



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 360 182**

51 Int. Cl.:  
**C07K 14/62** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03722301 .3**

96 Fecha de presentación : **02.05.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1506230**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.02.2005**

54 Título: **Formulaciones solubles que comprenden insulina monomérica e insulina acilada.**

30 Prioridad: **07.05.2002 DK 2002 00683**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.06.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.06.2011**

73 Titular/es: **NOVO NORDISK A/S**  
**Novo Allé**  
**2880 Bagsvård, DK**

72 Inventor/es: **Langkjaer, Liselotte**

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

ES 2 360 182 T3

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).

## DESCRIPCIÓN

Formulaciones solubles que comprenden insulina monomérica e insulina acilada.

### 5 **Introducción**

Esta invención se refiere a una fórmula farmacéutica con estabilidad física mejorada que es una mezcla de un análogo de insulina acilado soluble y una insulina monomérica o insulina humana, preferiblemente para ser utilizado en un sistema de infusión. Más específicamente la invención se refiere a una formulación farmacéutica soluble que comprende insulina detemir e insulina aspart.

El objetivo de esta invención es superar o mejorar al menos algunas de las desventajas de la técnica anterior. Por lo tanto, los objetos más específicos mencionados abajo se consiguen más o menos.

### 15 **Antecedentes de esta invención**

Diabetes es un término general para trastornos en el hombre que tiene demasiada excreción de orina como en diabetes mellitus y diabetes insípida. La diabetes mellitus es un trastorno metabólico en el que la capacidad para utilizar glucosa se pierde parcial o completamente. Aproximadamente el 5% de las personas padece diabetes.

Desde la introducción de la insulina en los años 20, se han llevado a cabo continuos progresos para mejorar el tratamiento de la diabetes mellitus. Para ayudar a evitar niveles de glicemia extremos, los pacientes diabéticos practican frecuentemente terapias de inyección múltiple diaria, con la cual se administra la insulina monomérica con cada comida y la insulina de acción intermedia o adiada se administra una o dos veces diarias para cubrir la necesidad basal.

En el tratamiento de la diabetes mellitus, muchas variedades de formulaciones de insulina han sido usadas y sugeridas, tales como la insulina regular, insulina isofánica (designada NPH), suspensiones de insulina zinc (tales como Semilente<sup>®</sup>, Lente<sup>®</sup>, y Ultralente<sup>®</sup>), y bifásica isofánica. Como los pacientes diabéticos se tratan con insulina durante muchas décadas, es más necesario crear unas formulaciones de insulina que mejoran una buena calidad de vida y seguridad. Algunas de las formulaciones de insulina comerciales disponibles se caracterizan por lograr un comienzo rápido y otras formulaciones tienen un comienzo relativamente lento pero muestran una acción más o menos prolongada. Las formulaciones de insulina de acción rápida son normalmente soluciones de insulina, mientras que la insulina de acción pueden ser suspensiones que contienen insulina en forma cristalina y/o amorfa precipitado por la adición de sales de zinc solas o por la adición de protamina o por la combinación de ambas. Además, algunos pacientes están utilizando formulaciones que tienen la acción de comienzo rápida y una acción más prolongada. Tal formulación puede ser una solución de insulina donde los cristales de insulina de protamina se suspenden. Algunos pacientes preparan ellos mismos su formulación final mezclando una solución de insulina con una formulación de suspensión de insulina en el radio deseado por el paciente en cuestión.

La insulina humana consiste en dos cadenas de polipéptido, llamadas cadenas A y B que contienen 21 y 30 residuos de aminoácidos, respectivamente. Las cadenas A y B se interconectan por dos puentes de disulfuro de cistina. La mayoría de las insulinas de otros tipos tienen una construcción similar, pero pueden no contener el mismo residuo de aminoácido en la misma posición.

El desarrollo del proceso conocido como ingeniería genética ha conseguido preparar una mayor variedad de compuestos de insulina análogos a la insulina humana. En estos análogos de insulina, uno o más de los aminoácidos han sido sustituidos con otros aminoácidos que pueden estar codificados por las secuencias de nucleótidos.

Normalmente, las formulaciones de insulina se administran por inyección subcutánea. Lo que es importante para el paciente, es el perfil de acción de la formulación de insulina que es la acción de insulina en el metabolismo de glucosa como función del tiempo de la inyección. En este perfil, entre otras cosas, el tiempo que tarda en comenzar, el valor máximo, y la duración total de acción son importantes. Los pacientes desean y solicitan una variedad de formulaciones de insulina con perfiles de acción diferentes. Un paciente puede, en el mismo día, utilizar formulaciones de insulina con perfiles de acción muy diferentes. El perfil de acción solicitado depende, por ejemplo, de la hora del día y la cantidad y composición de cualquier comida ingerida por el paciente.

Las formulaciones de insulina estables son particularmente requeridas para ser utilizadas en dispositivos de entrega que exponen a estos agentes a temperaturas elevadas y/o tensión mecánica. Por ejemplo, las formulaciones de insulina estables son requeridas para ser utilizadas en sistemas de infusión continuos y dispositivos de administración de tipo lapicero.

Hay una necesidad de encontrar nuevas maneras de estabilizar dado que el estabilizador, Genapol<sup>®</sup> (poloxamero 171), que durante un largo periodo de tiempo ha sido utilizado para estabilizar la insulina humana para bombas, puede tener algunos efectos indeseados (véase Diabetes Metab. 26 (2000), 304-306).

En sistemas de infusión continuos, un fluido que contiene una formulación de insulina se bombea de un depósito, normalmente a un depósito subcutáneo intravenoso o a un depósito intraperitoneal. El depósito, que debe ser

## ES 2 360 182 T3

intercambiado o rellenado periódicamente, se fija al cuerpo del paciente, o se implanta en el cuerpo del paciente. En cualquier caso, el calor del cuerpo del paciente y el movimiento del cuerpo, además de las turbulencias en la tubería y bomba imparten una cantidad relativamente alta de energía termomecánica a la formulación. En cuando a minimizar la frecuencia con la que el depósito se rellena, y minimizar el tamaño del depósito, las formulaciones que tienen una concentración relativamente alta de insulina son altamente ventajosas. Es deseable tener formulaciones de insulina que sean estables durante al menos un mes bajo condiciones estresantes en el uso.

Las formulaciones de insulina a utilizar en sistemas de infusión continuos deben permanecer solubles y sustancialmente libres de agregaciones, a pesar de que están sometido al calor del cuerpo del paciente y al movimiento durante períodos que varían entre unos días y unos meses. La inestabilidad se promueve por la tensión termomecánica a lo que formulaciones se exponen en sistemas de infusión continuos. Por lo tanto, las mejoras en la estabilidad física de las formulaciones de insulina concentradas es instantáneamente necesaria para permitir usarla con éxito en sistemas de infusión continuos.

Ya es algo habitual usar insulinas monoméricas en bombas. No obstante, comparado con la insulina humana, las insulinas monoméricas tienen una tendencia aumentada para formar fibrillas insolubles.

Entre otros, hay dos problemas mayores en relación al uso de formulaciones de insulina en un sistema de infusión continua:

1. Debido a la fibrilación del componente de insulina, el catéter se puede atascar, y
2. Hay un riesgo de desarrollo rápido de cetoacidosis que puede ser fatal. La cetoacidosis puede causar discontinuación de entrega de insulina, por ejemplo debido a la fibrilación, fallo en la bomba, o que el paciente se olvide de volver a aplicar la bomba tras desconectarla.

Según la US 4,476,118, las soluciones farmacéuticas de insulina disuelta con estabilidad mejorada física puede prepararse usando sales de zinc ionizadas. Estas soluciones están particularmente adaptadas para ser utilizadas en un equipamiento de entrega de insulina continua.

Según la US 4,472,385, las soluciones farmacéuticas de insulina disuelta con una estabilidad física mejorada particularmente adaptada para ser utilizada en equipamiento de entrega de insulina continua se pueden dar utilizando un calcio o sal magnésica.

Según la US 4,614,730, las soluciones de insulina se pueden estabilizar usando un fosfolípido.

Según la US 5,866,538, las formulaciones de insulina de estabilidad química superior se pueden obtener en presencia de glicerol y/o manitol y concentraciones más bien bajas de halogenuro.

Según la reivindicación 1, EP 712,861 A2 se refiere a una insulina monoacilada análoga con una fórmula específica que consiste en dos listas de secuencia. Según la página 7, líneas 13-15, dichos análogos adiadados pueden también ser formulados como mezclas, por ejemplo, en la proporción 1:99 a 99:1. Otra patente de la misma familia de patentes que la última aplicación mencionada es la US 5,922,675.

Según Vague *et al.* [(2003), Vol. 26(3), págs. 590-596], la insulina detemir de la publicación es una insulina soluble basal asociada a controles alucémicos más previsible y un mecanismo único de acción extendida diseñada para reducir la variabilidad asociada a las insulinas convencionales basales.

Un objeto de esta invención es proporcionar formulaciones de insulina especialmente adecuadas para su uso en un sistema de infusión.

Otro objeto de esta invención es de proporcionar formulaciones de insulina con mayor estabilidad física a largo plazo cuando esté expuesto a una entrada alta de energía mecánica.

Otro objeto de esta invención es proporcionar formulaciones de insulina con una estabilidad física superior a largo plazo cuando esté expuesta a temperaturas altas.

Otro objeto de esta invención es proporcionar formulaciones de insulina con una estabilidad física superior a largo plazo cuando esté expuesta a altas temperaturas y entrada de energía mecánica.

Otro objeto de esta invención es de proporcionar formulaciones de insulina con una baja tendencia de fibrilación.

Otro objeto de esta invención es de proporcionar formulaciones de insulina con un perfil de acción adecuado.

Otro objeto de esta invención es de proporcionar formulaciones de insulina con una aparición rápida de acción y también una acción retardada.

Otro objeto de esta invención es proporcionar formulaciones de insulina con nada o sólo una cantidad menor de material no disuelto.

## Definiciones

El término “aminoácido” como se utiliza en este caso, se refiere a aminoácidos que se pueden codificar para por secuencias de nucleótidos. Análogamente, esto se aplica al término residuo de aminoácido que es un aminoácido donde el hidroxilo ha sido quitado de un grupo carboxilo y/o el hidrógeno ha sido quitado de un grupo amino. De forma similar, un péptido y un residuo péptido consiste en residuos de aminoácidos.

El término “insulina humana análoga”, como se utiliza en este caso, se refiere a insulina humana donde uno o más de los residuos de aminoácidos han sido intercambiados por otros residuo de aminoácido y/o donde uno o más residuo/s de aminoácido/s han sido eliminado/s y/o donde uno o más residuo/s de aminoácido ha sido adicionado/s. Estos análogos de insulina humana tienen una actividad contra la diabetes suficientemente alta para ser usados para tratar pacientes diabéticos.

El término insulina detemir es Lys<sup>B29</sup> (NM<sup>ε</sup>-tetradecanoilo) des(B30) insulina humana.

El término insulina aspart es insulina humana Asp<sup>B28</sup>.

La insulina significa insulina humana, insulina detemir e insulina aspart.

El término “sistema de infusión”, cuando se usa aquí, se refiere a un dispositivo para administrar continuamente un fluido a un paciente parenteralmente durante un largo periodo de tiempo o para administrar intermitentemente un fluido a un paciente parenteralmente sobre un periodo temporal extendido sin tener que establecer un sitio nuevo de administración cada vez que el fluido es administrado. El fluido contiene un compuesto con actividad insulínica. El dispositivo comprende un depósito para almacenar el fluido antes de ser infundido, una bomba, un catéter, u otra tubería para la conexión del depósito al sitio de administración a través de la bomba, y elementos de control para regular la bomba. El dispositivo se puede construir para ser implantado, normalmente en el peritoneo. En tal caso, el depósito de insulina usualmente será adaptado para un abastecimiento percutáneo. Obviamente, cuando el dispositivo sea implantado, el contenido del depósito estará a temperatura corporal, y sujeto al movimiento del cuerpo del paciente.

El término “fibrilación”, cuando se usa aquí, se refiere a un proceso físico por lo que las moléculas de insulina parcialmente desplegada interactúan entre sí para formar agregados insolubles lineales. Bajo la influencia de calor y exposición a superficies hidrofóbicas, la insulina sufre cambios conformacionales, dando como resultado, una agregación sucesiva lineal y la formación de un gel viscoso o precipitados insolubles. El grado de fibrilación se puede determinar como se describe en la prueba de tensión de abajo. Una explicación más detallada se da en J. Pharm. Science. 86 (1997), 517-525, que se incorpora por referencia.

El término “U”, cuando se usa aquí, se refiere a unidades de insulina. La mayor parte de insulinas habitualmente usadas (comercializadas), (bovino porcino, humano, lispro, aspart, y glargina) tienen una fuerza de una unidad que iguala 6 nmol. Insulinas adiadas de larga duración han reducido fuerza en comparación con insulina humana. Así, para insulina detemir una unidad corresponde a 24 nmol. Para otras insulinas, la relación entre U y nmol puede ser determinada, si no conocido ya, por ejemplo, por determinar la cantidad dando un efecto similar farmacológico (glucosa en sangre disminuyendo) como aquella de insulina humana.

El contenido de zinc se expresa por insulina de hexámero como un valor teórico, es decir, como el número de átomos de zinc por 6 moléculas de insulina de monómero, independientemente de si toda la insulina de hexámero en realidad está presente como insulina de hexámero o no.

## Descripción de esta invención

Esta invención se refiere a una fórmula farmacéutica con estabilidad física mejorada como se describe en la reivindicación 1, por abajo, preferiblemente para el uso en un sistema de infusión. Más específicamente la invención se refiere a una formulación farmacéutica soluble que comprende insulina detemir e insulina aspart. Sorprendentemente, se ha encontrado que tales formulaciones tienen una estabilidad sustancialmente mejorada, por ejemplo, cuando está expuesta a tensión física. Por ejemplo, las formulaciones de esta invención tienen una baja tendencia a la fibrilación. Las formulaciones de esta invención no contienen o contienen sólo una cantidad menor de material no disuelto. Además, dichas formulaciones dan tanto un comienzo de acción rápido como también una acción retardada. Además de esto, dichas formulaciones tienen perfiles adecuados de acción.

El uso de la formulación de esta invención reduce el riesgo de cetoacidosis desde, a diferencia de los tratamientos de insulina usual a través de una bomba, que el paciente obtiene una cantidad de una insulina de larga duración, es decir, una insulina acilada.

Una forma de realización de la presente invención se refiere a una formulación farmacéutica soluble que comprende insulina detemir e insulina aspart donde el límite inferior de la proporción molar entre insulina detemir e insulina aspart es de 7:93, preferiblemente de 11:89, más preferiblemente de 14:86, y el límite superior de la proporción molar entre

## ES 2 360 182 T3

insulina detemir e insulina aspart es de 57:43, preferiblemente 41:59, más preferiblemente 31:69, preferiblemente 24:76 e incluso más preferiblemente 20:80, donde el valor del pH está en la gama de entre 7 a 8, donde la concentración de la cantidad total de insulina está en la gama siendo el límite más bajo 10 U/ml y el límite máximo 1500 U/ml, donde conservante estando fenol, m-cresol o una mezcla de fenol y m-cresol presente, y donde los iones de zinc están a disposición de la insulina (es decir, de la insulina detemir e insulina aspart) en proporciones que variarán entre 2.3 y 4.5  $Zn^{2+}$  por hexámero de insulina.

En una forma de realización preferida de esta invención, la formulación es adecuado para ser utilizada en una bomba de infusión continua. Por lo tanto, en un aspecto, la presente invención se refiere a un depósito en un sistema de infusión continua que comprende una combinación de insulina aspart e insulina detemir en una concentración adecuada para sistemas de infusiones continuas; y que además esencialmente consiste en un conservante fenólico, glicerol como agente de isotonicidad, fosfato sódico dibásico, iones de zinc correspondientes a de 2.5 a 3.5  $Zn^{2+}$ /insulina de hexámero o de 0.4 a 0.6  $Zn^{2+}$ /insulina de monómero.

La fórmula farmacéutica de esta invención puede ser preparada usando las técnicas convencionales de la industria farmacéutica que implica la disolución y la mezcla de los ingredientes pertinentes como es debido para proporcionar el producto final deseado.

Por lo tanto, usando insulina detemir en una cantidad de aproximadamente 1% a sobre 15% de la actividad total de la insulina calculada en unidades de insulina, es posible preparar un medicamento con una estabilidad mejorada física en una solución acuosa que contiene insulina aspart.

Así, según un procedimiento, por un lado, la insulina detemir y, por otro lado, la insulina aspart es disuelta en una cantidad de agua, cuyo volumen total es algo menos que el volumen final de la formulación a preparar. Un agente isotónico, un conservante y un tampón se añade según sea necesario y el valor de pH de la solución es ajustado -si es necesario- usando un ácido, por ejemplo, ácido clorhídrico, o una base, por ejemplo, hidróxido sódico acuoso según se necesite. Finalmente, el volumen de la solución se ajusta con agua para dar la concentración deseada de los ingredientes.

En una otra forma de realización preferida de esta invención, la liberación de la actividad de la insulina de la formulación de esta invención, después de la administración parenteral de la misma a un ser humano en las primeras 4 horas, es al menos de aproximadamente un 50%.

En una forma de realización preferida de esta invención, la formulación contiene un agente que representa la solución isotónica, un conservante antimicrobiano, un agente de tampón pH, y una sal de zinc adecuada. La formulación tiene un valor de pH en el intervalo de aproximadamente 7 y 8.

En una forma de realización preferida de esta invención, la formulación tiene una cantidad total de insulina en el intervalo siendo el límite inferior 40 U/ml, más preferiblemente 100 U/ml, e incluso más preferiblemente 150 U/ml, y siendo el límite superior 1000 U/ml, más preferiblemente 500 U/ml.

En otra forma de realización preferida de esta invención, la formulación tiene una cantidad total de insulina en el intervalo de aproximadamente 10 U/ml a sobre 1500 U/ml, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 40 U/ml a sobre 1000 U/ml, más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 100 U/ml a sobre 500 U/ml, por ejemplo, 100,200, 400, o 500 U/ml.

En una forma de realización preferida de esta invención, la concentración total de fenol y/o m-cresol es en el intervalo de aproximadamente 20 mM a sobre 50 mM, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 30 mM a sobre 45 mM. La concentración de fenol y/o m-cresol depende, entre otras cosas, de la concentración de insulina.

El contenido de iones de zinc a la disposición de insulina en el intervalo de aproximadamente 2.3 a sobre 4.5  $Zn^{2+}$  por insulina de hexámero corresponde a aproximadamente 0.38 a sobre 0.75  $Zn^{2+}$ /insulina de monómero. La sal de zinc usada para preparar las formulaciones de esta invención puede, por ejemplo, ser zinc, cloruro óxido de zinc o acetato de zinc.

En una forma de realización preferida de esta invención, el agente isotónico es glicerol, manitol, sorbitol o una mezcla de los mismos en una concentración en el intervalo de aproximadamente 100 a 250 mM.

En otra forma de realización preferida de esta invención, la formulación contiene iones de halogenuro, preferiblemente como cloruro sódico, en una cantidad correspondiente a de aproximadamente 1 mM a sobre 100 mM, preferiblemente de aproximadamente 5 mM a sobre 40 mM.

En una forma de realización preferida de esta invención, el tampón de pH es fosfato sódico, TRIS (trometamol), N-glicil-glicina o L-arginina. Preferiblemente, el tampón de pH es un tampón fisiológicamente aceptable en una concentración en el intervalo de aproximadamente 3 mM a sobre 20 mM, preferiblemente de aproximadamente 5 mM a sobre 15 mM. La formulación tiene un valor de pH que está en el intervalo de aproximadamente 7.0 a sobre 8.0.

## ES 2 360 182 T3

En una forma de realización preferida de esta invención, la formulación es una formulación neutral, acuosa, soluble que contiene una combinación de insulina aspart e insulina detemir en una concentración adecuada para sistemas de infusión y, además, que consiste esencialmente en conservantes fenólicos, glicerol como agente de isotonicidad, fosfato sódico dibásico, iones de zinc correspondientes a aproximadamente de 2.5 a sobre 3.5  $Zn^{2+}$ /insulina de hexámero o de aproximadamente 0.4 a sobre 0.6  $Zn^{2+}$ /insulina de monómero.

En una forma de realización preferida de esta invención, la formulación de esta invención tiene un contenido de material no disuelto por debajo de aproximadamente 0.1%, preferiblemente debajo de 0.01% (peso por peso).

En una forma de realización preferida de esta invención, el factor de estabilidad, cuando está determinado por la prueba descrita en ejemplo 1 de arriba, de la formulación de esta invención está aproximadamente por encima de 2.5, preferiblemente aproximadamente por encima de 4.

En una forma de realización preferida de esta invención, un depósito en un sistema de infusión continua, con una formulación farmacéutica soluble que comprende insulina detemir e insulina aspart donde el límite inferior de la proporción molar entre la insulina detemir e insulina aspart es de 7:93, preferiblemente 11:89, más preferiblemente 14:86, y el límite superior de la proporción molar entre la insulina detemir e insulina aspart es de 57:43, preferiblemente 41:59, más preferiblemente 31:69, preferiblemente 24:76 e incluso más preferiblemente 20:80, donde el valor de pH está en el intervalo de 7 a 8, donde la concentración de la cantidad total de insulina está en el intervalo siendo el límite inferior 10 U/ml y el límite superior 1500 U/ml, donde un conservante que es fenol, m-cresol o una mezcla de fenol y m-cresol está presente, y donde los iones de zinc están a la disposición de la insulina (es decir. Insulina detemir e insulina aspart) en proporciones en el intervalo de 2.3 a 4.5  $Zn^{2+}$  por hexámero de insulina.

Las formulaciones de esta invención se pueden administrar a través de cualquier vía conocida por un médico con conocimiento comunes para que sea eficaz. Se prefiere una administración parenteral y preferiblemente intraperitoneal y subcutánea.

La cantidad de formulación de esta invención que se administra para tratar la diabetes depende de varios factores, entre ellos el sexo del paciente, peso, actividad física, y edad, dieta del paciente, las subyacentes de la condición o enfermedad a tratar, la forma de administración y biodisponibilidad, la persistencia de la insulina administrada o análogos de insulina en el cuerpo, la formulación específica usada, la fuerza de la insulina o análogo de insulina usado, una posible combinación con otros fármacos, la gravedad de la caja de diabetes, y el intervalo entre dosificaciones, si es que lo hay. Se sobreentiende que un médico común debe ajustar la dosis e índice de infusión y frecuencia de administración de la formulación de esta invención para conseguir el resultado deseado. Se recomienda que la dosificación diaria de los componentes de insulina usados en las formulaciones de esta invención sean determinadas para cada paciente individual por expertos en la técnica de manera similar en cuanto a composiciones de insulina conocidas.

La mención en este documento de referencias no significa que constituyan la técnica anterior.

Aquí, el verbo “comprender” debe ser interpretado aproximadamente como “incluye”, “contiene” o “comprende” (véase, por ejemplo, las pautas EPO C 4.13).

Esta invención será posteriormente ilustrada por los siguientes ejemplos que, no obstante, no deben ser interpretados de manera limitativa. Las características descritas en la descripción precedente y en los siguientes ejemplos puede, tanto separadamente como en cualquier combinación, ser material para realizar esta invención en formas diversas de la misma.

### 50 Prueba de tensión

Las soluciones de insulina preparadas como se describe abajo fueron sometidas a una prueba de tensión física.

Cinco muestras de cada formulación de insulina fueron rellenadas en cartuchos Penfill® 1.5 ml. Después de la introducción de 100  $\mu$ L de aire en cada cartucho usando una jeringa Hamilton®, las muestras fueron sometidas a la siguiente prueba de tensión física.

Los cartuchos fueron fijados a un rotor colocado en una incubadora a una temperatura constante de  $37^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$  y rotados  $360^{\circ}$  a una frecuencia de 30 r.p.m. (rotaciones por minuto) durante cuatro horas al día. Los cartuchos fueron almacenados a una temperatura constante de  $37^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$  entre los períodos de rotación.

La opalescencia de los cartuchos fue evaluada por inspección visual a intervalos de tiempo regulares - una vez al día en la primera semana y luego tres veces a la semana a un máximo de 31 días. Cuando se da la opalescencia o los precipitados y se ve a simple vista, la muestra es considerada fibrilada. El número de días sin fibrilación se define como *Tiempo de Fibrilación*. El *Factor de Estabilidad* de una muestra se calcula dividiendo el tiempo de Fibrilación de dicha muestra con el tiempo de Fibrilación de una muestra de referencia específica evaluada en el mismo experimento.

## ES 2 360 182 T3

La muestra de referencia específica fue insulina aspart 200 U/ml que fue preparada de la siguiente manera:

Una solución con la siguiente composición fue preparada: insulina aspart 200 U/ml (1200 nmol/ml), fenol 1.80 mg/ml (19 mM), m-cresol 2.06 mg/ml (19 mM), glicerol 16 mg/ml (174 mM), dihidrato de fosfato sódico dibásico 1.25 mg/ml (7 mM), cloruro sódico 0.58 mg/ml (10 mM), zinc cloruro hasta una concentración total de 39.2  $\mu\text{g Zn}^{2+}/\text{ml}$  (3.0  $\text{Zn}^{2+}$  por hexámero). El ácido clorhídrico y el hidróxido sódico fueron usados para la disolución de la insulina y ajuste del valor del pH a 7.40. Finalmente, la solución fue esterilizada por filtración y rellenada a cartuchos Penfill® 1.5 ml usando una técnica aséptica.

### Resultados de la prueba

	Tiempo de fibrilación (cias) medio $\pm$ s.d. (n=5)	Factor de estabilidad
Ejemplo 1 aspart/detemir 98/2	14 $\pm$ 12	3
Ejemplo 2 aspart/detemir 95/5	> 31	> 6
Ejemplo 3 aspart/detemir 90/10	> 31	> 6
Ejemplo 4 aspart/detemir 75/25	>31	>6
Referencia asparta 100%	5 $\pm$ 3	1

“s.d.” es la derivación estándar. Como hemos mencionado en los ejemplos anteriores, por ejemplo, las figuras 75/25 que aparecen tras “aspart/detemir” en esta tabla indican que la proporción entre aspart y detemir es 75:25 basado en unidades de insulina.

Resultados similares a los declarados en la tabla anterior fueron obtenidos con las formulaciones correspondientes que contenían o bien 2.7  $\text{Zn}^{2+}/\text{hexámero}$  y un valor de pH de 7.60 o 3.0  $\text{Zn}^{2+}/\text{hexámero}$  y un valor de pH de 7.60.

Como aparece en los resultados de la prueba de arriba, la estabilidad de la aspart contra la fibrilación es mejorada añadiendo detemir.

### Ejemplo 1

200 Insulina U por ml que contienen 98% (U/U) insulina aspart y 2% (U/U) insulina detemir. Proporción molar de aspart/detemir: 1:12.25 correspondiente a 7.55 mol-%

Una solución con la siguiente composición fue preparada: insulina aspart 196 U/ml (1176 nmol/ml), insulina detemir 4 U/ml (96 nmol/ml), fenol 1.80 mg/ml (19 mM), m-cresol 2.06 mg/ml (19 mM), glicerol 16 mg/ml (174 mM), dihidrato de fosfato sódico dibásico 1.25 mg/ml (7 mM), cloruro sódico 0.58 mg/ml (10 mM), cloruro de zinc y acetato de zinc hasta una concentración total de 41.5  $\mu\text{g Zn}^{2+}/\text{ml}$  (3.0  $\text{Zn}^{2+}/\text{hexámero}$ ). El ácido clorhídrico y el hidróxido sódico fueron usados para la disolución de la insulina y el ajuste del valor de pH a 7.40. Finalmente, la solución fue esterilizada por filtración y rellenada en cartuchos Penfill® estériles 1.5 ml usando una técnica aséptica.

### Ejemplo 2

200 U insulina por ml que contiene 95% (U/U) insulina aspart y 5% (U/U) proporción de insulina detemir molar aspart/detemir 1:4.75 correspondiente a 17.4 mol-%

Una solución con la siguiente composición fue preparada: insulina aspart 190 U/ml (1140 nmol/ml), insulina detemir 10 U/ml (240 nmol/ml), fenol 1.80 mg/ml (19 mM), m-cresol 2.06 mg/ml (19 mM), glicerol 16 mg/ml (174 mM), dihidrato de fosfato sódico dibásico 1.25 mg/ml (7 mM), cloruro sódico 0.58 mg/ml (10 mM), zinc cloruro y acetato de zinc hasta una concentración total de 45.1  $\mu\text{g Zn}^{2+}/\text{ml}$  (3.0  $\text{Zn}^{2+}/\text{hexámero}$ ). El ácido clorhídrico y el hidróxido sódico fueron usados para la disolución de la insulina y el ajuste del valor de pH a 7.40. Finalmente, la solución fue esterilizada por filtración y rellenada en cartuchos Penfill® estériles 1.5 ml usando técnica aséptica.

## ES 2 360 182 T3

### Ejemplo 3

200 U insulina por ml conteniendo 90% (U/U) insulina aspart y 10% (U/U) insulina detemir. Proporción molar de Asparta/detemir: 1:2. 25 correspondiente a 30.8 mol-%

5

Una solución con la siguiente composición fue preparada: insulina aspart 180 U/ml (1080 nmol/ml), insulina detemir 20 U/ml (480 nmol/ml), fenol 1.80 mg/ml (19 mM), m-cresol 2.06 mg/ml (19 mM), glicerol 16 mg/ml (174 mM), dihidrato de fosfato sódico dibásico 1.25 mg/ml (7 mM), cloruro sódico 0.58 mg/ml (10 mM), zinc cloruro y acetato de zinc hasta una concentración total de  $51.0 \mu\text{g Zn}^{2+}/\text{ml}$  ( $3.0 \text{ Zn}^{2+}/\text{hexámero}$ ). Ácido clorhídrico y hidróxido sódico fueron usados para disolución de la insulina y ajuste del valor de pH a 7.40. Finalmente, la solución fue esterilizada por filtración y rellenada en Cartuchos Penfill® estériles 1.5 ml usando técnica aséptica.

10

### Ejemplo 4

15

200 Insulina de u por ml conteniendo 75% (U/U) insulina aspart y 25% (U/U) insulina detemir. Asparta/detemir de proporción Molar: 1:0. 75 correspondiente a 57.1 mol-%

Una solución con la siguiente composición fue preparada: insulina aspart 150 U/ml (900 nmol/ml), insulina detemir 50 U/ml (1200 nmol/ml), fenol 1.80 mg/ml (19 mM), m-cresol 2.06 mg/ml (19 mM), glicerol 16 mg/ml (174 mM), dihidrato de fosfato sódico dibásico 1.25 mg/ml (7 mM), cloruro sódico 0.58 mg/ml (10 mM), zinc cloruro y acetato de zinc hasta una concentración total de  $68.6 \mu\text{g Zn}^{2+}/\text{ml}$  ( $3.0 \text{ Zn}^{2+}/\text{hexámero}$ ). Ácido clorhídrico y hidróxido sódico fueron usados para la disolución de la insulina y el ajuste del valor de pH a 7.40. Finalmente, la solución fue esterilizada por filtración y rellenada en cartuchos Penfill® estériles 1.5 ml usando técnica aséptica.

25

### Ejemplo 5

100 U insulina por ml conteniendo 95% (U/U) insulina aspart y 5% (U/U) insulina detemir

30

Una solución con la siguiente composición fue preparada: insulina aspart 95 U/ml (570 nmol/ml), insulina detemir 5 U/ml (120 nmol/ml), fenol 1.5 mg/ml (16 mM), m-cresol 1.7 mg/ml (16 mM), glicerol 16 mg/ml (174 mM), dihidrato de fosfato sódico dibásico 0.9 mg/ml (5 mM), cloruro sódico 0.58 mg/ml (10 mM), zinc cloruro y acetato de zinc hasta una concentración total de  $22.6 \mu\text{g Zn}^{2+}/\text{ml}$  ( $3.0 \text{ Zn}^{2+}/\text{hexámero}$ ). Ácido clorhídrico y hidróxido sódico fueron usados para disolución de la insulina y ajuste del valor de pH a 7.40. Finalmente, la solución fue esterilizada por filtración y rellenada en Cartuchos Penfill® estériles 3 ml usando técnica aséptica.

35

### Ejemplo 6

40

100 U insulina por ml conteniendo 90% (U/U) insulina aspart y 10% (U/U) insulina detemir

Una solución con la siguiente composición fue preparada: insulina aspart 90 U/ml (540 nmol/ml), insulina detemir 10 U/ml (240 nmol/ml), fenol 1.5 mg/ml (16 mM), m-cresol 1.7 mg/ml (16 mM), glicerol 16 mg/ml (174 mM), dihidrato de fosfato sódico dibásico 0.9 mg/ml (5 mM), cloruro sódico 0.58 mg/ml (10 mM), zinc cloruro y acetato de zinc hasta una concentración total de  $25.5 \mu\text{g Zn}^{2+}/\text{ml}$  ( $3.0 \text{ Zn}^{2+}/\text{hexámero}$ ). Ácido clorhídrico y hidróxido sódico fueron usados para disolución de la insulina y ajuste del valor de pH a 7.40. Finalmente, la solución fue esterilizada por filtración y rellenada en cartuchos Penfill® estériles 3 ml usando técnica aséptica.

50

### Ejemplo 7

400 U insulina por ml conteniendo 95% (UIU) insulina aspart y 5% (UIU) insulina detemir

Una solución con la siguiente composición fue preparada: insulina aspart 380 U/ml (2280 nmol/ml), insulina detemir 20 U/ml (480 nmol/ml), fenol 1.8 mg/ml (19 mM), m-cresol 2.1 mg/ml (19 mM), glicerol 16 mg/ml (174 mM), dihidrato de fosfato sódico dibásico 0.9 mg/ml (5 mM), cloruro sódico 1.2 mg/ml (20 mM), zinc cloruro y acetato de zinc hasta una concentración total de  $90 \mu\text{g Zn}^{2+}/\text{ml}$  ( $3.0 \text{ Zn}^{2+}/\text{hexámero}$ ). Ácido clorhídrico y hidróxido sódico fueron usados para disolución de la insulina y ajuste del valor de pH a 7.40. Finalmente, la solución fue esterilizada por filtración y rellenada en Cartuchos Penfill® estériles 1.5 ml usando técnica aséptica.

60

65



REIVINDICACIONES

5 1. Formulaci3n farmac3utica soluble que comprende insulina detemir e insulina aspart donde el l3mite inferior de la proporci3n molar entre insulina detemir e insulina aspart es de 7:93, preferiblemente 11:89, m3s preferiblemente 14:86, y el l3mite superior de la proporci3n molar entre insulina detemir e insulina aspart es de 57:43, preferiblemente 41:59, m3s preferiblemente 31:69, preferiblemente 24:76 e incluso m3s preferiblemente 20:80, donde el valor de pH est3 en el intervalo de 7 a 8, donde la concentraci3n de la cantidad total de insulina est3 en el rango donde el l3mite inferior es 10 U/ml y el l3mite superior es 1500 U/ml, donde un conservante siendo fenol, m-cresol o una mezcla de fenol y m-cresol est3 presente, y donde los iones de zinc est3n a disposici3n de la insulina (es decir, Insulina detemir e insulina aspart) en proporciones en el intervalo de 2.3 a 4.5 Zn<sup>2+</sup> por hex3mero de insulina.

15 2. Formulaci3n, seg3n cualquier de las reivindicaciones precedentes, que es adecuada para el uso en un sistema de infusi3n continua.

3. Formulaci3n, seg3n cualquier de las reivindicaciones precedentes, que contiene adem3s un agente que representa la soluci3n isot3nica, un conservante antimicrobiano, un agente de tamp3n pH, y una sal de zinc adecuada.

20 4. Formulaci3n, seg3n cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la concentraci3n de insulina est3 en el intervalo siendo el l3mite inferior 40 U/ml, m3s preferiblemente 100 U/ml, e incluso m3s preferiblemente 150 U/ml, y el l3mite superior 1000 U/ml, m3s preferiblemente 500 U/ml.

25 5. Formulaci3n, seg3n cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la concentraci3n de fenol y/o m-cresol est3 en el intervalo de aproximadamente 20 mM hasta aproximadamente 50 mM, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 30 mM hasta aproximadamente 45 mM.

6. Formulaci3n, seg3n cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la sal de zinc es zinc, cloruro 3xido de zinc, o acetato de zinc.

30 7. Formulaci3n, seg3n cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que contiene iones de halogenuro, preferiblemente como cloruro s3dico, en una cantidad correspondiente a aproximadamente de 1 hasta aproximadamente 100 mM, preferiblemente aproximadamente de 5 hasta aproximadamente 40 mM.

35 8. Formulaci3n, seg3n cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que contiene como glicerol de agente isot3nico, manitol, sorbitol, o una mezcla en una concentraci3n en el intervalo aproximadamente de 100 mM sobre 250 mM.

9. Formulaci3n, seg3n cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el tamp3n pH es fosfato s3dico, TRIS (trometamol), n-glicilglicina, o L-arginina.

40 10. Formulaci3n, seg3n cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el tamp3n pH es un tamp3n fisiol3gicamente aceptable en una concentraci3n en el intervalo aproximadamente de 3 mM hasta aproximadamente 20 mM, preferiblemente aproximadamente de 5 mM hasta aproximadamente 15 mM.

45 11. Formulaci3n, seg3n cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que es una formulaci3n acuosa soluble con una combinaci3n de insulina aspart e insulina detemir en una concentraci3n adecuada para sistemas de infusi3n continuos; y adem3s que consiste esencialmente en un conservante fen3lico, glicerol como agente de isotonicidad, fosfato s3dico dib3sico, iones de zinc correspondientes a aproximadamente de 2.5 hasta aproximadamente 3.5 Zn<sup>2+</sup>/insulina de hex3mero o aproximadamente de 0.4 hasta aproximadamente 0.6 Zn<sup>2+</sup>/insulina de mon3mero.

50 12. Dep3sito en un sistema de infusi3n continua, con una formulaci3n farmac3utica soluble seg3n la reivindicaci3n 1.

55

60

65