



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0820535-3 B1



(22) Data do Depósito: 14/11/2008

(45) Data de Concessão: 29/09/2020

(54) Título: COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO INSULINA E UM PEPTÍDEO INSULINOTRÓPICO

(51) Int.Cl.: H05K 5/00; H05K 7/20; H05K 5/06.

(30) Prioridade Unionista: 16/11/2007 EP 07 120880.5.

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

(72) Inventor(es): ANNE PLUM; DORTE BJERRE STEENSGAARD; JENS KAALBY THOMSEN; MORTEN SCHLEIN; ANNE SOFIE KJAER MARKUSSEN; CHRISTIAN POULSEN.

(86) Pedido PCT: PCT EP2008065601 de 14/11/2008

(87) Publicação PCT: WO 2009/063072 de 22/05/2009

(85) Data do Início da Fase Nacional: 17/05/2010

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO INSULINA E UM PEPTÍDEO INSULINOTRÓPICO. A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica para a administração parenteral compreendendo um peptídeo de insulina basal e um peptídeo de GLP-1 insulínótropico compreendendo pelo menos 6 átomos de zinco por 6 moléculas de insulina.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO INSULINA E UM PEPTÍDEO INSULINOTRÓPICO**".

CAMPO DA INVENÇÃO

5 A presente invenção refere-se ao campo de composições farmacêuticas. Mais especificamente a invenção refere-se a composições farmacêuticas compreendendo dois peptídeos farmaceuticamente ativos diferentes.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

10 Diabetes melito é um distúrbio metabólico em que a capacidade para utilizar a glicose é parcial ou completamente perdida. Desde a introdução de insulina na década de 20, esforços contínuos foram feitos para melhorar o tratamento do diabetes melito. Visto que pessoas que sofrem de diabetes estão sujeitas a tratamento crônico durante várias décadas, existe
15 uma maior necessidade para formulações de insulina seguras, convenientes e que melhoram a qualidade de vida.

No tratamento de diabetes melito, muitas variedades de formulações de insulina foram sugeridas e usadas, tais como insulina regular, insulina isofana (designada NPH), suspensões de zinco insulina (tais como Semi-
20 lente®, Lente®, e Ultralente®), e insulina isofana bifásica. Algumas das formulações de insulina disponíveis comerciais são caracterizadas por um rápido início de ação e outras formulações têm um início relativamente lento mas mostram uma ação mais ou menos prolongada. Formulações de insulina de ação rápida são usualmente soluções de insulina, enquanto formulações de
25 insulina de ação retardada podem ser suspensões contendo insulina na forma cristalina e/ou amorfa precipitadas pela adição de sais de zinco sozinhos ou pela adição de protamina ou por uma combinação de ambos. Dentro da última década, vários análogos de insulina humana foram desenvolvidos. Eles são designados para perfis particulares de ação, isto é, ação rápida ou
30 ação prolongada.

Um outro peptídeo esperado tornar-se muito importante no tratamento de diabetes é peptídeo-1 semelhante a glucagon (GLP-1). GLP-1

humano é um peptídeo de resíduo de 37 aminoácidos que origina-se do pre-proglucagon que é sintetizado *i.a.* nas células L no íleo distal, no pâncreas e no cérebro. GLP-1 é um importante hormônio intestinal com função reguladora no metabolismo da glicose e secreção e metabolismo gastrointestinal.

5 GLP-1 estimula a secreção da insulina em uma maneira dependente de glicose, estimula a biossíntese da insulina, promove o resgate de célula beta, diminui a secreção de glucagon, a evacuação gástrica e a entrada de alimento. Visto que a população com diabetes tipo 2 está crescendo rapidamente no mundo, existe uma necessidade muito maior para a administração
10 mais simples de fármacos mais eficazes. Uma formulação de combinação compreendendo um peptídeo de insulina e um peptídeo de GLP-1 com uma razão fixa dos dois produtos farmacêuticos pode ser um tratamento muito eficaz assim como um que requer menos injeções quando administrado ao mesmo paciente.

15 Um tratamento combinado de diabetes que requer insulina compreendendo a administração de insulina e GLP-1 é descrito na WO 95/31214. A formulação pré-mista de compostos de GLP-1 e insulina basal são descritas na WO 03/020201. Composições farmacêuticas autoestáveis compreendendo GLP-1, uma insulina basal e tensoativos são descritos na
20 WO 2006/051103.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 mostra a estabilidade física de quatro composições farmacêuticas avaliadas por meio de um teste acelerado com esforço aplicado.

25 As Figuras 2 a 4 mostram os resultados de um teste de rotação

As Figuras 5 a 8 mostram as propriedades farmacocinéticas (PK) das formulações de combinação fixa com o análogo de insulina N^εB29–(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) insulina humana desB30 e liraglutida examinados em porcos.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

30 Um objetivo da presente invenção é fornecer uma combinação fixa autoestável uma vez por dia de um composto de GLP-1 e um composto

de insulina basal com propriedades PK/PD inalteradas dos peptídeos combinados comparado aos componentes ativos individuais.

5 Mais especificamente a invenção é relacionada a uma composição farmacêutica autoestável compreendendo uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulínico e uma insulina basal composição esta que contém pelo menos 5 íons zinco por 6 moléculas de insulina basal.

Em uma modalidade, a composição farmacêutica contém pelo menos 6 íons zinco por 6 moléculas de insulina basal.

10 Em uma outra modalidade, a composição farmacêutica contém pelo menos 7 íons zinco por 6 moléculas de insulina basal.

Em uma outra modalidade, a composição farmacêutica contém pelo menos 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina basal.

15 Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica contém pelo menos 9; 10; 11; 12; 13; 14; 15; ou 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina basal.

Em uma modalidade, o teor de zinco está entre 5 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

20 Em uma modalidade adicional, o teor de zinco está entre 5 e 15; 5 e 14; 5 e 13; 5 e 12; 5 e 11; 5 e 10; 5 e 9, 5 e 8 ou entre 5 e 7 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, o teor de zinco está entre 6 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

25 Em uma modalidade adicional, o teor de zinco está entre 6 e 15; 6 e 14; 6 e 13; 6 e 12; 6 e 11; 6 e 10; 6 e 9 ou entre 6 e 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma outra modalidade, o teor de zinco está entre 7 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

30 Em uma modalidade adicional, o teor de zinco está entre 7 e 14; 7 e 15; 7 e 14; 7 e 13; 7 e 12; 7 e 11; 7 to 10; ou 7 e 9 íons zinco por 6 moléculas de insulina basal.

Em uma outra modalidade, o teor de zinco está entre 8 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma outra modalidade, o teor de zinco está entre 8 e 15; 8 e 14; 8 e 13; 8 e 12; 8 e 11; ou 8 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

O pH da formulação farmacêutica em qualquer uma das modalidades acima tipicamente será acima de neutro e tipicamente estará entre
5 cerca de 7 e cerca de 9.

Em uma modalidade, o pH da composição farmacêutica está entre cerca do pH 7,4 e cerca do pH 9; entre cerca do pH 7,4 e cerca do pH 8,5 ou entre cerca do pH 7,4 e cerca do pH 8,2.

Em uma outra modalidade, o pH da composição farmacêutica
10 está entre cerca do pH 7,5 e cerca do pH 8,5; entre cerca do pH 7,5 e cerca do pH 8,2 ou entre cerca de 7,5 e cerca de 7,7.

Em uma outra modalidade, o pH da composição farmacêutica é de cerca do pH 7,6 a cerca do pH 8,2. Em uma modalidade adicional o pH está entre cerca de 7,7 e cerca de 8,2.

Em uma outra modalidade, o pH estará entre cerca de 7,7 e cerca de 9.
15

Em uma outra modalidade, o pH estará entre cerca de 7,7 e cerca de 8,9.

Em uma outra modalidade, o pH estará entre cerca de 7,7 e cerca de 8,8.
20

Em uma outra modalidade, o pH estará entre cerca de 7,7 e cerca de 8,7.

Em uma outra modalidade, o pH estará entre cerca de 7,7 e cerca de 8,6.

Em uma outra modalidade, o pH estará entre cerca de 7,7 e cerca de 8,5.
25

Em uma outra modalidade, o pH estará entre cerca de 7,7 e cerca de 8,4.

Em uma outra modalidade, o pH estará entre cerca de 7,7 e cerca de 8,3.
30

Em uma outra modalidade, o pH estará entre cerca de 7,7 e cerca de 8,2.

Em uma outra modalidade, o pH estará entre cerca de 7,7 e cerca de 8,1.

Em uma outra modalidade, o pH estará entre cerca de 7,7 e cerca de 8.

5 O composto de GLP-1 insulínótropico em qualquer uma das modalidades acima pode ser qualquer composto de GLP-1 sendo eficaz para o tratamento do tipo 2. O termo "peptídeo de GLP-1" como usado aqui significa GLP-1(7-37), um análogo de GLP-1(7-37), um derivado de GLP-1(7-37) ou um derivado de um análogo de GLP-1(7-37). Derivados de GLP-1 podem
10 ser compostos de GLP1 acilado tal como descrito na WO 98/08871 ou WO 2006/097537.

Em uma modalidade o composto de GLP-1 é um análogo de GLP-1 acilado tal como Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37), Aib8,Lys26(OEG-OEG-gama-Glu-C18-diácido),Arg34)GLP-1 H(7-37)-
15 OH ou (N-epsilon26-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[(S)-4-carbóxi-4-(17-carbóxi-heptadecanoilamino)butirilamino]etóxi}etóxi)acetilamino]-etóxi}etóxi)-acetil][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37).

Em uma outra modalidade o GLP-1 é exendin-3,exendin-4 ou um análogo de exendin-4. o análogo de exendin-4 pode compreender de 4 a
20 10, 4 a 8 ou 4 a 6 resíduos de aminoácido básico adicionados à extremidade de terminal C ou à extremidade de terminal N.

A insulina basal em qualquer uma das modalidades acima pode ser qualquer insulina basal conhecida para o tratamento de diabetes tipo 1 e tipo 2. Em uma modalidade, a insulina basal é uma insulina acilada no grupo
25 ε-amino no B29Lys na cadeia B de insulina e análogos do mesmo como descrito na WO 95/07931, WO 2005/012347 e na EP2007/054444.

Em uma outra modalidade, a insulina basal é uma insulina basal trocada de pl tal como o tipo descrito na patente US 5.656.722 com substituições de resíduo de aminoácido básicas ou adições da molécula de insulina.
30 Um exemplo de tais insulinas basais é GlyA21, ArgB31, Arg B32 insulina humana (insulina glargina). Uma outra insulina basal pode ser uma insulina glargina amidada tais como os compostos descritos na WO2008/006496 e

WO2008/006497.

Em uma modalidade, a insulina basal é a N^{εB29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana.

Em uma modalidade adicional a insulina basal é Lys^{B29}(N^ε lotocolil-γ-Glu)-des(B30) insulina humana.

Em uma modalidade adicional, a insulina basal é N^{εB29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana ou N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana.

Em uma modalidade adicional, a insulina basal é N^{εB29}-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutailamida desB30 insulina humana ou N^{εB29}-ω-carboxipentadecanoil-γ – amino-butanoil des(B30) insulina humana.

Em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulíntrópico e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em N^{εB29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana, Lys^{B29}(N^ε lotocolil-γ-Glu)-des(B30) insulina humana, N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana, N^{εB29}-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutailamida desB30 insulina humana e N^{εB29}-ω-carboxipentadecanoil-γ – amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém pelo menos 5; 6; 7; 8 ou 9 átomos de zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulíntrópico e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em N^{εB29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana, Lys^{B29}(N^ε lotocolil-γ-Glu)-des(B30) insulina humana, N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana, N^{εB29}-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutailamida desB30 insulina humana e N^{εB29}-ω-carboxipentadecanoil-γ – amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 5 e 16; 5 e 14; 5 e 12; 5 e 10; ou entre 5 e 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica com-

preende uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulíntrópico e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em $N^{\epsilon B29}$ -tetradecanoil des(B30) insulina humana, $Lys^{B29}(N^{\epsilon}$ lotocolil- γ -Glu)-des(B30) insulina humana, $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma$ -Glu) desB30 insulina humana, $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ -L-glutailamida desB30 insulina humana e $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ - amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 6 e 16; 6 e 14; 6 e 12; 6 e 10; ou entre 6 e 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

10 Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulíntrópico e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em $N^{\epsilon B29}$ -tetradecanoil des(B30) insulina humana, $Lys^{B29}(N^{\epsilon}$ lotocolil- γ -Glu)-des(B30) insulina humana, $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma$ -Glu) desB30 insulina humana, $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ -L-glutailamida desB30 insulina humana e $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ - amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 7 e 16; 7 e 14; 7 e 12; ou entre 7 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

20 Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulíntrópico e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em $N^{\epsilon B29}$ -tetradecanoil des(B30) insulina humana, $Lys^{B29}(N^{\epsilon}$ lotocolil- γ -Glu)-des(B30) insulina humana, $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma$ -Glu) desB30 insulina humana, $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ -L-glutailamida desB30 insulina humana e $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ - amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 8 e 16; 8 e 14; 8 e 12: ou entre 8 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

30 Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulíntrópico e uma insulina basal acilada com a fórmula $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma$ -

Glu) desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém pelo menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ou 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulínico e uma insulina basal acilada $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 5 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulínico e uma insulina basal acilada $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 6 e 16; 6 e 15; 6 e 14; 6 e 13; 6 e 12; 6 e 10; ou entre 6 e 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulínico e uma insulina basal acilada $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 7 e 16; 7 e 15; 7 e 14; 7 e 13; 7 e 12; 7 e 11; 7 e 10; 7 e 9; ou entre 7 e 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulínico e uma insulina basal acilada $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 8 e 16; 8 e 15; 8 e 14; 8 e 13; 8 e 12; 8 e 11; 8 e 10; ou entre 8 e 9 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade, a invenção é relacionada a uma composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulínico e uma insulina basal $N^{\epsilon B29}$ -tetradecanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados

dos, em que o teor de zinco é pelo menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ou 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma outra modalidade a invenção, é relacionada a uma composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de um composto de GLP-1 insulínico e uma insulina basal N^εB²⁹-tetradecanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados, em que o teor de zinco está entre 5 e 16; 6 e 16; entre 7 e 16; ou entre 8 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um GLP-1(7-37) ou um análogo ou derivado do mesmo e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em N^εB²⁹-tetradecanoil des(B30) insulina humana, Lys^{B29}(N^ε lotocolil-γ-Glu)-des(B30) insulina humana, N^εB²⁹-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana, N^εB²⁹-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutailamida desB30 insulina humana e N^εB²⁹-ω-carboxipentadecanoil-γ – amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém pelo menos 5 ou 6 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um GLP-1(7-37) ou um análogo ou derivado do mesmo e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em N^εB²⁹-tetradecanoil des(B30) insulina humana, Lys^{B29}(N^ε lotocolil-γ-Glu)-des(B30) insulina humana, N^εB²⁹-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana, N^εB²⁹-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutailamida desB30 insulina humana e N^εB²⁹-ω-carboxipentadecanoil-γ – amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 5 e 16; 5 e 14; 5 e 12; 5 e 10 ou entre 5 e 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um GLP-1(7-37) ou um análogo ou derivado do mesmo e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em N^εB²⁹-tetradecanoil des(B30) insulina humana, Lys^{B29}(N^ε lotocolil-γ-Glu)-

des(B30) insulina humana, $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana, $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ -L-glutailamida desB30 insulina humana e $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ - amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 6 e 16; 6 e 14; 6 e 12; ou 6 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um GLP-1(7-37) ou um análogo ou derivado do mesmo e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em $N^{\epsilon B29}$ -tetradecanoil des(B30) insulina humana, $Lys^{B29}(N^{\epsilon}$ lotocolil- γ -Glu)-des(B30) insulina humana, $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana, $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ -L-glutailamida desB30 insulina humana e $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ - amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 7 e 16; 7 e 14; 7 e 12; ou entre 7 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de um GLP-1(7-37) ou um análogo ou derivado do mesmo e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em $N^{\epsilon B29}$ -tetradecanoil des(B30) insulina humana, $Lys^{B29}(N^{\epsilon}$ lotocolil- γ -Glu)-des(B30) insulina humana, $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana, $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ -L-glutailamida desB30 insulina humana e $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ - amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 8 e 16; 8 e 12; ou entre 8 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade, a invenção é relacionada a uma composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de GLP-1(7-37) ou um análogo ou derivados do mesmo e $N^{\epsilon B29}$ -tetradecanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados, em que o teor de zinco é pelo menos 5, 6, 7, 8, 9, ou 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional a invenção é relacionada a uma composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de GLP-1(7-37) ou um análogo ou derivados do mesmo e N^{εB29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados, em que o teor de zinco está entre 6 e 16; 7 e 16 ; 8 e 16; 8 e 14; 8 e 12; ou entre 8 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37) e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em N^{εB29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana, Lys^{B29}(N^ε lotocolil-γ-Glu)-des(B30) insulina humana, N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana, N^{εB29}-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutailamida desB30 insulina humana e N^{εB29}- ω-carboxipentadecanoil-γ – amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém pelo menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ou 16 átomos de zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37) e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em N^{εB29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana, Lys^{B29}(N^ε lotocolil-γ-Glu)-des(B30) insulina humana, N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana, N^{εB29}-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutailamida desB30 insulina humana e N^{εB29}- ω-carboxipentadecanoil-γ – amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 5 e 16; 5 e 14; 5 e 12; ou entre 5 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37) e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em N^{εB29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana, Lys^{B29}(N^ε lotocolil-γ-Glu)-des(B30) insulina humana, N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana, N^{εB29}-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutailamida desB30 insulina

humana e $N^{\epsilon B29}$ - ω -carboxipentadecanoil- γ -amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 6 e 16; 6 e 14; 6 e 12; ou entre 6 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

5 Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de Arg^{34} , $Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^{\alpha}\text{-hexadecanoil})))$ -GLP-1(7-37) e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em $N^{\epsilon B29}$ -tetradecanoil des(B30) insulina humana, $Lys^{B29}(N^{\epsilon} \text{ lotocolil-}\gamma\text{-Glu})$ -des(B30) insulina humana, $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana, $N^{\epsilon B29}$ - ω -carboxipentadecanoil- γ -L-glutailamida desB30 insulina humana e $N^{\epsilon B29}$ - ω -carboxipentadecanoil- γ -amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 7 e 16; 7 e 14; 7 e 12 ou entre 7 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

15 Em uma modalidade adicional, a composição farmacêutica compreende uma combinação fixa de Arg^{34} , $Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^{\alpha}\text{-hexadecanoil})))$ -GLP-1(7-37) e uma insulina basal acilada selecionada do grupo consistindo em $N^{\epsilon B29}$ -tetradecanoil des(B30) insulina humana, $Lys^{B29}(N^{\epsilon} \text{ lotocolil-}\gamma\text{-Glu})$ -des(B30) insulina humana, $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana, $N^{\epsilon B29}$ - ω -carboxipentadecanoil- γ -L-glutailamida desB30 insulina humana e $N^{\epsilon B29}$ - ω -carboxipentadecanoil- γ -amino-butanoil des(B30) insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados composição esta que contém entre 8 e 16; 8 e 14; 8 e 12 ou entre 8 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

25 Em uma modalidade adicional, a invenção é relacionada a uma composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de Arg^{34} , $Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^{\alpha}\text{-hexadecanoil})))$ -GLP-1(7-37) e $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados, em que o teor de zinco é pelo menos 5 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

30 Em uma modalidade adicional, a invenção é relacionada a uma composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de Arg^{34} , $Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^{\alpha}\text{-hexadecanoil})))$ -GLP-1(7-37) e $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados, em que o teor de zinco é pelo menos 5 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

(γ -Glu(N^α -hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) e $N^{\epsilon B29}-(N^\alpha-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma$ -Glu) desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados, em que o teor de zinco é pelo menos 6 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

5 Em uma modalidade adicional, a invenção é relacionada a uma composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ϵ -(γ -Glu(N^α -hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) e $N^{\epsilon B29}-(N^\alpha-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma$ -Glu) desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados, em que o teor de zinco é pelo menos 7 íons zinco
10 por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a invenção é relacionada a uma composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ϵ -(γ -Glu(N^α -hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) e $N^{\epsilon B29}-(N^\alpha-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma$ -Glu) desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente
15 te aceitáveis adequados, em que o teor de zinco é pelo menos 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a invenção é relacionada a uma composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ϵ -(γ -Glu(N^α -hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) e $N^{\epsilon B29}-(N^\alpha-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma$ -
20 Glu) desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados, em que o teor de zinco é pelo menos 9 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a invenção é relacionada a uma composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ϵ -(γ -Glu(N^α -hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) e $N^{\epsilon B29}-(N^\alpha-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma$ -
25 Glu) desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados, em que o teor de zinco é pelo menos 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a invenção é relacionada a uma
30 composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ϵ -(γ -Glu(N^α -hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) e $N^{\epsilon B29}-(N^\alpha-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma$ -Glu) desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente

te aceitáveis adequados, em que o teor de zinco está entre 5 e 16; 5 e 15; 5 e 14; 5 e 13; 5 e 12; 5 e 11; 5 e 10; 5 e 9; ou entre 5 e 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a invenção é relacionada a uma
 5 composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37) e N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados, em que o teor de zinco está entre 6 e 16; 6 e 15; 6 e 14; 6 e 13; 6 e 12; 6 e 11; ou entre 6 e 10 íons zinco por 6 moléculas de
 10 insulina.

Em uma modalidade adicional, a invenção é relacionada a uma
 composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37) e N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente
 15 te aceitáveis adequados, em que o teor de zinco está entre 7 e 16; 7 e 15; 7 e 14; 7 e 13; 7 e 12; 7 e 11; 7 e 10; 7 e 9; ou entre 7 e 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a invenção é relacionada a uma
 composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37) e N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana juntamente com adjuvantes farmacêuticamente
 20 te aceitáveis adequados, em que o teor de zinco está entre 8 e 16; 8 e 15; 8 e 14; 8 e 13, 8 e 12; 8 e 11; 8 e 10; ou entre 8 e 9 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Em uma modalidade adicional, a invenção é relacionada a uma
 25 composição farmacêutica contendo uma combinação fixa de insulina glargina e um análogo de exendin-4, por exemplo, um análogo de exendin-4 compreendendo 4 a 6 resíduos de aminoácido Lys ou Arg adicionados juntamente com adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis adequados, em que o teor
 30 de zinco é pelo menos acima de 5, 6, 7 ou 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina. Nesta modalidade a insulina glargina também pode ser uma insulina glargina amidada como descrito na WO2008/006496 e WO2008/006497.

O pH em qualquer uma das modalidades acima pode ser 7,4; 7,5; 7,6; 7,8; 7,9; 8; 8,1; 8,2; 8,3; 8,4 ou 8,5. Em uma outra modalidade, o pH está entre 7,4 e 8,2 ou entre 7,5 e 8. Ainda em uma outra modalidade, o pH está entre 7,6 e 8.

5 Se o composto de GLP-1 é Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37) o pH tipicamente estará entre cerca de 7,7 e cerca de 8,2.

Um outro aspecto da presente invenção é relacionado a um método para a preparação de uma composição farmacêutica de acordo com
10 qualquer uma das modalidades acima compreendendo dissolver a dita insulina basal e misturá-la com um conservante e um modificador de isotonicidade, depois adicionar zinco e finalmente misturar com o peptídeo insulínico dissolvido.

Uma modalidade o método de acordo com a invenção compreende as etapas seguintes: 1) dissolver a insulina basal em uma solução aquosa de tampão e agente de isotonicidade, 2) adição de zinco opcionalmente de maneira gradual, 3) ajustar o pH, 4) armazenar a solução em uma temperatura entre cerca de 4 e 5° C e a temperatura ambiente e 5) adicionar o composto de GLP-1.

20 Em um outro aspecto, a presente invenção é relacionada a um método para o tratamento de hiperglicemia compreendendo a administração parenteral de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades acima a um mamífero em necessidade de tal tratamento.

25 Em um outro aspecto, a presente invenção é relacionada a um método para o tratamento de obesidade, deficiência de célula beta, IGT ou dislipidemia compreendendo a administração parenteral de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades acima a um mamífero em necessidade de tal tratamento.

30 Um outro aspecto da presente invenção é relacionado ao uso de uma composição farmacêutica autoestável compreendendo uma mistura de um composto de GLP-1 insulínico e uma insulina basal composição

esta que contém pelo menos 6 átomos de zinco por 6 moléculas de insulina para o tratamento de hiperglicemia por administração parenteral.

Em um outro aspecto, a invenção é relacionada a um método para a redução do peso compreendendo administrar uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica compreendendo uma mistura de um composto de GLP-1 insulínico e uma insulina basal composição esta que contém pelo menos 6 átomos de zinco por 6 moléculas de insulina.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

Esta invenção refere-se à administração de uma mistura fixa de uma insulina basal e um composto de GLP-1 insulínico para pacientes com diabetes tipo 2. Quando um composto de GLP-1 e uma insulina basal são combinados em uma única formulação, os pacientes economizam uma injeção comparada às duas injeções separadas necessárias para administrar os dois componentes separadamente e mais importante, vários efeitos sinérgicos positivos são esperados quando da administração tanto de um análogo de insulina basal quanto de um composto de GLP-1 ao mesmo tempo.

Em tal mistura, o componente ativo individual, a insulina basal e o composto de GLP-1, deveriam manter seu perfil PK atrativo conhecido do mono tratamento. Por exemplo o análogo de insulina basal insulina N^{B29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana tem um perfil atrativo apropriado para a administração uma vez ao dia. Do mesmo modo, o análogo de GLP-1 Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) é administrado uma vez ao dia. Consequentemente, a combinação de insulina N^{B29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana e liraglutida constitui uma combinação atrativa de um análogo de insulina basal e um análogo de GLP-1.

Entretanto, a mistura imediata de análogos de insulina acilada tais como N^{B29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana com um composto de GLP-1 tal como Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) resulta tanto em uma formulação fisicamente menos estável quanto em propriedades PK alterado da insulina acilada. Uma formulação

comercial, entretanto, tem que ter uma alta estabilidade física. Também, se as propriedades PK da insulina basal são alteradas demasiadamente ela pode resultar na perda de sua cobertura em 24 horas.

A maioria das insulinas basais será formulada com zinco para ter um PK e estabilidade física satisfatórios. Por exemplo foi mostrado que $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana é capaz de ligar mais do que os 2 a 3 íons zinco tradicionais por 6 insulina. Um adicional de 2 a 3 íons zinco (um total de 5 a 6 íons zinco por 6 moléculas de insulina) são necessários para $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana para ter um perfil ideal uma vez ao dia.

Descobriu-se que Arg^{34} , $Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^{\alpha}-hexadecanoil)))$ -GLP-1(7-37) tem uma ligação de zinco de baixa afinidade e que tanto a instabilidade física quanto as propriedades PK da $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana são influenciadas por isto em uma mistura dos dois componentes. Em uma mistura de Arg^{34} , $Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^{\alpha}-hexadecanoil)))$ -GLP-1(7-37) e $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana é na ligação destes íons zinco adicionais que Arg^{34} , $Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^{\alpha}-hexadecanoil)))$ -GLP-1(7-37) compete com insulina $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana.

Descobriu-se que adicionar outros íons zinco à mistura de $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana com Arg^{34} , $Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^{\alpha}-hexadecanoil)))$ -GLP-1(7-37) melhora a estabilidade física e melhora o perfil PK da $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana para o perfil desejado obtido com 5 a 6 íons zinco por molécula de insulina para insulina $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana sozinha.

O termo "composto de GLP-1" como usado aqui significa GLP-1(7-37), análogos insulíntrópicos do mesmo e derivados insulíntrópicos do mesmo. Compostos de GLP-1 também incluem compostos de exendina tais como exendin-3 e exendin-4 e análogos deste tais como ZP10 ou ZP10A que é um análogo de exendin-4 com 6 resíduos de lisina adicionados à extremidade de terminal C da molécula, ver Cristian Thorkildsen *et al*, The

Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol 307, Nº 2 (2003), 490-496.

Uma modalidade da invenção compreende uma composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades acima, em que
 5 o peptídeo de GLP-1 insulínico é exendin-4 acilado ou um análogo de exendin-4 acilado tal como [N-épsilon(ácido 17-carboxieptadecanoico)20 exendin-4(1-39)-amida e N-épsilon32-(17-carboxi-heptadecanoil)[Lys32]exendin-4(1-39)amida.

Um sistema simples é usado para descrever fragmentos e análogos de GLP-1. Assim, por exemplo, Gly⁸-GLP-1(7-37) designa um análogo de GLP-1(7-37) formalmente derivado de GLP-1(7-37) substituindo-se o resíduo de aminoácido que ocorre naturalmente na posição 8 (Ala) por Gly. Similarmente, Lys³⁴(N^ε-tetradecanoil)-GLP-1(7-37) designa GLP-1(7-37) em que o grupo ϵ -amino do resíduo de Lys na posição 34 foi tetradecanoilado.
 15 As publicações PCT WO 98/08871 e WO 99/43706 descrevem derivados estáveis de análogos de GLP-1, que têm um substituinte lipofílico. Estes derivados estáveis de análogos de GLP-1 têm um perfil prolongado de ação comparados aos análogos de GLP-1 correspondentes.

O termo "insulínico" como usado aqui referindo-se a um
 20 peptídeo ou a um composto significa a capacidade para estimular a secreção de insulina em resposta a um nível de glicose plasmática aumentado. Peptídeos e compostos insulínicos são agonistas do receptor de GLP-1. A propriedade insulínica de um composto pode ser determinada por ensaios *in vitro* ou *in vivo* conhecidos na técnica.

25 Em uma modalidade da invenção o GLP-1 tem um resíduo de Arg na posição 34. Em uma outra modalidade, o GLP-1 tem resíduo de Glu na posição 22. Em uma outra modalidade, da invenção o GLP-1 tem um resíduo de L-histidina na posição 8. Em uma outra modalidade da invenção o GLP-1 tem um resíduo de Val na posição 8. Em uma outra modalidade da
 30 invenção o derivado de um análogo de GLP-1(7-37) é GLP-1(7-36)-amida.

Em uma modalidade da invenção o análogo de GLP-1(7-37) é selecionado do grupo consistindo em GLP-1(7-36) amida, Arg³⁴-GLP-1(7-

37), 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), Val⁸Trp¹⁶Glu²²Ile³³-GLP-1(7-37), Val⁸Glu²²Val²⁵Ile³³-GLP-1(7-37), Val⁸Trp¹⁶Glu²²Val²⁵-GLP-1(7-37).

Em uma outra modalidade da presente invenção, o peptídeo insulínico é um derivado de GLP-1(7-37) ou um derivado de um análogo de GLP-1(7-37) tendo um resíduo de lisina, tal como uma lisina, em que um substituinte lipofílico opcionalmente por intermédio de um espaçador é ligado ao grupo amino epsilon da dita lisina. Em uma modalidade da invenção, o dito substituinte lipofílico tem de 8 a 40 átomos de carbono, preferivelmente de 8 a 24, por exemplo, 12 a 18. Em uma outra modalidade da invenção, o dito espaçador está presente e é selecionado de um aminoácido, por exemplo, beta-Ala, L-Glu, aminobutiroíla. Em uma outra modalidade da invenção, o dito peptídeo insulínico é um composto de GLP-1 protegido por dipeptidil aminopeptidase IV. Em uma outra modalidade da invenção o dito peptídeo insulínico é um composto de GLP-1 estável em plasma. Em uma outra modalidade da invenção o dito derivado de um análogo de GLP-1(7-37) é Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37). Exemplos não limitantes de derivados de GLP-1 são desamino-His⁷, Arg²⁶, Lys³⁴(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37), desamino-His⁷, Arg²⁶, Lys³⁴(N^ε-octanoil)-GLP-1(7-37), Arg^{26,34}, Lys³⁸(N^ε-(ω-carboxipentadecanoil)))-GLP-1(7-38), Arg^{26,34}, Lys³⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-36) e Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37). Exemplos não limitantes de derivados de GLP-1 são desamino-His⁷, Arg²⁶, Lys³⁴(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37), desamino-His⁷, Arg²⁶, Lys³⁴(N^ε-octanoil)-GLP-1(7-37), Arg^{26,34}, Lys³⁸(N^ε-(ω-carboxipentadecanoil)))-GLP-1(7-38), Arg^{26,34},

Lys³⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-36) e Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37).

Em uma outra modalidade, o análogo de GLP-1 é um outro análogo prolongado do tipo descrito na WO 2006/097537, tal como

5 Aib8,Lys26(OEG-OEG-gama-Glu-C18-diácido),Arg34)GLP-1(7-37), N-ε²⁶-(17-carboxi-heptadecanoil)-[Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37)-peptídeo,N-ε²⁶-(19-carboxinonadecanoil)-[Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37)-peptídeo,N-ε²⁶-(4-{[N-(2-carboxietil)-N-(15-carboxipentadecanoil)amino]metil}benzoil)[Arg34]GLP-1-(7-37), N-ε²⁶-[2-(2-[2-(2-[2-(2-[4-(17-Carboxiheptadecanoilamino)-4(S)-

10 carboxibutirilamino]etóxi)etóxi]acetilamino)etóxi]etóxi)-acetil][Aib8,Arg34]GLP-1-(7-37)peptídeo,

Em uma modalidade, o derivado de GLP1 é Aib8,Lys26(OEG-OEG-gama-Glu-C18-diácido),Arg34)GLP-1(7-37). Sua potência mais alta comparado a Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) e a dose mais baixa necessária para uma dosagem vez ao dia ao invés de uma

15 vez por semana resultará em uma concentração mais baixa do composto de GLP-1 necessário em uma formulação de combinação com a insulina basal.

A insulina basal pode ser uma insulina solúvel acilada como descrito na WO 95/07931, WO 2005/012347 ou EP2007/054444.

20 A insulina basal acilada pode ser selecionada da lista seguinte:

N^{εB29}-tridecanoil des(B30) insulina humana,

N^{εB29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana,

N^{εB29}-decanoil des(B30) insulina humana,

N^{εB29}-dodecanoil des(B30) insulina humana,

25 N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) des(B30) insulina humana;

N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₅CO)-γ-Glu) des(B30) insulina humana;

N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₆CO)-γ-Glu) des(B30) insulina humana;

N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₇CO)-γ-Glu) des(B30) insulina humana;

N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₈CO)-γ-Glu) des(B30) insulina humana;

30 N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₆CO)-γ-Glu-N^α-(γ-Glu)) des(B30) insulina humana;

N^{εB29}-(N^α-(Asp-OC(CH₂)₁₆CO)-γ-Glu) des(B30) insulina humana;

- $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{Glu-OC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-Glu}) \text{ des(B30) insulina humana};$
 $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{Glu-OC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO-}) \text{ des(B30) insulina humana};$
 $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{Asp-OC}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO-}) \text{ des(B30) insulina humana};$
 $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{16}\text{CO})-\alpha\text{-Glu-}N^{\alpha}-(\beta\text{-Asp})) \text{ des(B30) insulina humana};$
- 5
- $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{Gly-OC}(\text{CH}_2)_{13}\text{CO})-\gamma\text{-Glu}) \text{ des(B30) insulina humana};$
 $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(\text{Sar-OC}(\text{CH}_2)_{13}\text{CO})-\gamma\text{-Glu}) \text{ des(B30) insulina humana},$
 $N^{\epsilon B29}\text{-}\omega\text{-carbóxi-pentadecanoil-}\gamma\text{-L-glutamilamida desB30 insulina humana},$
- 10
- $N^{\epsilon B29}\text{-}\omega\text{-carbóxi-pentadecanoil-}\gamma\text{-amino-butanoil desB30 insulina humana},$
 $N^{\epsilon B29}\text{-}\omega\text{-carbóxi-tetradecanoil-}\gamma\text{-L-glutamilamida desB30 insulina humana},$
 $N^{\epsilon B29}\text{-}\omega\text{-carbóxi-tridecanoil-}\gamma\text{-L-glutamilamida desB30 insulina humana},$
- 15
- $N^{\epsilon B29}\text{-}\omega\text{-carbóxi-pentadecanoil-}\beta\text{-alanil desB30 insulina humana},$
 $N^{\epsilon B29}\text{-}\omega\text{-carbóxi-pentadecanoil-}\gamma\text{-L-aspartilamida desB30 insulina humana},$
 $N^{\epsilon B29}\text{-}\omega\text{-carbóxi-pentadecanoil-}\epsilon\text{-aminohexanoil desB30 insulina humana},$
- 20
- $N^{\epsilon B29}\text{-}\omega\text{-carbóxi-pentadecanoil-}\delta\text{-aminopentanoil desB30 insulina humana},$
 $N^{\epsilon B29}\text{-10-(4-carboxifenóxi)-decanoil-}\gamma\text{-L-glutamilamida desB30 insulina humana},$
- 25
- $N^{\epsilon B29}\text{-4-[11-(4-Carboxifenil) undecanoilamino] butiril desB30 insulina humana},$
 $N^{\epsilon B29}\text{-(3-(3-{4-[3-(7-carboxiheptanoilamino)propóxi]butóxi}propilcarbamoil)-propionil-}\gamma\text{-glutamilamida) desB30 insulina humana},$
- 30
- $N^{\epsilon B29}\text{-}\omega\text{-carbóxi-tridecanoil-}\gamma\text{-amino-butanoil desB30 insulina humana},$
 $N^{\epsilon B29}\text{-}\omega\text{-carbóxi-undecanoil-}\gamma\text{-amino-butanoil desB30 insulina}$

humana,

$N^{\epsilon B29}$ - ω -carbóxi-tetradecanoil- γ -amino-butanoil desB30 insulina

humana,

$N^{\epsilon B29}$ -{4-[10-(4-Carbóxi-fenóxi)-decanoilamino]-butiril} desB30

5 insulina,

$N^{\epsilon B29}$ -{4-[(14-Carbóxi-tetradecanoilamino)-metil]-benzoil} desB30

insulina,

$N^{\epsilon B29}$ -[16-(4-Carbóxi-fenóxi)-hexadecanoil] desB30 insulina,

$N^{\epsilon B29}$ -{4-[(15-carboxipentadecanoilamino)benzoil]- desB30 insuli-

10 na humana e

$N^{\epsilon B29}$ -{4-[(15-Carbóxi-pentadecanoilamino)-metil]-benzoil}-

desB30 insulina.

A concentração do composto de GLP-1 na composição farma-
cêutica de acordo com a invenção pode estar entre cerca de 1 e 25, entre
15 cerca de 2 e cerca de 15, entre cerca de 2 e cerca de 10, entre cerca de 2 e
cerca de 8 ou entre cerca de 2 e cerca de 6 mg/ml.

A concentração da insulina basal estará entre cerca de 1 e cerca
de 25, entre cerca de 1,5 e cerca de 15, entre cerca de 1,5 e cerca de e 12;
entre cerca de 1,5 e 8; entre cerca de 2 e cerca de 15, entre cerca de 2 e
20 cerca de 10, entre cerca de 2 e cerca de 8; entre 2 e cerca de 7; e entre cer-
ca de 3 e 6 mg/ml.

Em uma modalidade, a concentração da insulina basal será 2
mg/ml.

Em uma outra modalidade, a concentração da insulina basal se-
25 rá 4 mg/ml.

Em uma outra modalidade, a concentração da insulina basal se-
rá 8 mg/ml.

Em uma modalidade da invenção a concentração de Arg³⁴,
Lys²⁶(N ^{ϵ} -(γ -Glu(N ^{α} -hexadecanoil))) -GLP-1(7-37) está na faixa de cerca de 2
30 mg/ml a cerca de 10 mg/ml e a concentração de insulina basal está na faixa
de cerca de 3 mg/ml a cerca de 5 mg/ml.

Em uma outra modalidade da invenção a concentração de Arg³⁴,

Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37) está na faixa de cerca de 2 mg/ml a cerca de 10 mg/ml e a concentração de insulina basal está na faixa de cerca de 7 mg/ml a cerca de 9 mg/ml.

Quando da mistura das formulações de combinação a ordem de
5 adição de cada componente único é importante. Como a primeira etapa água, tampão (se diferente do tampão de fosfato), modificador de isotonicidade são misturados. Depois uma quantidade apropriada da solução de estoque de análogo de insulina basal é adicionada e suavemente misturada. Posteriormente, o conservante, por exemplo, fenol é adicionado e a mistura
10 é suavemente misturada durante cerca de 15 a 60 minutos. Como a etapa seguinte parte do zinco é adicionada em uma quantidade correspondendo a uma concentração de 3 íons zinco por 6 moléculas de insulina. A mistura depois é suavemente misturada durante pelo menos 5 minutos. Como a etapa seguinte a quantidade remanescente de íons zinco é adicionada até a
15 concentração desejada. Depois o pH é ajustado se ele estiver fora da faixa de pH desejada. Depois uma quantidade apropriada da solução de estoque de composto de GLP-1 é adicionada para atingir a concentração final desejada e o pH é ajustado ao valor desejado.

Em uma modalidade do processo para preparar a composição
20 farmacêutica, o conservante é adicionado antes de adicionar qualquer zinco à mistura. Assim, em uma modalidade a ordem de adicionar os componentes individuais é: 1) insulina basal, 2) conservante, 3) zinco e 4) composto de GLP-1. Em uma modalidade o zinco é adicionado em várias etapas, por exemplo, acima de 3 a 4 etapas.

25 A estabilidade física foi avaliada por ensaios de fibrilação de Tioflavina T e pelo teste de rotação de Penfill.

A ligação de zinco pelo composto de GLP-1 foi estudada usando 1D H-RMN.

O equilíbrio de autoassociação da insulina na ausência e presença
30 do composto de GLP-1 e na presença de concentração de zinco crescente foi estudado usando um método de cromatografia de exclusão por tamanho com detecção por fluorescência (para identificar o composto de GLP-

1 no cromatograma).

Propriedades PK das formulações de combinação foram avaliadas usando modelos de porco de aparência padrão.

5 A composição farmacêutica de acordo com a invenção além dos componentes ativos conterá os adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis usuais tais como um agente de isotonicidade, um tampão, um conservante e um estabilizador.

10 Conservantes farmacêuticamente aceitáveis são conservantes selecionados do grupo consistindo em fenol, o-cresol, m-cresol, p-cresol, p-hidroxibenzoato de metila, p-hidroxibenzoato de propila, 2-fenoxietanol, p-hidroxibenzoato de butila, 2-feniletanol, álcool benzílico, clorobutanol, e tiorosal, bronopol, ácido benzoico, imidureia, cloro-hexidina, desidroacetato de sódio, clorocresol, p-hidroxibenzoato de etila, cloreto de benzetônio, clorfenesina (3p-clorfenoxipropano-1,2-diol) ou misturas dos mesmos.

15 Em uma modalidade, o conservante é uma mistura de fenol e m-cresol. Em uma outra modalidade o conservante é fenol. O uso de um conservante em composições farmacêuticas é bem conhecido ao versado na técnica. Por conveniência, referência é feita a Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 19^a edição, 1995.

20 A formulação de acordo com a presente invenção tipicamente compreenderá um agente isotônico tal como manitol, sorbitol, glicerol, propileno glicol ou uma mistura dos mesmos. Em uma modalidade, o agente de isotonicidade não é um sal. O uso de um agente isotônico em composições farmacêuticas é bem conhecido ao versado na técnica. Por conveniência
25 referência é feita a Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 19^a edição, 1995.

A composição farmacêutica de acordo com a invenção também pode compreender um tampão. O tampão pode ser selecionado de um tampão que é um tampão zwitteriônico, glicil-glicina, TRIS, bicina, HEPES,
30 MOBS, MOPS, TES e misturas dos mesmos. Outros tampões adequados são acetato de sódio, carbonato de sódio, citrato, histidina, glicina, lisina, arginina, di-hidrogeno fosfato de sódio, hidrogeno fosfato de dissódio, fosfato

de sódio, e tris(hidroximetil)-aminometano, tricina, ácido málico, succinato, ácido meleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido aspártico ou misturas dos mesmos.

5 A formulação farmacêutica de acordo com a presente invenção preferivelmente não conterá um tampão de ligação de zinco tal como um tampão de fosfato.

A composição também pode compreender um composto quelante de zinco, que pode agir como um tampão de zinco para íons zinco livres nas formulações. Isto permitirá uma concentração de zinco aumentada com
10 formação de dieptâmero de liraglutida inferior relativa. Tais compostos quelantes de zinco podem incluir (mas não se limitam a), histidina, imidazol, citrato ou derivados dos mesmos.

Em uma modalidade, o quelador de zinco é histidina.

Em uma outra modalidade, o quelador de zinco é imidazol.

15 A adição de um tal quelador de zinco é preferivelmente abaixo de 10 mM, mais preferivelmente abaixo de 5 mM, mais preferivelmente abaixo de 2 mM, mais preferivelmente abaixo de 1 mM, mais preferivelmente abaixo de 0,5 mM.

O termo "composição farmacêutica autoestável" como usado
20 aqui significa uma composição farmacêutica que é estável durante pelo menos o período que é necessário por agências reguladoras em conexão com proteínas terapêuticas. Preferivelmente, uma composição farmacêutica autoestável é estável durante pelo menos um ano a 5°C. A estabilidade inclui estabilidade química assim como estabilidade física.

25 O termo "insulina basal" como usado aqui significa um peptídeo de insulina que tem um ação do tempo de mais do que 8 horas em modelos padrão de diabetes. Preferivelmente, a insulina basal tem uma ação do tempo de pelo menos 9 horas. Preferivelmente, a insulina basal tem uma ação do tempo de pelo menos 10 horas. Preferivelmente, a insulina basal relacionada à refeição tem uma ação do tempo na faixa de 9 a 15 horas. Preferi-
30 velmente, a insulina relacionada à refeição tem uma ação do tempo similar àquela observada para composições farmacêuticas comerciais de insulina

NPH e N^εB²⁹-tetradecanoil des(B30) insulina humana.

O termo "quantidade eficaz" como usado aqui significa uma dosagem que é suficiente de modo a tratar o paciente a ser eficaz comparada com nenhum tratamento.

5 O termo "farmaceuticamente aceitável" como usado aqui significa apropriado para aplicações farmacêuticas normais, isto é, não dando origem a nenhum evento adverso nas pacientes etc.

O termo "tampão" como usado aqui refere-se a um composto químico em uma composição farmacêutica que reduz a tendência do pH da
10 composição para mudar com o passar do tempo como de outro modo ocorreria devido a reações químicas. Tampões incluem produtos químicos tais como fosfato de sódio, TRIS, glicina e citrato de sódio.

O termo "conservante" como usado aqui refere-se a um composto químico que é adicionado a uma composição farmacêutica para impedir
15 ou retardar a atividade microbiana (crescimento e metabolismo).

O termo "agente de isotonicidade" como usado refere-se a um composto químico em uma composição farmacêutica que serve para modificar a pressão osmótica da composição farmacêutica de modo que a pressão osmótica torna-se mais próxima daquela do plasma humano. Agentes de
20 isotonicidade incluem NaCl, glicerol, manitol etc.

O termo "estabilizador" como usado aqui refere-se a produtos químicos adicionados ao peptídeo contendo composições farmacêuticas de modo a estabilizar o peptídeo, isto é, para aumentar a vida útil e/ou no tempo oportuno de tais composições. Exemplos de estabilizadores usados em
25 formulações farmacêuticas são L-glicina, L-histidina, arginina, polietileno glicol, e carboximetilcelulose.

O termo "peptídeo de insulina" como usado aqui significa um peptídeo que é insulina humana ou um análogo ou um derivado do mesmo com atividade de insulina.

30 O termo "insulina humana" como usado aqui significa o hormônio humano cuja estrutura e propriedades são bem conhecidas. Insulina humana tem duas cadeias de polipeptídeo que são conectadas por pontes de

dissulfeto entre resíduos de cisteína, isto é, a cadeia A e a cadeia B. A cadeia A é um peptídeo de 21 aminoácidos e a cadeia B é um peptídeo de 30 aminoácidos, as duas cadeias sendo conectadas por três pontes de dissulfeto: uma entre as cisteínas na posição 6 e 11 da cadeia A, a segunda entre a cisteína na posição 7 da cadeia A e a cisteína na posição 7 da cadeia B, e a terceira entre a cisteína na posição 20 da cadeia A e a cisteína na posição 19 da cadeia B.

O termo "análogo" como usado aqui referindo-se a um peptídeo significa um peptídeo modificado em que um ou mais resíduos de aminoácido do peptídeo foram substituídos por outros resíduos de aminoácido e/ou em que um ou mais resíduos de aminoácido foram suprimidos do peptídeo e/ou em que um ou mais resíduos de aminoácido foram suprimidos do peptídeo e ou em que um ou mais resíduos de aminoácido foram adicionados ao peptídeo. Tal adição ou supressão de resíduos de aminoácido pode ocorrer no terminal N do peptídeo e/ou no terminal C do peptídeo.

Os análogos de insulina tipicamente não compreenderão mais do que cerca de 7 mutações, mais tipicamente não mais do que 5 e ainda mais tipicamente no máximo 3 mutações comparado à insulina humana.

No decorrer dos anos um número razoavelmente grande de modificação da cadeia A e/ou B de insulina foi descrito. Assim a posição 28 da cadeia B pode ser modificada do resíduo de Pro natural para Asp, Lys, ou Ile e Lys na posição B29 também pode ser modificada para Pro.

Também, Asn na posição A21 pode ser modificado para Ala, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Met, Ser, Thr, Trp, Tyr ou Val, em particular para Gly, Ala, Ser, ou Thr e em particular para Gly. Além disso, Asn na posição B3 pode ser modificado para Lys ou Asp. Outros exemplos de análogos de insulina são des(B30) insulina humana, análogos de insulina em que um ou ambos de B1 e B2 foram suprimidos; análogos de insulina em que a cadeia A e/ou a cadeia B têm uma extensão de terminal N e análogos de insulina em que a cadeia A e/ou a cadeia B têm uma extensão de terminal C. Também, o resíduo de aminoácido natural na posição A18 pode ser mudado para um resíduo de Gln ou um ou mais dos resíduos de aminoácido nas posi-

ções B26-B30 pode ser suprimido.

O termo "derivado" como usado aqui em relação a um peptídeo precursor significa uma proteína precursora quimicamente modificada ou um análogo da mesma, em que pelo menos um substituinte não está é presente na proteína precursora ou um análogo do mesmo, isto é, uma proteína precursora que foi covalentemente modificada. Modificações típicas são amidas, carboidratos, grupos alquila, grupos acila, ésteres, PEGilações e similares. Exemplos de derivados de insulina humana são treonina metil éster^{B30} insulina humana e N^{B29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana.

O termo "ponto isoelétrico" como usado aqui significa o valor de pH onde a carga líquida global de uma macromolécula tal como um peptídeo é zero. Em peptídeos pode haver vários grupos carregados, e no ponto isoelétrico a soma de todas estas cargas é zero. Em um pH acima do ponto isoelétrico a carga líquida global do peptídeo será negativa, ao passo que nos valores de pH abaixo do ponto isoelétrico a carga líquida global do peptídeo será positiva.

O termo "cerca de" como usado aqui em relação à concentração de um peptídeo em uma composição farmacêutica significa mais ou menos 10 %. Consequentemente, a concentração "cerca de 5 mg/ml de insulina" significa uma concentração de 4,5 mg/ml de insulina a 5,5 mg/ml de insulina.

A invenção envolve as seguintes modalidades:

Modalidade 1: uma composição farmacêutica solúvel para a administração parenteral que compreende um composto de GLP-1 insulínico, um peptídeo de insulina basal, aditivos farmacêuticamente aceitáveis e zinco, em que o teor de zinco é pelo menos 5 íons Zn por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 2: uma composição farmacêutica solúvel para a administração parenteral de acordo com a modalidade 1, que compreende um composto de GLP-1 insulínico, um peptídeo de insulina basal, aditivos farmacêuticamente aceitáveis e zinco, em que o teor de zinco é pelo menos 6 íons Zn por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 3: a composição farmacêutica de acordo com a mo-

dalidade 1, em que o teor de zinco está entre 5 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

5 Modalidade 4: a composição farmacêutica de acordo com a modalidade 1, em que o teor de zinco está entre 5 e 15 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 5: a composição farmacêutica de acordo com a modalidade 1, em que o teor de zinco está entre 5 e 14 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

10 Modalidade 6: a composição farmacêutica de acordo com a modalidade 1, em que o teor de zinco está entre 5 e 13 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 7: a composição farmacêutica de acordo com a modalidade 1, em que o teor de zinco está entre 5 e 12 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

15 Modalidade 8: a composição farmacêutica de acordo com a modalidade 1, em que o teor de zinco está entre 5 e 11 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

20 Modalidade 9: a composição farmacêutica de acordo com a modalidade 1, em que o teor de zinco está entre 5 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 10: a composição farmacêutica de acordo com a modalidade 1, em que o teor de zinco está entre 5 e 9 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

25 Modalidade 11: a composição farmacêutica de acordo com a modalidade 1, em que o teor de zinco está entre 5 e 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 12: a composição farmacêutica de acordo com a modalidade 1, em que o teor de zinco está entre 5 e 7 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

30 Modalidade 13: a composição farmacêutica de acordo com a modalidade 2, em que o teor de zinco está entre 6 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 14: a composição farmacêutica de acordo com a modalidade 2, em que o teor de zinco está entre 6 e 15 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

5 Modalidade 15: A composição farmacêutica de acordo com a modalidade 2, em que o teor de zinco está entre 6 e 14 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 16: A composição farmacêutica de acordo com a modalidade 2, em que o teor de zinco está entre 6 e 13 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

10 Modalidade 17: A composição farmacêutica de acordo com a modalidade 2, em que o teor de zinco está entre 6 e 12 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

15 Modalidade 18: A composição farmacêutica de acordo com a modalidade 2, em que o teor de zinco está entre 6 e 11 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 19: A composição farmacêutica de acordo com a modalidade 2, em que o teor de zinco está entre 6 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

20 Modalidade 20: A composição farmacêutica de acordo com a modalidade 2, em que o teor de zinco está entre 6 e 9 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 21: A composição farmacêutica de acordo com a modalidade 2, em que o teor de zinco está entre 6 e 8 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

25 Modalidade 22: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 7 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

30 Modalidade 23: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 7 e 15 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 24: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está

entre 7 e 14 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 25: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 7 e 13 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

5 Modalidade 26: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 7 e 12 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

10 Modalidade 27: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 7 e 11 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 28: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 7 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

15 Modalidade 29: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 7 e 9 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 30: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 8 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

20 Modalidade 31: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 8 e 15 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

25 Modalidade 32: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 8 e 14 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 33: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 8 e 13 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

30 Modalidade 34: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 8 e 12 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 35: A composição farmacêutica de acordo com

qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 8 e 11 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

5 Modalidade 36: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o teor de zinco está entre 8 e 10 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

Modalidade 37: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o pH da dita composição farmacêutica de cerca do pH 7,4 a cerca do pH 9.

10 Modalidade 38: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o pH da dita composição farmacêutica de cerca do pH 7,4 a cerca do pH 8,2.

Modalidade 39: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o pH da dita composição farmacêutica é de cerca do pH 7,4 a cerca do pH 7,7.

15 Modalidade 40: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o pH da dita composição farmacêutica é de cerca do pH 7,6 a cerca do pH 8,2.

20 Modalidade 41: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o pH da dita composição farmacêutica é de cerca do pH 7,7 a cerca do pH 8,2.

Modalidade 42: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes em que o pH da dita composição farmacêutica é de cerca do pH 8,0 a cerca do pH 9.

25 Modalidade 43: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o peptídeo de GLP-1 insulínico é GLP-1(7-37), um análogo de GLP-1(7-37), um derivado de GLP-1(7-37), ou um derivado de um análogo de GLP-1(7-37).

30 Modalidade 44: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o derivado de GLP-1(7-37) compreende um resíduo de lisina.

Modalidade 45: A composição farmacêutica de acordo com a modalidade 44, em que o dito derivado de um análogo de GLP-1(7-37) é

Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37).

Modalidade 46: A composição farmacêutica de acordo com a modalidade 44, em que o dito derivado de um análogo de GLP-1(7-37) é Aib⁸,Lys²⁶(OEG-OEG-gama-Glu-C18-diácido), Arg³⁴)GLP-1(7-37).

5 Modalidade 47: A composição farmacêutica de acordo com a modalidade 44, em que o dito derivado de um análogo de GLP-1(7-37) é [desaminoHis⁷,Arg³⁴]GLP-1-(7-37), [Aib⁸,Glu²²,Arg²⁶,Arg³⁴,Lys³⁷]GLP-1-(7-37)amida.

10 Modalidade 48: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 42 precedentes, em que o peptídeo de GLP-1 insulínico é exendin-4 ou um análogo do mesmo.

Modalidade 49: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que o peptídeo de insulina basal é uma insulina acilada.

15 Modalidade 50: Uma composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que a insulina acilada é acilada na posição B29 com um grupo lipofílico.

20 Modalidade 51: A composição farmacêutica de acordo com a modalidade 50, em que o grupo lipofílico tem de 8 a 40, 8 a 24, ou 12 a 18 átomos de carbono.

25 Modalidade 52: Uma composição farmacêutica de acordo com a modalidade 50, em que a insulina basal é selecionada do grupo consistindo em N^εB²⁹-tetradecanoil des(B30) insulina humana, N^εB²⁹-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana, Lys^{B29}(N^ε litocolil-γ-Glu)-des(B30) insulina humana, N^εB²⁹-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutailamida desB30 insulina humana e N^εB²⁹-ω-carboxipentadecanoil-γ-amino-butanoil des(B30) insulina humana.

30 Modalidade 53: Uma composição farmacêutica de acordo com a modalidade 50, em que a insulina basal é N^εB²⁹-tetradecanoil des(B30) insulina humana, N^εB²⁹-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana.

Modalidade 54: Uma composição farmacêutica de acordo com a modalidade 50, em que a insulina basal é N^εB²⁹-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-

Glu) desB30 insulina humana.

Modalidade 55: Uma composição farmacêutica de acordo com a modalidade 50, em que a insulina basal é $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ -L-glutailamida desB30 insulina humana ou $N^{\epsilon B29}-\omega$ -carboxipentadecanoil- γ -amino-butanoil des(B30) insulina humana.

Modalidade 56: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades 1 a 42 precedentes, em que a insulina basal é $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana e o composto de GLP-1 insulínótropico é $Arg^{34}, Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^{\alpha}-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37)$.

Modalidade 57: A composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das modalidades precedentes, em que a concentração da insulina basal está na faixa de cerca de 1,5 a cerca de 8 mg/ml e a concentração do composto de GLP-1 está na faixa de cerca de 2 a cerca de 10 mg/ml.

Modalidade 58: A formulação farmacêutica de acordo com as modalidades 1 a 36, em que a insulina basal é insulina glargina e o composto de GLP-1 insulínótropico é ZP10. Modalidade de acordo com a modalidade 57, em que o pH é cerca de 4.

Modalidade 59: A formulação farmacêutica de acordo com a modalidade 58, em que o teor de zinco está entre 4 a 5 íons zinco por 6 moléculas de insulina glargina.

EXEMPLOS

EXEMPLO 1

Uma formulação típica da combinação fixa que consiste no análogo de insulina $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana e no análogo de GLP-1 $Arg^{34}, Lys^{26}(N^{\epsilon}-(\gamma-Glu(N^{\alpha}-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37)$, liraglutida, foi preparada como segue. Soluções de estoque apropriadas em água foram preparadas do análogo de insulina e do análogo de GLP-1. As concentrações de peptídeo de ambos os estoques foram tipicamente em torno de 10 mM e o pH foi ajustado para aproximadamente pH 7,7 para o análogo de insulina e aproximadamente pH 8,2 para as soluções de estoque de liraglutida. Estes ajustes de pH foram feitos usando soluções de

NaOH ou HClO₄ com concentrações máximas de 1,0 N.

Os seguintes excipientes foram misturados a partir de soluções de estoque apropriadas em água nesta ordem: 1) água 2) glicerol (modificador de isotonicidade) 3) análogo de insulina 4) fenol. A adição de fenol antes de zinco foi crítica; de outro modo um gel foi formado. Depois de 15 minutos o acetato de zinco foi adicionado em três porções: primeiramente, uma quantidade de zinco correspondendo a uma concentração de 3 zínco/6 moléculas de análogo de insulina; em segundo lugar, uma quantidade de zinco correspondendo a uma concentração de 3 zínco/6 moléculas de análogo de insulina; e em terceiro lugar qualquer zinco adicional. A solução foi equilibrada 5 minutos depois de cada adição. O pH foi medido e ajustado ao pH 8,2 como descrito acima. Esta solução foi deixada equilibrar durante aproximadamente 48 horas a 4° C antes que uma quantidade apropriada da solução de estoque de liraglutida fosse adicionada. Finalmente, o pH foi medido e se necessário ajustado para pH 8,2. Seguindo este procedimento uma formulação foi preparada como descrito na Tabela 1.

Tabela 1

Composto	Concentração de estoque (mM)	Concentração final (mM)	Volume adicionado (ml)	Ordem de mistura
Análogo de insulina	8,64	0,60	0,972	3
Acetato de zinco	9,54	0,80 ¹⁾	1,174 ²⁾	5 ²⁾
Fenol	500	50	1,4	4
Glicerol	200	16	1,12	2
Liraglutida	9,95	1,6	1,6	6 ³⁾
Água	n.a.	n.a.	7.083	1

¹⁾ Correspondendo a 8 Zn²⁺/6 moléculas de análogo de insulina.

²⁾ Foi adicionado em três porções: 0,441 ml, 0,440 ml, 0,293 ml, cada com 5 minutos entre e depois da última adição.

³⁾ A solução foi equilibrada a 4° C durante aproximadamente 48 horas antes da adição de liraglutida.

EXEMPLO 2

O mecanismo de prolongamento do análogo de insulina N^{εB29}–(N^α–(HOOC(CH₂)₁₄CO)–γ–Glu) desB30 insulina humana foi descrito para depender da formação de autoassociados na presença de mais do que 3 íons zinco por 6 moléculas de análogo de insulina. Consequentemente, se uma formulação de análogo de insulina N^{εB29}–(N^α–(HOOC(CH₂)₁₄CO)–γ–Glu) desB30 insulina humana contém uma fração significativa do análogo na forma monomérica, a formulação é esperada exibir um componente de ação rápida indesejável. Além disso, um alto teor de monômero de análogo de insulina pode comprometer a estabilidade física da formulação. A presença do análogo de GLP-1 liraglutida em uma combinação fixa com o análogo de insulina N^{εB29}–(N^α–(HOOC(CH₂)₁₄CO)–γ–Glu) desB30 insulina humana pode perturbar o equilíbrio de auto-associação do análogo de insulina para o estado monomérico com uma formação simultânea de um complexo de ligação de zinco de liraglutida. Foi demonstrado que liraglutida forma uma automontagem heptamérica sob condições relevantes de formulação, e na presença de concentrações equimolares de íons zinco, um dieptâmero de liraglutida de ligação de zinco é formado.

Formulações contendo tanto o análogo de insulina N^{εB29}–(N^α–(HOOC(CH₂)₁₄CO)–γ–Glu) desB30 insulina humana quanto liraglutida foram analisadas por um método de cromatografia por exclusão de tamanho (SEC) com detecção por fluorescência. O método de SEC usou uma coluna Suprose 12 10/300GL, amostras de 50 µl foram injetadas e o fluxo foi de 0,8 ml/min. Dois métodos incluindo e excluindo fenol foram usados com o solvente NaCl a 140 mM, Tris/HCl a 10 mM, pH 7,7, fenol a +/- 2 mM. A detecção foi feita por um canal com absorção a 276 nm (medindo a quantidade total do peptídeo) e um outro canal com detecção por fluorescência (excitação a 310 nm, emissão a 380 nm), que foi específico para liraglutida.

Sob algumas condições a quantificação específica foi impossível devido a condições experimentais. Aqui, a quantidade de análogo de insulina na forma monomérica foi quantificada em relação à quantidade total de peptídeo.

As formulações foram preparadas como descrito no Exemplo 1. Quatro formulações cada com 0,3 mM e 0,6 mM de análogo de insulina, respectivamente, foram preparadas com teores de zinco correspondendo a 6, 8, 10, e 12 íons zinco por 6 moléculas de análogo de insulina. Estas oito formulações foram armazenadas tanto a 4° C quanto a 37° C.

Toda a formulação continha análogo de insulina a 0,3 ou 0,6 mM, acetato de zinco, liraglutida a 1,6 mM, fenol a 50 mM, glicerol a 174 mM, pH 8,2.

As formulações armazenadas foram analisadas usando tanto os métodos de SEC com fenol quanto de SEC sem fenol depois de 0, 2, 4, e 8 semanas de armazenamento. A Tabela 2 e a Tabela 3 mostram as quantidades de análogo de insulina na forma monomérica. As áreas sombreadas indicam condições onde uma quantificação exata não foi possível. Portanto, a quantificação também foi feita para o monômero de análogo de insulina em relação ao teor de peptídeo total. Isto é mostrado na Tabela 4 e Tabela 5.

Tabela 2

SEC com fenol		% de monômero de Ins			
		0,3 mM Ins		0,6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 ins	0W	25,1	25,1	7,9	7,9
	2W	59,7	55,1	19,4	17,8
	4W				
8 Zn/6 ins	0W	16,1	16,1	2,8	
	2W	49,0	42,6	10,3	
	4W				
10 Zn/6 ins	0W	7,9	7,9	1,5	
	2W	36,8	32,2	2,2	
	4W				
12 Zn/6 ins	0W	6,0	6,0		
	2W	24,3	23,8		
	4W				

Tabela 3

SEC com fenol		% de monômero de Ins			
		0,3 mM Ins		0,6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 ins	0W	66,4	66,4	27,9	27,9
	2W	86,3	80,9	29,8	33,6
	4W				
8 Zn/6 ins	0W	51,9	51,9	7,0	
	2W	72,8	68,5	16,1	
	4W				
10 Zn/6 ins	0W	28,3	28,3	2,0	
	2W	56,7	55,1	3,1	
	4W				
12 Zn/6 ins	0W	14,5	14,5		
	2W	35,0	39,9		
	4W				

Tabela 4

SEC com fenol		% de monômero de Ins de peptídeo total			
		0,3 mM Ins		0,6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 ins	0W	3,8	3,8	2,0	2,0
	2W	8,2	7,0	4,8	4,2
	4W	12,4	5,4	4,7	2,9
	8W	7,8	5,5	4,5	3,4
8 Zn/6 ins	0W	2,2	2,2	0,8	0,8
	2W	7,0	5,6	2,6	2,5
	4W	6,8	4,2	2,3	1,8
	8W	6,5	4,3	2,8	1,9
10 Zn/6 ins	0W	1,1	1,1	0,4	0,4
	2W	5,2	4,3	0,6	0,8
	4W	4,9	2,9	0,4	0,6
	8W	5,0	3,5	0,8	1,1
12 Zn/6 ins	0W	0,9	0,9	0,8	0,8
	2W	3,6	3,3	0,5	0,7
	4W	3,2	2,3	0,2	0,4
	8W	4,2	2,9	0,4	0,5

Tabela 5

SEC com fenol		% de monômero de Ins de peptídeo total			
		0,3 mM Ins		0,6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 ins	0W	16,3	16,3	7,5	7,5
	2W	16,6	12,1	8,3	8,8
	4W	10,1	8,8	6,3	5,5
	8W	13,1	10,8	9,1	8,1
8 Zn/6 ins	0W	8,4	8,4	2,0	2,0
	2W	11,3	10,1	4,3	5,0
	4W	8,3	7,4	2,9	3,0
	8W	11,1	9,1	4,9	4,9
10 Zn/6 ins	0W	4,5	4,5	0,5	0,5
	2W	8,5	8,3	0,8	1,3
	4W	6,3	5,6	0,4	0,8
	8W	8,7	7,3	1,3	2,4
12 Zn/6 ins	0W	2,3	2,3	0,7	0,7
	2W	5,6	6,1	0,8	1,1
	4W	4,3	4,1	0,2	0,5
	8W	6,9	7,0	0,6	1,4

A quantidade de dieptâmero de liraglutida de ligação de zinco foi facilmente medida usando a detecção por fluorescência. A Tabela 6 e a Tabela 7 mostram as quantidades medidas nas amostras analisadas.

5 Tabela 6

SEC com fenol		% de dieptâmero de Liraglutida total			
		0,3 mM Ins		0,6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 ins	0W	0	0	0	0
	2W	0	0	0	0
	4W	0	0	0	0
	8W	0	0	0	0
8 Zn/6 ins	0W	0	0	0	0
	2W	0	0	0	0,3
	4W	0	0	0	0,4
	8W	0	0	0	0,4
10 Zn/6 ins	0W	0	0	0	0
	2W	0	0	0	1,2
	4W	0	0	0	1,5
	8W	0	0	0,1	2,1

Continuação

SEC com fenol		% de dieptâmero de Liraglutida total			
		0,3 mM Ins		0,6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
12 Zn/6 ins	0W	0	0	0,4	0,4
	2W	0	0	0,6	15,4
	4W	0	0	0,4	15,2
	8W	0	0,1	0,8	15,6

Tabela 7

SEC com fenol		% de dieptâmero de Liraglutide			
		0,3 mM Ins		0,6 mM Ins	
		4°C	37°C	4°C	37°C
6 Zn/6 ins	0W	0	0	0	0
	2W	0	0	0	0
	4W	0	0	0	0
	8W	0	0	0	0,1
8 Zn/6 ins	0W	0	0	0	0
	2W	0	0	0	0,3
	4W	0	0	0	0,2
	8W	0	0	0	0,4
10 Zn/6 ins	0W	0	0	0	0,1
	2W	0	0	0	1,3
	4W	0	0	0	1,1
	8W	0	0	0	2,4
12 Zn/6 ins	0W	0	0	0,3	0,3
	2W	0	0	0,5	16,7
	4W	0	0	0,3	13,5
	8W	0	0,1	0,8	17,7

EXEMPLO 3

- Seguindo o procedimento no Exemplo 1 quatro formulações foram preparadas com as composições mostradas na Tabela 8. Na Formulação 3 o tampão de glicilglicina foi adicionado juntamente com a água. Na Formulação 4 o tampão de fosfato foi adicionado depois que o acetato de zinco foi adicionado. Isto foi feito de modo a minimizar a precipitação de zinco-fosfato. O análogo de insulina usado foi N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana.

A estabilidade física das quatro composições farmacêuticas foi avaliada por meio de um teste acelerado com esforço aplicado. O teste com

esforço aplicado foi realizado como um teste de rotação. 50 µL de ar foram adicionados a cada um de 5 cartuchos (frascos de vidro) de cada formulação. Os cartuchos foram girados com uma frequência de 30 rotações por minuto durante 4 horas por dia. A inspeção dos cartuchos foi seguida diariamente ou conforme necessário. A turvação da formulação foi caracterizada por medição nefelométrica e especificada em "Unidade de Turvação Nefelométrica" (NTU). A instabilidade física da proteína foi caracterizada por medições de turvação elevada.

Este teste de rotação é mostrado na Figura 1. Ele revelou que a formulação com o análogo de insulina e liraglutida combinados e formulados no pH 7,7 (Formulação 3) foi menos estável do que o análogo de insulina formulado sozinho no pH 7,4 (Formulação 1) e provavelmente teve uma estabilidade inaceitável para outro desenvolvimento. A Formulação 4 também continha a combinação de análogo de insulina e liraglutida mas foi formulada no pH 8,2. Esta formulação teve uma única estabilidade física marginalmente mais baixa do que o análogo de insulina sozinho. Consequentemente, esta comparação ilustrou que a combinação do análogo de insulina e liraglutida sem nenhuma otimização resultou em uma formulação instável. O aumento do pH para o pH 8,2, entretanto, resultou em estabilidade física muito melhorada comparável àquela do análogo de insulina sozinho.

Tabela 8

	Formulação 1	Formulação 2	Formulação 3	Formulação 4
Análogo de insulina (mM)	0,6	n.a.	0,6	0,6
Acetato de zinco (mM)	0,6	n.a.	0,6	0,6
Liraglutida (mM)	n.a.	1,6	1,6	1,6
Fenol (mM)	16	58	40	40
m-cresol (mM)	16	n.a.	n.a.	n.a.
Glicerol (mM)	174	174	174	174
NaCl (mM)	10	n.a.	10	10
Fosfato (mM)	n.a.	8	n.a.	8
Glicilglicina (mM)	n.a.	n.a.	8	n.a.
pH	7,4	7,7	7,7	8,2

EXEMPLO 4

Em um outro teste de rotação realizado como descrito no Exemplo 3, quatro formulações de combinação contendo tanto o análogo de insulina $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana quanto liraglutida e duas referências com o análogo de insulina e liraglutida sozinhos foram testadas.

As formulações foram preparadas como descrito no Exemplo 1 e suas composições são mostradas na Tabela 9.

Tabela 9

	Form. 1	Form. 2	Form. 3	Form. 4	Form. 5	Form. 6
Análogo de insulina (mM)	0,6	n.a.	0,6	0,6	0,6	0,3
Acetato de zinco (mM)	0,6 (= 6 $Zn^{2+}/6$ ins)	n.a.	0,8 (= 8 $Zn^{2+}/6$ ins)	1,0 (= 10 $Zn^{2+}/6$ ins)	1,2 (= 12 $Zn^{2+}/6$ ins)	0,5 (= 10 $Zn^{2+}/6$ ins)
Liraglutida (mM)	n.a.	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
Fenol (mM)	16	58	50	50	50	50
m-cresol (mM)	16	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Glicerol (mM)	174	174	174	174	174	174
NaCl (mM)	10	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Fosfato (mM)	n.a.	8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
pH	7,4	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2

Os resultados do teste de rotação são mostrados nas Figuras 2 a 4.

A Formulação 3 continha 8 zínco/s/6 moléculas de análogo de insulina e teve uma estabilidade comparável tanto às referências com o análogo de insulina (com 6 zínco/s/6 moléculas de análogo de insulina) quanto de liraglutida sozinho. A Formulação 6 apenas continha análogo de insulina a 0,3 mM mas requereu 10 zínco/s/6 moléculas de análogo de insulina de

modo a exibir uma estabilidade similar como a referência. Isto indicou que o teor de zinco mais alto em relação à quantidade de análogo de insulina foi necessário de modo a obter a mesma estabilidade como a referência de análogo de insulina sozinha com 6 íons zinco/6 moléculas de análogo de insulina.

EXEMPLO 5

As propriedades farmacocinéticas (PK) das formulações de combinação fixa com o análogo de insulina N^εB29-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana e liraglutida foram examinadas em porcos. As aparências dos dois peptídeos na corrente sanguínea foram medidas por técnicas de ensaio padrão durante até 72 horas depois da injeção. Para clareza, entretanto, apenas as primeiras 24 horas são mostradas para o análogo de insulina. Os resultados são mostrados na Figura 5 e Figura 6 como médias das seis réplicas e mostrados com erro padrão da média. Três formulações de combinação e duas referências foram preparadas como esboçado no Exemplo 1. Suas composições são mostradas na Tabela 10. A curva de aparência PK para o análogo de insulina é mostrada na Figura 5 e a curva de aparência PK para liraglutida é mostrada na Figura 6.

Tabela 10

	Form. 1	Form. 2	Form. 3	Form. 4	Form. 5
Análogo de insulina (mM)	0,6	n.a.	0,6	0,6	0,6
Acetato de zinco (mM)	0,6 (= 6 Zn ²⁺ /6 ins)	n.a.	0,8 (= 8 Zn ²⁺ /6 ins)	1,0 (= 10 Zn ²⁺ /6 ins)	1,2 (= 12 Zn ²⁺ /6 ins)
Liraglutida (mM)	n.a.	1,6	1,6	1,6	1,6
Fenol (mM)	50	50	50	50	50
Glicerol (mM)	174	174	174	174	174
pH	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2

A aparência do análogo de insulina na combinação é criticamente por várias razões: Um componente de ação rápida dará origem a um início precoce inesperado de efeito. Uma biodisponibilidade aumentada tam-

bém resultará em um maior efeito de redução de glicose sanguínea e consequentemente um ajuste da dose seria necessário. É interessante concluir que a formulação da combinação 3 (formulada com 8 zínco/6 moléculas de análogo de insulina) exibiu uma curva de aparência de insulina muito similar comparada à curva para o análogo de insulina sozinho (Formulação 1). Consequentemente, uma formulação de combinação com 8 zínco/6 moléculas de análogo de insulina exibiu propriedades PK de insulina muito similares quando comparadas ao análogo de insulina sozinho. Todas as formulações de combinação exibiram curvas de aparência de liraglutida muito similares (Formulações 3 a 5).

EXEMPLO 6

As propriedades farmacocinéticas (PK) de outras formulações de combinação fixa com o análogo de insulina $N^{\epsilon B29}-(N^{\alpha}-(HOOC(CH_2)_{14}CO)-\gamma-Glu)$ desB30 insulina humana e liraglutida em uma razão diferente foram do mesmo modo examinadas em porcos. Esta razão permite que uma maior quantidade do análogo de insulina em relação a liraglutida seja liberada ao paciente em uma única injeção. Uma dose igual de insulina foi administrada aos porcos tanto da referência de análogo de insulina (Formulação 1) quanto das combinações (Formulações 3 a 5). As aparências dos dois peptídeos na corrente sanguínea foram medidas por técnicas de ensaio padrão durante até 72 horas depois da injeção. Para clareza, entretanto, apenas as primeiras 6 horas e 24 horas, respectivamente, são mostradas. Os resultados são mostrados na Figura 7 e Figura 8 como médias das seis réplicas e mostrados com erro padrão da média. Três formulações de combinação e duas referências foram preparadas como esboçado no Exemplo 1. Suas composições são mostradas na Tabela 11. A curva de aparência PK para o análogo de insulina é mostrada na Figura 7 e a curva de aparência PK para liraglutida é mostrada na Figura 8.

Tabela 11

	Form. 1	Form. 2	Form. 3	Form. 4	Form. 5
Análogo de insulina (mM)	0,6	n.a.	1,2	1,2	1,2
Acetato de zinco (mM)	0,6 (= 6 Zn ²⁺ /6 ins)	n.a.	1,2 (= 6 Zn ²⁺ /6 ins)	1,4 (= 7 Zn ²⁺ /6 ins)	1,6 (= 8 Zn ²⁺ /6 ins)
Liraglutida (mM)	n.a.	1,6	1,6	1,6	1,6
Fenol (mM)	50	50	50	50	50
Glicerol (mM)	214	214	214	214	214
pH	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2

Comparada à referência de análogo de insulina (Formulação 1) a combinação com 6 Zn²⁺/6 moléculas de insulina (Formulação 3) exibiu um menor rebaixo com um início mais precoce do que o pico principal da referência. O aumento do teor de zinco para 7 Zn²⁺/6 moléculas de insulina (Formulação 4) resultou em uma curva de aparência de análogo de insulina muito mais similar àquela da referência de insulina (Formulação 1). O aumento do teor de zinco ainda mais para 8 Zn²⁺/6 moléculas de insulina (Formulação 5) não resultou em nenhuma melhora adicional. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre as curvas de aparência PK para liraglutida nas três combinações (Formulações 3 a 5) e liraglutida sozinho (Formulação 2). Isto indicou que um teor de zinco de 7 Zn²⁺/6 moléculas de insulina para a combinação de análogo de insulina a 1,2 mM –liraglutida a 1,6 mM foi preferível de modo a obter uma curva de aparência PK similar para o análogo de insulina na combinação comparado ao análogo sozinho.

EXEMPLO 7

A influência do pH sobre o teor de monômero de análogo de insulina N^{B29}–(N^α–(HOOC(CH₂)₁₄CO)–γ–Glu) desB30 insulina humana em combinações com liraglutida foi investigada. Três formulações foram preparadas como esboçado no Exemplo 1 mas ajustadas para pH 8,2, pH 7,7, e pH 7,4. A composição de todas as três formulações foi: análogo de insulina a 0,6 mM, acetato de zinco a 0,8 mM (8 zínco por 6 moléculas de análogo de

insulina), liraglutida a 1,6 mM, fenol a 50 mM, glicerol a 214 mM. Depois da preparação, as formulações foram armazenadas a 4° C durante algumas semanas antes da primeira medição nas semanas de ponto no tempo 0. Depois, as formulações foram armazenadas tanto a 5° C quanto a 37° C e analisadas depois de 2 e 4 semanas adicionais de armazenamento nas duas temperaturas. As formulações foram analisadas usando o método de SEC descrito no Exemplo 2. Ambas as versões com e sem fenol foram usadas.

Os teores relativos de monômero de análogo de insulina comparado ao análogo de insulina total medido pela análise de SEC com fenol e sem fenol são mostrados na Tabela 12 e Tabela 13, respectivamente. Em ambos os métodos de SEC e em ambas as temperaturas, a diminuição do pH resultou em teor de monômero de análogo de insulina mais baixo em cada ponto no tempo de medição. Isto indicou que o pH é um fator importante para controlar e modular o teor de monômero de insulina nas combinações com liraglutida. Um teor de monômero de insulina mais baixo pode ser obtido usando-se um pH mais baixo do que o pH 8,2, por exemplo, pH 7,7.

Tabela 12

SEC com fenol	% de Ins de monômero		
	0W	2W	4W
pH 8,2 (4° C)	12,4	8,1	8,8
pH 7,7 (4° C)	2,5	2,8	2,8
pH 7,4 (4° C)	1,1	1,2	1,1
pH 8,2 (37° C)	12,4	8,2	7,8
pH 7,7 (37° C)	2,5	3,1	2,3
pH 7,4 (37° C)	1,1	1,5	1,1

Tabela 13

SEC sem fenol	% de Ins de monômero		
	0W	2W	4W
pH 8,2 (4° C)	12,5	13,7	13,6
pH 7,7 (4° C)	1,7	3,5	4,3
pH 7,4 (4° C)	0,7	1,3	1,6
pH 8,2 (37° C)	12,5	15,2	17,6
pH 7,7 (37° C)	1,7	4,1	4,6
pH 7,4 (37° C)	0,7	1,9	2,0

Os teores de dieptâmero de liraglutida também foram medidos em uma forma similar e estes resultados são mostrados na Tabela 14 e Tabela 15 para o método de SEC com fenol e sem fenol, respectivamente.

Tabela 14

SEC com fenol	% de dieptâmero de Liraglutida		
	0W	2W	4W
pH 8,2 (4° C)	0,0	0,1	0,1
pH 7,7 (4° C)	0,1	0,1	0,1
pH 7,4 (4° C)	0,8	0,4	0,4
pH 8,2 (37° C)	0,0	0,4	0,6
pH 7,7 (37° C)	0,1	4,6	6,1
pH 7,4 (37° C)	0,8	18,0	21,6

5 **Tabela 15**

SEC sem fenol	% de dieptâmero de Liraglutida		
	0W	2W	4W
pH 8,2 (4° C)	0,0	0,0	0,0
pH 7,7 (4° C)	0,1	0,1	0,1
pH 7,4 (4° C)	0,9	0,4	0,3
pH 8,2 (37° C)	0,0	0,3	0,5
pH 7,7 (37° C)	0,1	4,4	5,2
pH 7,4 (37° C)	0,9	16,6	19,0

EXEMPLO 8

O estudo descrito no Exemplo 7 também continha uma formulação de combinação de análogo de insulina N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana – liraglutida contendo uma baixa concentração de histidina. O aminoácido foi intencionado a agir como um tampão de zinco na presença de um teor de zinco aumentado. A Formulação 1 foi composta de análogo de insulina a 0,6 mM, acetato de zinco a 0,8 mM (8 zínco por 6 moléculas de análogo de insulina), liraglutida a 1,6 mM, fenol a 50 mM, glicérol a 214 mM, com pH ajustado para pH 8,2. A Formulação 2 foi composta de análogo de insulina a 0,6 mM, acetato de zinco a 1,0 mM (10 zínco por 6 moléculas de análogo de insulina), liraglutida a 1,6 mM, fenol a 50 mM, glicérol a 214 mM, histidina a 0,5 mM, pH ajustado para pH 8,2. Ambas as formulações foram basicamente produzidas como esboçado no Exemplo 1, a his-

tidina foi adicionada como o excipiente final depois de liraglutida. As formulações foram analisadas como descrito no Exemplo 2 e Exemplo 7.

- 5 Os teores relativos de monômero de análogo de insulina comparado ao análogo de insulina total medido pela análise de SEC com fenol e sem fenol são mostrados na Tabela 16 e Tabela 17, respectivamente. A Formulação 2 com 10 zincos/6 moléculas de insulina e histidina a 0,5 mM presente continha menos monômero de insulina com o passar do tempo em ambas as temperaturas do que a Formulação 1 com apenas 8 zincos/6 moléculas de insulina.

10 Tabela 16

SEC com fenol	% de Ins de monômero		
	0W	2W	4W
Formulação 1 (4° C)	12,4	8,1	8,8
Formulação 2 (4° C)	3,2	3,0	3,1
Formulação 1 (37° C)	12,4	8,2	7,8
Formulação 2 (37° C)	3,2	3,7	3,4

Tabela 17

SEC sem fenol	% de Ins de monômero		
	0W	2W	4W
Formulação 1 (4° C)	12,5	13,7	13,6
Formulação 2 (4° C)	2,4	4,0	4,5
Formulação 1 (37° C)	12,5	15,2	17,6
Formulação 2 (37° C)	2,4	5,1	6,3

Os teores de dieptâmero de liraglutida também foram medidos em uma forma similar e estes resultados são mostrados na Tabela 18 e Tabela 19 para o método de SEC com fenol e sem fenol, respectivamente.

15 Tabela 18

SEC com fenol	% de dieptâmero de Liraglutida		
	0W	2W	4W
Formulação 1 (4° C)	0,0	0,1	0,1
Formulação 2 (4° C)	0,1	0,2	0,2
Formulação 1 (37° C)	0,0	0,4	0,6
Formulação 2 (37° C)	0,1	1,9	3,6

Tabela 19

SEC sem fenol	% de dieptâmero de Liraglutida		
	0W	2W	4W
Formulação 1 (4° C)	0,0	0,0	0,0
Formulação 2 (4° C)	0,1	0,1	0,1
Formulação 1 (37° C)	0,0	0,3	0,5
Formulação 2 (37° C)	0,1	1,8	3,0

EXEMPLO 9

O estudo descrito no Exemplo 7 também continha uma combinação de análogo de insulina N^{B29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana – liraglutida composta de análogo de insulina a 0,3 mM, acetato de zinco a 0,8 mM (16 zínco por 6 moléculas de análogo de insulina), liraglutida a 1,6 mM, fenol a 50 mM, glicerol a 214 mM, ajustada para o pH 8,2.

Os teores relativos do monômero de análogo de insulina comparado ao análogo de insulina total medido pela análise de SEC com fenol e sem fenol (como descrito no Exemplo 2) são mostrados na Tabela 20 e Tabela 21, respectivamente.

Tabela 20

SEC com fenol	% de insulina monomérica		
	0W	2W	4W
4° C	7,9	7,0	6,8
37° C	7,9	6,2	5,9

Tabela 21

SEC sem fenol	% de insulina monomérica		
	0W	2W	4W
4° C	7,1	8,3	8,6
37° C	7,1	8,6	10,0

Os teores de dieptâmero de liraglutida também foram medidos em uma forma similar e estes resultados são mostrados na Tabela 22 e Tabela 23 para o método de SEC com fenol e sem fenol, respectivamente.

Tabela 22

SEC com fenol	% de dieptâmero de liraglutida		
	0W	2W	4W
4° C	0,1	0,1	0,1
37° C	0,1	1,8	2,7

Tabela 23

SEC sem fenol	% de dieptâmero de liraglutida		
	0W	2W	4W
4° C	0,1	0,1	0,1
37° C	0,1	1,9	2,5

EXEMPLO 10

As formulações que combinam insulina glargina e o análogo de exendin-4 ZP10 (também conhecido como AVE0010) foram preparadas. O análogo de exendin-4 ZP10 é descrito em Thorkildsen *et al.* (2003), JPET 307:490-496 e tem o nome sistemático [des-Pro38]exendin-4-(1-39)il-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys-NH₂. A partir das soluções de estoque apropriadas as seguintes composições foram preparadas por diluição em água: a Formulação 1 consistiu em insulina glargina a 0,6 mM, acetato de zinco a 0,46 mM (4,6 zinco/6 insulina glargina), ZP10 a 60 µM. A Formulação 2 consistiu em insulina glargina a 0,6 mM, acetato de zinco a 0,6 mM (6 zinco/6 insulina glargina), ZP10 a 60 µM. Ambas as formulações foram ajustadas em torno do pH 4,0 usando HCl e NaOH e armazenadas na temperatura ambiente durante três dias. Depois de armazenamento ambas as formulações ainda estiveram em torno do pH 4,0. As duas formulações mantiveram as soluções claras imediatamente depois da preparação e depois do armazenamento em temperatura ambiente.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica solúvel para administração parenteral, que compreende um composto de GLP-1 insulínico, um peptídeo de insulina basal, aditivos farmacologicamente aceitáveis e zinco, em que o teor de zinco é pelo menos 5 ou pelo menos 6 íons Zn por 6 moléculas de insulina.

2. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que o teor de zinco está entre 5 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

3. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que o teor de zinco está entre 6 e 16 íons zinco por 6 moléculas de insulina.

4. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o pH da dita composição farmacêutica é de cerca do pH 7,4 a cerca do pH 8,2.

5. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o pH da dita composição farmacêutica é de cerca do pH 7,4 a cerca do pH 7,7 ou está entre cerca de 7,7 e cerca de 8,2.

6. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o peptídeo de GLP-1 insulínico é GLP-1(7-37), um análogo de GLP-1(7-37), um derivado de GLP-1(7-37), ou um derivado de um análogo de GLP-1(7-37).

7. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6, em que o dito derivado de um análogo de GLP-1(7-37) é Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))))-GLP-1(7-37).

8. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o peptídeo de insulina basal é uma insulina acilada.

9. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 8, em que a insulina acilada é acilada na posição B29 com um grupo lipofílico.

10. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 9,

em que a insulina basal é selecionada do grupo consistindo em N^{εB29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana, N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana, Lys^{B29}(N^ε lotocolil-γ-Glu)-des(B30) insulina humana, N^{εB29}-ω-carboxipentadecanoil-γ-L-glutailamida desB30 insulina humana e N^{εB29}-ω-carboxipentadecanoil-γ – amino-butanoil des(B30) insulina humana.

11. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 10, em que a insulina basal é N^{εB29}-tetradecanoil des(B30) insulina humana, N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana.

12. Composição farmacêutica de acordo com qualquer um das reivindicações precedentes, em que a insulina basal é N^{εB29}-(N^α-(HOOC(CH₂)₁₄CO)-γ-Glu) desB30 insulina humana e o composto de GLP-1 insulínótropico é Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37).

13. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a concentração da insulina basal está na faixa de cerca de 1,5 a cerca de 8 mg/ml e a concentração do composto de GLP-1 está na faixa de cerca de 2 a cerca de 10 mg/ml.

14. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a insulina basal é um peptídeo de insulina glargina ou peptídeo de insulina glargina amidada e o composto de GLP-1 insulínótropico é exendin-4 ou um análogo do mesmo com até 8 resíduos de aminoácido básico adicionados.

15. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações do precedente compreendendo ainda histidina.

FIG. 1

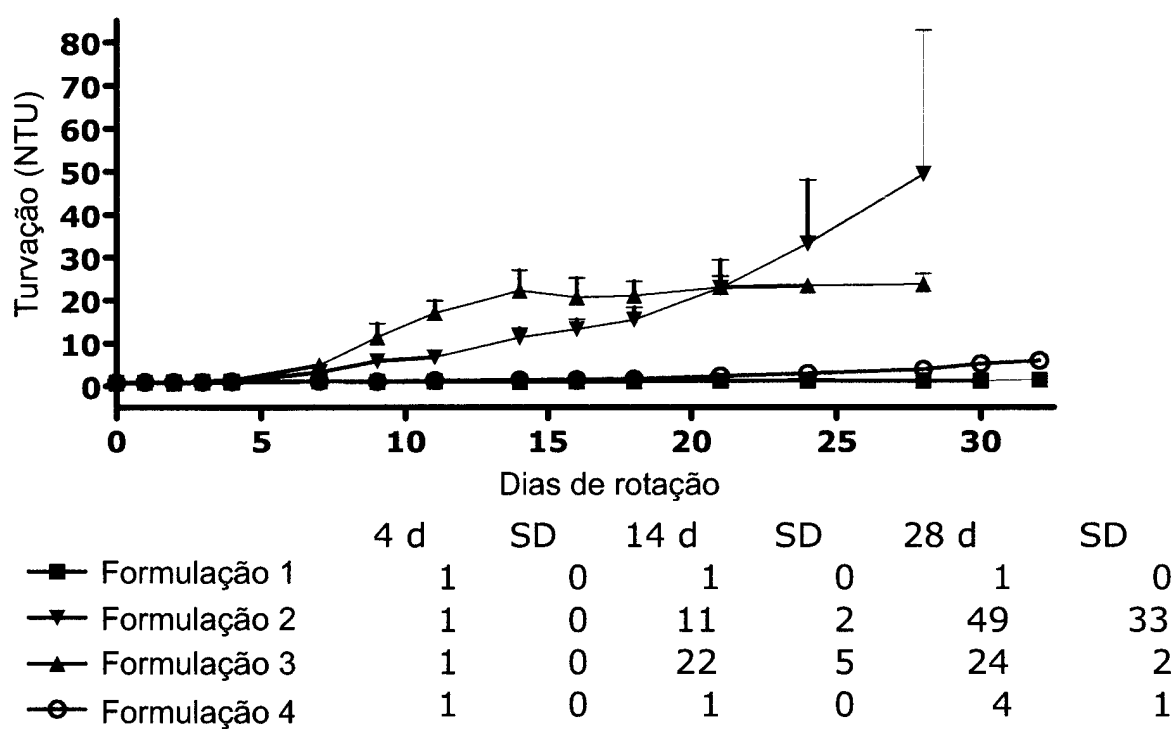


FIG. 2

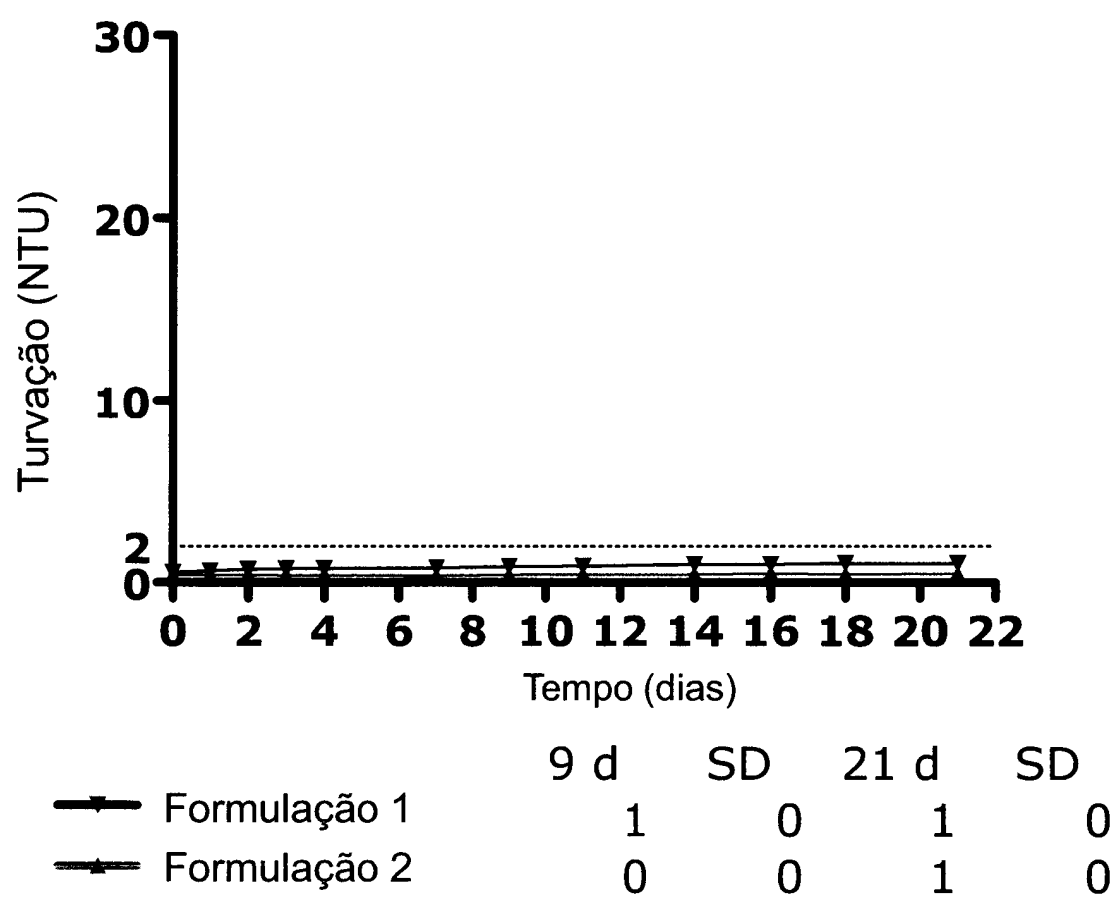
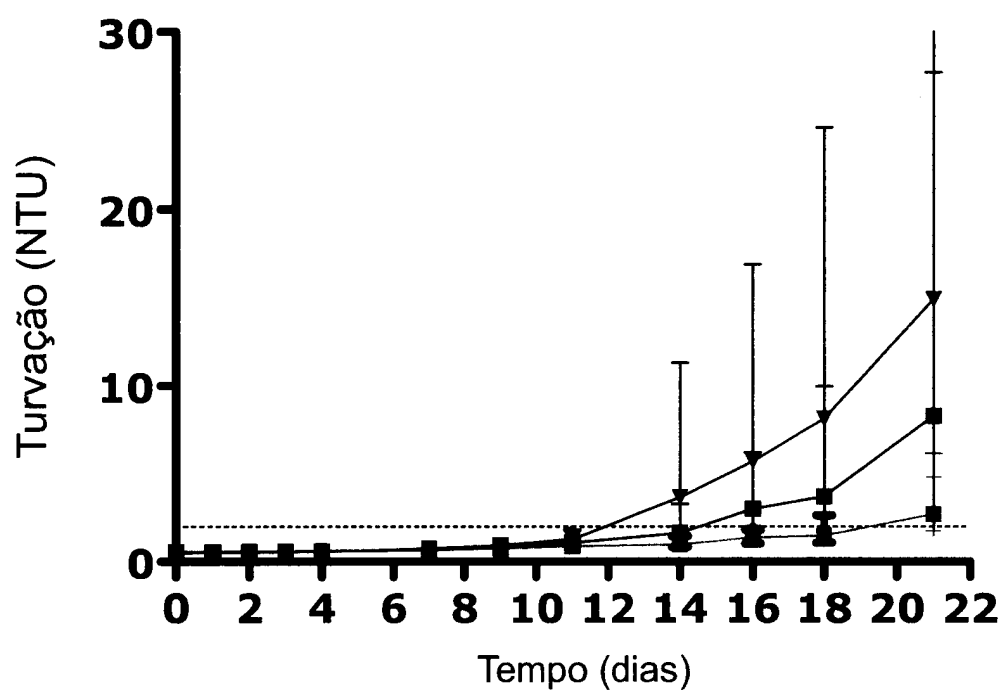


FIG. 3



	9 d	SD	21 d	SD
Formulação 3	1	0	3	2
Formulação 4	1	0	8	11
Formulação 5	1	0	15	14

FIG. 4

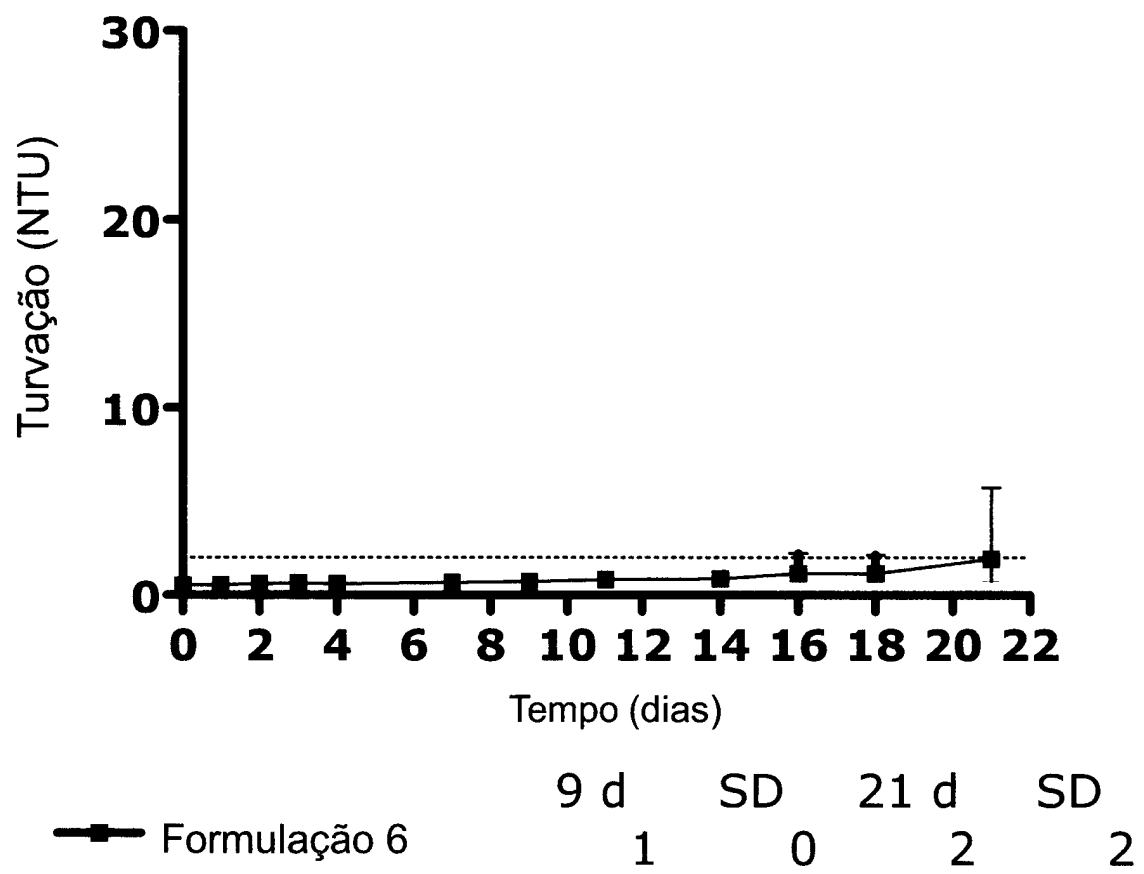
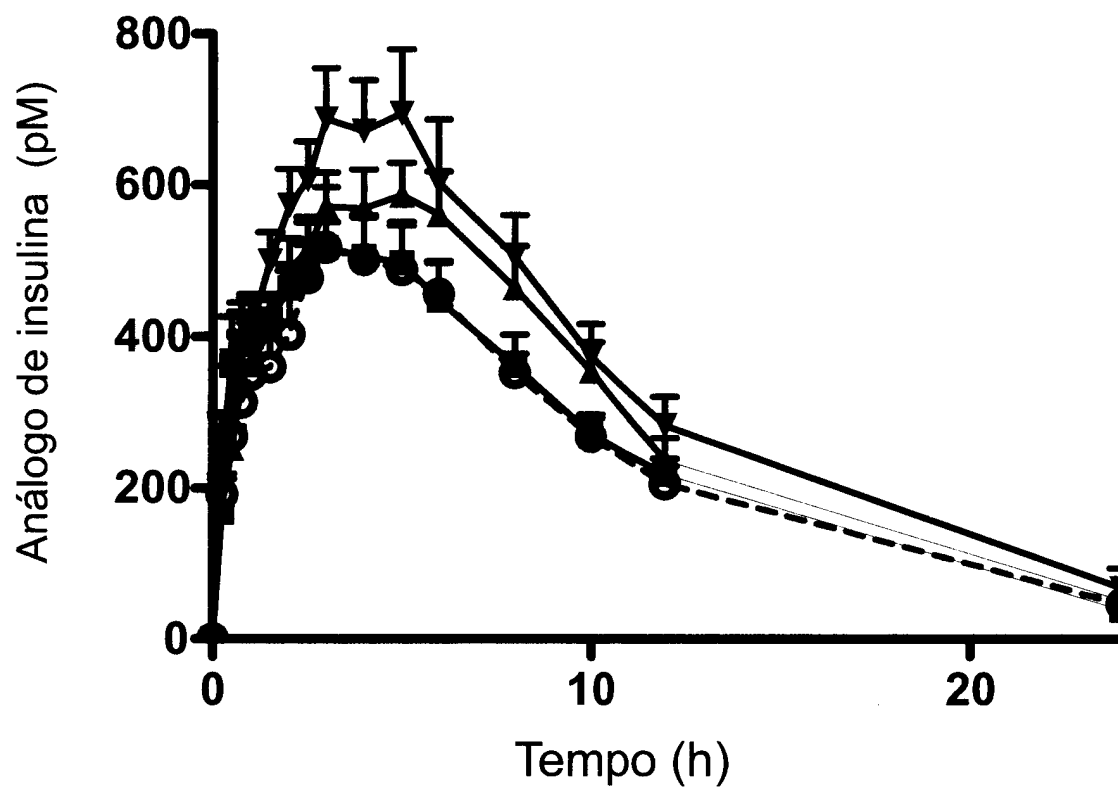


FIG. 5



- Formulação 1
- Formulação 3
- ▲— Formulação 4
- ▼— Formulação 5

FIG. 6

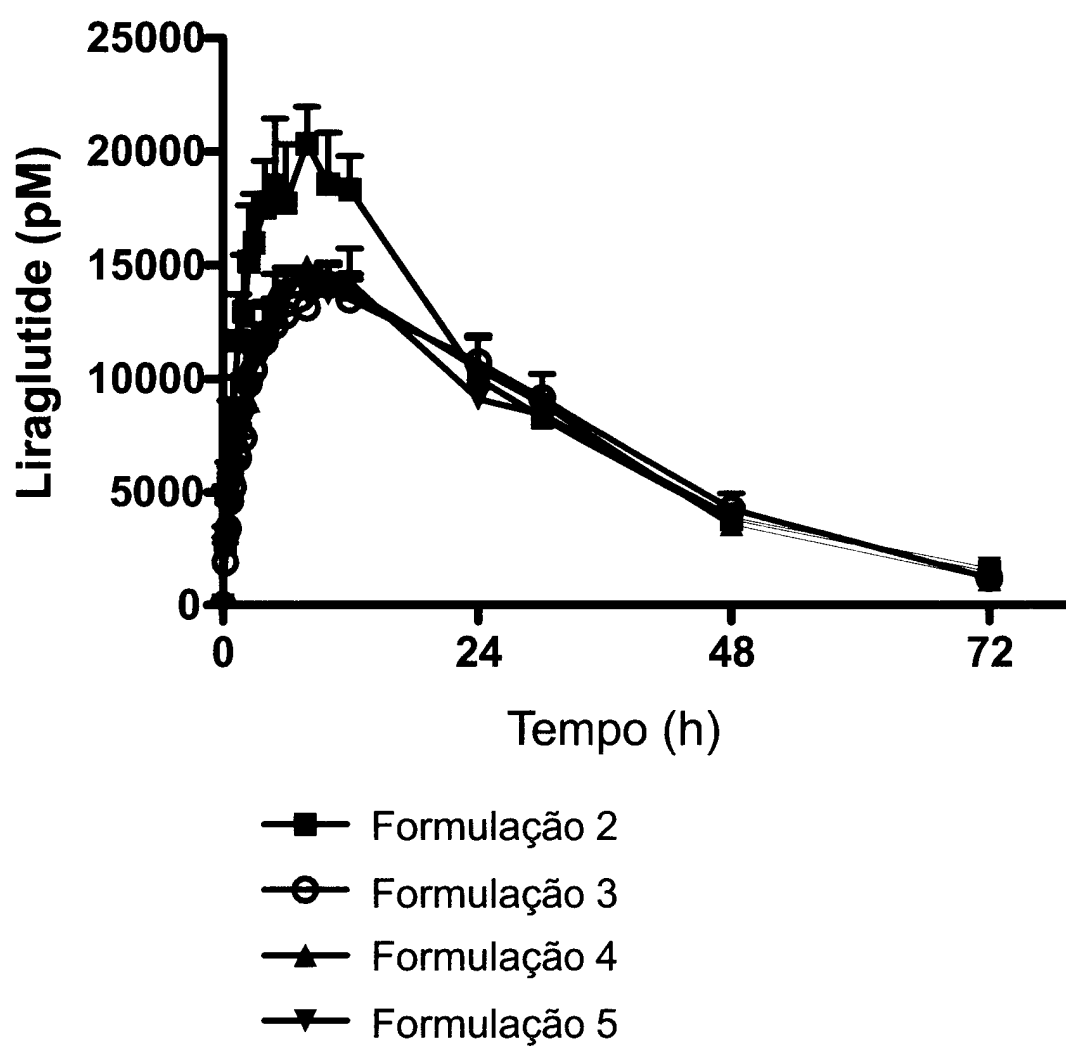


FIG. 7

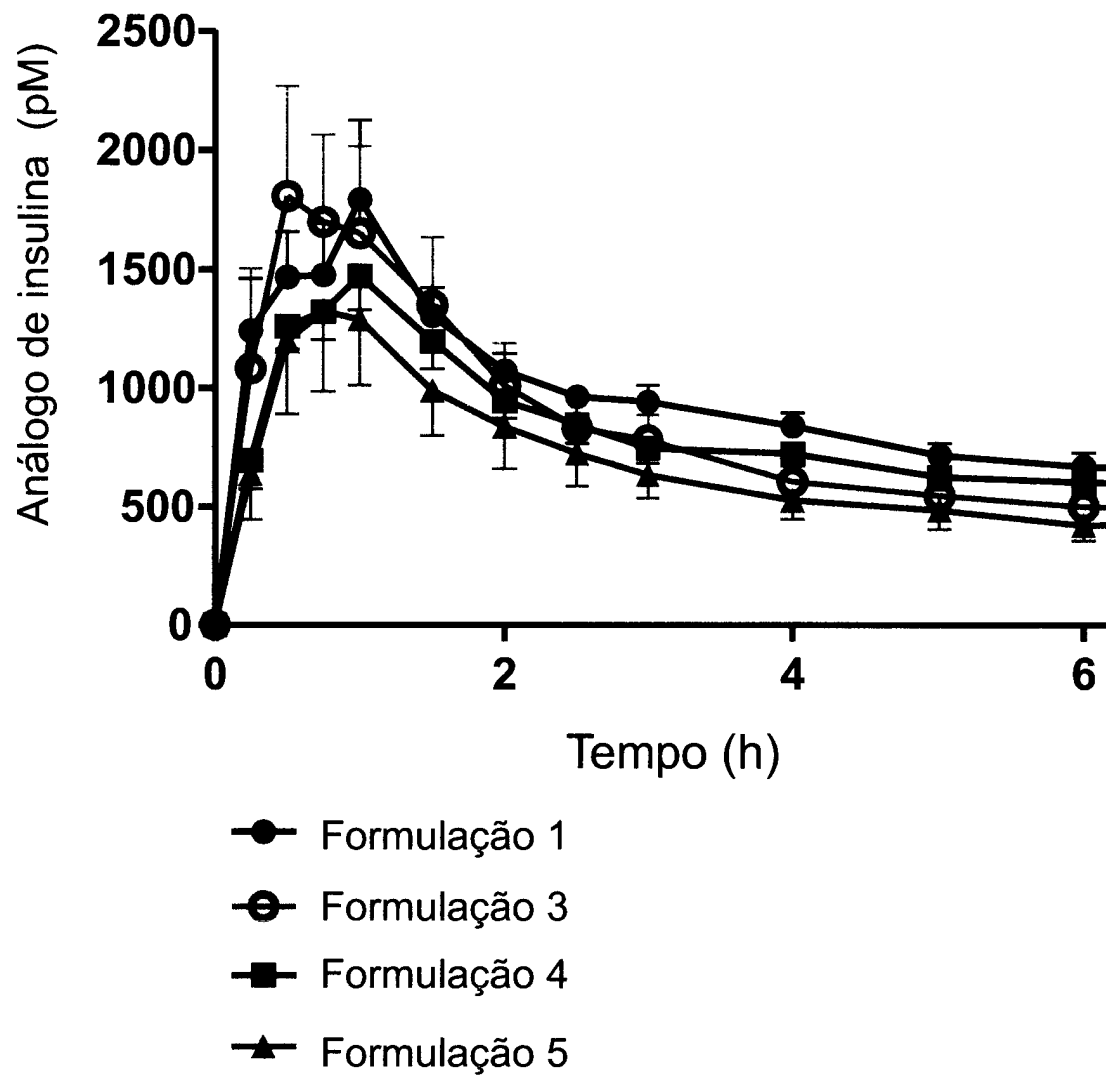


FIG. 8

