



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 167 751**

⑤① Int. Cl.<sup>7</sup>: A61K 38/28  
A61K 47/10

⑫

TRADUCCION DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **97928123.5**  
⑧⑥ Fecha de presentación: **19.06.1997**  
⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **0 921 812**  
⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **16.06.1999**

⑤④ Título: **Preparaciones de insulina conteniendo un halogenuro.**

③⑩ Prioridad: **20.06.1996 DK 685/96**

④⑤ Fecha de la publicación de la mención BOPI:  
**16.05.2002**

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de patente:  
**16.05.2002**

⑦③ Titular/es: **Novo Nordisk A/S**  
**Novo Allé**  
**2880 Bagsvaerd, DK**

⑦② Inventor/es: **Norup, Elsebeth;**  
**Langkjaer, Liselotte y**  
**Havelund, Svend**

⑦④ Agente: **Tomás Gil, Tesifonte-Enrique**

**Aviso:** En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCION

Preparaciones de insulina conteniendo un halogenuro.

5 **Introducción**

La presente invención se refiere a preparaciones de insulina acuosas que incluyen insulina humana o un análogo o derivado de ésta, cuyas preparaciones tienen una estabilidad química superior. La invención también se refiere a formulaciones parenterales que incluyen este tipo de preparaciones de insulina y a un método para perfeccionar la estabilidad química de las preparaciones de insulina.

10 **Estado de la técnica**

15 Diabetes es un término general para trastornos en el hombre con una excreción excesiva de orina como en la diabetes mellitus y la diabetes insipidus. La diabetes mellitus es un desorden metabólico en el que la capacidad de utilizar la glucosa se ha perdido más o menos por completo. Sobre el 2% de toda la población padece diabetes.

20 Desde la introducción de la insulina en los años 1920, se han hecho continuos progresos para mejorar el tratamiento de la diabetes mellitus. Para ayudar a evitar los niveles extremos de glicemia, los pacientes diabéticos siguen normalmente una terapia de inyecciones múltiples, por la cual la insulina es administrada con cada comida.

25 En el tratamiento de la diabetes mellitus se han sugerido y usado muchas variedades de preparaciones de insulina, tales como la insulina regular, la insulina Semilente<sup>®</sup>, la insulina isofánica, suspensiones de insulinacinc, insulina protamínica-cinc e insulina Ultralente<sup>®</sup>. Como los pacientes diabéticos son tratados con insulina durante varias décadas, hay una mayor necesidad de proveer preparaciones de insulina que mejoren la salud y la calidad de vida. Algunas preparaciones de insulina comercialmente disponibles están caracterizadas por un rápido principio de acción y otras preparaciones tienen un principio de acción relativamente lento pero muestran una acción más o menos prolongada. Las preparaciones de insulina de acción rápida son normalmente soluciones de insulina, mientras que las preparaciones de insulina de acción retardada pueden ser suspensiones que contienen insulina de forma amorfa y/o cristalina precipitadas por adición de sales de cinc solo o por la adición de protamina o por una combinación de ambas. Además, algunos pacientes utilizan preparaciones que tienen tanto un principio de acción rápido como una acción más prolongada. Este tipo de preparación puede ser una solución de insulina donde los cristales de la insulina protamínica son suspendidos. Algunos pacientes preparan ellos mismos la preparación final mezclando una solución de insulina con una preparación de la suspensión en la proporción deseada por el paciente en cuestión.

40 La insulina humana consiste en dos cadenas polipeptídicas, las denominada cadenas A y B, que contienen 21 y 30 aminoácidos, respectivamente. Las cadenas A y B están interconectadas por dos puentes de disulfuro de cistina. La insulina de la mayoría de otras especies tiene una construcción similar, pero puede no contener los mismos aminoácidos en las posiciones correspondientes en las cadenas como en la insulina humana.

45 El desarrollo del proceso conocido como ingeniería genética ha hecho posible preparar fácilmente una gran variedad de compuestos de la insulina que son análogos de la insulina humana. En estos análogos de la insulina, uno o más de los aminoácidos han sido sustituidos con otros aminoácidos, que puede ser codificados por las secuencias de nucleótidos. Como la insulina humana, tal y como se ha explicado arriba, contiene 51 residuos aminoácidos, es obvio que es posible un gran número de análogos de insulina y, de hecho se ha preparado una gran variedad de análogos con propiedades interesantes. En las soluciones de insulina humana con una concentración de interés para las preparaciones inyectables, la molécula de la insulina está presente de forma asociada como un hexámero (Brange et al. Diabetes Care 13, (1990), 923-954). Después de la inyección subcutánea, se cree que el nivel de absorción por la corriente sanguínea depende del tamaño de la molécula, y se ha descubierto que los análogos de la insulina con sustituciones de aminoácidos que contrarrestan o inhiben esta formación del hexámero tienen un principio de acción rápido inusual (Brange et al.: Ibid). Esto es de un gran valor terapéutico para el paciente diabético.

60 Las preparaciones farmacéuticas que se basan en análogos de la insulina humana han sido presentadas p. ej. por Heinemann et al., Lutterman et al y Wiefels et al. en el "Frontiers in Insulin Pharmacology" Simposio Internacional de Hamburgo, 1992.

Además, US 5 474 978 expone una formulación parenteral de acción rápida que incluye un complejo

hexámero análogo de la insulina humana consistente en seis análogos de insulina monoméricos, iones de cinc y al menos tres moléculas de un derivado fenólico.

Normalmente, las preparaciones de insulina son administradas por inyección subcutánea. Lo importante para el paciente es el perfil de la acción de la preparación de insulina, que es la acción de la insulina sobre el metabolismo de la glucosa en función del tiempo desde la inyección. En este perfil son importantes, entre otras cosas, el tiempo para el principio, el valor máximo y la duración total de la acción. Los pacientes demandan una variedad de preparaciones de insulina con perfiles de acción diferentes. Un paciente puede, en el mismo día, usar preparaciones de insulina con perfiles de acción muy diferentes. El perfil de acción requerido depende, por ejemplo, de la hora del día y la cantidad y composición de cualquier comida ingerida por el paciente.

Igualmente importante para el paciente es la estabilidad química de las preparaciones de insulina, especialmente debido al abundante uso de dispositivos de inyección de tipo pluma tales como los dispositivos que contienen cartuchos de recambio de la pluma Penfill<sup>®</sup>, en los que una preparación de insulina está almacenada hasta que todo el cartucho esté vacío. Esta puede durar al menos 1 a 2 semanas para los dispositivos que contienen cartuchos de 1.5-3.0 ml, Durante el almacenamiento tiene lugar cambios químicos covalentes en la estructura de la insulina. Esto puede conducir a la formación de moléculas que son menos activas y potencialmente inmunogénicas tales como productos de la deamidificación y productos de transformación de peso molecular más alto (dímeros, polímeros, etc.). Un estudio exhaustivo sobre la estabilidad química de la insulina ha sido proporcionado por Jens Brange en "Stability of Insulin", Kluwer Academic Publishers, 1994.

Acta Pharmaceutica Nordica 4(4), 1992, pp. 149-158 describe preparaciones de insulina en las que la concentración del cloruro sódico ha sido variada en el margen de 0 a 250 mM. Sin embargo, la mayor parte de las preparaciones, incluyendo todas las preparaciones que adicionalmente comprenden glicerol, contiene una cantidad más bien alta de cloruro sódico, es decir 0.7% correspondiente aproximadamente a una concentración de 120 mM. Se ha declarado en este documento que mientras que el cloruro sódico generalmente tiene un efecto estabilizante sobre las preparaciones de insulina, el glicerol y la glucosa producen un aumento del deterioro químico. Sorprendentemente, sin embargo, se acaba de demostrar que se pueden obtener preparaciones de insulina de estabilidad química superior en presencia de glicerol y/o manitol y concentraciones más bien bajas de halogenuro.

### Descripción de la invención

Por "análogo de la insulina humana" tal y como se utiliza aquí se entiende aquella insulina humana en la que uno o más aminoácidos han sido cancelados y/o reemplazados por otros aminoácidos, incluyendo aminoácidos no codificables, o aquella insulina humana que incluye aminoácidos adicionales, es decir más de 51 aminoácidos.

Por "derivado de insulina humana" tal y como se utiliza aquí se entiende insulina humana o un análogo suyo donde al menos un sustituyente orgánico es ligado a uno o más de los aminoácidos.

En el presente contexto la unidad "U" corresponde a 6 nmol.

La presente invención se refiere a una preparación de insulina acuosa que incluye:

insulina humana, un análogo suyo y/o un derivado suyo, glicerol y/o manitol, y de 5 a 100 mM de un halogenuro.

La preparación de insulina indicada arriba tiene una alta estabilidad química, reflejada p. ej. en una reducción en la formación de dímeros y polímeros y desamido-insulinas tras el almacenamiento. Además, la estabilidad física no es deteriorada por la presencia de la cantidad más bien baja de halogenuro, y la insulina no precipita por el almacenamiento a largo plazo de las preparaciones de insulina.

El halogenuro es preferiblemente un halogenuro alcali o alcalinotérreo, más preferiblemente un cloruro como cloruro sódico.

El glicerol y/o manitol está preferiblemente presente en una cantidad correspondiente a una concentración de 100 a 250 mM, más preferiblemente 140 a 250 mM incluso más preferiblemente 160 a 200 mM.

La presente invención es particularmente ventajosa en relación a las preparaciones que incluyen

## ES 2 167 751 T3

análogos y/o derivados de la insulina humana. Así, la preparación de la insulina según la invención comprende preferiblemente uno o más análogos de acción rápida de la insulina humana, en particular análogos donde la posición B28 es Asp, Lys, Leu, Val o Ala y la posición B29 es Lys o Pro-, o insulina humana des(B28-B30), des(B27) o des(B30). El análogo de la insulina es preferiblemente seleccionado de aquellos análogos de la insulina humana en los que la posición B28 es Asp o Lys, y la posición B29 es Lys o Pro. Los análogos más preferidos son insulina humana Asp<sup>B28</sup> o insulina humana Lys<sup>B28</sup>Pro<sup>B29</sup>.

En esta forma de realización, la preparación de la insulina preferiblemente comprende 5 a 60 mM, más preferiblemente 5 a 40 mM, de un halogenuro.

En otra forma de realización la preparación de la insulina según la invención comprende un derivado insulínico que tiene un perfil prolongado de acción como las insulinas que tienen uno o más sustituyentes lipofílicos. Las insulinas lipofílicas preferidas son insulinas aciladas, que incluye aquellas descritas en WO 95/07931 (Novo Nordisk A/S), p. ej. derivados de insulina humana donde el grupo  $\epsilon$ -amino de Lys<sup>B29</sup> contiene un sustituyente acilo que comprende al menos 6 átomos de carbono.

Los derivados de insulina preferidos son los siguientes:

insulina humana B29-N <sup>$\epsilon$</sup> -miristoil-des(B30) insulina humana B29-N <sup>$\epsilon$</sup> -palmitoil-des(B30), insulina humana B29-N <sup>$\epsilon$</sup> -miristoil, insulina humana B29-N <sup>$\epsilon$</sup> -palmitoil, insulina humana B28-N <sup>$\epsilon$</sup> -miristoil Lys<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup>, insulina humana B28-N <sup>$\epsilon$</sup> -palmitoil Lys<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup>, insulina humana B30-N <sup>$\epsilon$</sup> -miristoil-Thr<sup>B29</sup>Lys<sup>B30</sup>, insulina humana B30-N <sup>$\epsilon$</sup> -palmitoil-Thr<sup>B29</sup>Lys<sup>B30</sup>, insulina humana B29-N <sup>$\epsilon$</sup> -(N-palmitoil- $\gamma$ -glutamil)-des(B30), insulina humana B29-N <sup>$\epsilon$</sup> -(N-litocolil- $\gamma$ -glutamil)des(B30) e insulina humana B29-N <sup>$\epsilon$</sup> -( $\omega$ -carboxiheptadecanoil)-des(B30), insulina humana B29-N <sup>$\epsilon$</sup> -( $\omega$ -carboxiheptadecanoil); siendo la más preferida la insulina humana B29-N <sup>$\epsilon$</sup> -miristoil-des(B30).

En esta forma de realización, la preparación de la insulina preferiblemente comprende 10 a 100 mM más preferiblemente 10 a 70 mM de un halogenuro.

En una forma de realización particular, la preparación de la insulina según la invención comprende un análogo de insulina así como un derivado insulínico.

En una forma de realización preferida según la invención la preparación de la insulina comprende:

60 a 3000 nmol/ml preferiblemente 240 a 1200 nmol/ml de insulina humana o análogo o derivado de insulina,

10 a 40  $\mu$ g Zn/100 U de insulina, preferiblemente 10 a 26  $\mu$ g Zn/100 U de insulina, y 0 a 5 mg/ml, preferiblemente 0 a 4 mg/ml, de un compuesto fenólico.

Como compuesto fenólico se emplea ventajosamente 0.5 a 4.0 mg/ml, preferiblemente 0,6 a 4.0 mg/ml de m-cresol o 0.5 a 4.0 mg/ml preferiblemente 1.4 a 4.0 mg/ml, de fenol, o una mezcla de éstos.

La preparación de insulina de la presente invención puede además contener otros ingredientes comunes a las preparaciones de insulina, por ejemplo agentes complejantes del cinc como tampones de citrato y fosfato.

La presente invención se refiere también a una formulación farmacéutica parenteral que incluye una preparación de insulina según la invención.

Además, la presente Invención se refiere a un método para perfeccionar la estabilidad química de una preparación de insulina que incluye insulina humana o un análogo o un derivado de ésta, método que comprende la adición de glicerol y/o manitol y 5 a 100 mM de un halogenuro a dicha preparación.

La invención es ilustrada además por los ejemplos siguientes.

### Ejemplo I

Se prepararon soluciones conteniendo 100 U/ml de insulina humana Asp<sup>B28</sup>, 2.6 mg/ml de fenol, 16 mg/ml de glicerol y cantidades variables de Zn y cloruro sódico, El pH fue variado en el margen de 7.2 a 7.5. Los datos sobre la estabilidad después de 4 semanas a 37°C están presentados en la siguiente Tabla 1.

# ES 2 167 751 T3

TABLA 1

$\mu\text{Zn}/100\text{U}$ insulina	NaCl (mM)	pH	Desamido-insulinas formadas Asp <sup>B28</sup> (%)	Di- y polímeros formados (%)
13,1	0	7,2	3,44	1,35
		7,5	3,57	1,36
	5	7,2	3,48	1,53
		7,5	3,31	1,49
	20	7,2	2,54	1,72
		7,5	2,47	1,26
16,3	0	7,2	3,35	1,44
		7,4	3,41	1,46
	5	7,2	1,74	0,95
		7,5	2,58	1,38
	20	7,2	1,91	1,05
		7,5	2,00	1,31
19,6	0	7,2	3,07	1,57
		7,5	2,85	1,80
	5	7,2	2,71	1,36
		7,5	2,24	1,46
	20	7,2	1,56	1,15
		7,5	1,68	1,13
22,8	0	7,2	2,71	2,52
		7,5	2,34	1,45
	5	7,2	2,18	1,95
		7,5	1,90	1,19
	20	7,2	1,51	1,05
		7,5	1,46	1,09

## ES 2 167 751 T3

### Ejemplo II

Se prepararon preparaciones de insulina conteniendo insulina humana Asp<sup>B28</sup> disuelta con concentraciones variables de cloruro sódico de la siguiente manera:

5 370.4 mg de insulina humana Asp<sup>B28</sup> fue disuelta en agua añadiendo 1.6 ml de 0.2 N HCl y 49  $\mu$ l de solución de cloruro de zinc (40 mg Zn/ml). A la solución de insulina se le añadió 40 g de una solución conteniendo 40 mg/ml de glicerol, 3.75 mg/g de fenol y 4.30 mg/g de m-cresol mientras se mezclaba. Se le añadió 20 g de una solución conteniendo a) 12.0 mg/g de dihidrato de fosfato disódico + 5  $\mu$ l/g 2 N de hidróxido de sodio, b) 12.0 mg/g de dihidrato de fosfato disódico + 5  $\mu$ l/g 2 N de hidróxido de sodio + 5 mg/g de cloruro sódico o c) 12.0 mg/g de dihidrato de fosfato disódico + 5  $\mu$ l/g. 2 N de hidróxido de sodio + 10 mg/g de cloruro sódico mientras se mezclaba. El pH fue ajustado a pH 7,40  $\pm$  0.05 y se añadió agua hasta 100 ml. Las Preparaciones de insulina humana Asp<sup>B28</sup> fueron introducidas en cartuchos Penfill<sup>®</sup> y sometidas a ensayos de estabilidad a 25°C y 37°C. Los datos sobre la estabilidad obtenidos en las dos 15 temperaturas diferentes y a una concentración de fosfato de 13.5 mM, 19.6  $\mu$ g Zn/100 U insulina y pH = 7.4 están resumidos en la Tabla 2.

TABLA 2

NaCl añadido (mM)	Total conc. de Cl <sup>-</sup> (mM)	Des-amido-insulinas Asp <sup>B29</sup> formadas (%)	Di- y polímeros formados (%)
Datos después de 8 semanas a 37°C			
0	4,4	7,0	1,86
17	20,8	4,2	1,29
34	37,8	3,5	1,07
Datos después de 8 meses a 25°C			
0	4,4	6,4	1,0
17	20,8	4,1	0,8
34	37,8	3,7	0,8

### Ejemplo III

Se prepararon preparaciones de insulina conteniendo insulina humana Asp<sup>B28</sup> disuelta con concentraciones variables de cloruro sódico de la siguiente manera:

50 369.4 mg de insulina humana Asp<sup>B28</sup> fue disuelta en agua añadiendo 1.6 ml 0.2 N HCl y 49  $\mu$ l de solución de cloruro de cinc (40 mg Zn/ml). Se le añadió a la solución 40 g de una solución conteniendo 40 mg/g de glicerol, 3.75 mg/g de fenol y 4.30 mg/g de m-cresol mientras se mezclaba. Se le añadió 10 g de una solución conteniendo 24.0 mg/g de dihidrato de fosfato disódico y 11  $\mu$ l/g 2 N de hidróxido de sodio mientras se mezclaba. Por último se añadieron cantidades variadas (0 g a 4.38 g) de una solución conteniendo 40 mg/g de cloruro sódico mientras se mezclaba hasta una concentración de cloruro sódico mencionado en la Tabla 4. El pH fue ajustado a 7.40  $\pm$  0.05 y se añadió agua hasta 100 ml. Las preparaciones de insulina humana Asp<sup>B28</sup> fueron introducidas en cartuchos Penfill<sup>®</sup> y sometidas a ensayos de estabilidad a 25°C y 37°C. Los datos sobre la estabilidad obtenidos en las dos temperaturas 60 diferentes y a una concentración de fosfato de 13.5 mM están resumidos en la Tabla 3.

## ES 2 167 751 T3

TABLA 3

NaCl añadido (mM)	Total conc. de Cl <sup>-</sup> (mM)	Des-amido-insulinas Asp <sup>B29</sup> formadas (%)	Di- y polímeros formados (%)
Datos sobre la estabilidad después de 8 semanas a 37°C			
5	8,5	4,1	0,99
12,5	16,3	3,6	0,92
20	23,8	3,0	0,87
25	28,8	3,0	0,82
30	33,8	2,8	0,80
Datos sobre la estabilidad después de 12 semanas a 25°C			
0	3,8	2,7	0,36
5	8,5	2,3	0,32
12,5	16,3	1,8	0,39
20	23,8	1,7	0,39
25	28,8	1,8	0,38
30	33,8	1,7	0,38

### Ejemplo IV

Se prepararon preparaciones de insulina conteniendo insulina humana Asp<sup>B28</sup> disuelta con concentración variable de fosfato y cloruro sódico de la siguiente manera:

375.7 mg de insulina humana Asp<sup>B28</sup> fue disuelta en agua añadiendo 1.6 ml de 0.2 N HCl y 49  $\mu$ l de solución de cloruro de cinc (40 mg Zn/ml). Se le añadió a la solución 20 g de una solución conteniendo 80 mg/g de glicerol, 7.50 mg/g de fenol y 8.60 mg/g de m-cresol mientras se mezclaba. Se añadieron cantidades variables (3.71 g a 6.71 g) de una solución conteniendo 24.0 mg/g de dihidrato de fosfato disódico y 11  $\mu$ l/g 2 N hidróxido de sodio mientras se mezclaba y por último se añadieron cantidades variables (0 g a 3.65 g) de una solución conteniendo 40 mg/g de cloruro sódico mientras se mezclaba para obtener una concentración del cloruro sódico mencionado en la tabla 6. El pH fue ajustado a pH 7.40 $\pm$ 0.05 y se añadió agua hasta 100 ml. Las preparaciones de insulina humana Asp<sup>B28</sup> fueron introducidas en cartuchos Penfill<sup>®</sup> y sometidas a ensayos de estabilidad a 25°C y 37°C, Los datos sobre la estabilidad en las dos temperaturas diferentes y tres concentraciones de fosfato diferentes y a 19.6  $\mu$ g Zn/100 U de insulina y pH = 7.4 están resumidos en las Tablas 4, 5 y 6.

60

# ES 2 167 751 T3

TABLA 4

NaCl añadido (mM)	Total conc. de Cl <sup>-</sup> (mM)	Fosfato conc. (mM)	Des-amido-insulinas Asp <sup>B29</sup> formadas (%)	Di- y polímeros formados (%)
Datos sobre la estabilidad después de 6 semanas a 37°C				
0	3,8	5	4,7	1,4
5	8,8	5	3,7	1,3
10	13,8	5	3,4	1,2
15	18,8	5	3,1	1,1
20	23,8	5	2,7	1,1
25	28,8	5	3,0	0,9
Datos sobre la estabilidad después de 12 semanas a 25°C				
0	3,8	5	2,2	0,5
5	8,8	5	1,7	0,4
10	13,8	5	1,5	0,4
15	18,8	5	1,4	0,4
20	23,8	5	1,3	0,4
25	28,8	5	1,3	0,4

(Ver Tabla 5 en la página siguiente)



# ES 2 167 751 T3

TABLA 5

NaCl añadido (mM)	Total conc. de Cl <sup>-</sup> (mM)	Fosfato conc. (mM)	Des-amido-insulinas Asp <sup>B29</sup> formadas (%)	Di- y polímeros formados (%)
Datos después de 6 semanas a 37°C				
0	3,8	7	4,3	1,2
5	8,8	7	3,6	1,2
10	13,8	7	3,1	1,1
15	18,8	7	3,1	1,0
20	23,8	7	2,9	1,0
25	28,8	7	2,8	1,1
Datos después de 12 semanas a 25°C				
0	3,8	7	2,0	0,5
5	8,8	7	1,7	0,4
10	13,8	7	1,4	0,4
15	18,8	7	1,5	0,4
20	23,8	7	1,4	0,4
25	28,8	7	1,3	0,4

(Ver Tabla 6 en la página siguiente)

# ES 2 167 751 T3

TABLA 6

NaCl añadido (mM)	Total conc. de Cl <sup>-</sup> (mM)	Fosfato conc. (mM)	Des-amido-insulinas Asp <sup>B29</sup> formadas (%)	Di- y polímeros formados (%)
Datos después de 6 semanas a 37°C				
0	3,8	9	4,9	1,2
5	8,8	9	4,0	1,1
10	13,8	9	3,7	1,0
15	18,8	9	3,5	1,0
20	23,8	9	3,5	1,0
25	28,8	9	3,1	0,9
Datos después de 12 semanas a 25°C				
0	3,8	9	n. d.	0,4
5	8,8	9	1,8	0,4
10	13,8	9	1,5	0,4
15	18,8	9	1,5	0,4
20	23,8	9	1,6	0,4
25	28,8	9	1,4	0,4

## Ejemplo V

Se prepararon soluciones conteniendo 0.6 mM de insulina humana B29-N<sup>e</sup>-miristoil-des(B30), 1.5 ó 4.0 mg/ml de fenol, 5 mM de fosfato sódico, 13.1 µg/ml de Zn, y cantidades variables de cloruro sódico y manitol. El pH fue ajustado a 7.4. Los datos sobre la estabilidad (formación de dímeros y polímeros) después del almacenamiento a 25°C durante 13 semanas o 37°C durante 8 semanas están indicados en la siguiente tabla 7.

# ES 2 167 751 T3

TABLA 7

NaCl (mM)	Manitol (mg/ml)	Fenol 1.5 mg/ml	Fenol 4.0 mg/ml
		Di- y polímeros (%) formados después de 8 semanas a 37°C	
20	31	0,77	0,77
50	22	0,71	0,71
75	13	0,65	0,70
100	5	0,66	0,68
		Di- y polímeros (%) formados después de 13 semanas a 25°C	
20	31	0,40	0,42
50	22	0,35	0,37
75	13	0,34	0,39
100	5	0,31	0,37

## Ejemplo VI

Se prepararon soluciones conteniendo 0.6 mM de insulina humana B29-N<sup>c</sup>-miristoil des(B30), 1.5 mg/ml de fenol y 1.72 mg/ml de m-cresol, 16 mg/ml de glicerol o 36 mg/ml de manitol, 13.1 µg/ml de Zn, 7 mM de fosfato sódico y cantidades variables de cloruro sódico. El pH fue ajustado a 7.5. Los datos sobre la estabilidad (formación de dímeros y polímeros) después del almacenamiento a 25°C durante 13 semanas o 37°C durante 8 semanas son presentados en la siguiente tabla 8.

TABLA 8

NaCl (mM)	Glicerol 16 mg/ml	Manitol 36 mg/ml
	Di- y polímeros (%) formado después de 8 semanas a 37°C	
5	2,55	2,28
10	2,25	1,90
20	1,82	1,61
30	1,83	n.d.
40	1,78	1,56
50	1,68	n.d.

# ES 2 167 751 T3

TABLA 8 (continuación)

	NaCl (mM)	Glicerol 16 mg/ml	Manitol 36 mg/ml
5		Di- y polímeros formados después de 13 semanas a 25°C	
10	5	1,08	1,05
	10	0,98	0,84
15	20	0,80	0,71
	30	0,80	n.d.
20	40	0,79	0,70
	50	0,72	n.d.

25

30

35

40

45

50

55

60

## REIVINDICACIONES

1. Preparación de insulina acuosa que incluye:

5 insulina humana,  
un análogo suyo y/o un derivado suyo,  
glicerol y/o manitol, y  
10 5 a 100 mM de un halogenuro

2. Preparación de insulina según la reivindicación 1, donde el halogenuro es un halogenuro alcali o alcalinotérreo, preferiblemente un cloruro, más preferiblemente cloruro sódico.

3. Preparación de insulina según la reivindicación 1 ó 2, que incluye:

15 100 a 250 mM preferiblemente 140 a 250 mM, más preferiblemente 160 a 200 mM de glicerol y/o manitol

4. Preparación de insulina según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que incluye un análogo de insulina humana donde la posición B28 es Asp, Lys, Leu, Val o Ala y la posición B29 es Lys o Pro; o  
20 insulina humana des(B28-B30), des(B27) o des(B30).

5. Preparación de insulina según la reivindicación 4, que incluye un análogo de insulina humana donde la posición B28 es Asp o Lys, y la posición B29 es Lys o Pro, preferiblemente insulina humana Asp<sup>B28</sup> o  
25 insulina humana Lys<sup>B28</sup>Pro<sup>B29</sup>.

6. Preparación de insulina según la reivindicación 4, que incluye insulina humana des(B30).

7. Preparación de insulina según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que incluye 5 a 60  
30 mM, preferiblemente 5 a 40 mM de un halogenuro.

8. Preparación de insulina según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que incluye un derivado de insulina humana que tiene uno o más sustituyentes lipofílicos, preferiblemente una insulina acilada.

9. Preparación de insulina según la reivindicación 8, donde el derivado de insulina es seleccionado  
35 del grupo consistente en insulina humana B29-N<sup>ε</sup>-miristoil-des(B30), insulina humana B29-N<sup>ε</sup>-pamitoil-des(B30), insulina humana B29-N<sup>ε</sup>-miristoil, insulina humana B29-N<sup>ε</sup>-palmitoil, insulina humana B28-N<sup>ε</sup>-miristoil Lys<sup>B28</sup>Pro<sup>B29</sup>, insulina humana B28-N<sup>ε</sup>-palmitoil Lys<sup>B28</sup>Pro<sup>B29</sup>, insulina humana B30-N<sup>ε</sup>-miristoil-Thr<sup>B29</sup>Lys<sup>B30</sup>, insulina humana B30-N<sup>ε</sup>-palmitoil-Thr<sup>B29</sup>Lys<sup>B30</sup>, insulina humana B29-N<sup>ε</sup>-(N-palmitoil-γ-glutamil)-des(B30), insulina humana B29-N<sup>ε</sup>-(N-litocolil-γ-glutamil)des(B30) e insulina hu-  
40 mana B29-N<sup>ε</sup>-(ω-carboxiheptadecanoil)-des(B30), insulina humana B29-N<sup>ε</sup>-(ω-carboxiheptadecanoil).

10. Preparación de insulina según la reivindicación 9, donde el derivado de insulina es insulina humana B29-N<sup>ε</sup>-miristoil-des(B30).

45 11. Preparación de insulina según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, que incluye 10 a 100 mM, preferiblemente 10 a 70 mM, de un halogenuro.

12. Preparación de insulina según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que incluye un análogo de insulina así como un derivado de insulina.  
50

13. Preparación de insulina según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que incluye:

60 a 3000 nmol/ml, preferiblemente 240 a 1200 nmol/ml de insulina humana, análogo de insulina o derivado de insulina.  
55

14. Preparación de insulina según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que incluye:

10 a 40 μg de Zn/100 U insulina, preferiblemente 10 a 26 μg de Zn/100 U insulina.

60 15. Preparación de insulina según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que incluye:

0 a 5 mg/ml, preferiblemente 0 a 4 mg/ml, de un compuesto fenólico.

## ES 2 167 751 T3

16. Preparación de insulina según la reivindicación 15, que incluye:

0.5 a 4.0 mg/ml, preferiblemente 0.6 a 4.0 mg/ml, de m-cresol o 0.5 a 4.0 mg/ml, preferiblemente 1.4 a 4.0 mg/ml, de fenol, o una mezcla de éstos.

5

17. Formulación farmacéutica parenteral que incluye una preparación de insulina según cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

18. Método para perfeccionar la estabilidad química de una preparación de insulina que incluye insulina humana o un análogo o un derivado de ésta, método que comprende la adición de glicerol y/o manitol y 5 a 100 mM de un halogenuro a dicha preparación

15

20

25

30

35

40

45

50

---

**NOTA INFORMATIVA:** Conforme a la reserva del art. 167.2 del Convenio de Patentes Europeas (CPE) y a la Disposición Transitoria del RD 2424/1986, de 10 de octubre, relativo a la aplicación del Convenio de Patente Europea, las patentes europeas que designen a España y solicitadas antes del 7-10-1992, no producirán ningún efecto en España en la medida en que confieran protección a productos químicos y farmacéuticos como tales.

55

60

Esta información no prejuzga que la patente esté o no incluida en la mencionada reserva.

---