



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

República de Colombia
Ministerio de Comercio, Industria y Turismo

PROPIEDAD INDUSTRIAL

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 12-001866- -00000-0000
Fecha: 2012-01-05 17:03:19
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION
Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 94

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD DE

PATENTE DE INVENCION
PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TITULO: PREPARACIONES INSULINICAS QUE COMPRENDEN
METIONINA

52. CLASIFICACION INTERNACIONAL: A61K 9/10

71. SOLICITANTE: SANOFI-AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH

DOMICILIO: Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt -
ALEMANIA

74. APODERADO: DRA. MARGARITA CASTELLANOS A.

22. BOGOTA, D.C., _____

PETITOR

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA


No. 12-001866-00000-0000

 Fecha: 2012-01-05 17:03:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
 Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 94

ción

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTES
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

①

☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☒ Capítulo I☐ Capítulo II

②

SOLICITANTE (71)

Nombre: **SANOFI-AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH**Dirección: **Brüningstrasse 50
D-65929 Frankfurt
ALEMANIA**Nacionalidad o Domicilio: **Frankfurt
ALEMANIA**Lugar de Constitución: **ALEMANIA**Teléfono: Fax:
E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE
O APODERADONombre: **MARGARITA CASTELLANOS A.**Dirección: **CALLE 94A No. 7A-09**Teléfono: **7560770** Fax: **7550158**E-mail: **info@castellanosyco.co**

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número **39'779.654** TPA **70.819**

④

INVENTOR (ES) (72)

VER ANEXO # 1

⑤

PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/EP2010/059436**Fecha **02/07/2010**Publicación Internacional No. **WO 2011/003822 A3**Fecha **13/01/2011**

⑥

Título (54)

PREPARACIONES INSULINICAS QUE COMPRENEN METIONINA

⑦

Clasificación Internacional (51) **A61K 9/10**

⑧

Prioridad

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

SI ☒ NO ☐

DE

06/07/2009

10 2009 031 748,1

DE

27/03/2010

10 2010 013 134,2

⑨

Comprobantes de pago Nos.

12-001250 y 12-001253

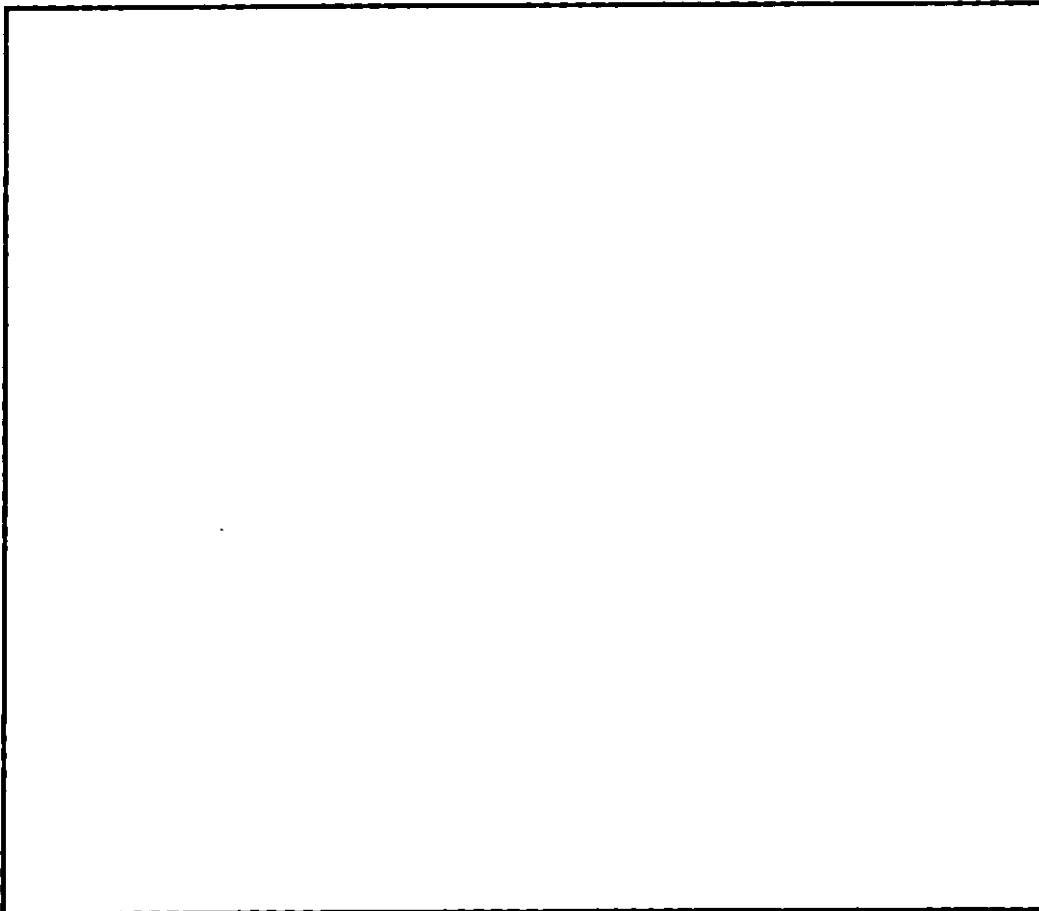
Fecha

Enero 04 de 2012

10 Anexos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso, junto con la sustitución del mismo a mi favor
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Tarjeta Propietario, Extracto para la publicación

11 FIGURA CARACTERISTICA:



12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: MARGARITA CASTELLANOS A.

FIRMA:

Margarita Castellanos A.

C.C. No. 89'779.654 Bogotá - TPA 70.819 C.S.J.

U3 E.H.C. 20.2

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página. - MCA/gcb - P2389

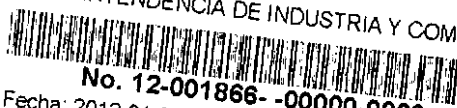
CASTELLANOS & CO LTDA

ABOGADOS
Calle 94 A No. 7 A-09
Bogotá, D.C. - COLOMBIA

**ANEXO # 1
INVENTORES**

1. **ISABELL SCHOETTLE**
c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
65926 Frankfurt am Main
ALEMANIA
2. **ANNIKA HAGENDORF**
c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
65926 Frankfurt am Main
ALEMANIA
3. **CHRISTIANE FUERST**
c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
65926 Frankfurt am Main
ALEMANIA
4. **GERRIT HAUCK**
c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
65926 Frankfurt am Main
ALEMANIA
5. **VERENA SIEFKE-HENZLER**
c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
65926 Frankfurt am Main
ALEMANIA
6. **WALTER KAMM**
c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
65926 Frankfurt am Main
ALEMANIA
7. **JULIA SCHNIEDERS**
c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
65926 Frankfurt am Main
ALEMANIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 001250	
				Bogotá D.C., Enero 04 de 2012 - 16:35:06	
RECIBIDO DE : CASTELLANOS Y Y CO				NI 800.174.641	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	181521583	04/01/2012	5.914.400.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO		Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	590.000.00		590.000.00
					\$590.000.00
=====					
SON: **QUINIENTOS NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**					
Responsable: _____					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-001866-00000-0000 Fecha: 2012-01-05 17:03:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 94					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240 Enero 4 de 2012 - 16:35:13					

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 -/-					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 001253	
				Bogotá D.C., Enero 04 de 2012 - 16:35:06	
RECIBIDO DE : CASTELLANOS Y Y CO				NI 800.174.641	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	181521583	04/01/2012	5.914.400.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT. RENTISTICO	CONCEPTO			Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
21 50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICIALES			30.000.00	630.000.00
					\$630.000.00
=====					
SON: **SEISCIENTOS TREINTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***					
Responsable _____					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-001866- -00000-0000 Fecha: 2012-01-05 17:03:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 94					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240 Enero 4 de 2012 - 16:35:13					

COLOMBIA

PODER

El (los) suscrito (s)

Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

Domicillado (s) en

Bruningstrasse 50, 65929 Frankfurt,
Alemania

Por el presente confieren a **XIMENA CASTELLANOS A. y/o MARGARITA CASTELLANOS A.** abogadas con oficinas en la Calle 94A No. 7A-09, Bogotá - Colombia para y para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad Industrial y con este fin autorizamos a dichos apoderados para que nos representen ante cualesquiera autoridades o personas de los órdenes administrativo, contencioso - administrativo y judicial en todo lo relacionado con los siguientes actos y gestiones:

a) Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos industriales; registro de marcas de fábrica de servicio, colectivas o defensivas; depósitos de nombres y enseñas comerciales; su renovación, prórroga, inscripción de traspaso y cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Obtención de registros sanitarios; c.) Acciones de oposición, cancelación, nulidad, medidas cautelares y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso - administrativos que promovamos o se nos promuevan, pudiendo en todos los actos y gestiones arriba mencionados sustituir éste mandato, transigir, desistir, recibir, cancelar, renunciar, aceptar notificaciones y nombrar apoderados judiciales y extrajudiciales.

VOLLMACHT

Der die Unterzeichnenden (n)

Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

Wohnhaft in

Brüningstraße 50, 65929 Frankfurt
Alemania

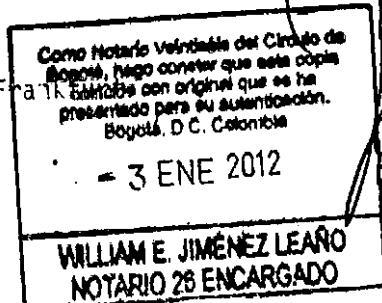
hiermit bevollmachtet (en) **XIMENA CASTELLANOS A. und/oder MARGARITA CASTELLANOS A.** mit Büro in der Calle 94A No. 7A-09, Bogotá - Colombia, zu

und zur Gewährung des Schutzes meines (unseres) industriellen Eigentums, und zu diesem Zweck ermächtigen wir die genannten Bevollmächtigten, damit sie uns vertreten vor jedweder Behörde oder Person der Verwaltung, im Verwaltungsstreite fahren und vor Gericht in allen Handlungen und Betreibungen in folgendem Zusammenhang:

a) Erlangung von Erfindungs-, Modell- und Industriellen Zeichnungspatenten; Registrierung von Fabrikmarken, Service-Kollektiv- und Schutzmarken; Hinterlegung von Handelsnamen und Zeichen; deren Erneuerung, Verlaengerung, Einschreibung ihrer Uebertragung und Namensoder Wohnsitzwechsel, freiwillige Loeschung und die Lizenzregistrierung zum Gebrauch der obigen Rechte; b) Erlangung von Sanitären Registern c) Handlungen im Zusammenhang mit Widerspruch, Loeschung, Ungültigkeit, vorbeugende Massnahmen und, allgemein Zivil-, Straf-, Verwaltungs- oder Verwaltungsstreitprozesse, die wir einleiten oder welche gegen uns eingeleitet werden, wobei in allen oben genannten Handlungen und Betreibungen dieses Mandat ersetzt werden kann, Vergleiche geschlossen, verzichtet, entgegengenommen, kassiert, aufgegeben, Zustellungen angenommen und gerichtliche und aussergerichtliche Bevollmächtigte ernannt werden können.

Dado y firmado en

el 18-08-11



Ausgestellt und unterzeichnet in

Datum

Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

CASTELLANOS & Co.

ABOGADOS EN PROPIEDAD INTELECTUAL

CALLE 94 A No. 7 A - 09 / P.O. BOX 8349

TELÉFONO (57 1) 756 07 70 / FAX (57 1) 755 01 58

BOGOTÁ D.C. COLOMBIA

info@castellanosyco.com

No. 139 of the Roll of Deeds for 2011

I, the undersigned Dr. Oleg de Lousanoff, Notary in Frankfurt am Main (Federal Republic of Germany), hereby certify that

Dr. Michael Bankmann, date of birth: September 29, 1959, having his business address at: Industriepark Höchst, Building K 801, 65926 Frankfurt am Main (Germany), personally known to me,

and

Mr. Dieter Breuer, date of birth: May 01, 1950, having his business address at: Industriepark Höchst, Building K 801, 65926 Frankfurt am Main (Germany), who is personally known to me,

have subscribed the signatures on the foregoing page of the annexed document in my presence.

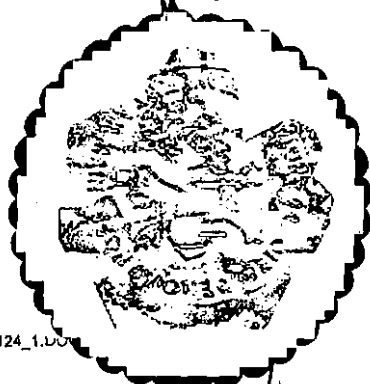
To document the power of representation regarding Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, (formerly: Aventis Pharma Deutschland GmbH), Frankfurt am Main, a certified copy of an instrument dated July 18, 2005 granting "Handlungsvollmacht" to Dr. Dieter Breuer for Sanofi-Aventis Deutschland GmbH is attached; I herewith certify that the attached copy of said document "Handlungsvollmacht" is a true copy of the original which has been presented to me.

I further certify that the electronic Commercial Register maintained by the local court in Frankfurt am Main - which I have inspected - shows under docket number HRB 40661 the registration of Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt am Main and of Dr. Michael Bankmann as Officer with statutory power of attorney ("Prokurist"), with joint Power of representation.

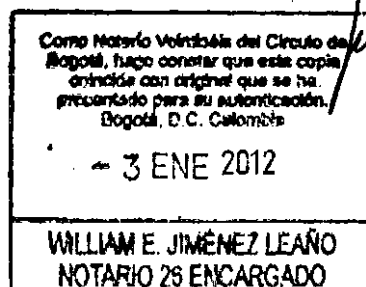
The Notary has informed the persons appearing about the provision of Section 3, Subsection 1, No. 7 of the Recording Act (Beurkundungsgesetz). The persons appearing thereupon have stated that the Notary is not prevented from recording under such provision.

The foregoing document has not been drafted by me. I am fluent in the German language. The non-German version of the text signed has not been reviewed by me, neither the conformity with the German version.

Frankfurt am Main, August 18, 2011



de Lousanoff
de Lousanoff
Notary



Aventis Pharma Deutschland GmbH · D-65926 Frankfurt am Main

Persönlich/Vertraulich

Herrn

Dieter Breuer

Patent A. License Department Frankfurt

K 801

18.07.2005

Sehr geehrter Herr Breuer,

wir freuen uns, Ihnen mitzuteilen, dass sich die Geschäftsführung entschlossen hat, für unser Unternehmen Aventis Pharma Deutschland GmbH

HANDLUNGSVOLLMACHT

gemäß § 54 Abs. 1 HGB zu erteilen.

Diese Vollmacht berechtigt Sie, alle Geschäfte und Rechtshandlungen vorzunehmen, die Ihre Position als Leiter Patentverwaltung gewöhnlich mit sich bringt. Die Einschränkung des § 54 Abs. 2 HGB ist zu beachten.

Sie sind ermächtigt, innerhalb Ihres Aufgabengebietes im Rahmen der jeweils gültigen Unterschriftsrichtlinie von Aventis Pharma Deutschland GmbH zu zeichnen. Hierbei ist nach § 57 HGB der Zusatz „i.V.“ vor Ihrem Namen zu verwenden.

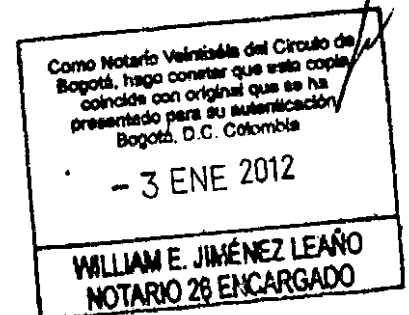
Die Handlungsvollmacht kann jederzeit von der Gesellschaft widerrufen werden. Sie erlischt mit Beendigung des Arbeitsverhältnisses mit der Gesellschaft.

Wir hoffen auf eine weiterhin gute Zusammenarbeit und verbleiben mit freundlichen Grüßen

Aventis Pharma Deutschland GmbH

Dieter Kohl

ppa. Brigitte Fuchs



Statement of Fees

Value: EUR 38.000,00 pursuant to § 30 I KostO

Fee pursuant to §§ 141, 45 I KostO	EUR	27,00
Fee pursuant to §§ 141, 32, 58 I KostO	EUR	27,00
Fee pursuant to §§ 141, 55 I, 33 KostO	EUR	10,00
Fee pursuant to § 150 No. 1 KostO	EUR	13,00
Flat fee for copies pursuant to §§ 141, 136 I No. 1, II KostO	EUR	0,50
Postage pursuant to § 152 II Nr. 1 a) KostO	EUR	1,45
Subtotal	EUR	78,95
VAT 19 % pursuant to § 151a KostO	EUR	15,00
Total	EUR	93,95

Oleg de Lousanoff
de Lousanoff
Notary

APOSTILLE

(Convention de la Haye du 5 octobre 1961)

1. Land: Bundesrepublik Deutschland
Diese öffentliche Urkunde
2. ist unterschrieben von Dr. Oleg de Lousanoff
3. in seiner Eigenschaft als amtlich bestellter Notar
4. sie ist versehen mit dem Siegel/Stempel des(der)
Notars

Bestätigt

5. in Frankfurt/Main
6. am 24.08.11
7. durch den Herrn Präsidenten des Landgerichts
8. unter Nr. 91 Ea A 7934
9. Siegel/Stempel
10. Unterschrift

i.A. Labernmeier

3 ENE 2012

WILLIAM E. JIMÉNEZ LEAÑO
NOTARIO EN CARGO

Traducción Oficial del Idioma Inglés de la certificación adjunta (No. 139 del Registro de Actas para el año 2011) al poder que Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, domiciliada en Frankfurt am Main, Alemania, otorga a Ximena Castellanos A. y/o Margarita Castellanos A.

Registro de Actas No. 139 para el año 2011

Yo, el suscrito Dr. Oleg de Lousanoff, Notario en Frankfurt am Main, República Federal de Alemania, mediante este documento certifico que

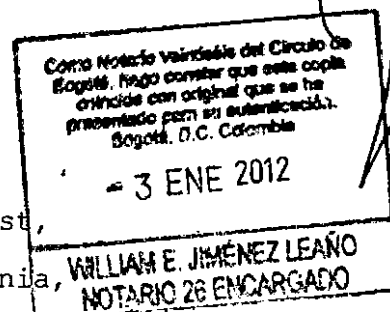
el Dr. Michael Bankmann
fecha de nacimiento: 29 de Septiembre de 1959,
con domicilio comercial en: Industriepark Höchst,
Edificio K 801, 65926 Frankfurt am Main, Alemania,
quien es conocido personalmente por el suscrito Notario,

y

el Señor Dieter Breuer,
fecha de nacimiento: 01 de Mayo de 1950
con domicilio comercial en: Industriepark Höchst,
Edificio K 801, 65926 Frankfurt am Main, Alemania,
quien es conocido personalmente por el suscrito Notario,

suscribieron en mi presencia las firmas que aparecen en el documento adjunto.

Con el fin de documentar el poder de representación con respecto a Sanofi-Aventis Deutschland GmbH (anteriormente llamada: Sanofis Pharma Deutschland GmbH), con domicilio en Frankfurt am Main, se adjunta una copia certificada de un instrumento fechado el día 18 de Julio de 2005, mediante el cual se otorga "Poder Especial" al Señor Dieter Breuer para



Sanofi-Aventis Deutschland GmbH. Mediante el presente documento certifico que la copia adjunta de dicho instrumento de "Poder Especial" es una copia auténtica del original, la cual me fue presentada y yo tuve a la vista.

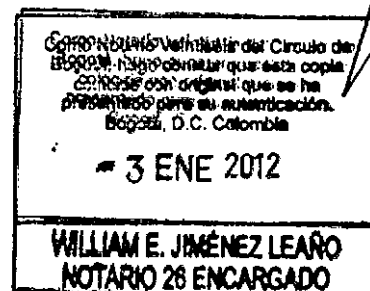
Certifico además que, con base en la revisión que yo llevé a cabo personalmente, el Registro Comercial Electrónico que es llevado por el Juzgado Municipal de Frankfurt am Main muestra bajo la minuta Número HRB 40661 el registro de la compañía Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, domiciliada en Frankfurt am Main, y que el Señor Dr. Michael Bankmann es un funcionario de dicha compañía quien tiene poder estatutario ("Apoderado"), con poder colectivo de representación.

El Notario informó a las personas comparecientes acerca de lo dispuesto en la Sección 3, Subsección 1, Numeral 7 de la Ley Federal Alemana de Notarización. Las personas comparecientes declararon acto seguido que de conformidad con tal disposición el Notario no tiene impedimento alguno.

El documento "Poder" adjunto no fue redactado por mí. Yo domino el idioma Alemán. Yo no revisé la versión no-Alemana del texto que aparece firmada ni tampoco he constatado su concordancia con la versión Alemana.

Frankfurt am Main, 18 de Agosto de 2011

Dr. Oleg de Lousanoff
Notario en Frankfurt am Main
(Firma y Sello Oficial)

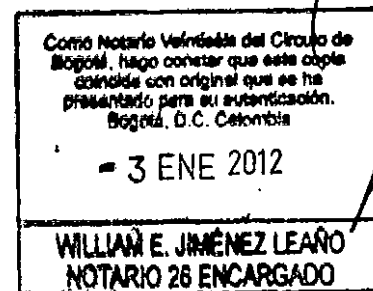


----- (continúa en la 3ª página) -----

Nota de Gastos

Valor del negocio: EUR 38.000,00 art. 30 I Disp. Imp.	
Impuesto según art. 141 45I Disp. Impuestos	EUR 27,00
Impuesto según art. 141, 32, 58I Disp. Imp.	EUR 27,00
Impuesto según art. 141, 55I, 33 Disp. Imp.	EUR 10,00
Impuesto según art 150 No. 1 Disp. Imp.	EUR 13,00
Impuesto art. 141, 136I No. 1, II Disp. Imp.	EUR 0,50
Impuesto según art. 152II 1a) Disp. Imp.	EUR 1,45
19% IVA según art. 151 a Disp. Imp.	EUR 15,00
Total	EUR 93,95

Dr. Oleg de Lousanoff
 Notario en Frankfurt am Main
 (Firma y Sello Oficial)



[Aparece Apostilla en Alemán fechada el día 24.08.11 que legaliza la firma del Dr. Oleg de Lousanoff Notario en Frankfurt am Main bajo el No. 91 Ea A 7934]

M. Méndez S.
JOSE MIGUEL MENDEZ
 Traductor Oficial
 Res. 911 de Mayo 1988 MINJUSTICIA

Traducción Oficial del Alemán de la Fotocopia Autenticada de una comunicación ("Poder Especial") fechada el 18.07.2005 y de la Apostille adjuntas al poder que Sanofi-Aventis Deutschland GmbH otorga a Ximena Castellanos y/o Margarita Castellanos.

Fotocopia Autenticada

Grupo
sanofi aventis

Aventis Pharma Deutschland GmbH • D-65929 Frankfurt am Main

Personal/Confidencial

Señor Dieter Breuer

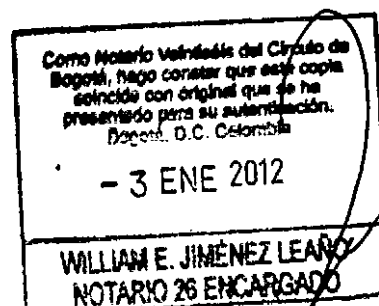
Departamento Patentes

K 801

18.07.2005

Muy Apreciado Señor Breuer:

Nos alegra comunicarle a Usted que la Gerencia de la Sociedad ha decidido otorgarle



PODER ESPECIAL

para nuestra empresa Aventis Pharma Deutschland GmbH de conformidad con el Artículo 54 inciso 1 Código de Comercio.

Este poder lo autoriza a Usted a realizar todos los negocios y actos legales que habitualmente conlleva su posición como Director de la Administración de Patentes. Es de tener presente la restricción conforme al Artículo 54 inciso 2 del Código de Comercio.

Usted queda habilitado para firmar, dentro del ámbito de sus tareas en el marco de las normas vigentes sobre firmas de Aventis Pharma Deutschland GmbH. De conformidad con el Artículo 57 del Código de Comercio, Usted debe emplear la abreviatura "e. r." (= en representación) antes de su nombre.

El Poder Especial puede ser revocado en cualquier momento por la sociedad. Dicho poder caduca al terminar Usted su relación laboral con la sociedad. 0000-4

Esperamos que el buen trabajo conjunto siga como hasta ahora y nos despedimos de Usted con saludos cordiales.

Aventis Pharma Deutschland GmbH

Dieter Kohl (firma)

Por poder: Brigitte Fuchs (firma)

APOSTILLE

(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES
2011 SET 20 11:11:32
DEPTO. DE LEGAL ASESORIA
BOGOTÁ, D.C.

1. País: República Federal de Alemania

Este documento público

2. Está firmado por: Dr. Oleg de Lousanoff
3. En su calidad de: Notario nombrado oficialmente de la Notaría de Alfred Kluge en Ludwigshafen am Rhein
4. Y lleva el sello oficial: del Notario

NOTARÍA DE ALFRED KLUGE
LUDWIGSHAFEN AM RHEIN
095183

Confirmado

5. En: Frankfurt/Main
6. El día: 24.08.11
7. Por: El Señor Presidente del Tribunal Regional
8. Bajo el No. 91 Ea A 7934
9. Sello: EL PRESIDENTE TRIBUNAL REGIONAL
EN FRANKFURT AM MAIN

Como Notario Valiente del Circuito de Bogotá, hago constar que esta copia coincide con original que se ha presentado para su autenticación.
Bogotá, D.C. Colombia
- 3 ENE 2012
WILLIAM E. JIMÉNEZ LEAÑO
NOTARIO 26 ENCARGADO

ADOLF WATZKE
Traductor Oficial
Res. 2433 Minjusticia

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
13. Januar 2011 (13.01.2011)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2011/003822 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:
A61K 9/10 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2010/059436

(22) Internationales Anmeldedatum:
2. Juli 2010 (02.07.2010)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2009 031 748.1 6. Juli 2009 (06.07.2009) DE
61/264,356 25. November 2009 (25.11.2009) US
10 2010 013 134.2
27. März 2010 (27.03.2010) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): Sanofi-Aventis Deutschland GmbH [DE/DE];
Brüningstraße 50, 65929 Frankfurt (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHOETTLE, Isabell [DE/DE]; c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main (DE). HAGENDORF, Annika [DE/DE]; c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main (DE). FUERST, Christiane [DE/DE]; c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main (DE). HAUCK, Gerrit [DE/DE]; c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main (DE). SIEFKE-HENZLER, Verena [DE/DE]; c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main (DE). KAMM, Walter [DE/DE]; c/o Sanofi-Aven-

tis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main (DE).
SCHNIEDERS, Julia [DE/DE]; c/o Sanofi-Aventis
Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe g)

(54) Title: INSULIN PREPARATIONS CONTAINING METHIONINE

(54) Bezeichnung: INSULINZUBEREITUNGEN ENTHALTEND METHIONIN

(57) Abstract: The invention relates to an aqueous pharmaceutical formulation having insulin, an insulin analog, or an insulin derivative, and methionine; and to the production thereof, to the use thereof for treating diabetes mellitus, and to a medication for treating diabetes mellitus.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine wässrige pharmazeutische Formulierung mit einem Insulin, einem Insulinanalogon oder einem Insulinderivat und Methionin; sowie deren Herstellung, Verwendung zur Behandlung von Diabetes mellitus und ein Arzneimittel zur Behandlung von Diabetes Mellitus.

Beschreibung

Insulinzubereitungen enthaltend Methionin

- 5 Die Erfindung betrifft eine wässrige pharmazeutische Formulierung mit einem Insulin, einem Insulinanalogon oder einem Insulinderivat und Methionin; sowie deren Herstellung, Verwendung zur Behandlung von Diabetes mellitus und ein Arzneimittel zur Behandlung von Diabetes Mellitus.
- 10 Weltweit leidet eine zunehmende Zahl an Menschen an Diabetes mellitus. Darunter sind viele sogenannte Typ I-Diabetiker, für die die Substitution der fehlenden endokrinen Insulinsekretion die einzige derzeit mögliche Therapie darstellt. Die Betroffenen sind lebenslang, in der Regel mehrmals täglich, auf Insulininjektionen angewiesen. Im Gegensatz zum Typ I-Diabetes besteht beim Typ II-Diabetes nicht
- 15 grundsätzlich ein Mangel an Insulin, jedoch wird in einer Vielzahl von Fällen, vor allem im fortgeschrittenen Stadium, die Behandlung mit Insulin, gegebenenfalls in Kombination mit einem oralen Antidiabetikum, als günstigste Therapieform angesehen. Beim Gesunden ist die Insulinfreisetzung durch den Pankreas strikt an die
- 20 Konzentration der Blutglucose gekoppelt. Erhöhte Blutglucosespiegel, wie sie nach Mahlzeiten auftreten, werden durch eine entsprechende Steigerung der Insulinsekretion rasch kompensiert. Im nüchternen Zustand sinkt der
- 25 Plasmainsulinspiegel auf einen basalen Wert ab, der ausreicht, eine kontinuierliche Versorgung insulinempfindlicher Organe und Gewebe mit Glucose zu gewährleisten und die hepatische Glucoseproduktion in der Nacht niedrig zu halten. Der Ersatz der körpereigenen Insulinsekretion durch exogene, meist subcutane Applikation von
- 30 Insulin erreicht in der Regel die oben beschriebene Qualität der physiologischen Regulation der Blutglucose nicht annähernd. Häufig kommt es zu Entgleisungen der Blutglucose nach oben oder unten, die in ihren schwersten Formen lebensbedrohlich sein können. Daneben stellen jedoch auch über Jahre erhöhte Blutglucosespiegel ohne anfängliche Symptome ein erhebliches Gesundheitsrisiko dar. Die großangelegte DCCT-Studie in den USA (The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (1993) N. Engl. J. Med. 329, 977-986) wies eindeutig nach, daß chronisch

- erhöhte Blutglucosespiegel wesentlich für die Entwicklung diabetischer Spätschäden verantwortlich sind. Diabetische Spätschäden sind mikro- und makrovaskuläre Schädigungen, die sich u.U. als Retino-, Nephro-, oder Neuropathie manifestieren und zu Erblindung, Nierenversagen sowie dem Verlust von Extremitäten führen und
- 5 darüber hinaus mit einem erhöhten Risiko für Herz/Kreislaufkrankungen einhergehen. Daraus ist abzuleiten, daß eine verbesserte Therapie des Diabetes in erster Linie darauf abzielen muß, die Blutglucose möglichst eng im physiologischen Bereich zu halten. Nach dem Konzept der intensivierten Insulintherapie soll dies durch mehrmals tägliche Injektionen von schnell und langsam wirkenden
- 10 Insulinzubereitungen erreicht werden. Rasch wirkende Formulierungen werden zu den Mahlzeiten gegeben, um den postprandialen Anstieg der Blutglucose auszugleichen. Langsam wirkende Basalinsuline sollen die Grundversorgung mit Insulin insbesondere während der Nacht sicherstellen, ohne zu einer Hypoglykämie zu führen.
- 15 Insulin ist ein Polypeptid aus 51 Aminosäuren, die sich auf 2 Aminosäureketten verteilen: die A Kette mit 21 Aminosäuren und die B-Kette mit 30 Aminosäuren. Die Ketten sind durch 2 Disulfidbrücken miteinander verbunden. Insulinzubereitungen werden seit vielen Jahren zur Diabetestherapie eingesetzt. Dabei werden nicht nur natürlich vorkommende Insuline verwendet, sondern neuerdings auch Insulinderivate
- 20 und -analoga.

- Insulinanaloga sind Analoga von natürlich vorkommenden Insulinen, nämlich Humaninsulin oder tierischen Insulinen, welche sich durch Substitution wenigstens eines natürlich auftretenden Aminosäurerestes mit anderen Aminosäuren und/oder
- 25 Addition/Entfernen wenigstens eines Aminosäurerestes von dem entsprechenden, ansonsten gleichen natürlich vorkommenden Insulin unterscheiden. Es kann sich dabei auch um Aminosäuren handeln, die nicht natürlich vorkommen.

- Insulinderivate sind Derivate von natürlich vorkommendem Insulin oder einem
- 30 Insulinanalogon, welche durch chemische Modifizierung erhalten werden. Die chemische Modifikation kann z.B. in der Addition einer oder mehrerer bestimmter chemischer Gruppen an eine oder mehrere Aminosäuren bestehen. In der Regel

haben Insulinderivate und Insulinanaloga gegenüber humanem Insulin eine etwas veränderte Wirkung.

Insulinanaloga mit beschleunigtem Wirkungseintritt werden in EP 0 214 826,

5 EP 0 375 437 und EP 0 678 522 beschrieben. EP 0 124 826 bezieht sich u.a. auf Substitutionen von B27 und B28. EP 0 678 522 beschreibt Insulinanaloga, die in der Position B29 verschiedene Aminosäuren, vorzugsweise Prolin, aufweisen, jedoch nicht Glutaminsäure.

EP 0 375 437 umfaßt Insulinanaloga mit Lysin oder Arginin in B28, die optional
10 zusätzlich in B3 und/oder A21 modifiziert sein können.

In der EP 0 419 504 werden Insulinanaloga offenbart, die gegen chemische Modifikationen geschützt sind, in dem Asparagin in B3 und wenigstens eine weitere Aminosäure in den Positionen A5, A15, A18 oder A21 verändert sind.

15

In der Regel haben Insulinderivate und Insulinanaloga gegenüber humanem Insulin eine etwas veränderte Wirkung.

In der WO 92/00321 werden Insulinanaloga beschrieben, bei denen wenigstens eine
20 Aminosäure der Positionen B1-B6 durch Lysin oder Arginin ersetzt ist. Derartige Insuline weisen gemäß WO 92/00321 eine verlängerte Wirkung auf. Eine verzögerte Wirkung weisen auch die in der EP-A 0 368 187 beschriebenen Insulinanaloga auf. Das Konzept der intensivierten Insulintherapie versucht das Gesundheitsrisiko abzumindern, indem eine stabile Kontrolle des Blutzuckerspiegels durch frühe Gabe
25 von Basalinsulinen angestrebt wird. Ein Beispiel für ein gängiges Basalinsulin ist das Medikament Lantus® (Wirkstoff: Insulin Glargin = Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) Humaninsulin). Generell gilt es, bei der Entwicklung neuer, verbesserter Basalinsuline die Zahl hypoglykämischer Ereignisse zu minimieren. Ein ideales Basalinsulin wirkt dabei sicher in jedem Patienten mindestens 24 Stunden. Idealerweise setzt die
30 Insulinwirkung verzögert und mit einem möglichst flachen Zeit- / Wirkungsprofil ein, so dass die Gefahr einer kurzfristigen Unterzuckerung deutlich minimiert ist und die Applikation sogar ohne vorherige Einnahme von Nahrungsmitteln erfolgen kann. Eine

gute Versorgung mit Basalinsulin ist dann gegeben, wenn die Insulinwirkung möglichst lange gleichbleibend anhält, d.h. der Körper mit einer konstanten Menge Insulin versorgt wird. Damit ist die Gefahr hypoglykämischer Ereignisse gering und eine patienten- und tagesspezifische Variabilität minimiert. Das pharmakokinetische Profil eines idealen Basalinsulins sollte also durch einen verzögerten Wirkeintritt und durch eine verzögerte, d.h. lang anhaltende und gleichmäßige Wirkung gekennzeichnet sein.

Die auf dem Markt befindlichen Insulinzubereitungen von natürlich vorkommenden Insulinen zur Insulinsubstitution unterscheiden sich in der Herkunft des Insulins (z.B.

Rind, Schwein, Humaninsulin), sowie der Zusammensetzung, womit das Wirkprofil (Wirkeintritt und Wirkdauer) beeinflusst werden kann. Durch Kombination verschiedener Insulinpräparate lassen sich unterschiedlichste Wirkprofile erzielen und möglichst physiologische Blutzuckerwerte einstellen. Die rekombinante DNA

Technologie ermöglicht heutzutage die Herstellung von solchen modifizierten Insulinen. Hierzu zählt Insulin Glargin (Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)-Humaninsulin) mit einer verlängerten Wirkdauer. Insulin Glargin wird als saure, klare Lösung injiziert und fällt aufgrund seiner Lösungseigenschaften im physiologischen pH-Bereich des

Subkutangewebes als stabiles Hexamerassoziat aus. Insulin Glargin wird einmal täglich injiziert und zeichnet sich gegenüber anderen langwirksamen Insulinen durch

sein flaches Serumprofil und die damit verbundene Reduktion der Gefahr nächtlicher Hypoglykämien aus (Schubert-Zsilavec et al., 2:125-130(2001)). Die spezifische

Zubereitung des Insulin Glargins, die zur verlängerten Wirkdauer führt, ist im Gegensatz zu bisher beschriebenen Zubereitungen durch eine klare Lösung mit saurem pH-Wert gekennzeichnet. Gerade bei saurem pH-Wert zeigen Insuline jedoch

eine verringerte Stabilität und eine erhöhte Aggregationsneigung bei thermischer und physikalisch-mechanischer Belastung, die sich in Form von Trübungen und

Ausfällungen (Partikelbildungen) bemerkbar machen kann (Brange et al., J. Ph.Sci 86:517-525(1997)).

Es wurde gefunden, dass solche Insulinanaloga zu dem beschriebenen wünschenswerten basalen Zeit- / Wirkungsprofil führen, wenn die Insulinanaloga durch die Merkmale charakterisiert sind, dass

- das B- Kettenende aus einem amidierten basischen Aminosäurerest wie Lysin bzw. Argininamid besteht, d.h. bei dem amidierten basischen Aminosäurerest am B- Kettenende liegt die Carboxylgruppe der endständigen Aminosäure in ihrer amidierten Form vor, und
- 5 • der N-terminale Aminosäurerest der Insulin A-Kette ein Lysin- oder Argininrest ist, und
- die Aminosäureposition A8 durch einen Histidinrest besetzt wird, und
- die Aminosäureposition A21 durch einen Glycinrest besetzt wird, und
- zwei Substitutionen neutraler Aminosäuren durch saure Aminosäuren, zwei
- 10 Additionen negativ geladener Aminosäurereste oder je eine solche Substitution und eine solche Addition jeweils in den Positionen A5, A15, A18, B-1, B0, B1, B2, B3 und B4 erfolgt sind.

Allen wässrigen Formulierungen von Insulinen, Insulinanaloga und Insulinderivaten ist
15 gemein, dass die genannten Proteine chemisch nicht völlig stabil sind, sondern dass sich in Abhängigkeit von der Zeit, der Lagertemperatur, der Bewegung, der die Formulierung unterworfen ist uvm. eine Reihe von molekularen Prozessen bei den Insulinen, Insulinanaloga und Insulinderivaten ablaufen können, die nachteilig für die Qualität der Formulierung sind. Ein Stoff, welcher die chemische Stabilität der Insuline,
20 Insulinanaloga und Insulinderivate beeinträchtigt, ist Sauerstoff, dessen Kontakt mit den entsprechenden Formulierungen aufgrund seines Vorhandenseins in der Luft – insbesondere bei Formulierungen in Verpackungen für die Mehrfachgaben – nicht zu verhindern ist. Man nimmt an, dass es u.a. das oxidative Potential von Sauerstoff ist, welche die Beeinträchtigungen der chemischen Stabilität hervorruft.

25

Es wurde nun überraschenderweise gefunden, dass die Beimengung der Aminosäure Methionin zu Formulierungen von Insulinen, Insulinanaloga und Insulinderivaten zu einer verbesserten Stabilität dieser Proteine führt.

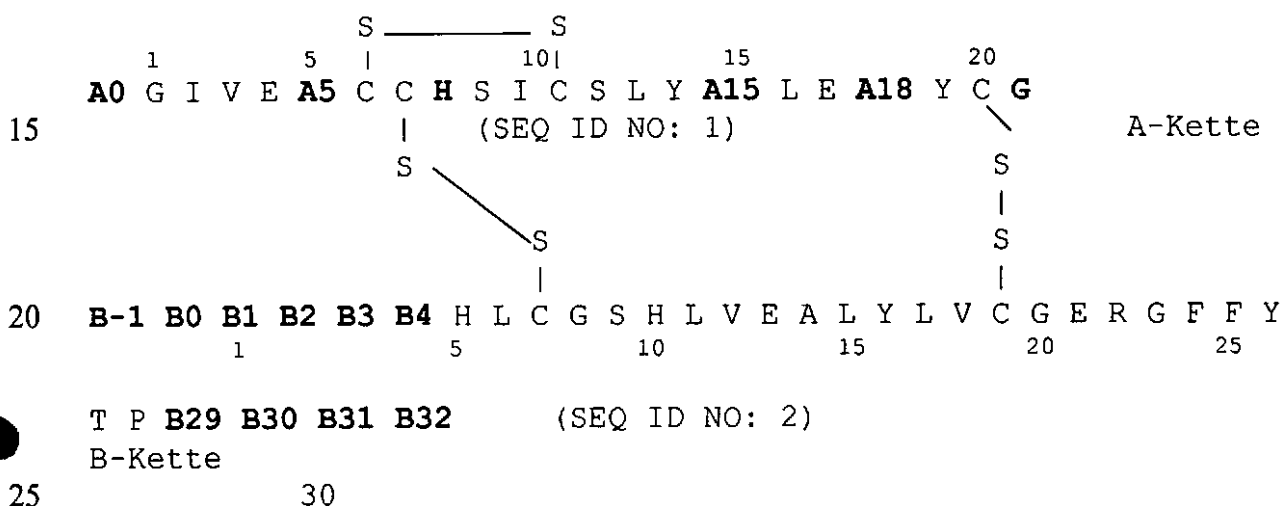
30 Ein Gegenstand der Erfindung ist daher eine wässrige pharmazeutische Formulierung enthaltend ein Insulin, ein Insulinanalogon oder ein Insulinderivat, oder ein pharmakologisch tolerierbares Salz davon, und Methionin.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, wobei das Insulin ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend menschliches Insulin, Schweine-Insulin und Insulin des Rindes.

5

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, wobei das Insulinanalogon ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend Gly(A21), Arg(B31), Arg(B32)-Humaninsulin, Lys(B3), Glu(B29)-Humaninsulin, Asp(B28)-Humaninsulin, Lys(B28) Pro(B29)-Humaninsulin, Des(B30)-

10 Humaninsulin und ein Insulinanalogon der Formel I



wobei

A0 Lys oder Arg;

30

A5 Asp, Gln oder Glu;

A15 Asp, Glu oder Gln;

35 A18 Asp, Glu oder Asn;

B-1 Asp, Glu oder eine Aminogruppe;

B0 Asp, Glu oder eine chemische Bindung;

B1 Asp, Glu oder Phe;

5 B2 Asp, Glu oder Val;

B3 Asp, Glu oder Asn;

B4 Asp, Glu oder Gln;

10

B29 Lys oder einer chemischen Bindung;

B30 Thr oder einer chemischen Bindung;

15 B31 Arg, Lys oder einer chemischen Bindung;

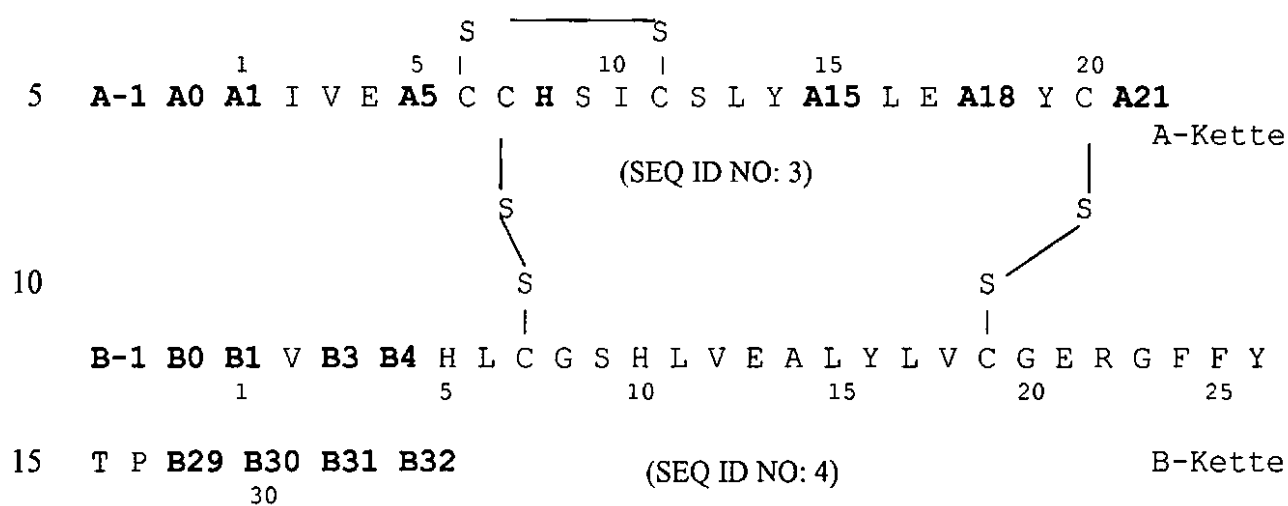
B32 Arg-Amid, Lys-Amid oder einer Aminogruppe

entspricht, wobei zwei Aminosäurereste der Gruppe enthaltend A5, A15, A18, B-1, B0,
20 B1, B2, B3 und B4 gleichzeitig und unabhängig voneinander Asp oder Glu
entsprechen, insbesondere bei der das Insulinanalogon ausgewählt ist aus einer
Gruppe enthaltend:

Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
25 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
Arg (A0), His (A8), Glu(A5), Glu (A15), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Glu (A15), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
Arg (A0), His(A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
30 Arg (A0), His(A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,

- Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His(A8), Gly (A21), Asp (B3), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 5 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 10 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 15 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg(B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 20 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30), Arg (B31) – NH₂ Humaninsulin,
 25 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30), Lys (B31) – NH₂ Humaninsulin.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, wobei das Insulinanalogon ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend ein Insulinanalogon der Formel II



wobei

- | | | |
|----|-----|--|
| 20 | A-1 | Lys, Arg oder einer Aminogruppe; |
| | A0 | Lys, Arg oder einer chemischen Bindung; |
| | A1 | Arg oder Gly; |
| 25 | | |
| | A5 | Asp, Glu oder Gln; |
| | A15 | Asp, Glu oder Gln; |
| 30 | A18 | Asp, Glu oder Asn; |
| | A21 | Ala, Ser, Thr oder Gly; |
| | B-1 | Asp, Glu oder eine Aminogruppe; |
| 35 | | |
| | B0 | Asp, Glu oder eine chemische Bindung; |
| | B1 | Asp, Glu, Phe oder eine chemische Bindung; |

B3 Asp, Glu oder Asn;

B4 Asp, Glu oder Gln;

5

B29 Arg, Lys oder einer Aminosäure ausgewählt aus einer Gruppe enthaltend die Aminosäuren Phe, Ala, Thr, Ser, Val, Leu, Glu oder Asp, oder einer chemischen Bindung;

10 B30 Thr oder einer chemischen Bindung;

B31 Arg, Lys oder einer chemischen Bindung;

B32 Arg-Amid oder Lys-Amid

15

entspricht, wobei nicht mehr als ein Aminosäurerest der Gruppe enthaltend A5, A15, A18, B-1, B0, B1, B2, B3 und B4 gleichzeitig und unabhängig voneinander Asp oder Glu entsprechen, insbesondere bei der das Insulinanalogon ausgewählt ist aus einer Gruppe enthaltend:

20 Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 25 Arg (A-1), Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Lys (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Lys (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 30 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Lys (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,

- Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 5 Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 10 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 15 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Arg (A1), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Arg (A1), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 20 His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin.

- Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie
 oben beschrieben, wobei das Insulinderivat ausgewählt wird aus einer Gruppe
 enthaltend B29-N-myristoyl-des(B30) Humaninsulin, B29-N-palmitoyl-des(B30)
 25 Humaninsulin, B29-N-myristoyl Humaninsulin, B29-N-palmitoyl Humaninsulin, B28-N-
 myristoyl Lys^{B28}Pro^{B29} Humaninsulin, B28-N-palmitoyl-Lys^{B28}Pro^{B29} Humaninsulin,
 B30-N-myristoyl-Thr^{B29}Lys^{B30} Humaninsulin, B30-N-palmitoyl-Thr^{B29}Lys^{B30}
 Humaninsulin, B29-N-(N-palmitoyl-γ-glutamyl)-des(B39) Humaninsulin, B29-N-(N-
 lithocholyl-γ-glutamyl)-des(B30) Humaninsulin, B29-N-(ω-carboxyheptadecanoyl)-
 30 des(B30) Humaninsulin and B29-N-(ω-carboxyheptadecanoyl) Humaninsulin.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, die

0,001 bis 0,2 mg/ml Zink,

0,1 bis 5,0 mg/ml eines Konservierungsmittels und

5 5,0 bis 100 mg/ml eines Isotonisierungsmittels enthält und deren pH-Wert 5 oder kleiner ist.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, in dem ein Konservierungsmittel ausgewählt aus einer Gruppe
10 enthaltend Phenol, m-Cresol, Chlorkresol, Benzylalkohol, Parabene vorhanden ist.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, in dem ein Isotonisierungsmittel ausgewählt aus einer Gruppe enthaltend Mannitol, Sorbitol, Lactose, Dextrose, Trehalose, Natriumchlorid, Glycerol
15 vorhanden ist.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, mit einem pH-Wert im Bereich von pH 2,5 – 4,5, bevorzugt pH 3,0 –
20 4,0, besonders bevorzugt im Bereich von pH 3,75.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, wobei das Insulin, das Insulinanalogon und/oder das Insulinderivat in einer Konzentration von 240 – 3000 nmol/ml vorliegt

25 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, bei der Glycerol in einer Konzentration von 20 bis 30 mg/ml vorliegt.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie
30 oben beschrieben, bei der Glycerol in einer Konzentration von 25 mg/ml vorliegt.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, bei der m-Cresol in einer Konzentration von 1 bis 3 mg/ml, bevorzugt 2 mg/ml, vorliegt.

- 5 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, bei der Zink in einer Konzentration 0,01 oder 0,03 oder 0,08 mg/ml vorliegt.

- 10 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, bei der noch zusätzlich ein Glucagon-Like Peptide-1 (GLP1) oder ein Analogon oder Derivat davon, oder Exendin-3 bzw. -4 oder ein Analogon oder Derivat davon enthalten ist, bevorzugt Exendin-4 enthalten ist.

- 15 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, bei dem ein Analogon von Exendin-4 ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend

H-desPro³⁶-Exendin-4-Lys₆-NH₂,

H-des(Pro^{36,37})-Exendin-4-Lys₄-NH₂ und

H-des(Pro^{36,37})-Exendin-4-Lys₅-NH₂,

- 20 oder ein pharmakologisch tolerierbares Salz davon, oder bei dem ein Analogon von Exendin-4 ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend

desPro³⁶[Asp²⁸]Exendin-4 (1-39),

desPro³⁶[IsoAsp²⁸]Exendin-4 (1-39),

desPro³⁶[Met(O)¹⁴, Asp²⁸]Exendin-4 (1-39),

- 25 desPro³⁶[Met(O)¹⁴, IsoAsp²⁸]Exendin-4 (1-39),

desPro³⁶[Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-2 (1-39),

desPro³⁶[Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸]Exendin-2 (1-39),

desPro³⁶[Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4 (1-39) und

desPro³⁶[Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸]Exendin-4 (1-39),

- 30 oder ein pharmakologisch tolerierbares Salz davon.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, bei denen an die C-Termini der Analoga von Exendin-4 das Peptid -Lys₆-NH₂ angefügt ist.

- 5 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie oben beschrieben, bei dem ein Analogon von Exendin-4 ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend

H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-Lys₆-NH₂
des Asp²⁸Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ Exendin-4(1-39) -NH₂,

- 10 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,

H-Asn-(Glu)₅ des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,
des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

- 15 H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-Lys₆-NH₂,

H- des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵]Exendin-4(1-39) -NH₂,

H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,

H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,

des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

- 20 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-Lys₆-NH₂,

des Met(O)¹⁴ Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ Exendin-4(1-39) -NH₂,

H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,

- 25 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸] Exendin-4(1-39) -NH₂,

des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-Lys₆-NH₂,

H-Asn-(Glu)₅ des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸] Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-Lys₆-NH₂,

- 30 des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵]Exendin-4(1-39) -NH₂,

H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,

H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸] Exendin-4(1-39) -NH₂,

des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-
NH₂,

5 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸] Exendin-4(1-39)-
(Lys)₆-NH₂,
oder ein pharmakologisch tolerierbares Salz davon.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie
oben beschrieben, bei dem zusätzlich Arg³⁴, Lys²⁶ (N^ε(γ-glutamyl(N^α-hexadecanoyl)))
10 GLP-1 (7-37) [liraglutide] oder ein pharmakologisch tolerierbares Salz davon enthalten
ist.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung wie
oben beschrieben, bei der Methionin im Konzentrationsbereich von bis zu 10 mg/ml,
15 bevorzugt bis zu 3 mg/ml, vorhanden ist.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung einer
Formulierung wie oben beschrieben, bei dem
● (a) die Komponenten in eine wässrige Lösung eingebracht werden und
20 (b) der pH-Wert eingestellt wird.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine Verwendung einer Formulierung wie
oben beschrieben zur Behandlung von Diabetes mellitus.

25 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Arzneimittel zur Behandlung von
Diabetes mellitus bestehend aus einer Formulierung wie oben beschrieben.

Im folgenden wird die Anmeldung anhand einiger Beispiele beschrieben, die
keinesfalls beschränkend wirken sollen.

Figurenlegende:

Fig. 1: Blutzuckersenkende Wirkung von neuen Insulinanaloga gemäß Formel I in Ratten

Fig. 2: Blutzuckersenkende Wirkung von neuen Insulinanaloga gemäß Formel I im Hund

Fig. 3: Blutzuckersenkende Wirkung von YKL205 im Hund

Fig. 4: Zinkabhängigkeit der hypoglykämischen Wirkung von YKL205 im Hund

Fig. 5: Blutzuckersenkende Wirkung von erfindungsgemäßen Insulinanaloga der Formel II in Ratten

Fig. 6: Blutzuckersenkende Wirkung von Insulin Glargin in Ratten

Beispiele:

Die folgenden Beispiele sollen den Erfindungsgedanken näher erläutern, ohne beschränkend zu wirken.

Beispiel 1: Studien zur Abfüllung der Lösung unter Verwendung von Stickstoff, Sauerstoff und Abfüllung unter Normalbedingungen

Die Herstellung der Lösung erfolgt indem ca. 25 % 0.1 M HCl vorgelegt werden und 0.2 % Polysorbat 20 Stammlösung dazugegeben wird. Nacheinander werden SAR161271 und die Zinkchlorid Stammlösung hinzugefügt und gerührt. Durch Zugabe von 1 M HCl bei einem pH Wert von pH 2 wird SAR161271 gelöst. Die Lösung wird gerührt, dann erfolgt die Zugabe von 1 M NaOH zur Einstellung des pH Werts auf pH 4.0. Mit Wasser für Injektionszwecke wird auf 90 % der Ansatzgröße aufgefüllt. Zu der Lösung nacheinander Glycerol 85 % und m-Cresol unter Rühren dazugeben. Mit Wasser für Injektionszwecke auf das gewünschte Endgewicht auffüllen. Lösung mittels Spritzenvorsatzfilter filtrieren. Der Ansatz wurde gedrittelt in unbegast (als Referenz), mit Stickstoff begast und mit Sauerstoff begast (als Positivkontrolle). Die Begasung erfolgte als Überlagerung mit dem jeweiligen Gas.

Unbehandelt

Gehalt SAR161271

1 M + 5° C: 3.67 mg/ml

1 M + 25° C: 3.46 mg/ml

1 M + 37° C: 3.41 mg/ml

5

Verunreinigungen

1 M + 5° C: 3.0 %

1 M + 25° C: 3.6 %

1 M + 37° C: 5.6 %

Höhermolekulare Proteine

10

1 M + 5° C: 0.2 %

1 M + 25° C: 0.3 %

1 M + 37° C: 1.4 %

Mit Stickstoff behandelt

15

Gehalt SAR161271

1 M + 5° C: 3.73 mg/ml

1 M + 25° C: 3.50 mg/ml

1 M + 37° C: 3.35 mg/ml

Verunreinigungen

20

1 M + 5° C: 3.1 %

1 M + 25° C: 3.5 %

1 M + 37° C: 5.2 %

Höhermolekulare Proteine

25

1 M + 5° C: 0.2 %

1 M + 25° C: 0.3 %

1 M + 37° C: 1.2 %

Mit Sauerstoff behandelt

Gehalt SAR161271

30

1 M + 5° C: 3.54 mg/ml

1 M + 25° C: 3.34 mg/ml

1 M + 37° C: 3.26 mg/ml

Verunreinigungen

1 M + 5° C: 3.2 %

1 M + 25° C: 3.9 %

1 M + 37° C: 7.2 %

Höhermolekulare Proteine

5 1 M + 5° C: 0.2 %

1 M + 25° C: 0.5 %

1 M + 37° C: 2.9 %

- Die Abfüllung unter Verwendung von Stickstoff zeigte nach 1 Monat keine deutliche Verringerung der Verunreinigungen verglichen mit der unbehandelten Probe. Die Abfüllung unter Verwendung von Sauerstoff zeigte geringfügig höhere Verunreinigungen und höhermolekulare Proteine. Auf Basis dieser Ergebnisse wurde die Abfüllung unter Normalbedingungen gewählt.

15 Beispiel 2: Studie zur Stabilität mit 3 verschiedenen Antioxidantien

- Die Lösung wurde, wie in Beispiel 1 beschrieben, hergestellt. Zusätzlich zwischen der Zugabe von Glycerol 85 % und m-Cresol die Antioxidantien Methionin oder Glutathion oder Ascorbinsäure zur Formulierung dazugegeben, um den Gehalt des oxidativen Nebenprodukts zu verringern. Die Formulierungen, die entweder Glutathion (0,183 mg/ml) oder Ascorbinsäure (0,105 mg/ml) enthielten zeigten bereits nach 3 Monat Lagerung eine deutliche Verfärbung. Die Methionin (0,089 mg/ml) enthaltende Formulierung zeigte keinerlei Verfärbungen und war nach 1 Monat Lagerung bei 5° C stabil.

25 Gehalt SAR161271

1 M + 5° C: 3.43 mg/ml

1 M + 25° C: 3.43 mg/ml

1 M + 37° C: 3.53 mg/ml

Verunreinigungen

30 1 M + 5° C: 2.9 %

1 M + 25° C: 3.4 %

1 M + 37° C: 5.7 %

Höhermolekulare Proteine

1 M + 5° C: 0.2 %

1 M + 25° C: 0.3 %

1 M + 37° C: 1.1 %

5

Beispiel 3: Formulierung der amidierten Indulinderivate

Die Beispiele 3 bis 7 dienen nur zur Bestimmung der biologischen, pharmakologischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften von Insulinanaloga gemäß Formel I indem zunächst Formulierungen davon bereitgestellt wurden (Beispiel 3) und dann entsprechende Tests vorgenommen wurden (Beispiele 4 bis 7). Es wurde von den Verbindungen wie folgt eine Lösung hergestellt: Das erfindungsgemäße Insulinanalog wurde mit einer Zielkonzentration von $240 \pm 5 \mu\text{M}$ in 1 mM Salzsäure mit 80 $\mu\text{g/mL}$ Zink (als Zinkchlorid) aufgelöst.

Als Lösungsmedium wurden folgende Zusammensetzungen verwendet:

- a) 1 mM Salzsäure
- b) 1 mM Salzsäure, 5 $\mu\text{g/mL}$ Zink (als Zinkchlorid oder Salzsäure zugesetzt)
- c) 1 mM Salzsäure, 10 $\mu\text{g/mL}$ Zink (als Zinkchlorid oder Salzsäure zugesetzt)
- d) 1 mM Salzsäure, 15 $\mu\text{g/mL}$ Zink (als Zinkchlorid oder Salzsäure zugesetzt)
- e) 1 mM Salzsäure, 30 $\mu\text{g/mL}$ Zink (als Zinkchlorid oder Salzsäure zugesetzt)
- f) 1 mM Salzsäure, 80 $\mu\text{g/mL}$ Zink (als Zinkchlorid oder Salzsäure zugesetzt)
- g) 1 mM Salzsäure, 120 $\mu\text{g/mL}$ Zink (als Zinkchlorid oder Salzsäure zugesetzt)

25

Hierzu wurde von dem gefriergetrockneten Material zunächst eine um etwa 30% höhere Menge als aufgrund des Molekulargewichts und der angestrebten Konzentration benötigt eingewogen. Danach wurde die vorliegende Konzentration mittels analytischer HPLC bestimmt und die Lösung anschließend auf das zur Erreichung der Zielkonzentration erforderliche Volumen mit 5 mM Salzsäure mit 80 $\mu\text{g/mL}$ Zink aufgefüllt. Falls erforderlich, wurde dabei der pH-Wert auf $3,5 \pm 0,1$ nachjustiert. Nach der endgültigen Analyse durch HPLC zur Absicherung der

30

Zielkonzentration von $240 \pm 5 \mu\text{M}$ wurde die fertige Lösung mittels einer Spritze mit einem $0,2 \mu\text{m}$ Filtervorsatz in ein mit einem Septum und einer Bördeklappe verschlossenes steriles Fläschchen überführt. Für die kurzfristige, einmalige Testung der erfindungsgemäßen Insulinderivate wurde keine Optimierung der Formulierungen, z.B. hinsichtlich eines Zusatzes isotonischer Agentien, Konservierungsmittel oder Puffersubstanzen, vorgenommen.

Beispiel 4: Evaluierung der blutzuckersenkenden Wirkung von neuen Insulinanaloga in der Ratte

Die blutzuckersenkende Wirkung von ausgewählten neuen Insulinanaloga wird in männlichen, gesunden, normoglykämischen Wistarratten geprüft. Männlichen Ratten wird eine Dosis von 9 nmol/kg eines Insulinanalogons subkutan injiziert. Unmittelbar vor der Injektion des Insulinanalogons und in regelmäßigen Abständen bis zu acht Stunden nach der Injektion werden den Tieren Blutproben entnommen und darin der Blutzuckergehalt bestimmt. Das Experiment zeigt deutlich (vgl. Fig. 1), dass das eingesetzte erfindungsgemäße Insulinanalogon zu einem deutlich verzögerten Wirkeintritt und einer längeren, gleichmäßigen Wirkdauer führt.

Beispiel 5: Evaluierung der blutzuckersenkenden Wirkung von neuen Insulinanaloga im Hund

Die blutzuckersenkende Wirkung von ausgewählten neuen Insulinanaloga wird in männlichen, gesunden, normoglykämischen Beaglehunden geprüft. Männlichen Tieren wird eine Dosis von 6 nmol/kg eines Insulinanalogons subkutan injiziert. Unmittelbar vor der Injektion des Insulinanalogons und in regelmäßigen Abständen bis zu achtundvierzig Stunden nach der Injektion werden den Tieren Blutproben entnommen und darin der Blutzuckergehalt bestimmt. Das Experiment zeigt deutlich (vgl. Fig. 2), dass das eingesetzte erfindungsgemäße Insulinanalogon zu einem deutlich verzögerten Wirkeintritt und einer längeren, gleichmäßigen Wirkdauer führt.

Beispiel 6: Evaluierung der blutzuckersenkenden Wirkung am Hund bei zweifach erhöhter Dosis

- Die blutzuckersenkende Wirkung von ausgewählten neuen Insulinanaloga wird in
- 5 männlichen, gesunden, normoglykämischen Beaglehunden geprüft. Männlichen Tieren wird eine Dosis von 6 nmol/kg und 12nmol/kg eines Insulinanalogons subkutan injiziert. Unmittelbar vor der Injektion des Insulinanalogons und in regelmäßigen Abständen bis zu achtundvierzig Stunden nach der Injektion werden den Tieren Blutproben entnommen und darin der Blutzuckergehalt bestimmt.
- 10 Das Experiment zeigt deutlich (vgl. Fig. 3), dass das eingesetzte erfindungsgemäße Insulinanalogon dosisabhängig wirkt, dass aber trotz zweifach erhöhter Dosis der Wirkungsverlauf flach verläuft, d.h. kein ausgeprägter Tiefpunkt (Nadir) beobachtet wird. Daraus lässt sich ableiten, dass die erfindungsgemäßen Insuline im Vergleich zu
- 15 bekannten Verzögerungsinsulinen zu deutlich weniger hypoglykämischen Ereignissen führen.

Beispiel 7: Evaluierung der blutzuckersenkenden Wirkung am Hund bei verschiedenen Zinkkonzentrationen in der Formulierung

- 20 Die Experimente wurden, wie in Beispiel 35 beschrieben, durchgeführt. Figur 4 zeigt das Ergebnis. Danach lässt sich die Zeit – Wirkungskurve des erfindungsgemäßen Insulinanalogons durch den Gehalt an Zinkionen in der Formulierung bei gleicher Insulinkonzentration in der Weise beeinflussen, dass man bei null oder geringem Zinkgehalt einen schnellen Wirkungseintritt beobachtet und die Wirkung über 24
- 25 Stunden anhält, während bei höherem Zinkgehalt ein flacher Wirkungseintritt beobachtet wird und die Insulinwirkung deutlich länger als 24 Stunden anhält.

Beispiel 8: Formulierung der amidierten Insulinderivate

- 30 Die Beispiele 8 bis 10 dienen nur zur Bestimmung der biologischen, pharmakologischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften von Insulinanaloga gemäß Formel II indem zunächst Formulierungen davon bereitgestellt wurden

(Beispiel 8) und dann entsprechende Tests vorgenommen wurden (Beispiele 9 und 10). Das erfindungsgemäße Insulinanalog wurde mit einer Zielkonzentration von $240 \pm 5 \mu\text{M}$ in 1 mM Salzsäure mit $80 \mu\text{g/mL}$ Zink (als Zinkchlorid) aufgelöst. Hierzu wurde von dem gefriergetrockneten Material zunächst eine um etwa 30% höhere Menge als
5 aufgrund des Molekulargewichts und der angestrebten Konzentration benötigt eingewogen. Danach wurde die vorliegende Konzentration mittels analytischer HPLC bestimmt und die Lösung anschließend auf das zur Erreichung der Zielkonzentration erforderliche Volumen mit 5 mM Salzsäure mit $80 \mu\text{g/mL}$ Zink aufgefüllt. Falls erforderlich, wurde dabei der pH-Wert auf $3,5 \pm 0,1$ nachjustiert. Nach der endgültigen
10 Analyse durch HPLC zur Absicherung der Zielkonzentration von $240 \pm 5 \mu\text{M}$ wurde die fertige Lösung mittels einer Spritze mit einem $0,2 \mu\text{m}$ Filtervorsatz in ein mit einem Septum und einer Bördekkappe verschlossenes steriles Fläschchen überführt. Für die kurzfristige, einmalige Testung der erfindungsgemäßen Insulinderivate wurde keine Optimierung der Formulierungen, z.B. hinsichtlich eines Zusatzes isotonischer
15 Agentien, Konservierungsmittel oder Puffersubstanzen, vorgenommen.

Beispiel 9: Evaluierung der blutzuckersenkenden Wirkung von neuen Insulinanaloga in der Ratte

20

Die blutzuckersenkende Wirkung von ausgewählten neuen Insulinanaloga wird in männlichen, gesunden, normoglykämischen Wistarratten geprüft. Männlichen Ratten wird eine Dosis von 9 nmol/kg eines Insulinanalogons subkutan injiziert. Unmittelbar vor der Injektion des Insulinanalogons und in regelmäßigen Abständen bis zu acht
25 Stunden nach der Injektion werden den Tieren Blutproben entnommen und darin der Blutzuckergehalt bestimmt. Das Experiment zeigt deutlich (vgl. Fig. 5), dass das erfindungsgemäße Insulinanalogon zu einem deutlich verzögerten Wirkeintritt und einer längeren, gleichmäßigen Wirkdauer führt.

30

Beispiel 10: Evaluierung der blutzuckersenkenden Wirkung von neuen Insulinanaloga im Hund

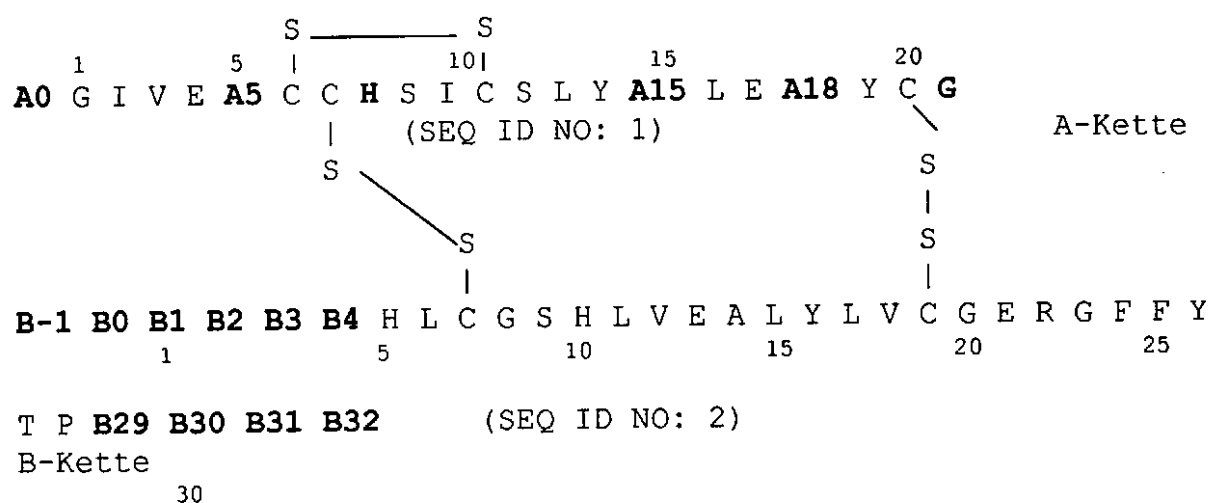
Die blutzuckersenkende Wirkung von ausgewählten neuen Insulinanaloga wird in
5 männlichen, gesunden, normoglykämischen Beaglehunden geprüft. Männlichen Tieren
wird eine Dosis von 6 nmol/kg eines Insulinanalogons subkutan injiziert. Unmittelbar
vor der Injektion des Insulinanalogons und in regelmäßigen Abständen bis zu
achtundvierzig Stunden nach der Injektion werden den Tieren Blutproben entnommen
und darin der Blutzuckergehalt bestimmt. Das Experiment zeigt deutlich, dass das
10 erfindungsgemäße Insulinanalogon zu einem deutlich verzögerten, flachen Wirkeintritt
und einer längeren, gleichmäßigen Wirkdauer führt.

Patentansprüche:

1. Wässrige pharmazeutische Formulierung enthaltend ein Insulin, ein Insulinanalogon oder ein Insulinderivat, oder ein pharmakologisch tolerierbares Salz davon, und
5 Methionin.

2. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 1, wobei das Insulin ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend menschliches Insulin, Schweine-Insulin und Insulin des Rindes.

3. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 1, wobei das Insulinanalogon ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend Gly(A21), Arg(B31), Arg(B32)-Humaninsulin, Lys(B3), Glu(B29)-Humaninsulin, Asp(B28)-Humaninsulin, Lys(B28) Pro(B29)-Humaninsulin, Des(B30)-Humaninsulin und ein Insulinanalogon der Formel I



wobei

A0 Lys oder Arg;

35 A5 Asp, Gln oder Glu;

A15 Asp, Glu oder Gln;

A18 Asp, Glu oder Asn;

B-1 Asp, Glu oder eine Aminogruppe;

5

B0 Asp, Glu oder eine chemische Bindung;

B1 Asp, Glu oder Phe;

10 B2 Asp, Glu oder Val;

B3 Asp, Glu oder Asn;

B4 Asp, Glu oder Gln;

15

B29 Lys oder einer chemischen Bindung;

B30 Thr oder einer chemischen Bindung;

20 B31 Arg, Lys oder einer chemischen Bindung;

B32 Arg-Amid, Lys-Amid oder einer Aminogruppe

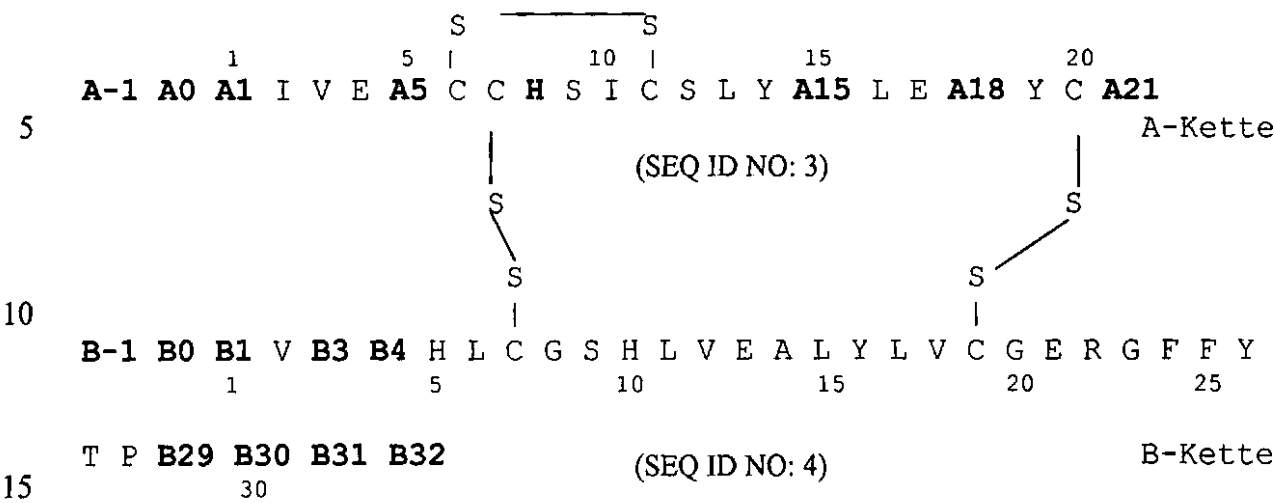
25 entspricht, wobei zwei Aminosäurereste der Gruppe enthaltend A5, A15, A18, B-1, B0, B1, B2, B3 und B4 gleichzeitig und unabhängig voneinander Asp oder Glu entsprechen.

4. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 3, bei der das Insulinanalogon ausgewählt ist aus einer Gruppe enthaltend:

30 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,

- Arg (A0), His (A8), Glu(A5), Glu (A15), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Glu (A15), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His(A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His(A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 5 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His(A8), Gly (A21), Asp (B3), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 10 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 15 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 20 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 25 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg(B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 30 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30), Arg (B31) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30), Lys (B31) – NH₂ Humaninsulin.

5. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 1, wobei das Insulinanalogon
 35 ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend ein Insulinanalogon der Formel II



wobei

- A-1 Lys, Arg oder einer Aminogruppe;
- A0 Lys, Arg oder einer chemischen Bindung;
- A1 Arg oder Gly;
- A5 Asp, Glu oder Gln;
- A15 Asp, Glu oder Gln;
- A18 Asp, Glu oder Asn;
- A21 Ala, Ser, Thr oder Gly;
- B-1 Asp, Glu oder eine Aminogruppe;
- B0 Asp, Glu oder eine chemische Bindung;
- B1 Asp, Glu, Phe oder eine chemische Bindung;

B3 Asp, Glu oder Asn;

B4 Asp, Glu oder Gln;

- 5 B29 Arg, Lys oder einer Aminosäure ausgewählt aus einer Gruppe enthaltend die Aminosäuren Phe, Ala, Thr, Ser, Val, Leu, Glu oder Asp, oder einer chemischen Bindung;

B30 Thr oder einer chemischen Bindung;

10

B31 Arg, Lys oder einer chemischen Bindung;

B32 Arg-Amid oder Lys-Amid

- 15 entspricht, wobei nicht mehr als ein Aminosäurerest der Gruppe enthaltend A5, A15, A18, B-1, B0, B1, B2, B3 und B4 gleichzeitig und unabhängig voneinander Asp oder Glu entsprechen.

6. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 5, bei der das Insulinanalogon ausgewählt ist aus einer Gruppe enthaltend:

- 20 Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 25 Arg (A-1), Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Lys (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 30 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Lys (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B30) – NH₂ Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Lys (B30) – NH₂ Humaninsulin,

- Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 5 Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 10 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂ – Humaninsulin,
 15 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 Arg (A0), Arg (A1), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 20 Arg (A0), Arg (A1), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂ – Humaninsulin,
 His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂ – Humaninsulin.

7. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 1, wobei das Insulinderivat
 ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend B29-N-myristoyl-des(B30)
 25 Humaninsulin, B29-N-palmitoyl-des(B30) Humaninsulin, B29-N-myristoyl
 Humaninsulin, B29-N-palmitoyl Humaninsulin, B28-N-myristoyl Lys^{B28}Pro^{B29}
 Humaninsulin, B28-N-palmitoyl-Lys^{B28}Pro^{B29} Humaninsulin, B30-N-myristoyl-
 Thr^{B29}Lys^{B30} Humaninsulin, B30-N-palmitoyl- Thr^{B29}Lys^{B30} Humaninsulin, B29-N-(N-
 palmitoyl-γ-glutamyl)-des(B39) Humaninsulin, B29-N-(N-lithocholyl-γ-glutamyl)-
 30 des(B30) Humaninsulin, B29-N-(ω-carboxyheptadecanoyl)-des(B30) Humaninsulin
 and B29-N-(ω-carboxyheptadecanoyl) Humaninsulin.

8. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, die
0,001 bis 0,2 mg/ml Zink,
0,1 bis 5,0 mg/ml eines Konservierungsmittels und
5 5,0 bis 100 mg/ml eines Isotonisierungsmittels enthält und
deren pH-Wert 5 oder kleiner ist.
- 9. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8
in dem ein Konservierungsmittel ausgewählt aus einer Gruppe enthaltend Phenol, m-
10 Cresol, Chlorkresol, Benzylalkohol, Parabene vorhanden ist.
10. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9, in dem ein
Isotonisierungsmittel ausgewählt aus einer Gruppe enthaltend Mannitol, Sorbitol,
Lactose, Dextrose, Trehalose, Natriumchlorid, Glycerol vorhanden ist.
15
11. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 10, mit einem
pH-Wert im Bereich von pH 2,5 – 4,5.
- 12. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 11, mit einem
20 pH-Wert im Bereich von pH 3,0 – 4,0.
13. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12, mit einem
pH-Wert im Bereich von pH 3,75.
- 25 14. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 13, wobei das
Insulin, das Insulinanalogon und/oder das Insulinderivat in einer Konzentration von 240
– 3000 nmol/ml vorliegt
15. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis
30 14, bei der Glycerol in einer Konzentration von 20 bis 30 mg/ml vorliegt.

16. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 15, bei der Glycerol in einer Konzentration von 25 mg/ml vorliegt.

5 17. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 16, bei der m-Cresol in einer Konzentration von 1 bis 3 mg/ml vorliegt.

18. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 17, bei der m-Cresol in einer Konzentration von 2 mg/ml vorliegt.

10 19. Pharmazeutische Formulierung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 18, bei der Zink in einer Konzentration 0,01 oder 0,03 oder 0,08 mg/ml vorliegt.

15 20. Pharmazeutische Formulierung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 19, bei der noch zusätzlich ein Glucagon-Like Peptide-1 (GLP1) oder ein Analogon oder Derivat davon, oder Exendin-3 bzw. -4 oder ein Analogon oder Derivat davon enthalten ist.

21. Pharmazeutische Formulierung nach Anspruch 20, bei dem zusätzlich Exendin-4 enthalten ist.

20

22. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 20, bei dem ein Analogon von Exendin-4 ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend

H-desPro³⁶-Exendin-4-Lys₆-NH₂,

H-des(Pro^{36,37})-Exendin-4-Lys₄-NH₂ und

25 H-des(Pro^{36,37})-Exendin-4-Lys₅-NH₂,

oder ein pharmakologisch tolerierbares Salz davon.

23. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 20, bei dem ein Analogon von Exendin-4 ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend

30 desPro³⁶[Asp²⁸]Exendin-4 (1-39),

desPro³⁶[IsoAsp²⁸]Exendin-4 (1-39),

desPro³⁶[Met(O)¹⁴, Asp²⁸]Exendin-4 (1-39),

desPro³⁶ [Met(O)¹⁴, IsoAsp²⁸]Exendin-4 (1-39),
desPro³⁶ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-2 (1-39),

desPro³⁶ [Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸]Exendin-2 (1-39),

- 5 desPro³⁶ [Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4 (1-39) und
desPro³⁶ [Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸]Exendin-4 (1-39),
oder ein pharmakologisch tolerierbares Salz davon.

24. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 23, bei denen an die C-Termini
10 der Analoga von Exendin-4 das Peptid -Lys₆-NH₂ angefügt ist.

25. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 20, bei dem ein Analogon von
Exendin-4 ausgewählt wird aus einer Gruppe enthaltend

- 15 H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-Lys₆-NH₂
des Asp²⁸Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ Exendin-4(1-39) -NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,
H-Asn-(Glu)₅ des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,
des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
20 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

- H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
H- des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵]Exendin-4(1-39) -NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,
25 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,
des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
30 des Met(O)¹⁴ Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ Exendin-4(1-39) -NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,
H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸] Exendin-4(1-39) -NH₂,

des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅ des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸] Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

- 5 H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
 des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵]Exendin-4(1-39) -NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39) -NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸] Exendin-4(1-39) -NH₂,
 des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 10 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]Exendin-4(1-39)-(Lys)₆-
 NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸] Exendin-4(1-39)-
 (Lys)₆-NH₂,
 oder ein pharmakologisch tolerierbares Salz davon.

15

26. Pharmazeutische Formulierung nach Anspruch 20, bei dem zusätzlich Arg³⁴, Lys²⁶
 (N^ε(γ-glutamyl(N^α-hexadecanoyl))) GLP-1 (7-37) [liraglutide] oder ein pharmakologisch
 tolerierbares Salz davon enthalten ist.

20

27. Pharmazeutische Formulierung nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis
 24, bei der Methionin im Konzentrationsbereich von bis zu 10 mg/ml vorhanden ist.

28. Pharmazeutische Formulierung nach Anspruch 25, bei der Methionin im
 Konzentrationsbereich von bis zu 3 mg/ml vorhanden ist.

25

29. Verfahren zur Herstellung einer Formulierung gemäß einem oder mehreren der
 Ansprüche 1 bis 26, bei dem

- (a) die Komponenten in eine wässrige Lösung eingebracht werden und
 (b) der pH-Wert eingestellt wird.

30

30. Verwendung einer Formulierung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis
 26 zur Behandlung von Diabetes mellitus.

31. Arzneimittel zur Behandlung von Diabetes mellitus bestehend aus einer Formulierung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 26.

Fig. 1

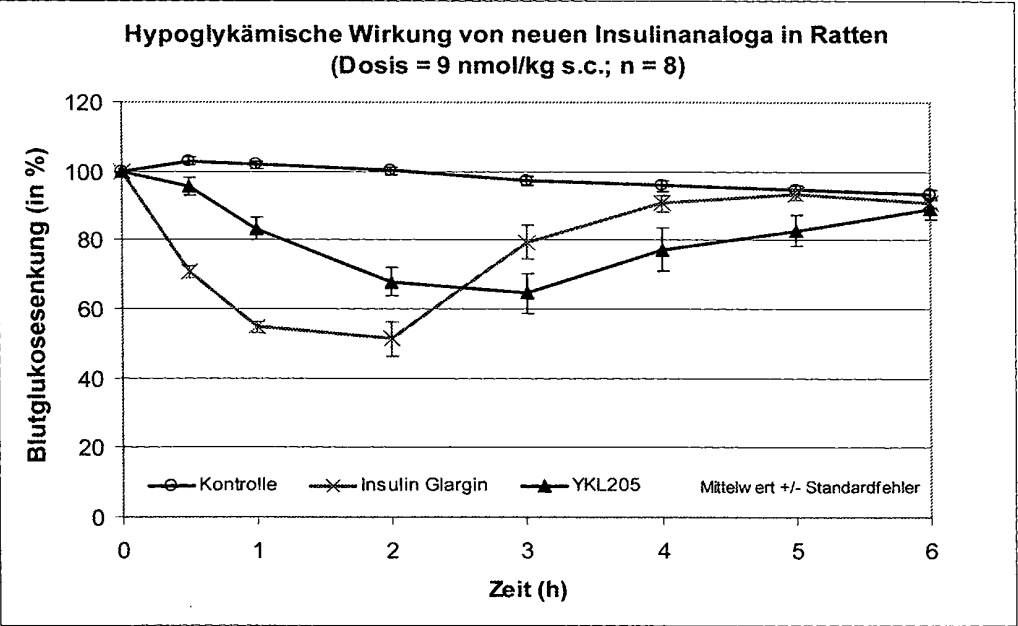


Fig. 2

5

WO 2011/003822

2/6

PCT/EP2010/059436

000051

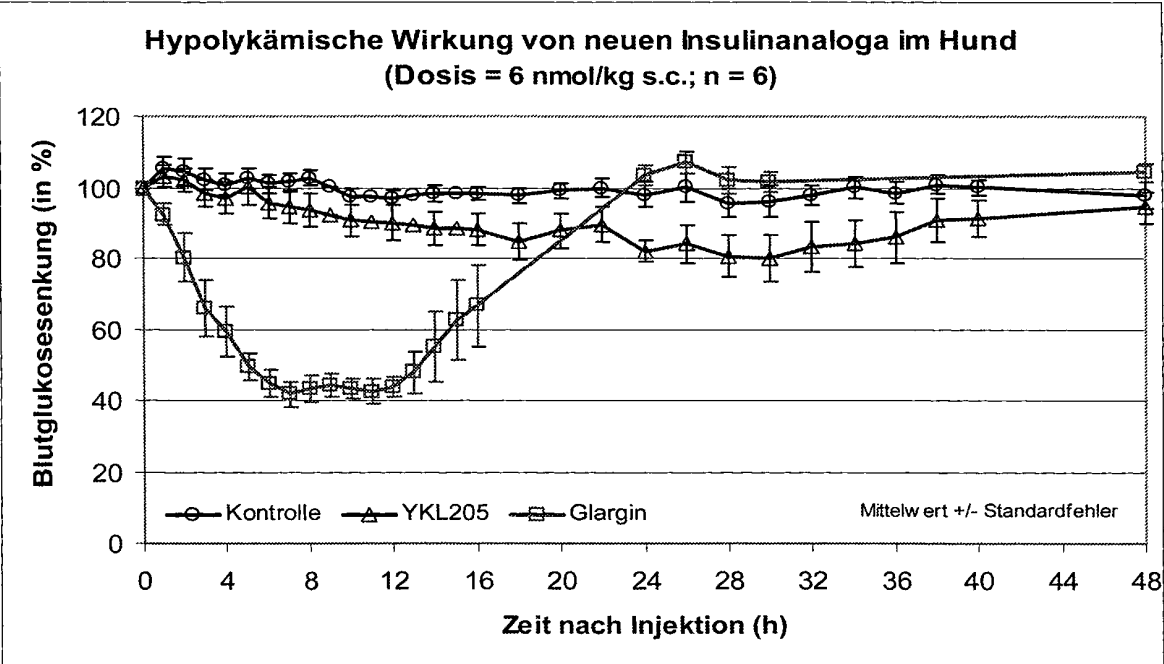


Fig. 3

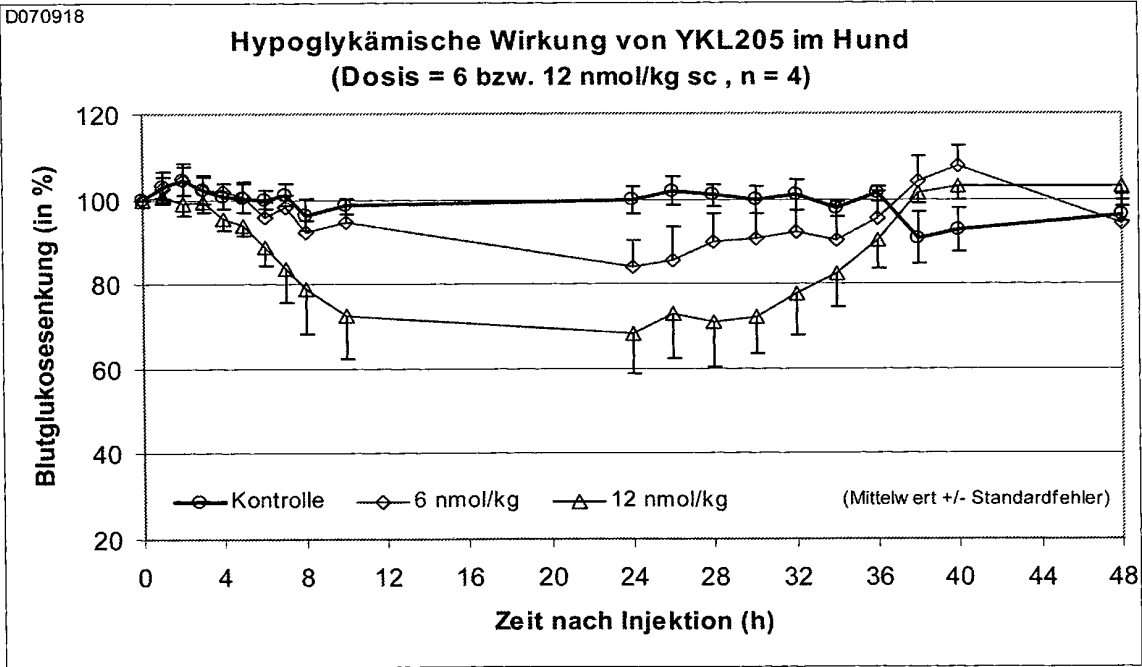


Fig. 4

Zinkabhängigkeit der hypoglykämischen Wirkung von YKL205 im Hund
(Dosis = 6 nmol/kg s.c.; n = 5-6)

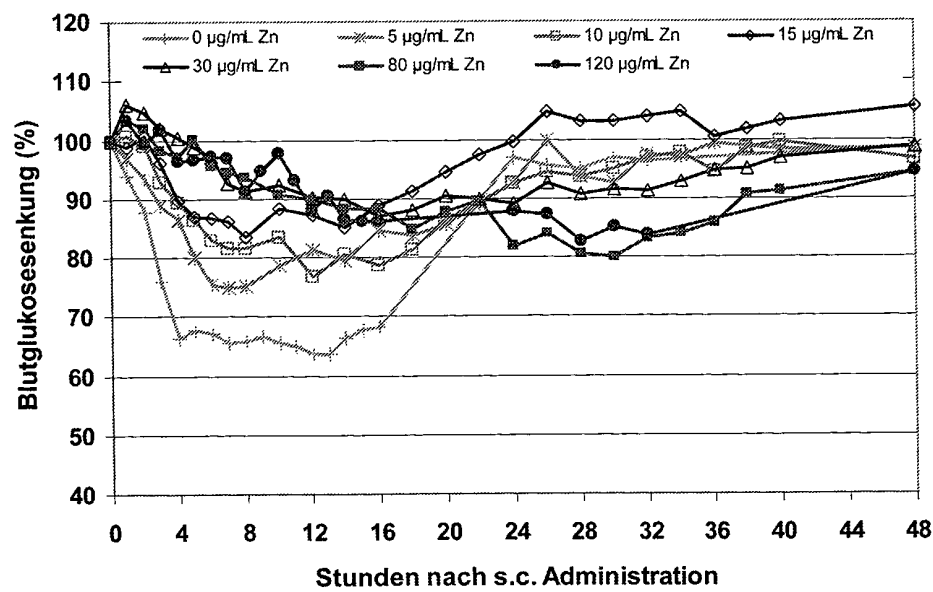


Fig. 5

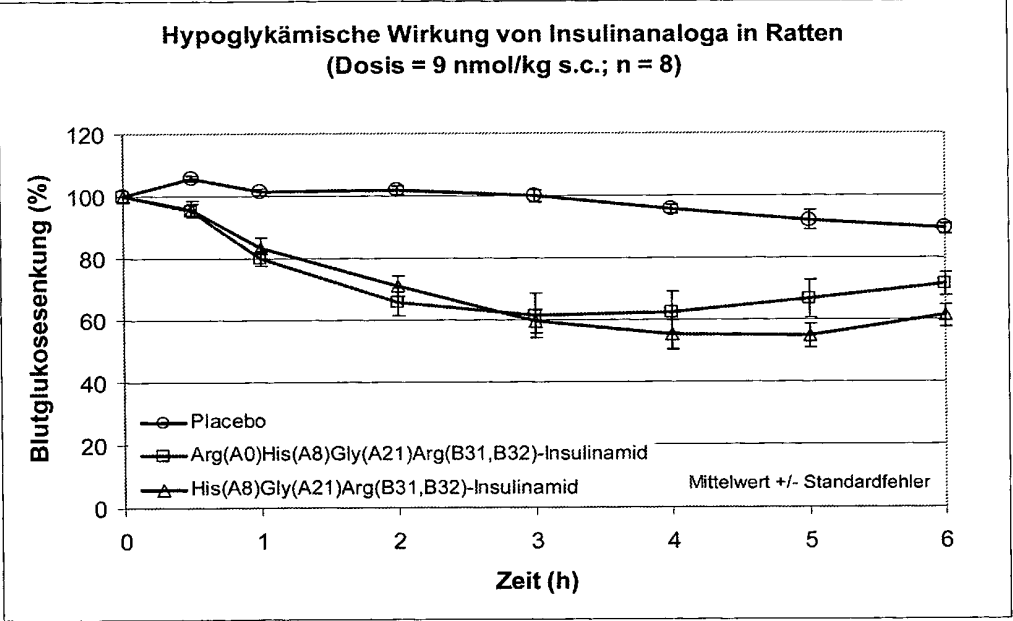
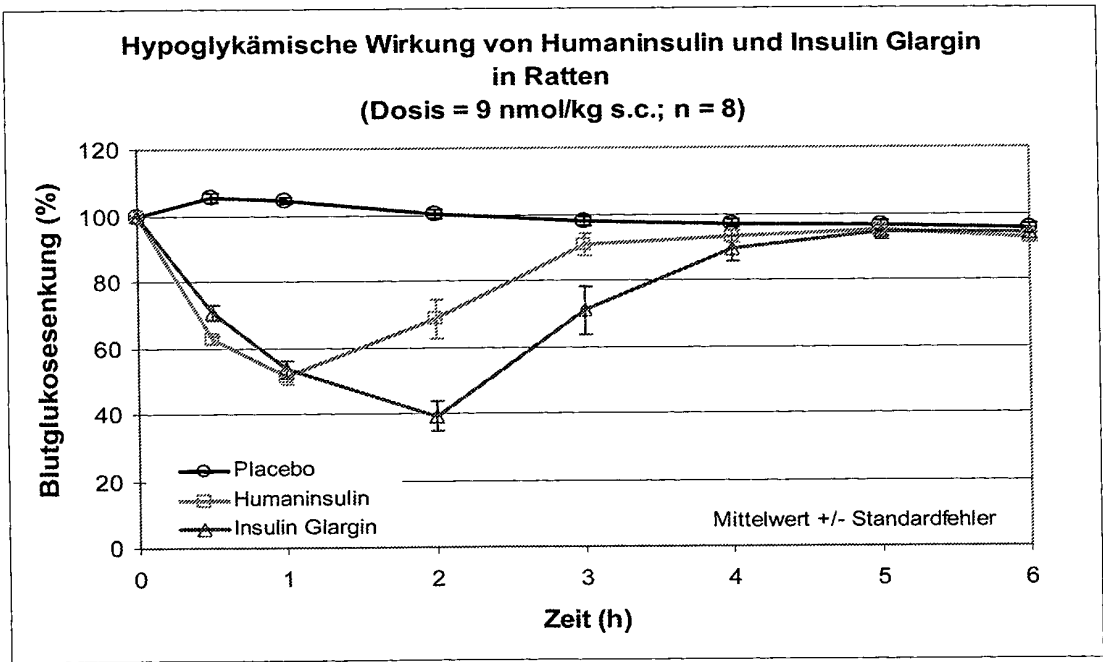


Fig. 6



Preparaciones insulínicas que comprenden metionina

La invención se refiere a una formulación farmacéutica acuosa con insulina, análogo de insulina o derivado de insulina, y metionina; y también a su preparación, al
5 uso para tratar diabetes mellitus, y a un medicamento para tratar diabetes mellitus.

Una creciente cantidad de personas en el mundo padecen de diabetes mellitus. Muchas de ellas son denominadas diabéticos de tipo I, para los cuales el reemplazo de la secreción deficiente de insulina endocrina es la única terapia posible por el momento. Los afectados dependen de inyecciones de insulina durante toda su vida,
10 usualmente varias veces por día. La diabetes de tipo II contrasta con la diabetes tipo en que no siempre hay deficiencia de insulina, pero en gran cantidad de casos, especialmente en el estadio avanzado, se considera que el tratamiento con insulina, cuando corresponde en combinación con un antidiabético oral, la forma de terapia más ventajosa. En individuos sanos, la liberación de insulina por el páncreas se acopla
15 estrictamente a la concentración sanguínea de glucosa. Los niveles elevados de glucosa sanguínea, tales como los que ocurren después de las comidas, son rápidamente compensados por un aumento correspondiente incremento de la secreción de insulina. En ayunas, el nivel de insulina plasmático desciende a un nivel de base que es suficiente para asegurar un suministro continuo de glucosa a los
20 órganos y tejidos sensibles a insulina, y para mantener baja la producción hepática de glucosa durante la noche. El reemplazo de la secreción endógena de insulina por la administración de insulina exógena, usualmente subcutánea, en general no se acerca a la calidad antes descrita de la regulación fisiológica de glucosa sanguínea. Con frecuencia hay instancias en las cuales la glucosa sanguínea se sale del cauce, ya sea
25 hacia arriba o hacia abajo, y en sus formas más severas, esto puede poner en peligro la vida. Sin embargo, los niveles de glucosa en sangre que han estado elevados durante muchos años, sin síntomas iniciales, exógena, también constituyen un considerable riesgo para la salud. El estudio DCCT a gran escala en los EE.UU. (The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (1993) N. Engl. J. Med. 329,
30 977-986) demostró sin ambigüedades que los niveles crónicamente elevados de glucosa en sangre son responsables del desarrollo de complicaciones diabéticas tardías. Las complicaciones diabéticas tardías son daños micro y macrovasculares que se manifiestan en ciertas circunstancias, tales como retinopatía, nefropatía o neuropatía y conducen a ceguera, insuficiencia renal y pérdida de extremidades, y,
35 además, se asocian con aumento del riesgo de trastornos cardiovasculares. De esto

se puede inferir que una terapéutica mejorada de la diabetes debe estar dirigida principalmente a mantener la glucosa sanguínea tan cerca como sea posible dentro del rango fisiológico. De acuerdo con el concepto de terapia intensificada de insulina, se debe lograr mediante inyecciones, varias veces por día, de preparaciones de insulina de acción rápida y de acción lenta. Las formulaciones de acción rápida se dan a las horas de las comidas para compensar el aumento posprandial en la glucosa en sangre. Se desea que las insulinas basales de acción lenta aseguren el suministro básico de insulina especialmente durante la noche sin conducir a hipoglucemia.

La insulina es un polipéptido compuesto de 51 aminoácidos divididos en dos cadenas de aminoácidos: la cadena A, con 21 aminoácidos y la cadena B, con 30 aminoácidos. Las cadenas se unen entre sí por dos puentes disulfuro. Las preparaciones de insulina se han empleado en la terapia de diabetes durante muchos años. Dichas preparaciones no sólo usan insulinas que se encuentran en la naturaleza, sino también, más recientemente, derivados de insulina y análogos de insulina.

Los análogos de insulina son análogos de las insulinas que se encuentran en la naturaleza, a saber la insulina humana o las insulinas animales, las cuales difieren por el reemplazo de al menos un residuo de aminoácido que se encuentra en la naturaleza por otro aminoácido y/o la adición/eliminación de al menos un residuo de aminoácido proveniente de la insulina correspondiente que se encuentra en la naturaleza, de otro modo idéntica. Los aminoácidos en cuestión también pueden ser aminoácidos que no se encuentran en la naturaleza.

Los derivados de insulina son derivados de insulina o un análogo de insulina existentes en la naturaleza, los cuales se obtienen por modificación química. La modificación química puede consistir, por ejemplo, en la adición de uno o más grupos químicos definidos y de uno o más aminoácidos. En general, la actividad de los derivados de insulina y los análogos de insulina se ve alterada en parte, respecto de la insulina humana.

Los análogos de insulina con un inicio acelerado de acción se describen en los documentos EP 0 214 826, EP 0 375 437, y EP 0 678 522. El documento EP 0 124 826 se refiere, entre otras cuestiones, a los reemplazos de B27 y B28. El documento EP 0 678 522 describe análogos de insulina que tienen diferentes aminoácidos en la posición B29, con preferencia prolina, pero no ácido glutámico.

El documento EP 0 375 437 abarca análogos de insulina con lisina o arginina en B28, los cuales opcionalmente también pueden estar modificados en B3 y/o A21.

El documento EP 0 419 504 describe análogos de insulina que están protegidos contra las modificaciones químicas por la modificación de asparagina en B3 y de al menos otro aminoácido en las posiciones A5, A15, A18 o A21.

En general, la actividad de los derivados de insulina y los análogos de insulina se ve alterada en parte, respecto de la insulina humana.

El documento WO 92/00321 describe análogos de insulina en los cuales al menos un aminoácido en las posiciones B1-B6 ha sido reemplazado por lisina o arginina. Dichas insulinas, de acuerdo con el documento WO 92/00321, tienen efecto prolongado. También se exhibe un efecto retardado con los análogos de insulina descritos en el documento EP-A0 368 187. El concepto de la terapia con insulina intensificada intenta disminuir el riesgo para la salud tratando lograr un control estable del nivel de glucosa en sangre mediante la administración temprana de insulinas basales. Un ejemplo de una insulina basal actual es el medicamento Lantus® (ingrediente activo: insulina glargina = Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) insulina humana). En general, el objeto en el desarrollo de nuevas insulinas basales mejoradas consiste en minimizar la cantidad de eventos hipoglucémicos. Una insulina basal ideal actúa de forma segura en cada paciente durante al menos 24 horas. De forma ideal, el inicio del efecto de la insulina se retrasa y tiene un perfil de tiempo/actividad bastante plano, con lo cual se minimiza significativamente el riesgo de un suministro inferior a corto plazo de azúcar y permite la administración incluso sin haber ingerido antes alimentos. Existe un buen suministro de insulina basal cuando el efecto de la insulina persiste al mismo nivel el mayor tiempo posible, es decir el cuerpo es abastecido con una cantidad constante de insulina. Como resultado, el riesgo de eventos hipoglucémicos es bajo y se minimiza la variabilidad específica del paciente y específica del día. Así, el perfil farmacocinético de una insulina basal ideal debería caracterizarse por una aparición retardada de la acción y por una acción retardada, es decir prolongada y uniforme.

Las preparaciones de insulina a partir de insulinas que se encuentran en la naturaleza para el reemplazo de insulina, que se encuentran en el mercado difieren en el origen de la insulina (por ejemplo, insulina bovina, porcina, humana) y también en su composición, por lo que el perfil de acción puede estar influenciado por ello (inicio de acción y duración de acción). Por medio de la combinación de diferentes productos insulínicos, es posible obtener cualquiera de una amplia variedad de perfiles de actividad y obtener valores de azúcar en sangre fisiológicos muy grandes. Actualmente, la tecnología de ADN recombinante permite la preparación de insulinas

modificadas de este tipo. Estas incluyen la insulina glargina (insulina humana Gly(A21)-Arg(B31)-Arg(B32)), con duración de acción prolongada. La insulina glargina se inyecta como solución ácida límpida y, debido a sus propiedades solución en el rango de pH fisiológico del tejido subcutáneo, precipita como asociado hexámero estable. La insulina glargina se inyecta una vez por día y es notable respecto de las demás insulinas de actividad prolongada por su perfil sérico plano y la reducción asociada del riesgo de hipoglucemias nocturnas (Schubert-Zsilavec et al., 2:125-130(2001)). Contrariamente a las preparaciones descritas hasta la fecha, la preparación específica de la insulina glargina que lleva a una duración de la acción prolongada se caracteriza por una solución clara con un pH ácido. Sin embargo, con un pH ácido, las insulinas exhiben una reducida estabilidad y una mayor tendencia por la agregación bajo carga térmica y fisicomecánica, que se puede manifestar en forma de neblina y precipitación (formación de partículas) (Brange et al., J. Ph. Sci 86:517-525 (1997)).

Se halló que estos análogos de insulina llevan al perfil basal deseado de tiempo/actividad cuando los análogos de insulina se caracterizan por las características en las que

- el extremo de la cadena B se compone de un residuo de aminoácido básico amidado como amida de lisina o arginina, es decir, en el residuo de aminoácido básico amidado en el extremo de la cadena B, el grupo carboxilo del aminoácido terminal está en su forma amidada y
- el residuo de aminoácido N-terminal de la cadena A de la insulina es un residuo lisina o arginina, y
- la posición A8 del aminoácido está ocupada por un residuo histidina, y
- la posición A21 del aminoácido está ocupada por un residuo glicina, y
- ha habido dos sustituciones de aminoácidos neutros por aminoácidos de carácter ácido, dos adiciones de residuos aminoácidos negativamente cargados o una sustitución de este tipo y una adición de este tipo, respectivamente en las posiciones A5, A15, A18, B-1, B0, B1, B2, B3 y B4.

Es común a todas las formulaciones acuosas de insulinas, análogos de insulina y derivados insulínicos que las proteínas establecidas no son químicamente estables por completo, pero, por el contrario, en función del tiempo, la temperatura de almacenamiento y el movimiento al que se somete la formulación y mucho más, hay un rango de procesos moleculares que se pueden producir, lo cual afecta las insulinas, análogos de insulina y derivados insulínicos que son nocivos para la calidad de la

Ahora se halló, sorprendentemente, que la adición del aminoácido metionina a las formulaciones de insulinas, análogos de insulina y derivados insulínicos lleva a una mejor estabilidad en la parte de estas proteínas.

Otro objeto de la invención es también una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, estando seleccionada la insulina de un grupo que contiene insulina humana, insulina porcina e insulina bovina.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, estando seleccionado el análogo de insulina del grupo que contiene insulina humana Gly(A21), Arg(B31), Arg(B32), insulina humana Lys(B3), Glu(B29), insulina humana Asp(B28), insulina humana Lys(B28) Pro(B29), insulina humana Des(B30) y un análogo de insulina de la fórmula I



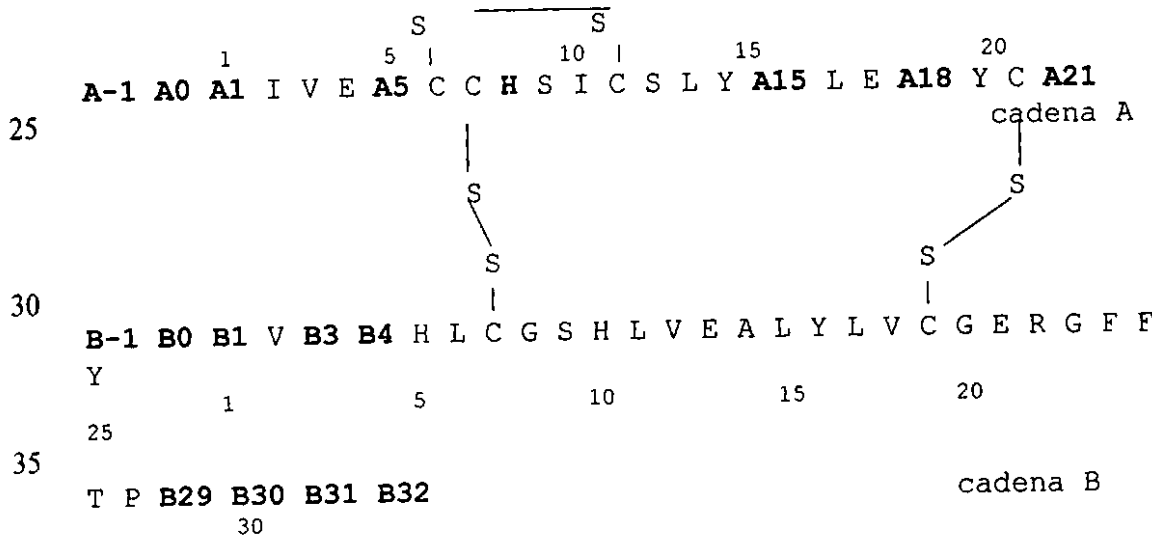
A0	es Lys o Arg;
40 A5	es Asp, Gln o Glu;
A15	es Asp, Glu o Gln;

- A18 es Asp, Glu o Asn;
 B-1 es Asp, Glu o un grupo amino;
 B0 es Asp, Glu o un enlace químico;
 B1 es Asp, Glu o Phe;
 5 B2 es Asp, Glu o Val;
 B3 es Asp, Glu o Asn;
 B4 es Asp, Glu o Gln;
 B29 es Lys o un enlace químico;
 B30 es Thr o un enlace químico;
 10 B31 es Arg, Lys o un enlace químico;
 B32 es Arg-amida, Lys-amida o un grupo amino,
 donde dos residuos de aminoácidos del grupo que contiene A5, A15, A18, B-1, B0, B1, B2, B3 y B4, de modo simultáneo e independiente entre sí, son Asp o Glu, en particular en donde el análogo de insulina está seleccionado de un grupo que
 15 contiene:
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 20 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Glu (A15), Gly (A21), Arg (B31), Arg
 25 (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Glu (A15), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 30 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys
 35 (B32) – NH₂,

- insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 5 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32)
 10 – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 15 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 20 (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 25 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 30 (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 35 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32)

- NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30), Lys (B31) – NH₂.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, estando seleccionado el análogo de insulina de un grupo que contiene un análogo de insulina de la fórmula II



donde
A-1 es Lys, Arg o un grupo amino;

- A0 es Lys, Arg o un enlace químico;
 A1 es Arg o Gly;
 A5 es Asp, Glu o Gln;
 A15 es Asp, Glu o Gln;
 5 A18 es Asp, Glu o Asn;
 A21 es Ala, Ser, Thr o Gly;
 B-1 es Asp, Glu o un grupo amino;
 B0 es Asp, Glu o un enlace químico;
 B1 es Asp, Glu, Phe o un enlace químico;
 10 B3 es Asp, Glu o Asn;
 B4 es Asp, Glu o Gln;
 B29 es Arg, Lys o un aminoácido seleccionado del grupo que contiene los aminoácidos Phe, Ala, Thr, Ser, Val, Leu, Glu o Asp, o un enlace químico;
 B30 es Thr o un enlace químico;
 15 B31 es Arg, Lys o un enlace químico;
 B32 es Arg-amida o Lys-amida,
 donde no más de un residuo de aminoácido del grupo que contiene A5, A15, A18, B-1, B0, B1, B2, B3 y B4, de modo simultáneo e independiente entre sí, es Asp o Glu, en particular en donde el análogo de insulina está seleccionado de un grupo que
 20 contiene:
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂,
 25 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30) – NH₂,
 30 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 35 insulina humana Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,

- insulina humana Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 5 insulina humana Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 10 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 15 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), Arg (A1), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), Arg (A1), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂.

- Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se
 20 describió con anterioridad, estando seleccionado el derivado insulínico del grupo que
 contiene insulina humana B29-N-miristoil-des(B30), insulina humana B29-N-palmitoil-
 des(B30), insulina humana B29-N-miristoil, insulina humana B29-N-palmitoil, insulina
 humana B28-N-miristoil Lys^{B28}Pro^{B29}, insulina humana B28-N-palmitoil-Lys^{B28}Pro^{B29},
 insulina humana B30-N-miristoil-Thr^{B29}Lys^{B30}, insulina humana B30-N-palmitoil-
 25 Thr^{B29}Lys^{B30}, insulina humana B29-N-(N-palmitoil-Y-glutamil)-des(B39), insulina
 humana B29-N-(N-litocolil-Y-glutamil)-des(B30), insulina humana B29-N-(ω-carboxiheptadecanoil)-des(B30) e insulina humana B29-N-(ω-carboxiheptadecanoil).

- Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se
 describió con anterioridad, que comprende
 30 0,001 a 0,2 mg/ml de zinc,
 0,1 a 5,0 mg/ml de un conservante y
 5,0 a 100 mg/ml de un agente isotónico y
 que tiene un pH de 5 o menor.

- Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se
 35 describió con anterioridad, que comprende un conservante seleccionado del grupo que

contiene fenol, m-cresol, clorocresol, alcohol bencílico y parabenos.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, que comprende un agente isotónico seleccionado de un grupo que contiene manitol, sorbitol, lactosa, dextrosa, trehalosa, cloruro de sodio y glicerol.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, que tiene un pH en el intervalo de pH 2,5 – 4,5, preferentemente pH 3,0 – 4,0, con mayor preferencia, en el intervalo de pH 3,75.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, estando presentes la insulina, el análogo de insulina y/o el derivado insulínico en una concentración de 240 – 3000 nmol/ml.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, que comprende glicerol en una concentración de 20 a 30 mg/ml.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, que comprende glicerol en una concentración de 25 mg/ml.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, que comprende m-cresol en una concentración de 1 a 3 mg/ml, con preferencia 2 mg/ml.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, que comprende zinc en una concentración de 0,01 ó 0,03 ó 0,08 mg/ml.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, que comprende también un péptido-1 tipo glucagón (GLP1) o uno de sus análogos o derivados, o exendina-3 y/o -4 o uno de sus análogos o derivados, con preferencia exendina-4.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, en donde un análogo de exendina-4 está seleccionado de un grupo que contiene

H-desPro³⁶-exendina-4-Lys₆-NH₂,
H-des(Pro^{36,37})-exendina-4-Lys₄-NH₂ y
H-des(Pro^{36,37})-exendina-4-Lys₅-NH₂,

o una de sus sales farmacológicamente tolerables, o en donde un análogo de exendina-4 está seleccionado del grupo que contiene

desPro³⁶[Asp²⁸]exendina-4 (1-39),

- desPro³⁶ [IsoAsp²⁸]exendina-4 (1-39),
 desPro³⁶ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4 (1-39),
 desPro³⁶ [Met(O)¹⁴, IsoAsp²⁸]exendina-4 (1-39),
 desPro³⁶ [Trp(O²)₂₅, Asp²⁸]exendina-2 (1-39),
 5 desPro³⁶ [Trp(O²)₂₅, IsoAsp²⁸]exendina-2 (1-39),
 desPro³⁶ [Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4 (1-39) y
 desPro³⁶ [Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸]exendina-4 (1-39)
 o una sal farmacológicamente tolerable de los mismos.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se
 10 describió con anterioridad, en donde el péptido Lys₆-NH₂ está unido con los extremos
 C de los análogos de exendina-4.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se
 describió con anterioridad, en donde un análogo de exendina-4 está seleccionado del
 grupo que contiene

- 15 H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂
 des Asp²⁸Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ exendina-4(1-39) -NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅ des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 20 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
 H- des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵]exendina-4(1-39)-NH₂,
 H- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 25 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
 30 des Met(O)¹⁴ Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ exendina-4(1-39)-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
 35 H-Asn-(Glu)₅ des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,

- H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
 des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵]exendina-4(1-39)-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 5 des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-
 NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-
 (Lys)₆-NH₂,
 10 o una sal farmacológicamente tolerable de los mismos.

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, que también comprende Arg³⁴, Lys²⁶ (N^ε(γ-glutamil(N^α-hexadecanoil))) GLP-1 (7-37) [liraglutida] o una de sus sales farmacológicamente tolerables.

- 15 Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica tal como se describió con anterioridad, que comprende metionina en un intervalo de concentración de hasta 10 mg/ml, con preferencia de hasta 3 mg/ml.

Otro objeto de la invención es un proceso para preparar una formulación tal como se describió con anterioridad, que comprende

- 20 (a) la introducción de los componentes en una solución acuosa y
 (b) el ajuste del pH.

Otro objeto de la invención es el uso de una formulación tal como se describió con anterioridad para tratar diabetes mellitus.

- 25 Otro objeto de la invención es un medicamento para tratar diabetes mellitus, compuesto por una formulación tal como se describió con anterioridad.

En lo que sigue se describe la solicitud con ayuda de algunos ejemplos que no tienen ningún efecto restrictivo.

Leyendas de las figuras:

- 30 Fig. 1: efecto reductor del azúcar en sangre de nuevos análogos de insulina de la fórmula I en ratas
 Fig. 2: efecto reductor del azúcar en sangre de nuevos análogos de insulina de la fórmula I en perros
 Fig. 3: efecto reductor del azúcar en sangre de YKL205 en perros
 35 Fig. 4: dependencia de zinc del efecto hipoglucémico de YKL205 en perros

Fig. 5: efecto reductor del azúcar en sangre de análogos de insulina de la invención de la fórmula II en ratas

Fig. 6: efecto reductor del azúcar en sangre de insulina glargina en ratas

5 Ejemplos:

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar el concepto de la invención, sin tener ningún efecto restrictivo.

10 Ejemplo 1: Estudios acerca del dispendio de la solución usando nitrógeno, oxígeno y dispendio en condiciones estándar

La solución se prepara introduciendo aprox. 25% de HCl 0,1 M y añadiendo 0,2% de solución madre de Polisorbato 20. A continuación, se añaden y se agitan SAR161271 y la solución madre de cloruro de zinc. Al añadir HCl 1 M a un pH de 2 se disuelve SAR161271. La solución se agita y luego se añade NaOH 1 M para ajustar el pH a 4,0. Se usa agua con grado de inyección para lograr un 90% del tamaño del lote. Luego se añaden a esta solución bajo agitación glicerol al 85% y m-cresol. Se usa agua para fines de inyección para preparar el peso final deseado. La solución se filtra usando un añadido filtrante en una jeringa. El lote se dividió en tres: desgasificado (como referencia), gasificado con nitrógeno y gasificado con oxígeno (como un control positivo). La gsficación tuvo lugar cubriendo con gas en cuestión.

Sin tratar

Contenido en SAR161271

	1 M + 5 °C: 3,67 mg/ml
25	1 M + 25 °C: 3,46 mg/ml
	1 M + 37 °C: 3,41 mg/ml

Impurezas

	1 M + 5 °C: 3,0 %
	1 M + 25 °C: 3,6%
30	1 M + 37 °C: 5,6%

Proteínas de alta masa molecular

	1 M + 5 °C: 0,2%
	1 M + 25 °C: 0,3%
	1 M + 37 °C: 1,4%

35 Tratado con nitrógeno

	Contenido en SAR161271
	1 M + 5 °C: 3,73 mg/ml
	1 M + 25 °C: 3,50 mg/ml
	1 M + 37 °C: 3,35 mg/ml
5	Impurezas
	1 M + 5 °C: 3,1%
	1 M + 25 °C: 3,5%
	1 M + 37 °C: 5,2%
	Proteínas de alta masa molecular
10	1 M + 5 °C: 0,2%
	1 M + 25 °C: 0,3%
	1 M + 37 °C: 1,2%
	Tratado con oxígeno
	Contenido en SAR161271
15	1 M + 5 °C: 3,54 mg/ml
	1 M + 25 °C: 3,34 mg/ml
	1 M + 37 °C: 3,26 mg/ml
	Impurezas
	1 M + 5 °C: 3,2%
20	1 M + 25 °C: 3,9%
	1 M + 37 °C: 7,2%
	Proteínas de alta masa molecular
	1 M + 5 °C: 0,2%
	1 M + 25 °C: 0,5 %
25	1 M + 37 °C: 2,9%

En caso del dispendio usando nitrógeno, no había una reducción distinta en impurezas después de 1 mes en comparación con la muestra no tratada. En el caso del dispendio usando oxígeno, eran obvias impurezas ligeramente más grandes y proteínas de alta masa molecular. Sobre la base de estos resultados, se seleccionó el dispendio en condiciones estándar.

Ejemplo 2: Estudio de la estabilidad con 3 diferentes antioxidantes

La solución se preparó tal como se describió en el Ejemplo 1. Además, entre la adición de glicerol al 85% y m-cresol, se añadieron los antioxidantes metionina o

glutación o ácido ascórbico a la formulación a fin de reducir el nivel de subproducto oxidativo. Las formulaciones que contenían glutación (0,183 mg/ml) o ácido ascórbico (0,105 mg/ml) mostraron una distinta decoloración justamente después de 3 meses de almacenamiento. La formulación que contenía metionina (0,089 mg/ml) no mostró una decoloración y era estable después de 1 mes de almacenamiento a 5 °C.

Contenido en SAR161271

1 M + 5 °C: 3,43 mg/ml
1 M + 25 °C: 3,43 mg/ml
1 M + 37 °C: 3,53 mg/ml

10 Impurezas

1 M + 5 °C: 2,9%
1 M + 25 °C: 3,4%
1 M + 37 °C: 5,7%

Proteínas de alta masa molecular

15 1 M + 5 °C: 0,2%
1 M + 25 °C: 0,3%
1 M + 37 °C: 1,1%

Ejemplo 3: Formulación de derivados insulínicos amidados

20

Los Ejemplos 3 a 7 sirven sólo para la determinación de las propiedades biológicas, farmacológicas y fisicoquímicas de los análogos de insulina de la fórmula I, incluyendo primero la provisión de sus formulaciones (Ejemplo 3) y luego la realización de las pruebas correspondientes (Ejemplos 4 a 7). Una solución con los compuestos se preparó de la siguiente manera: el análogo de insulina de la invención se disolvió con una concentración blanco de 240 - 5 µM en 1 mM de ácido clorhídrico con 80 µg/ml de zinc (como cloruro de zinc).

Las composiciones usadas como medio de disolución eran las siguientes:

- a) ácido clorhídrico 1 mM
- 30 b) ácido clorhídrico 1 mM, 5 µg/mL de zinc (añadido en forma de cloruro de zinc o ácido clorhídrico)
- c) ácido clorhídrico 1 mM, 10 µg/mL de zinc (añadido en forma de cloruro de zinc o ácido clorhídrico)
- d) ácido clorhídrico 1 mM, 15 µg/mL de zinc (añadido en forma de cloruro de zinc o
- 35 ácido clorhídrico)

e) ácido clorhídrico 1 mM, 30 µg/mL de zinc (añadido en forma de cloruro de zinc o ácido clorhídrico)

f) ácido clorhídrico 1 mM, 80 µg/mL de zinc (añadido en forma de cloruro de zinc o ácido clorhídrico)

5 g) ácido clorhídrico 1 mM, 120 µg/mL de zinc (añadido en forma de cloruro de zinc o ácido clorhídrico)

Para este fin, se pesó inicialmente la cantidad del material liofilizado superior a aprox. el 30% que la cantidad necesaria sobre la base del peso molecular y la concentración blanco. La concentración presente se determinó luego mediante HPLC
10 analítica y, subsiguientemente, la solución se completó hasta el volumen necesario para lograr la concentración diana con ácido clorhídrico 5 mM con 80 µg/mL de zinc. Si es necesario, el pH se reajustó a 3,5 - 0,1. Después del análisis final mediante HPLC para verificar la concentración diana de 240 ± 5 µM, la solución acabada se transfirió por medio de una jeringa con un accesorio de filtro de 0,2 µm a un vial estéril el cual
15 se cerró con un tabique y un tapón ondulado. No se llevó a cabo optimización alguna de las formulaciones, p. ej., en relación con la adición de agentes isotónicos, conservantes o sustancias tampón para el ensayo sencillo a corto plazo de los derivados de insulina de la invención.

20 Ejemplo 4: Evaluación de la acción reductora de azúcar en sangre de nuevos análogos de insulina en ratas

El efecto reductor de glucosa en sangre de nuevos análogos de insulina seleccionados se testa en ratas Wistar machos sanas normoglucémicas. Las ratas
25 macho reciben una inyección subcutánea de una dosis de 9 nmol/kg de un análogo de insulina. Inmediatamente antes de la inyección del análogo de insulina y a intervalos regulares durante hasta ocho horas después de la inyección, se extraen muestras de sangre de los animales, y se determina su contenido de azúcar en sangre. El experimento muestra claramente (comp. fig. 1) que el análogo de insulina de la
30 invención empelado lleva a un inicio de la acción significativamente retardado y a una duración de la acción más larga y uniforme.

Ejemplo 5: Evaluación de la acción reductora de azúcar en sangre de nuevos análogos de insulina en perros

35

El efecto reductor de glucosa en sangre de nuevos análogos de insulina seleccionados se testa en perros beagle machos sanos normoglucémicos. Los animales macho reciben una inyección subcutánea de una dosis de 6 nmol/kg de un análogo de insulina. Inmediatamente antes de la inyección del análogo de insulina y a intervalos regulares durante hasta cuarenta y ocho horas después de la inyección, se extraen muestras de sangre de los animales, y se determina su contenido de azúcar en sangre. El experimento muestra claramente (véase la fig. 2) que el análogo de insulina de la invención empleado conduce a una aparición claramente retardada de la acción y a una duración de la acción uniforme y mayor.

10

Ejemplo 6: Evaluación de la acción reductora del azúcar en sangre en perros con una dosis dos veces mayor

El efecto reductor de glucosa en sangre de nuevos análogos de insulina seleccionados se testa en perros beagle machos sanos normoglucémicos. Los animales macho reciben una inyección subcutánea de una dosis de 6 nmol/kg y 12 nmol/kg de un análogo de insulina. Inmediatamente antes de la inyección del análogo de insulina y a intervalos regulares durante hasta cuarenta y ocho horas después de la inyección, se extraen muestras de sangre de los animales, y se determina su contenido de azúcar en sangre. El experimento muestra claramente (véase la fig. 3) que el análogo de insulina de la invención empleado tiene un efecto dependiente de la dosis, pero que, a pesar de haberse incrementado la dosis dos veces, el perfil de acción es plano, es decir, no se observa punto bajo (nadir) pronunciado alguno. De ello, se puede inferir que las insulinas de la invención, en comparación con las insulinas retardadas conocidas, llevan a eventos hipoglucémicos significativamente menores.

25

Ejemplo 7: Evaluación del efecto reductor del azúcar en sangre en perros con diferentes concentraciones de zinc en la formulación

30

Los experimentos se llevaron a cabo como se describe en el Ejemplo 35. La figura 4 muestra el resultado. De acuerdo con ello, la curva de efecto-tiempo del análogo de insulina de la invención puede verse influenciada por el contenido en iones zinc en la formulación con la misma concentración de insulina, de tal modo que se observa una rápida aparición de la acción con un contenido de zinc cero o bajo, y el

35

efecto se mantiene durante 24 horas, mientras que se observa una aparición gradual de la acción con un contenido de zinc más alto, y el efecto de la insulina se mantiene claramente durante más de 24 horas.

5 Ejemplo 8: Formulación de derivados insulínicos amidados

Los Ejemplos 8 a 10 sirven sólo para la determinación de las propiedades biológicas, farmacológicas y fisicoquímicas de los análogos de insulina de la fórmula I, incluyendo primero la provisión de sus formulaciones (Ejemplo 8) y luego la realización de las pruebas correspondientes (Ejemplos 9 y 10). El análogo de insulina de la invención se disolvió con una concentración diana de $240 \pm 5 \mu\text{M}$ en ácido clorhídrico 1 mM con 80 $\mu\text{g/mL}$ de zinc (como cloruro de zinc). Para este fin, se pesó inicialmente la cantidad del material liofilizado superior a aprox. el 30% que la cantidad necesaria sobre la base del peso molecular y la concentración diana. La concentración presente se determinó luego mediante HPLC analítica y, subsiguientemente, la solución se completó hasta el volumen necesario para lograr la concentración diana con ácido clorhídrico 5 mM con 80 $\mu\text{g/mL}$ de zinc. Si es necesario, el pH se reajustó a $3,5 \pm 0,1$. Después del análisis final mediante HPLC para verificar la concentración diana de $240 \pm 5 \mu\text{M}$, la solución acabada se transfirió por medio de una jeringa con un accesorio de filtro de 0,2 μm a un vial estéril el cual se cerró con un tabique y un tapón ondulado. No se llevó a cabo optimización alguna de las formulaciones, p. ej., en relación con la adición de agentes isotónicos, conservantes o sustancias tampón para el ensayo sencillo a corto plazo de los derivados de insulina de la invención.

25 Ejemplo 9: Evaluación de la acción reductora de azúcar en sangre de nuevos análogos de insulina en ratas

El efecto reductor de glucosa en sangre de nuevos análogos de insulina seleccionados se testa en ratas Wistar machos sanas normoglucémicas. Las ratas macho reciben una inyección subcutánea de una dosis de 9 nmol/kg de un análogo de insulina. Inmediatamente antes de la inyección del análogo de insulina y a intervalos regulares durante hasta ocho horas después de la inyección, se extraen muestras de sangre de los animales, y se determina su contenido de azúcar en sangre. El experimento muestra claramente (véase la fig. 5) que el análogo de insulina de la invención empleado conduce a una aparición claramente retardada de la acción y a

una duración de la acción uniforme y mayor.

Ejemplo 10: Evaluación de la acción reductora de azúcar en sangre de nuevos análogos de insulina en perros

5

El efecto reductor de glucosa en sangre de nuevos análogos de insulina seleccionados se testa en perros beagle machos sanos normoglucémicos. Los animales macho reciben una inyección subcutánea de una dosis de 6 nmol/kg de un análogo de insulina. Inmediatamente antes de la inyección del análogo de insulina y a 10 intervalos regulares durante hasta ocho horas después de la inyección, se extraen muestras de sangre de los animales, y se determina su contenido de azúcar en sangre. El experimento muestra claramente que el análogo de insulina de la invención empleado conduce a una aparición plana claramente retardada de la acción y a una duración de la acción uniforme y mayor.

REIVINDICACIONES

1. Formulación farmacéutica acuosa que contiene una insulina, un análogo de insulina o un derivado insulínico, o una de sus sales farmacológicamente tolerables, y metionina.

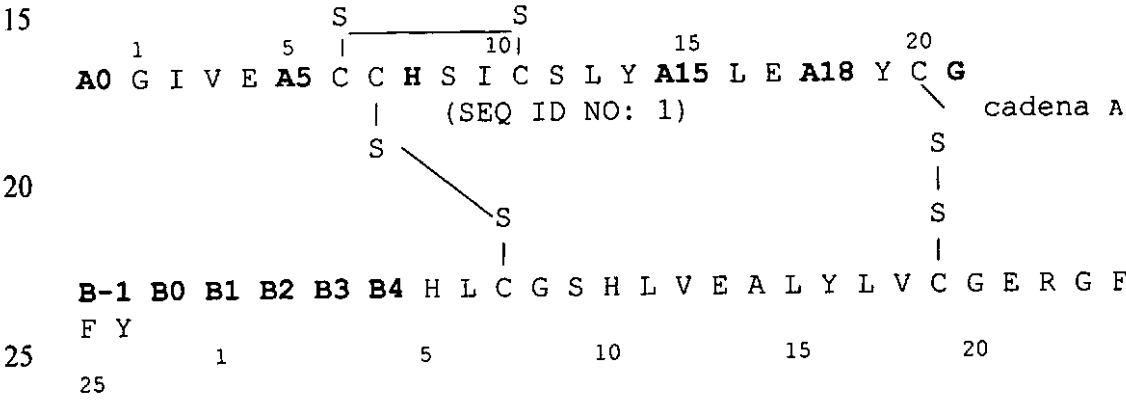
5

2. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, estando seleccionada la insulina de un grupo que contiene insulina humana, insulina porcina e insulina bovina.

10

3. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, estando seleccionado el análogo de insulina del grupo que contiene insulina humana Gly(A21), Arg(B31), Arg(B32), insulina humana Lys(B3), Glu(B29), insulina humana Asp(B28), insulina humana Lys(B28) Pro(B29), insulina humana Des(B30) y un análogo de insulina de la fórmula I

15



25

T P B29 B30 B31 B32 (SEQ ID NO: 2)

cadena B

30

donde

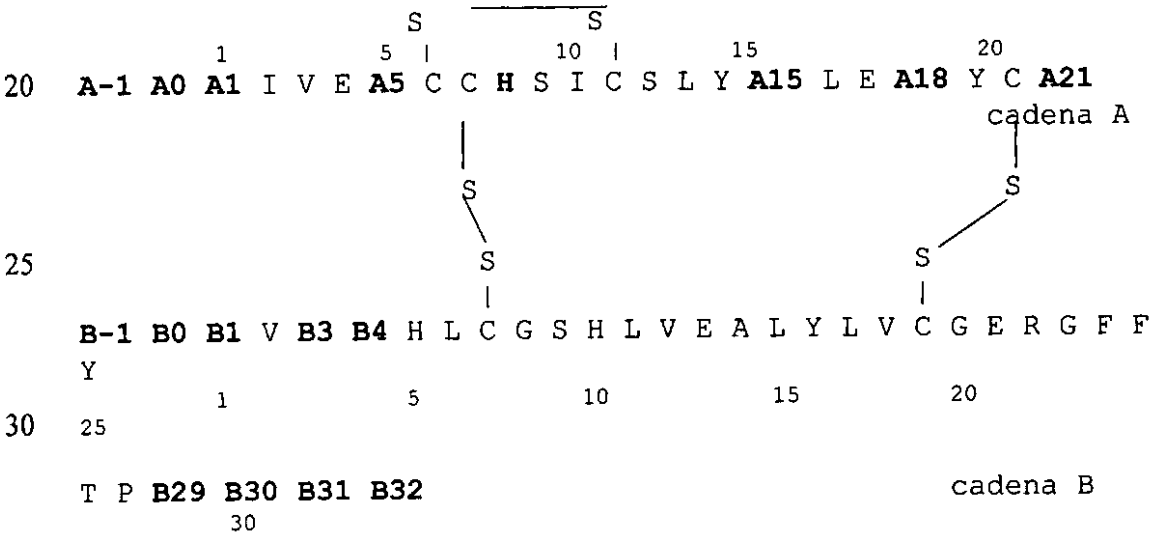
- A0 es Lys o Arg;
- A5 es Asp, Gln o Glu;
- 35 A15 es Asp, Glu o Gln;
- A18 es Asp, Glu o Asn;
- B-1 es Asp, Glu o un grupo amino;
- B0 es Asp, Glu o un enlace químico;
- B1 es Asp, Glu o Phe;
- 40 B2 es Asp, Glu o Val;

- B3 es Asp, Glu o Asn;
 B4 es Asp, Glu o Gln;
 B29 es Lys o un enlace químico;
 B30 es Thr o un enlace químico;
 5 B31 es Arg, Lys o un enlace químico;
 B32 es Arg-amida, Lys-amida o un grupo amino,
 donde dos residuos de aminoácidos del grupo que contiene A5, A15, A18, B-1, B0, B1,
 B2, B3, y B4, de modo simultáneo e independiente entre sí, son Asp o Glu.
- 10 4. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el
 análogo de insulina está seleccionado del grupo que contiene:
 insulina humanan Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Arg
 (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Lys
 15 (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Arg
 (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Lys
 (B32) – NH₂,
 20 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Glu (A15), Gly (A21), Arg (B31), Arg
 (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Glu (A15), Gly (A21), Arg (B31), Lys
 (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32)
 25 – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32)
 – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg
 (B32) – NH₂,
 30 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys
 (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg
 (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys
 35 (B32) – NH₂,

- insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32)
– NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32)
– NH₂,
- 5 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32)
– NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32)
– NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg
10 (B32) – NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys
(B32) – NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg
(B32) – NH₂,
- 15 insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys
(B32) – NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32)
– NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32)
20 – NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg
(B32) – NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys
(B32) – NH₂,
- 25 insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg
(B32) – NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys
(B32) – NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32)
30 – NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32)
– NH₂,
- insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg
(B32) – NH₂,
- 35 insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys

- (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Asp (B1), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Asp (B1), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30), Lys (B31) – NH₂,

5. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, estando seleccionado el análogo de insulina del grupo que contiene un análogo de insulina de la fórmula II



- donde
- A-1 es Lys, Arg o un grupo amino;
- A0 es Lys, Arg o un enlace químico;
- A1 es Arg o Gly;
- A5 es Asp, Glu o Gln;
- A15 es Asp, Glu o Gln;

- A18 es Asp, Glu o Asn;
 A21 es Ala, Ser, Thr o Gly;
 B-1 es Asp, Glu o un grupo amino;
 B0 es Asp, Glu o un enlace químico;
 5 B1 es Asp, Glu, Phe o un enlace químico;
 B3 es Asp, Glu o Asn;
 B4 es Asp, Glu o Gln;
 B29 es Arg, Lys o un aminoácido seleccionado del grupo que contiene los aminoácidos Phe, Ala, Thr, Ser, Val, Leu, Glu o Asp, o un enlace químico;
 10 B30 es Thr o un enlace químico;
 B31 es Arg, Lys o un enlace químico;
 B32 es Arg-amida o Lys-amida,
 donde no más de un residuo de aminoácido del grupo que contiene A5, A15, A18, B-1, B0, B1, B2, B3 y B4, de modo simultáneo e independiente entre sí, es Asp o Glu.

15

6. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el análogo de insulina está seleccionado de un grupo que contiene:
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂,
 20 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B30) – NH₂,
 25 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Lys (B30) – NH₂,
 30 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), Glu (A5), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 35 insulina humana Arg (A0), Asp (A18), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂.

- insulina humana Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), Glu (A15), His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 5 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Glu (B0), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 10 insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A-1), Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), Arg (A1), His (A8), Gly (A21), Arg (B30) – NH₂,
 insulina humana Arg (A0), Arg (A1), His (A8), Gly (A21), Lys (B30) – NH₂,
 15 insulina humana His (A8), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂.

7. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, estando
 seleccionado el derivado insulínico del grupo que contiene insulina humana B29-N-
 miristoil-des(B30), insulina humana B29-N-palmitoil-des(B30), insulina humana B29-N-
 20 miristoil, insulina humana B29-N-palmitoil, insulina humana B28-N-miristoil
 Lys^{B28}Pro^{B29}, insulina humana B28-N-palmitoil-Lys^{B28}Pro^{B29}, insulina humana B30-N-
 miristoil-Thr^{B29}Lys^{B30}, insulina humana B30-N-palmitoil- Thr^{B29}Lys^{B30}, insulina humana
 B29-N-(N-palmitoil-Y-glutamil)-des(B39), insulina humana B29-N-(N-litocolil-Y-
 glutamil)-des(B30), insulina humana B29-N-(ω-carboxiheptadecanoil)-des(B30) e
 25 insulina humana B29-N-(ω-carboxiheptadecanoil).

8. Formulación farmacéutica de acuerdo con una o varias de las
 reivindicaciones 1 a 7, que contiene
 0,001 a 0,2 mg/ml de zinc,
 30 0,1 a 5,0 mg/ml de un conservante y
 5,0 a 100 mg/ml de un agente isotónico y
 cuyo pH es 5 o menor.

9. Formulación farmacéutica de acuerdo con una o varias de las
 35 reivindicaciones 1 a 8, en la que está presente un conservante seleccionado de un

grupo que contiene fenol, m-cresol, clorocresol, alcohol bencílico y parabenos.

10. Formulación farmacéutica de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 9, en la que está presente un agente isotónico seleccionado de un grupo que contiene
5 manitol, sorbitol, lactosa, dextrosa, trehalosa, cloruro de sodio y glicerol.

11. Formulación farmacéutica de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 10, que tiene un pH en el intervalo de pH 2,5 - 4,5.

10 12. Formulación farmacéutica de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 11, que tiene un pH en el intervalo de pH 3,0 - 4,0.

13. Formulación farmacéutica de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 12, que tiene un pH en la región de pH 3,75.
15

14. Formulación farmacéutica de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 13, estando presentes la insulina, el análogo de insulina y/o el derivado insulínico en una concentración de 240 – 3000 nmol/ml.

20 15. Formulación farmacéutica de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 14, en la que está presente glicerol en una concentración de 20 a 30 mg/ml.

25 16. Formulación farmacéutica de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 15, en la que está presente glicerol en una concentración de 25 mg/ml.

30 17. Formulación farmacéutica de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 16, en la que está presente m-cresol en una concentración de 1 a 3 mg/ml.

35 18. Formulación farmacéutica de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 17, en la que está presente m-cresol en una concentración de 2 mg/ml.

19. Formulación farmacéutica de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 18, en la que está presente zinc en una concentración de 0,01 ó 0,03 ó 0,08 mg/ml.

5 20. Formulación farmacéutica de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 19, en la que está contenido adicionalmente un péptido-1 tipo glucagón (GLP1) o uno de sus análogos o derivados, o exendina-3 y/o -4 o uno de sus análogos o derivados.

10 21. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 20, en la que está contenida adicionalmente exendina-4.

22. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 20, en la que un análogo de exendina-4 está seleccionado de un grupo que contiene

15 H-desPro³⁶-exendina-4-Lys₆-NH₂,
H-des(Pro^{36,37})-exendina-4-Lys₄-NH₂ y
H-des(Pro^{36,37})-exendina-4-Lys₅-NH₂,
o una sal farmacológicamente tolerable de los mismos.

20 23. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 20, en la que un análogo de exendin-4 está seleccionado de un grupo que contiene

desPro³⁶[Asp²⁸]exendina-4 (1-39),
desPro³⁶[IsoAsp²⁸]exendina-4 (1-39),
desPro³⁶[Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4 (1-39),
25 desPro³⁶[Met(O)¹⁴, IsoAsp²⁸]exendina-4 (1-39),
desPro³⁶[Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-2 (1-39),
desPro³⁶[Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸]exendina-2 (1-39),
desPro³⁶[Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4 (1-39) y
desPro³⁶[Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸]exendina-4 (1-39)
30 o una sal farmacológicamente tolerable de los mismos.

24. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 23, en la que el péptido -Lys₆-NH₂ está unido a los extremos C de los análogos de exendina-4.

35 25. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 20, en la que un

- análogo de exendina-4 está seleccionado del grupo que contiene
- H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂
 des Asp²⁸Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ exendina-4(1-39) -NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
- 5 H-Asn-(Glu)₅ des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
- 10 H- des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵]exendina-4(1-39)-NH₂,
 H-(Lys)₆-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅-des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
- 15 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
 des Met(O)¹⁴ Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ exendina-4(1-39)-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
- 20 des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅ des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
 des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵]exendina-4(1-39)-NH₂,
- 25 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-NH₂,
 des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-
 NH₂,
- 30 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-
 (Lys)₆-NH₂,
- o una sal farmacológicamente tolerable de los mismos.

26. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 20, en la que
- 35 está contenido adicionalmente Arg³⁴, Lys²⁶ (N^ε(γ-glutamyl(N^α-hexadecanoil))) GLP-1 (7-

37) [liraglutida] o una de sus sales farmacológicamente tolerables.

27. Formulación farmacéutica de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 24, en la que está presente metionina en el rango de
5 concentración de hasta 10 mg/ml.

28. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 25, en la que está presente metionina en el rango de concentración de hasta 3 mg/ml.

10 29. Proceso para preparar una formulación de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 26, en el que
(a) los componentes se introducen en una solución acuosa y
(b) se ajusta el pH.

15 30. Uso de una formulación de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 26 para tratar diabetes mellitus.

31. Medicamento para tratar diabetes mellitus, compuesto por una formulación de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 26.

RESUMEN

Preparaciones insulínicas que comprenden metionina

La invención se refiere a una formulación farmacéutica acuosa con insulina, análogo de insulina o derivado de insulina, y metionina; y también a su preparación, al uso para tratar diabetes mellitus, y a un medicamento para tratar diabetes mellitus.

1/6

Fig 1

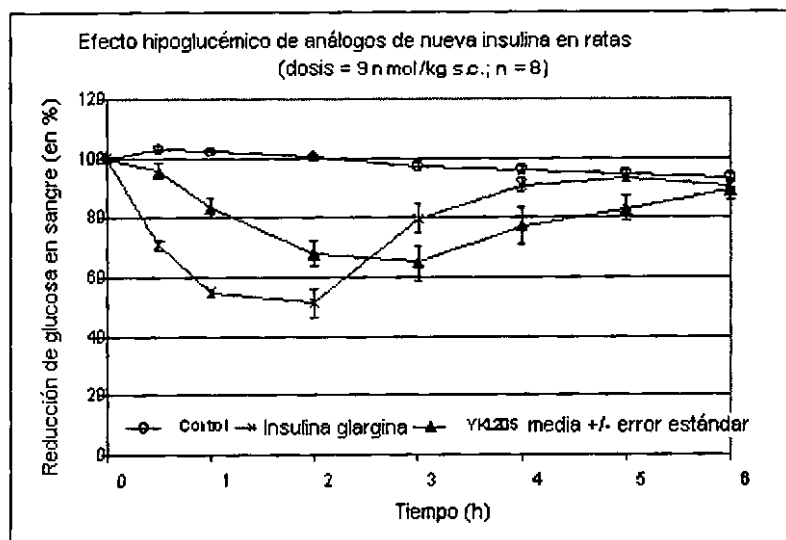


Fig 2

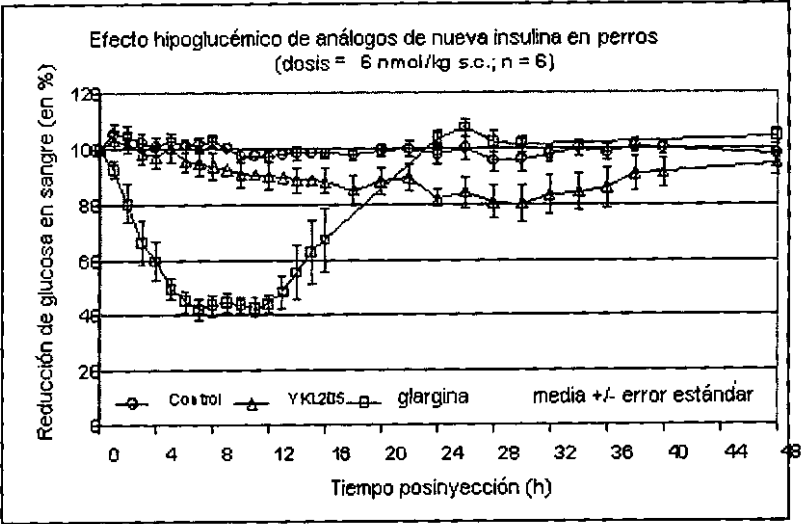


Fig 3

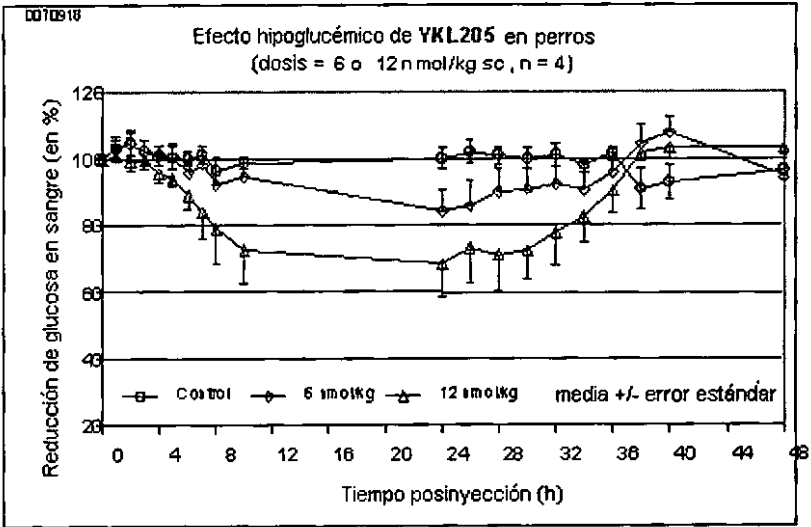


Fig 4

Dependencia del zinc del efecto hipoglucémico de YKL205 en
perros
(dosis = 6 nmol/kg s.c.; n = 5-6)

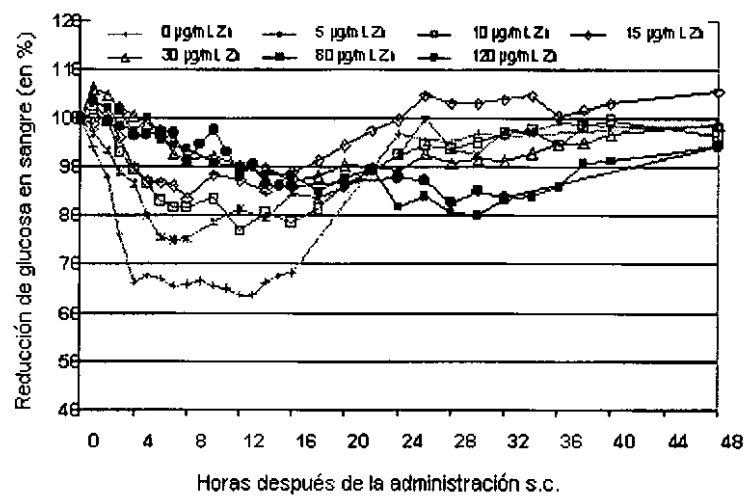


Fig 5

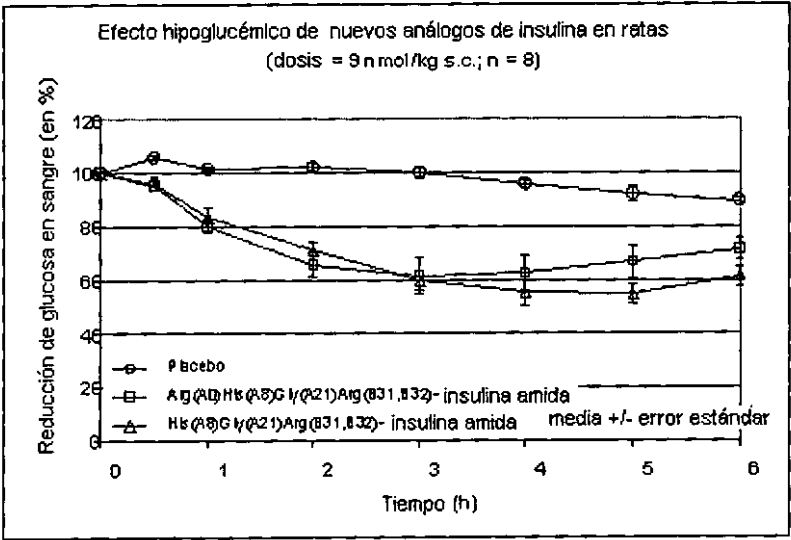
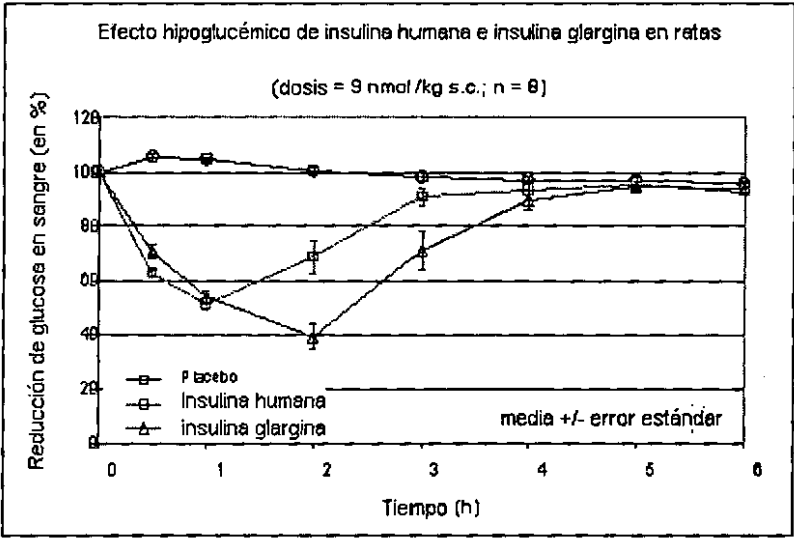


Fig 6



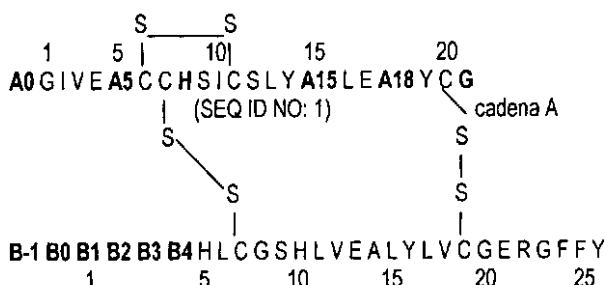
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS				
PATENTE DE INVENCION ____ PCT <u>X</u> MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____					
(21) N° de solicitud:			(22) Fecha de solicitud:		
(51) Clasificación Internacional :					
(71)Solicitante(s) SANOFI-AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH					
(72) Inventor(es) ISABELL SCHOETTLE, ANNIKA HAGENDORF, CHRISTIANE FUERST, GERRIT HAUCK, VERENA SIEFKE-HENZLER, WALTER KAMM, JULIA SCHNIEDERS					
(74) Apoderado: DRA. MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO					
(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)	Fecha	(33) País
		10 2009 031 748.1		06/07/2009	DE
		10 2010 013 134.2		27/03/2010	DE
(85) Fecha inicio fase nacional:				(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT				Fecha: 13/01/2011	
Fecha de presentación de la solicitud: 02/07/2010				N° publicación: WO 2011/003822 A2	
No. de solicitud PCT/EP2010/059436					
(54) Título: PREPARACIONES INSULINICAS QUE COMPRENDEN METIONINA					

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT

(21) N° de solicitud:		(51) int. Cl.:	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) SANOFI-AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH	
(30) Prioridad	(31) N° Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	10 2009 031 748.1	06/07/2009	DE
	10 2010 013 134.2	27/03/2010	DE
		(72) Inventor(es) ISABELL SCHOETTLE ANNIKA HAGENDORF CHRISTIANE FUERST Y OTROS	
		(74) Apoderado: MARGARITA CASTELLANOS A.	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional:	(87)	Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT	Fecha:	13/01/2011
	Fecha de presentación de la solicitud: 02/07/2010	N° publicación:	WO 2011/003822 A3
	N° de solicitud PCT/EP2010/059436		
(54) Título: PREPARACIONES INSULINICAS QUE COMPRENDEN METIONINA			

Reivindicación(es):

1. Formulaci3n farmac3utica acuosa que contiene una insulina, un an3logo de insulina o un derivado insulnico, o una de sus sales farmacol3gicamente tolerables, y metionina.
2. Formulaci3n farmac3utica de acuerdo con la reivindicaci3n 1, estando seleccionada la insulina de un grupo que contiene insulina humana, insulina porcina e insulina bovina.
3. Formulaci3n farmac3utica de acuerdo con la reivindicaci3n 1, estando seleccionado el an3logo de insulina del grupo que contiene insulina humana Gly(A21), Arg(B31), Arg(B32), insulina humana Lys(B3), Glu(B29), insulina humana Asp(B28), insulina humana Lys(B28) Pro(B29), insulina humana Des(B30) y un an3logo de insulina de la f3rmula I



T P B29 B30 B31 B32 (SEQ ID NO: 2)
cadena B

donde

- | | |
|-----|---|
| A0 | es Lys o Arg; |
| A5 | es Asp, Gln o Glu; |
| A15 | es Asp, Glu o Gln; |
| A18 | es Asp, Glu o Asn; |
| B-1 | es Asp, Glu o un grupo amino; |
| B0 | es Asp, Glu o un enlace químico; |
| B1 | es Asp, Glu o Phe; |
| B2 | es Asp, Glu o Val; |
| B3 | es Asp, Glu o Asn; |
| B4 | es Asp, Glu o Gln; |
| B29 | es Lys o un enlace químico; |
| B30 | es Thr o un enlace químico; |
| B31 | es Arg, Lys o un enlace químico; |
| B32 | es Arg-amida, Lys-amida o un grupo amino, |

- donde dos residuos de aminoácidos del grupo que contiene A5, A15, A18, B-1, B0, B1, B2, B3, y B4, de modo simultáneo e independiente entre sí, son Asp o Glu.

4. Formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el análogo de insulina está seleccionado del grupo que contiene:

- insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Asp (A18), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Glu (A15), Gly (A21), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Glu (A15), Gly (A21), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Asp (A18), Gly (A21), Asp (B3), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Gly (A21), Asp (B3), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A5), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Lys (B32) – NH₂,
insulina humana Arg (A0), His (A8), Glu (A15), Gly (A21), Glu (B4), Arg (B31), Arg (B32) – NH₂,

...



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-001866- -00000-0000

Fecha: 2012-01-05 17:03:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 94

PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ Art. 33 Decisión 486/00

- ☐ Indicación que se solicita una patente
☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐ Descripción de la invención
☐ Dibujos de ser estos pertinentes
☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art. 33 Decisión 486/00
Circular Única

- ☒ Indicación que se solicita una PCT
☒ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☒ Dibujos de ser estos pertinentes
☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita diseño industrial
☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐