere resistência a uma droga, por exemplo ampicilina, canamicina, tetraciclina, cloranfenicol, neomicina, higromicina ou metotrexato. Para direcionar um peptídeo parental da presente invenção para dentro de uma rota secretória das células hospedeiras, uma sequência de sinal secretório (também

conhecida como uma sequência líder, sequência prepro ou sequência pre) pode ser proporcionada no vetor recombinante. A sequência de sinal secretório é unida à sequência de DNA codificador do peptídeo na matriz de leitura correta. As sequências de sinal secretório estão comumente posicionadas 5' à sequência de DNA codificadora do peptídeo. A sequência de sinal secretório pode ser aquela normalmente associada com o peptídeo ou pode ser de um gene codificador de outra proteína secretada.

[0086] Os procedimentos usados para ligar as sequências de DNA codificadoras do presente peptídeo, o promotor e opcionalmente a sequência de sinal secretório e/ou terminador, respectivamente, e para inseri-los em vetores adequados contendo a informação necessária para replicação, são bem conhecidos por aquelas pessoas experientes na técnica (cf. por exemplo, Sambrook et al., supra).

[0087] A célula hospedeira dentro da qual a sequência de DNA ou o vetor recombinante é introduzido pode ser qualquer célula que é capaz de produzir o presente peptídeo e inclui bactérias, levedura, fungos e células eucarióticas superiores. Exemplos de células hospedeiras adequadas bem conhecidos e usados na técnica são, sem limitação, *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, ou linhagens celulares de BHK ou de CHO de mamífero.

[0088] A presente invenção é adicionalmente ilustrada pelos seguintes exemplos que, contudo, não são para serem entendidos como limitando o escopo de proteção. As características descritas na descrição acima e nos exemplos seguintes podem, tanto separadamente quanto em qualquer combinação das mesmas, ser material para realizar a invenção em suas formas diversas.

EXEMPLOS

[0089] A seguir "Composto 1" é intencionado para significar Arg³⁴,Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu-(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37).

[0090] Antes da liofilização a solução ou a suspensão do peptídeo tem sido ajustada para o pH desejado. Após a liofilização as formulações farmacêuticas foram preparadas de acordo com os procedimentos gerais 1 e 2.

[0091] Procedimento geral 1

[0092] Conservante, agente isotônico e tampão foram dissolvidos em água e o pH foi ajustado para 7,4. Depois o peptídeo seco por congelamento foi dissolvido mantendo agitação lenta. O pH foi ajustado para 7,4 usando hidróxido de sódio e/ou ácido clorídrico. Finalmente, a formulação foi filtrada através de um filtro de 0,22 µm.

[0093] Procedimento geral 2

[0094] Conservante, agente isotônico e tampão foram dissolvidos em água e o pH foi ajustado para 7,4. O peptídeo foi dissolvido em água mantendo agitação lenta. As duas soluções foram misturadas e o pH foi ajustado para 7,4 usando hidróxido de sódio e/ou ácido clorídrico. Finalmente, a formulação foi filtrada através de um filtro de 0,22 µm.

[0095] Outro modo de preparar uma formulação farmacêutica estável é elevar o pH acima de pH neutro (> 8) na solução contendo a substância de droga. A formulação farmacêutica é preparada como descrito no procedimento geral 3.

[0096] Procedimento geral 3

[0097] Conservante, agente isotônico e tampão foram dissolvidos em água e o pH foi ajustado para 7,4 ou menor. Composto 1 foi dissolvido em água mantendo agitação lenta e o pH foi ajustado para 11,5 pela adição de hidróxido de sódio. Após cerca de 5 min as duas soluções foram misturadas e o pH foi ajustado para 7,4 usando hidróxido de sódio e/ou ácido clorídrico. Finalmente, a formulação foi filtrada através de um filtro de 0,22 µm.

[0098] A estabilidade física das formulações é avaliada por meio do teste de Tioflavina T. A estabilidade física de formulações diferentes é caracterizada por sua tendência para formar fibrilas. Um método para determinar a presença de fibrilas é o teste de Tioflavina-T. O corante de tiazol histológico Tioflavina-T (ThT) é usado como um indicador de formação de fibrila amilóide. O método é baseado nas características fluorescentes de ThT. Na presença de fibrilas amilóides, a fluorescência de ThT exibe um máximo de excitação a 450 nm e emissão intensificada a 482 nm. Tem sido mostrado que a intensidade da fluorescência de ThT é linear com o aumento na concentração de fibrila amilóide. A estabilidade física das formulações é avaliada pelo teste de ThT após armazenagem da formulação

que está contida dentro de cartuchos cheios de vidro até o topo por vários períodos de tempo.

[0099] Resultados da formulação farmacêutica manufaturada com substância de droga ajustada para um pH acima de pH neutro (> 8) antes da liofilização

[00100] Os resultados do teste ThT no início ($t=0$) e após armazenagem de 1 mês a 37°C podem ser vistos na Tabela 1.

[00101] Tabela 1. Resultados do teste ThT (unidades de fluorescência) após 1 semana ou 1 mês de teste de estabilidade acelerada.

pH do Composto 1 antes da liofilização	Concentração do Composto 1 na formulação farmacêutica	pH da formulação farmacêutica	Unidades de fluorescência após armazenagem a 37°C		
			T = 0 semana	T = 1 semana	T = 1 mês
8,0	3 mg/ml	7,4	6	Não determinado	28
9,5	3 mg/ml	7,4	6	Não determinado	7
11,5	3 mg/ml	7,4	6	Não determinado	7
8,0	6,25 mg/ml	7,4	13	20	37
9,5	6,25 mg/ml	7,4	14	13	13
11,5	6,25 mg/ml	7,4	14	13	14

[00102] É visto que as formulações farmacêuticas manufaturadas com Composto 1 ajustadas para pH 9,5 e 11,5 antes da liofilização são mais fisicamente estáveis após 1 semana e 1 mês de armazenagem a 37°C (porque não é visto aumento em ThT) comparadas com a formulação farmacêutica manufaturada com Composto 1 ajustada para pH 8 antes da liofilização (onde é visto um aumento em ThT).

[00103] Resultados de formulação farmacêutica manufaturada pela elevação do pH acima de pH neutro (>8) na solução contendo a substância de droga

[00104] Tabela 2. Resultados do teste ThT (unidades de fluorescência) após 1 mês de teste de estabilidade acelerada.

pH da solução contendo a substância de droga	Concentração do Composto 1 na formulação farmacêutica	pH da formulação farmacêutica	Unidades de fluorescência após armazenagem a 37 °C		
			T = 0 semana	T = 1 semana	T = 1 mês
8,0	6,25 mg/ml	7,4	14	20	41
11,5	6,25 mg/ml	7,4	13	12	13

[00105] É visto que a formulação farmacêutica manufaturada pela elevação do pH acima do pH neutro (>8) na solução contendo a substância de droga é fisicamente estável após 1 mês a 37°C (porque não é visto aumento de ThT) comparada com a formulação farmacêutica manufaturada sem o aumento de pH para acima de pH neutro (>8).

REIVINDICAÇÕES

1. Método para aumentar a vida de armazenagem de uma composição farmacêutica que é uma solução e compreende o peptídeo semelhante a glucagon, Arg³⁴,Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu-(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37), um tampão farmaceuticamente aceitável e um conservante farmaceuticamente aceitável, caracterizado pelo fato de que a dita composição farmacêutica é preparada a partir de um produto de peptídeo em volume que tem sido submetido ao tratamento em um pH dentro da faixa de 9,0 a 11,5, em que o dito um produto de peptídeo em volume é preparado por liofilização de uma solução ou suspensão do dito peptídeo semelhante a glucagon no dito pH, e em que o pH da dita composição farmacêutica é de 7,0 a pelo menos 0,8 unidade de pH abaixo do pH no qual a solução ou suspensão do peptídeo em volume é tratada.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o dito tratamento é em um pH na faixa de 9,0 a 10,0.

3. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o dito tratamento é em um pH na faixa de 9,0 a 9,6.

4. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que o dito produto de peptídeo em volume tem sido submetido ao tratamento em um pH na faixa especificada por um período de 10 minutos a 12 horas, e em uma temperatura de cerca de 5°C a cerca de 25°C.

5. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que o dito produto de peptídeo em volume tem sido submetido ao tratamento em um pH na faixa especificada por um período de 1 minutos a 30 minutos, e em uma temperatura de cerca de 5°C a cerca de 25°C.

6. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que o dito produto de peptídeo em volume é tratado no dito pH durante a fabricação da dita composição farmacêutica.

7. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que o dito produto de peptídeo em volume é tratado no dito pH antes de ser misturado com o dito tampão farmaceuticamente aceitável.

8. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que o pH da dita composição farmacêutica está pelo menos 1,5 unidades de pH abaixo do pH no qual a solução ou a suspensão do peptídeo em volume é tratada.

9. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é adequada para administração parenteral, por exemplo por injeção ou infusão.

10. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de que o pH da dita composição farmacêutica ou de uma solução reconstituída da dita composição farmacêutica é de pH 7,0 a pH 8,0, preferivelmente de pH,2 a pH 7,8.

11. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que a dita solução ou suspensão do produto de peptídeo em volume é submetida ao tratamento em um pH de 9,5, e o pH de dita composição farmacêutica é 7,4.

12. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que a concentração de dito peptídeo semelhante a glucagon na composição farmacêutica é de 0,1 mg/ml a 50 mg/ml, de 0,1 mg/ml a 25 mg/ml, de 1 mg/ml a 25 mg/ml, de 1 mg/ml a 10 mg/ml, ou de 3 mg/ml a 8 mg/ml.

13. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado pelo fato de que o dito tampão é selecionado do grupo consistindo de orto-fosfato, TRIS, glicina, N-glicil-glicina, citrato acetato de sódio, carbonato de sódio, glicil-glicina, histidina, lisina, arginina, fosfato de sódio, e citrato de sódio ou suas misturas.

14. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato de que o dito conservante é selecionado de fenol, m-cresol, p-hidróxi-benzoato de metila, p-hidróxi-benzoato de propila, 2-fenóxi-etanol, p-hidróxi-benzoato de butila, 2-fenil-etanol, benzil-álcool, cloro-butanol, e tiomerosal, ou misturas dos mesmos.

15. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14,

caracterizado pelo fato de compreender um agente de isotonicidade.

16. Método de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que o dito agente de isotonicidade é cloreto de sódio, xilitol, manitol, sorbitol, glicerol, glucose, maltose, sacarose, L-glicina, L-histidina, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptofano, treonina, dimetil-sulfona, poli(etileno-glicol), propileno-glicol ou misturas dos mesmos.

17. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que a dita composição farmacêutica compreende um tensoativo.