



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

(21) PI 1103164-6 A2



(22) Data de Depósito: 13/06/2011
(43) Data da Publicação: 23/07/2013
(RPI 2220)

(51) Int.Cl.:

A61K 47/14
A61K 47/30
A61K 9/50
A61K 9/51
A61K 38/28
A61P 5/48

(54) Título: SISTEMA POLIMÉRICO DE CONFINAMENTO DE INSULINA, PROCESSO E USO DE DITO SISTEMA

(73) Titular(es): Universidade Federal do Rio de Janeiro

(72) Inventor(es): Camile Moreira Mascarenhas, Eduardo Ricci Júnior, Luis Mauricio Trambaioli da Rocha e Lima, Luiz Henrique Guerreiro Rosado

(57) Resumo: SISTEMA POLIMÉRICO DE CONFINAMENTO DE INSULINA, PROCESSO E USO DE DITO SISTEMA. A presente invenção, revela um sistema polimérico de confinamento de insulina, consistindo em uma matriz polimérica, preferencialmente sob a forma de nanopartículas e micropartículas, de liberação controlada e sustentada da insulina diretamente no organismo, assim com seu uso para a preparação de um medicamento para tratamento de diabetes. O processo para a preparação desse sistema consiste em um método de dupla emulsificação e evaporação do solvente.

SISTEMA POLIMÉRICO DE CONFINAMENTO DE INSULINA, PROCESSO E USO DE DITO SISTEMA

Campo da Invenção

A presente invenção se refere a um sistema polimérico
5 de confinamento de insulina, desenvolvido para uso, dentre
outros, como medicamento na terapia de reposição deste
hormônio pancreático em diabetes. A presente invenção
também revela o processo de preparação de dito sistema
polimérico.

10 Antecedentes da Invenção

A insulina é uma proteína pancreática com atividade
hormonal, envolvida na regulação da glicemia em situações
pós-prandiais e basais. A terapia de reposição de insulina
tem sido feita há décadas, em especial com o advento da
15 insulina humana recombinante.

No Brasil há uma prevalência de 5,2% de portadores de
diabetes mellitus na população adulta, o que gera elevados
gastos com a aquisição e distribuição de medicamentos pelo
ministério da saúde (SCHMIDT, M.I. et al. Prevalence of
20 diabetes and hypertension based on self-reported morbidity
survey, Brazil, 2006. Rev Saúde Pública 2009;43(Supl 2):74-
82).

A terapia com insulina humana se faz atualmente por
administração subcutânea de formulações desse hormônio cuja
25 obtenção foi feita por via biosintética ou semi-
biosintética, visando o controle da glicemia em diversos
níveis e escalas de tempo.

A insulina humana regular possui uma faixa de atuação
em torno de 2 a 5 horas. Para que seja feito o uso desta
30 insulina, ela deve ser administrada com antecedência de

cerca de 30 min antes da refeição. Desta forma, ela não é capaz de realizar uma ação mais imediata, tampouco de manter os níveis circulantes de insulina por tempo prolongado.

5 Hoje em dia, somente análogos de insulina humana mantém os níveis circulantes de insulina por esse tempo prolongado. Esses análogos são baseados em mutações pontuais (ex: B28LysB29Pro, B28Arg, B24Asp) ou ainda derivatizados quimicamente (com ácido graxo ou PEG preso à
10 cadeia polipeptídica). Essas inovações trazem como inconveniente reações imunogênicas, a exemplo do uso passado de insulina bovina que difere da humana em apenas um aminoácido.

Existem diversos produtos comerciais baseados em
15 insulinas, tanto nativas quanto modificadas quimicamente (derivatização ou mutações pontuais) alcançando uma faixa de ação farmacocinética ampla.

A reposição dos níveis basais de insulina nos indivíduos diabéticos, com cobertura prolongada dos níveis
20 basais de insulina no estado de jejum, não conta com insulina humana nativa (não modificada quimicamente). Existem alguns desses produtos no mercado farmacêutico, mas estes possuem como características o fato de não serem homólogos à insulina ou estarem na presença de protamina,
25 uma proteína heteróloga ao organismo humano. Isso traz o problema da imunogenicidade, barreira que foi transposta com a introdução da insulina humana recombinante e a insulina humana semi-sintética na década de 80.

Existem diversos documentos no estado da técnica que
30 revelam formulações de liberação controlada contendo

insulina. Entretanto, não foi encontrada qualquer referência que antecipasse o objeto da presente invenção.

O pedido de patente WO 2010/028257, por exemplo, apresenta o uso de veículos não-aquosos como di- e triglicerídeos ou ácidos graxos para formulações contendo micropartículas sem, entretanto, descrever a preparação das micropartículas. Este documento trata da ressuspensão do liofilizado de proteína em um óleo como veículo, sem o uso de tecnologia de nano e/ou microencapsulação polimérica.

O pedido WO 96/31231, por sua vez, revela a preparação de nanopartículas de policianoacrilato contendo insulina. Ao comparar esta referência com a presente invenção nota-se que são utilizados diferentes polímeros para a formação das nano e micropartículas. Do ponto de vista de processo, as diferenças também são marcantes, pois, no pedido WO 96/31231, a polimerização da matriz ocorre *in situ* sendo simultânea ao nanoencapsulamento de insulina e à formação das nanopartículas. Por outro lado, na presente invenção o polímero utilizado já se encontra formado e este é apenas dissolvido em solvente compatível que, após a solubilização do polímero, é incorporado à formulação empregando-se energia cinética para a formação de micropartículas e para a encapsulação de insulina. Outrossim, neste documento do estado da técnica WO 96/31231, os autores fazem uso de uma classe diferente de material polimérico, o que impõe o uso de uma tecnologia completamente distinta da presente invenção. A diferença na duração do efeito farmacológico é outro ponto a ser ressaltado, uma vez que na presente invenção houve efeito assegurado por no mínimo 24h, enquanto que os dados apresentados no documento WO 96/31231

apontam para efeitos com duração de até 6 horas.

Por fim, o pedido WO 2006/088473 descreve micro e nanopartículas de quitosana contendo peptídeos ou proteínas, sendo que tais partículas podem ou não ser recobertas por polímeros lipofílicos como polí-caprolactona. Na presente invenção, as poli- ϵ -caprolactonas são os agentes formadores de matriz e não há recobrimento das partículas. Na tecnologia ora revelada, o sistema é totalmente independente de quitosana para sua funcionalidade. Nota-se ainda que os processos de obtenção das partículas também apresentam diferenças, pois as presentes formulações são obtidas por dupla-emulsão seguida por extração dos solventes voláteis, enquanto que no pedido citado, WO 2006/088473, a insulina é incorporada diretamente nas partículas de quitosana.

Sumário da Invenção

De forma surpreendente, a presente invenção revela um sistema polimérico de confinamento de insulina, desenvolvido para uso, dentre outros, como medicamento na terapia de reposição deste hormônio pancreático em diabetes. A presente invenção também revela o processo de preparação de dito sistema polimérico.

Neste contexto, visando obter uma formulação capaz de ser administrada como um medicamento capaz de realizar o controle glicêmico prolongado com base em insulina humana, foi desenvolvido um sistema particulado polimérico, com distribuição de tamanho particularmente nas faixas micro e nanométricas, com perfil bifásico de liberação de insulina, capaz de atuar sobre a glicemia tanto na fase rápida (1 a 4 horas após injeção subcutânea) quanto na fase lenta, com

liberação *in vitro* por pelo menos 10 dias.

Breve Descrição das Figuras

Figura 1: Distribuição de tamanhos das micropartículas contendo insulina (dados obtidos por espalhamento de luz dinâmico).

Figura 2: Imagem das partículas contendo insulina humana obtidas por microscopia eletrônica de varredura - MEV (aumento e barra de tamanho indicados no rodapé das microscopias).

Figura 3: Cinética de liberação *in vitro* (tampão fosfato salino - PBS pH 7,4 a 37°C) de insulina microencapsulada em partículas de poli-ε-caprolactona - PCL. A) escala linear. Inset: detalhe mostrando tempos iniciais. Linhas contínuas são ajustes com equação $C_{obs} = C_0 + A_1 * e^{(-k_1 * t)} + A_2 * e^{(-k_2 * t)}$ de dupla cinética de primeira ordem.

Figura 4: Efeito farmacológico das micropartículas contendo insulina em camundongos diabéticos (indução por streptozotocina, glicemia maior que 300 mg/dL).

Figura 5: Liberação de insulina humana a partir de micropartículas poliméricas de ácido poli D,L-laticoglicólico 50:50, MW ~ 43.000 a 65.000.

Descrição da Invenção

O sistema polimérico de confinamento de insulina da presente invenção contém preferencialmente partículas de policaprolactona e ácido poli D,L-laticoglicólico. Seu uso como medicamento na terapia de reposição de insulina se dá nas fases lenta e rápida. O processo de preparação de dito sistema polimérico usa dupla-emulsão seguida por extração dos solventes voláteis.

O problema que a presente invenção se presta a

resolver é de prover um sistema polimérico de confinamento de insulina de perfil bifásico, com ações mistas. Foi desenvolvido um sistema com base em partículas poliméricas selecionadas do grupo que consiste em policaprolactona e ácido poli D,L- laticoglicólico capaz de sustentar a
5 liberação de insulina em duas fases, rápida e lenta, conforme evidenciado por medidas farmacológicas *in vivo*.

O sistema é de uso preferencialmente injetável, ainda mais preferencialmente subcutâneo, biocompatível, bioerosível, passível de decompor-se *in vivo* a produtos não tóxicos, capaz de realizar liberação controlada *in vitro* por ao menos 240 horas. Ensaios farmacológicos *in vivo* em camundongos diabéticos em jejum demonstraram a eficácia da liberação controlada, como observado pela capacidade em
10 reduzir significativamente a glicemia basal (comparado com controle) por ao menos 48 h comparado com controles administrados com insulina humana solúvel regular. Esses dados em conjunto estabelecem uma prova de conceito, da capacidade de transpor o desafio tecnológico de um sistema biocompatível de insulina humana para liberação sustentada
15 / prolongada, até hoje não disponível mundialmente.

As necessidades imediatas a serem atendidas pela presente invenção são o fornecimento de:

- um sistema para uso na terapia com insulina humana e
25 análogos;

- um sistema de liberação controlada e lenta para uso na terapia de reposição com insulina humana e análogos;

- um sistema de liberação controlada e lenta na qual a preparação é uma forma de insulina confinada em uma matriz
30 polimérica para uso na terapia de reposição com insulina

humana e análogos;

- um sistema de liberação controlada e lenta na qual a preparação é uma forma de insulina confinada em uma matriz polimérica para administração por via injetável (subcutânea ou outra), oral, transdérmica ou outras para uso na terapia de reposição com insulina humana e análogos;

- um sistema de liberação controlada e lenta no qual a preparação é uma forma de insulina confinada em uma matriz polimérica para administração por via injetável (subcutânea ou outra), oral, transdérmica ou outras, onde a matriz polimérica é selecionada do grupo que consiste em policaprolactona, ácido poli D,L- laticoglicólico (conforme Figura 5) e outros para uso na terapia de reposição com insulina humana e análogos. O uso desses polímeros se faz desejável pela biocompatibilidade, sua atoxicidade na forma polimérica e em seus produtos de decomposição. O uso dos mesmos é determinado pelos parâmetros desejados de velocidade de liberação, velocidade de degradação *in vivo* e absorção, compatibilidade com o fármaco encapsulado;

- um processo para a preparação do sistema contendo uma matriz para confinamento molecular de insulina humana e análogos;

- o uso do sistema para a preparação de um medicamento para tratamento de diabetes;

- um sistema contendo um pó liofilizado contendo insulina encapsulada, particularmente microencapsulada ou nanoencapsulada e um veículo aquoso; e

- um produto para uso extemporâneo, que após a reconstituição com veículo adequado pode ser aplicado com auxílio de seringa.

Os exemplos abaixo são meramente ilustrativos e não devem limitar o escopo da presente invenção.

Preparação das partículas contendo insulina

O processo de produção consiste em um método de emulsificação e evaporação do solvente, como segue:

- Primeiramente, 10 a 4.000 µL, preferencialmente 400 µL de insulina humana regular (insulina humana a 0,5 a 20 mg/mL, preferencialmente a 3,7 mg/mL estabilizada com 0 a 30 mg/mL de metacresol ou fenol, preferencialmente 3 mg/mL de metacresol; 0 a 1 mg / mL de ZnCl₂ preferencialmente a 7 µg/mL, e 0 a 200 mg/mL deglicerol, preferencialmente 16 mg/mL) e 0 a 1.000 µL de álcool polivinílico (PVA) a 0,01 a 10 % p/v, preferencialmente 100 µL a 5% p/v (fase aquosa interna - F.A.i.) são homogeneizados com 0 a 2.000 mg de PCL, preferencialmente 100 mg, dissolvidos em 0,01 a 20 mL de diclorometano - DCM (fase oleosa - F.O.), preferencialmente 5 mL, usando um misturador de cisalhamento (ultra-turrax T10) com ponteira S10N-5G a 1.000 a 50.000 rpm, preferencialmente a 18.000 a 22.000 rpm, formando a emulsão primária água em óleo (A/O).

- A seguir, esta emulsão A/O é gotejada dispersa sobre fluxo de 0,1 a 50 mL / min, preferencialmente a 5 mL/min, sobre 0,1 a 250 mL de PVA, preferencialmente 25 mL, de PVA a 0,01 a 20 % p/V, preferencialmente a 1,5% p/v, sob agitação branda entre 50 a 1.000 rpm, preferencialmente a 500 rpm com agitação magnética, formando a microemulsão água em óleo em água (A/O/A).

- Esta microemulsão é então submetida a vácuo (200 a 700 mmHg, preferencialmente 600 mm Hg) a uma temperatura de 10 a 60 °C, preferencialmente a 25 °C, para a remoção do

DCM.

- A suspensão de partículas é lavada três vezes com solução aquosa de PVA a uma concentração entre 0 e 20 % p/v, preferencialmente a 1,5% p/v, e posteriormente seca preferencialmente por liofilização para conservação, ou usada imediatamente nos ensaios de liberação.

O rendimento do processo é calculado com base na massa recuperada após a liofilização e a eficiência de encapsulação obtida através da dosagem de insulina nos sobrenadantes após as lavagens.

É importante ressaltar que diversas formulações foram testadas empregando-se emulsão simples (com a insulina dissolvida diretamente em solvente orgânico) em vez de emulsão dupla, ou ainda emulsão dupla, mas empregando-se insulina sem estar estabilizada. Nenhuma dessas tentativas resultou em uma formulação adequada, tendo-se obtido resultados insatisfatórios, possivelmente devido à degradação estrutural da insulina.

A eficiência calculada a partir dos sobrenadantes das lavagens foi igual a 64,5% com desvio padrão igual a 6,8%. O rendimento foi obtido a partir da pesagem do material após a liofilização sendo este igual a 88,4 % \pm 4,2 %.

Análise espectrofotométrica quantitativa de insulina

As amostras contendo insulina foram quantificadas pelo método de Bradford modificado. Para a quantificação da insulina presente, 500 μ L de cada amostra foram misturados com 500 μ L do reagente de Bradford duas vezes concentrado (200 mg de Coomassie G-250, 100 mL de etanol 95 %, 200 mL de H₃PO₄ 85% e água ultrapura q.s.p. 1 L) e após homogeneizar as amostras, usando um vórtex, as absorvâncias

em 595 nm das mesmas foram aferidas em um espectrofotômetro. A curva de calibração da insulina no tampão usado na liberação (PBS pH 7,4, azida 0,02 % e polissorbato-80 0,1 %) foi realizada para se verificar a
5 adequação do método às concentrações esperadas durante os experimentos de liberação, e para se obter a linearidade do método. A especificidade desta metodologia foi verificada usando amostras contendo todos os componentes da
formulação, à exceção da própria insulina.

10 Análise de tamanho de partícula

As suspensões de partículas, particularmente nanopartículas e micropartículas, foram diluídas em água e mantidas em cubetas de acrílico seladas. Os frascos foram colocados na câmara de análise do equipamento de
15 espalhamento de luz de modo que o feixe de luz laser atravessasse a suspensão em toda sua extensão sem que houvesse efeito de filtro interno. O valor médio do diâmetro e o índice de polidispersividade foram fornecidos pelos equipamentos Shimadzu- SALD-2201 e Brookhaven
20 Instruments Corporation - ZetaPlus Zeta Potential Analyzer.

As partículas resultantes do método de dupla-emulsão empregando agitador magnético apresentaram tamanhos variados. A análise das amostras por espalhamento de luz
dinâmica mostrou que as mesmas possuíam valores de diâmetro
25 médio e desvio padrão iguais a 9,82 μm e 0,56 μm respectivamente (conforme Figura 1).

Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A suspensão de partículas foi espalhada sobre lâminas
30 de vidro e resfriada em nitrogênio líquido. Após a

liofilização, as amostras receberam tratamento (cobertura de ouro) e foram observadas no microscópio eletrônico de varredura, conforme Figura 2.

Perfil cinético de liberação de insulina das partículas *in vitro*

Após as lavagens, as amostras foram diluídas em 15 mL do tampão de liberação (PBS pH 7,4 e 0,02 % azida). Após a diluição, o material foi dividido em quinze microtubos de 1,5 mL, sendo que cada tubo recebeu 1 mL de amostra, que foi então transferido para estufa e mantido a 37°C durante o experimento. A cada intervalo de tempo um microtubo foi retirado da estufa e centrifugado a 20.000 g por 30 minutos a 12°C. A insulina presente nos sobrenadantes foi dosada pelo método de Bradford previamente descrito.

Diversos experimentos realizados em dias diferentes indicaram que este sistema apresenta uma cinética de liberação bifásica, com amplitudes de 50 % para cada uma, sendo a primeira de duração de cerca de 2h e a segunda até 48h. Na Figura 3 é possível observar o perfil de liberação obtido das preparações das partículas contendo insulina.

Os dados foram ajustados com uma função dupla de cinética de primeira ordem, como segue:

$$C_{obs} = C_0 + A_1 * e^{(-k_1 * t)} + A_2 * e^{(-k_2 * t)}$$

onde C_{obs} é a concentração de insulina do tempo t , C_0 é a concentração de insulina no tempo 0, A é o efeito total, k é constante cinética e 1 e 2 são as fases cinéticas. Considerando que o efeito glicêmico é bifásico, ocorrendo restauração dos níveis originais de glicemia, os dados farmacológicos *in vivo* foram ajustados usando $A_1 = A_2$.

A tabela abaixo mostra dados cinéticos de liberação *in*

vitro e efeitos farmacológicos *in vivo* de amilina humana a partir de partículas de PCL:

	Liberação <i>in vitro</i>	Liberação <i>in vivo</i> (glicemia)	
	MP:Insulina	MP:Insulina	Humulin®
A ₁	43.9 ± 9.9	---	---
k ₁	0.76 ± 0.39 h ⁻¹	2.58 h ⁻¹	2.59 h ⁻¹
A ₂	54.7 ± 9.8	---	---
k ₂	0.023 ± 0.0095 h ⁻¹	0.047 h ⁻¹	0.18 h ⁻¹
r ²	0.916	0.92	0.93

5 Avaliação farmacológica da preparação de partículas contendo insulina

Camundongos suíços machos com 8 semanas foram divididos em dois grandes grupos: controle (n = 4) e Diabético (n = 13). Os animais foram alojados em uma sala de temperatura controlada, com ciclo luz-escuro de 12h e tiveram livre acesso à água e ração. O diabetes Tipo 1 foi induzido através de uma injeção intraperitoneal (Ip.) de estreptozotocina (STZ, 200 mg/kg) dissolvida em tampão citrato fresco (100 mM, pH 4,5). O grupo controle recebeu apenas o veículo (0,1 ml). Cinco dias após a administração de STZ, foi coletado o sangue da cauda dos camundongos, e os níveis de glicose foram medidos através de um glicosímetro (Accu-Chek® Active - Roche). Foram considerados diabéticos os animais que apresentaram glicemia superior a 300 mg/dl.

Em seguida, o grupo diabético foi subdividido em três

novos grupos. O primeiro grupo (grupo placebo, n=3) recebeu 100 µL de formulação de partículas sem insulina produzidas segundo o mesmo protocolo do preparo da formulação de partículas contendo insulina; o segundo grupo (grupo 5 Insulina Humana Regular 100 U/mL, n = 5) foi tratado com 5 U/kg de insulina humana regular comercial (Humulin[®]); e o terceiro grupo (grupo Teste, n = 5) recebeu 100 µL da formulação com insulina microencapsulada. No sexto dia, a glicemia dos animais foi determinada no tempo zero, e 100 10 µL de cada amostra foi injetado por via subcutânea em cada animal. Todos os camundongos estavam em estado alimentado. A partir de então, a concentração de glicose no sangue foi monitorada nos tempos: 15, 30, 60, 120, 360, 1440 e 2880 minutos. Este protocolo foi aprovado pela comissão de 15 bioética em experimentação animal do Centro de Ciências da Saúde (CCS) - UFRJ, sob o número de registro DFBCICB 038.

Os animais que receberam partículas vazias (sem insulina) não apresentaram variações significativas em suas glicemias. A comparação entre as glicemias médias do grupo 20 que recebeu insulina humana regular comercial (100 U/mL) e o grupo que recebeu partículas contendo insulina mostrou que estas glicemias diferiam de forma estatisticamente significativa nos tempos de 6h e 24h, indicando que a insulina liberada pelas partículas foi capaz de reduzir a 25 glicemia destes animais por um período superior à forma farmacêutica comercial.

Na Figura 4 são destacadas as primeiras horas do experimento. A fase inicial de declínio da glicemia se mostrou similar ao observado para insulina humana solúvel. 30 Por sua vez, foi notável que a preparação testada manteve a

glicemia dos animais mais baixa por período de tempo mais prolongado, havendo retorno da glicemia, mas ainda mantendo por até 48 h um patamar mais baixo que o grupo controle administrado com a formulação comercial (a avaliação farmacológica por tempo mais prolongado não se tornou possível neste protocolo experimental por necessidade de retornar a alimentação dos animais). As constantes cinéticas das duas fases de efeito glicêmico, de declínio e recuperação, se mostraram equivalentes ao observado para a liberação *in vitro* (Tabela acima) sugerindo uma forte correlação *in vitro* x *in vivo* para esta formulação.

Reivindicações

1. Sistema polimérico de confinamento de insulina caracterizado pelo fato de consistir em uma matriz polimérica, de liberação controlada e sustentada da
5 insulina diretamente no organismo.

2. Sistema polimérico de confinamento de insulina, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a matriz polimérica está na forma de nanopartículas e micropartículas.

10 3. Sistema polimérico de confinamento de insulina de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato da matriz polimérica consistir em um composto selecionado do grupo que consiste em poli- ϵ -caprolactona e ácido poli D,L- laticoglicólico.

15 4. Sistema polimérico de confinamento de insulina de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, caracterizado pelo fato de que apresenta um perfil bifásico de liberação de insulina.

20 5. Processo para a preparação do sistema polimérico de confinamento de insulina como definido na reivindicação 1, 2, 3 ou 4, caracterizado pelo fato de que consiste em um método de emulsificação e evaporação do solvente em que:

- primeiramente, 10 a 4.000 μ L de insulina humana regular e 0 a 1.000 μ L de álcool polivinílico (PVA) a 0,01
25 a 10 % p/v (fase aquosa interna - F.A.i.) são homogeneizados com 0 a 2.000 mg de poli- ϵ -caprolactona (PCL), dissolvidos em 0,01 a 20 mL de diclorometano - DCM (fase oleosa - F.O.), usando um misturador de cisalhamento a 1.000 a 50.000 rpm, formando a emulsão primária água em
30 óleo (A/O);

- a seguir, esta emulsão A/O é gotejada dispersa sobre fluxo de 0,1 a 50 mL / min, sobre 0,1 a 250 mL de PVA, de PVA a 0,01 a 20 % p/V, sob agitação branda entre 50 a 1.000 rpm com agitação magnética, formando a microemulsão água em 5 óleo em água (A/O/A);

- esta microemulsão é então submetida a vácuo (200 a 700 mmHg) a uma temperatura de 10 a 60 °C, para a remoção do DCM;

- a suspensão de partículas é lavada três vezes com 10 solução aquosa de PVA a uma concentração entre 0 e 20 % p/v, e posteriormente seca, ou usada imediatamente nos ensaios de liberação.

6. Processo de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato da insulina humana regular 15 consistir de insulina humana a 0,5 a 20 mg/mL, estabilizada com 0 a 30 mg/mL de metacresol ou fenol, 0 a 1 mg/mL de ZnCl₂, e 0 a 200 mg/mL de glicerol.

7. Processo de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que a velocidade de mistura na 20 primeira etapa do processo é de 18.000 a 22.000 rpm.

8. Uso de um sistema como definido na reivindicação 1, 2, 3 ou 4, caracterizado pelo fato de ser para a preparação de um medicamento para a terapia de reposição de isulina humana.

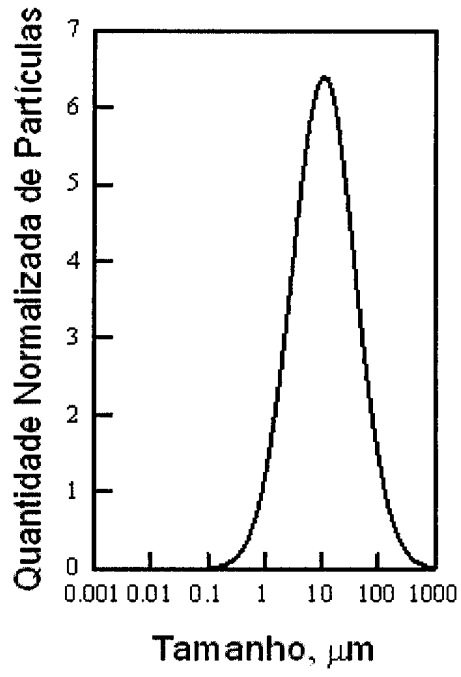
25 9. Uso de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o sistema é capaz de realizar liberação bifásica de insulina, sendo uma fase rápida e outra fase lenta.

30 10. Uso de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que a fase rápida ocorre 1 a 4 horas após

injeção subcutânea e a fase lenta apresenta um efeito farmacológico por ao menos 48h.

5

10



15

Figura 1

20

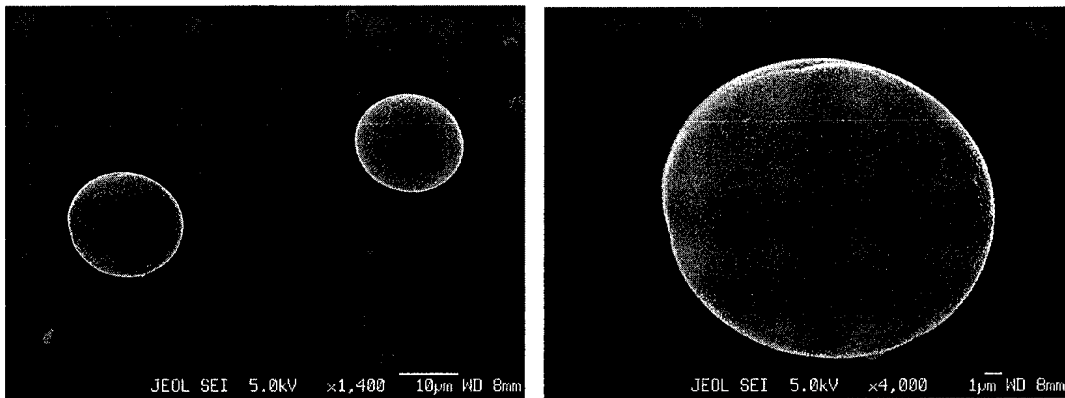
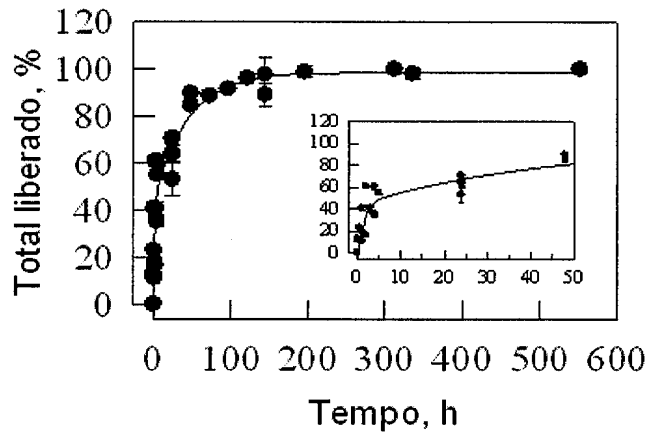
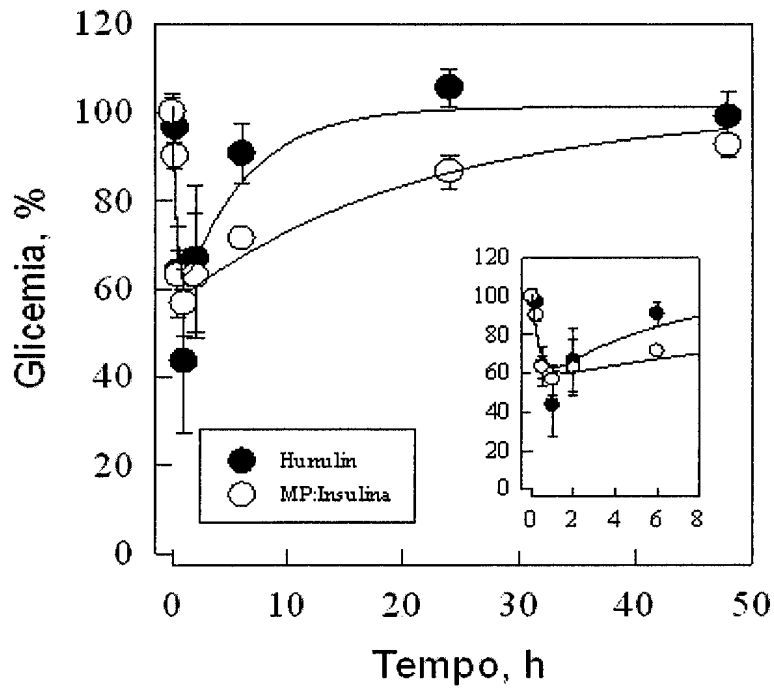


Figura 2



Tempo, h
Figura 3



Tempo, h
Figura 4

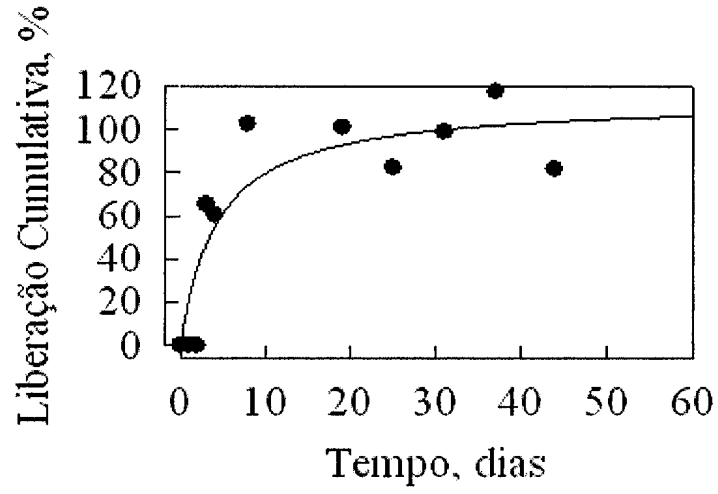


Figura 5

5
10

Resumo**SISTEMA POLIMÉRICO DE CONFINAMENTO DE INSULINA, PROCESSO E
USO DE DITO SISTEMA**

5 A presente invenção revela um sistema polimérico de
confinamento de insulina consistindo em uma matriz
polimérica, preferencialmente sob a forma de nanopartículas
e micropartículas, de liberação controlada e sustentada da
insulina diretamente no organismo, assim com seu uso para a
10 preparação de um medicamento para tratamento de diabetes. O
processo para a preparação desse sistema consiste em um
método de dupla emulsificação e evaporação do solvente.