

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 442 869**

51 Int. Cl.:

A61K 47/48 (2006.01)

A61K 38/26 (2006.01)

C07K 14/605 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2007 E 07842306 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2013 EP 2073834**

54 Título: **Usos de formulaciones duraderas de péptidos GLP-1 como hipoglucémicos**

30 Prioridad:

13.09.2006 US 825472 P

04.12.2006 US 868391 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

14.02.2014

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)
One Franklin Plaza 200 North 16th Street
Philadelphia, PA 19102, US**

72 Inventor/es:

**BUSH, MARK A.;
MATTHEWS, JESSICA E. y
WALKER, SUSAN E.**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 442 869 T3

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

DESCRIPCIÓN

Usos de formulaciones duraderas de péptidos GLP-1 como hipoglucémicos.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas para administrar agentes hipoglucémicos de larga duración y regímenes de tratamiento que usan compuestos que tienen actividad de GLP-1 y/o agonistas de GLP-1.

Antecedentes de la invención

10 Los agentes hipoglucémicos se pueden usar en el tratamiento de diabetes, tanto de tipo I como de tipo II, para reducir la concentración de glucosa en sangre. Los péptidos insulíntrópicos han sido implicados como posibles agentes terapéuticos para el tratamiento de diabetes. Los péptidos insulíntrópicos incluyen, pero no se limitan a, hormonas de incretina, por ejemplo, péptido inhibidor gástrico (GIP) y péptido-1 similar a glucagón (GLP-1), así como fragmentos, variantes y/o conjugados de los mismos. Los péptidos insulíntrópicos también incluyen, por ejemplo, exendina 3 y exendina 4. GLP-1 es una hormona de incretina de 36 aminoácidos de largo secretada por las células L en el intestino en respuesta a ingestión de GLP-1 de los alimentos se ha mostrado que estimula la secreción de insulina de una manera fisiológica y dependiente de glucosa, reduce la secreción de glucagón, inhibe la evacuación gástrica, disminuye el apetito y estimula la proliferación de células β . En experimentos no clínicos, GLP-1 promueve la competencia de células beta continua al estimular la transcripción de genes importantes para secreción de insulina dependiente de glucosa y al promover neogénesis de células beta (Meier, *et al. Biodrugs*. 2003; 17 (2): 93-102).

20 En individuos sanos, el GLP-1 juega un papel importante que regula los niveles de glucosa en la sangre postprandiales al estimular la secreción de insulina dependiente de glucosa por el páncreas dando por resultado absorción de glucosa incrementada en la periferia. GLP-1 también suprime la secreción de glucagón, conduciendo a producción de glucosa hepática reducida. Además, GLP-1 retrasa la evacuación gástrica y hace lenta la motilidad del intestino delgado retrasando la absorción de los alimentos.

25 En personas con diabetes mellitus de tipo II (T2DM), el aumento posprandial normal en GLP-1 está ausente o es reducido (Vilsboll T, *et al., Diabetes*. 2001. 50; 609-613). Por consiguiente, una razón para administrar GLP-1 exógeno, una hormona de incretina o un mimético de incretina, es incrementar, reemplazar o complementar GLP-1 endógeno a fin de incrementar secreción de insulina relacionada con las comidas, reducir la secreción de glucagón, y/o hacer lenta la motilidad gastrointestinal. El GLP-1 nativo tiene una semivida en suero muy corta (<5 minutos). Por consiguiente, actualmente no es factible administrar exógenamente GLP-1 nativo como un tratamiento terapéutico para diabetes. Los miméticos de incretina comercialmente disponibles tales como Exenatida (Byetta®) mejoran el control glucémico al reducir las concentraciones de glucosa en ayunas y postprandial cuando se administra por vía subcutánea (5 μ g o 10 μ g dos veces al día) a pacientes con T2DM.

35 Por lo tanto, existe la necesidad no satisfecha de procedimientos de administración de agentes hipoglucémicos en donde los valores de la media del área bajo la curva (AUC) del agente hipoglucémico son sostenidos, o de otra manera mejorados, requiriendo así inyecciones menos frecuentes mientras se mantiene beneficio terapéutico.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Perfil farmacocinético de la SEC ID N° 1 en sujetos con diabetes mellitus de tipo II Media (95%) Gráfica de la concentración en plasma (nM ELISA) respecto al tiempo (horas).

40 Figura 2. SEC ID N°1 Concentración – Gráfica de cajas de exposiciones ($AUC_{(0-inf)}$) por sitio de inyección (abdomen, piernas y brazos) y dosis en sujetos con diabetes mellitus de tipo 2.

Figura 3. SEC ID N°1.

Sumario de la invención

45 En una realización de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica capaz de mejorar la actividad de GLP-1 en un ser humano preparada a partir de una composición liofilizada que comprende el polipéptido de la SEC ID N° 1, 2,8% de manitol, 4,2% de trehalosa deshidratada, 0,01% de polisorbato 80 y 20 mM de tampón fosfato a pH 7,2, y además en la que dicha composición proporciona una concentración máxima en plasma de dicho polipéptido de 8 nM a 54 nM y un área área bajo la curva de por lo menos 99 nM por día a 637 nM por día de dicho polipéptido tras una única dosis. En otra realización, la presente invención está dirigida a usos en terapia de dicha composición

50

Definiciones

“Agonista de GLP-1”, como se usa en el presente documento, significa cualquier compuesto o composición capaz de

simular y/o tener al menos una actividad de GLP-1 incluyendo, pero sin limitarse a una hormona de incretina y/o fragmento, variante y/o conjugado de la misma y un mimético de incretina y/o fragmento, variante y/o conjugado de la misma.

5 “Hormona de incretina”, como se usa en el presente documento, significa cualquier hormona que potencia la secreción de insulina o de otra manera aumenta el nivel de insulina. Un ejemplo de una hormona de incretina es GLP-1. GLP-1 es una incretina secretada por células L intestinales en respuesta a la ingestión de alimento. En un individuo sano, GLP-1 juega un papel importante que regula los niveles de glucosa en la sangre post-prandiales al estimular la secreción de insulina dependiente de glucosa por el páncreas dando por resultado absorción de glucosa incrementada en la periferia. GLP-1 también suprime la secreción de glucagón, conduciendo a producción de glucosa hepática reducida. Además, GLP-1 retrasa la evacuación gástrica y hace lenta la motilidad del intestino delgado retrasando la absorción de los alimentos. GLP-1 promueve la competencia de células beta continua al estimular la transcripción de genes implicados en la secreción de insulina dependiente de glucosa y al promover neogénesis de células beta (Meier, et al. *Biodrugs* 2003; 17 (2): 93-102).

15 “Actividad de GLP-1”, como se usa en el presente documento, significa una o más de las actividades de GLP-1 humano que ocurre naturalmente, incluyendo pero sin limitarse a, reducción de glucosa en la sangre y/o plasma, estimulación de secreción de insulina dependiente de glucosa o de otra manera elevación del nivel de insulina, supresión de secreción glucagón, reducción de fructosamina, incremento del suministro y metabolismo de glucosa al cerebro, retraso de evacuación gástrica, y promoción de competencia y/o neogénesis de células beta. Cualquiera de estas actividades y otra actividad asociada con actividad de GLP-1 puede ser causada directamente o indirectamente por una composición que tiene actividad de GLP-1 o un agonista de GLP-1. A modo de ejemplo, una composición que tiene actividad de GLP-1 puede estimular directamente o indirectamente la producción de insulina dependiente de glucosa mientras que la estimulación de producción de insulina indirectamente puede reducir los niveles de glucosa en el plasma en un mamífero.

25 Un “mimético de incretina”, como se usa en el presente documento, es un compuesto capaz de potenciar la secreción de insulina o de otra manera aumentar el nivel de insulina. Un mimético de incretina puede ser capaz de estimular la secreción de insulina, incrementar la neogénesis de células beta, inhibir la apoptosis de células beta, inhibir la secreción de glucagón, retrasar la evacuación gástrica e inducir saciedad en un mamífero. Un mimético de incretina puede incluir, pero no se limita a, cualquier polipéptido que tiene actividad de GLP-1, incluyendo pero sin limitarse a, exendina 3 y exendina 4, incluyendo cualesquiera fragmentos y/o variantes y/o conjugados de las mismas.

35 “Agente hipoglucémico”, como se usa en el presente documento, significa cualquier compuesto o composición que comprende un compuesto capaz de reducir glucosa en la sangre. Un agente hipoglucémico puede incluir, pero no se limita a, cualquier agonista de GLP-1 incluyendo hormonas de incretina o miméticos de incretina, GLP-1 y/o fragmento, variante y/o conjugado del mismo. Otros agentes hipoglucémicos incluyen, pero no se limitan a, fármacos que incrementan la secreción de insulina (v.gr., sulfonilureas (SU) y meglitinidas), inhiben el rompimiento de GLP-1 (v.gr., inhibidores de DPP-IV), incrementan la utilización de glucosa (v.gr., glitazonas, tiazolidinedionas (TZD) y/o agonistas de pPAR), reducen la producción de glucosa hepática (v.gr., metformina), y retrasan la absorción de glucosa (v.gr., inhibidores de α -glucosidasa). Ejemplos de sulfonilureas incluyen pero no se limitan a acetohexamida, clorpropamida, tolazamida, glipizida, gliclazida, glibenclamida (gliburida), gliquidona y glimepirida. Ejemplos de glitazonas incluyen, pero no se limitan a, rosiglitazona y pioglitazona.

45 “Polinucleótido(s)”, en general, se refiere a cualquier polirribonucleótido o polidesoxirribonucleótido que puede ser ARN no modificado o ADN o ARN o ADN modificado. “Polinucleótido(s)” incluyen, sin limitación, ADN de una sola cadena o de doble cadena, ADN que es una mezcla de regiones de una sola cadena o de doble cadena o regiones de una sola cadena, de doble cadena o de triple cadena, ARN de una sola cadena o de doble cadena, a ARN que es una mezcla de regiones de una sola cadena o de doble cadena, moléculas híbridas que comprenden ADN y ARN que pueden ser de una sola cadena o, más típicamente, de doble cadena, o regiones de triple cadena, o una mezcla de regiones de una sola cadena o de doble cadena. Además, “polinucleótido”, como se usa en el presente documento, se refiere a regiones de triple cadena que comprenden ARN o ADN o tanto ARN como ADN. Las cadenas en dichas regiones pueden ser de la misma molécula o de diferentes moléculas. Las regiones pueden incluir todas de una o más de las moléculas, pero muy típicamente implican sólo una región de algunas de las moléculas. Una de las moléculas de una región triple-helicoidal a menudo es un oligonucleótido. Como se usa en el presente documento, el término “polinucleótido(s)” también incluye ADN o ARN como se describió antes que comprenden una o más bases modificadas. Por lo tanto, ADN o ARN con estructuras de base modificadas para estabilidad o por otras razones son “polinucleótido(s)” como se pretende el término aquí. Más aún, ADN o ARN que comprenden bases no usuales, tales como inosina, o bases modificadas, tales como bases tritiladas, por nombrar apenas dos ejemplos, son polinucleótidos como se usa el término en el presente documento. Se apreciará que se han hecho una gran variedad de modificaciones a ADN a ARN que tienen muchos propósitos útiles conocidos por los expertos en la técnica. El término “polinucleótido(s)”, como se utiliza aquí, abarca dichas formas químicamente, enzimáticamente o metabólicamente modificadas de polinucleótidos, así como las formas químicamente de ADN y ARN características de virus y células, incluyendo, por ejemplo, células simples y complejas. “Polinucleótido(s)” también abarca polinucleótidos cortos a menudo referidos como oligonucleótido(s).

"Polipéptido" se refiere a cualquier péptido o proteína que comprenda dos o más aminoácidos unidos unos a otros por enlaces peptídicos o enlaces peptídicos modificados, es decir, isoésteres peptídicos. "Polipéptido" se refiere tanto a los de cadenas cortas, comúnmente referidos como péptidos, oligopéptidos u oligómeros, como a los de cadenas largas, en general referidos como proteínas. Los polipéptidos pueden contener aminoácidos distintos de los 20 aminoácidos codificados por genes. "Polipéptidos" incluyen secuencias de aminoácidos modificadas ya sea por procesos naturales, tales como proceso post-traduccional, o por técnicas de modificación química que son bien conocidas en la técnica. Dichas modificaciones se describen bien en textos básicos y en monografías más detalladas, así como en una literatura de investigación voluminosa. Las modificaciones pueden ocurrir en cualquier parte en un polipéptido, incluyendo la estructura de base del péptido, las cadenas laterales de aminoácidos y los amino o carboxilo terminales. Se apreciará que el mismo tipo de modificación puede estar presente en el mismo grado o grados variables en varios sitios en un polipéptido dado. También, un polipéptido dado puede contener muchos tipos de modificaciones. Los polipéptidos pueden ser ramificados como resultado de ubiquitinación, y pueden ser cíclicos, con o sin ramificación. Los polipéptidos cíclicos, ramificados y cíclicos ramificados pueden resultar de procesos naturales de post-traducción o se pueden hacer por procedimientos de síntesis. Las modificaciones incluyen acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, unión covalente de flavina, unión covalente de una porción heme, unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, unión covalente de un lípido o derivado de lípido, unión covalente de fosfatidilinositol, entrelazamiento, ciclización, formación de enlace de disulfuro, desmetilación, formación de entrelazamientos covalentes, formación de cisteína, formación de piroglutamato, formilación, gamma-carboxilación, glicosilación, formación de anclaje de GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, proceso proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenoilación, sulfatación, adición mediada por ARN de transferencia de aminoácidos a proteínas tal como arginilación y ubiquitinación. Véase, por ejemplo, PROTEINS - STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES, 2a Ed., T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York, 1993 y Wold, F., Posttranslational Protein Modifications: Perspectives and Prospects, págs. 1-12 en POSTTRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS, B. C. Johnson, Ed., Academic Press, New York, 1983; Seifter, *et al.*, "Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors", *Meth. Enzymol.* (1990) 182:626-646 y Rattan, *et al.*, "Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging", *Ann NY Acad Sci* (1992) 663:48-62.

"Variante" como se usa el término en el presente documento, es un polinucleótido o polipéptido que difiere de un polinucleótido o polipéptido de referencia respectivamente, pero retiene propiedades esenciales. Una variante típica de un polinucleótido difiere en secuencia de nucleótidos de otra, polinucleótido de referencia. Los cambios en la secuencia de nucleótidos de la variante pueden o no alterar la secuencia de aminoácidos de un polipéptido codificado por el polinucleótido de referencia. Cambios de nucleótido pueden dar por resultado sustituciones, adiciones, deleciones, fusiones y truncamientos de aminoácidos en el polipéptido codificado por la secuencia de referencia, como se describe más adelante. Una variante típica de un polipéptido difiere en secuencia de aminoácidos de otra, polipéptido de referencia. En general, las diferencias son limitadas por lo que las secuencias del polipéptido de referencia y la variante son estrechamente similares en general y, en muchas regiones, idénticas. Una variante y polipéptido de referencia pueden diferir en secuencias de aminoácidos por una o más sustituciones, adiciones, deleciones en cualquier combinación. Un residuo de aminoácido sustituido o insertado puede o no ser uno codificado por el código genético. Una variante de un polinucleótido o polipéptido puede ser uno que ocurre naturalmente tal como una variante alélica, o puede ser una variante que no se sabe que ocurre naturalmente. Las variantes que no ocurren naturalmente de polinucleótidos y polipéptidos se pueden hacer por técnicas de mutagénesis o por síntesis directas. Las variantes también pueden incluir, pero no se limitan a, polipéptidos o fragmentos de los mismos que tienen modificación química de uno o más de sus grupos laterales de aminoácidos. Una modificación química incluye, pero no se limita a, añadir porciones químicas, crear nuevos enlaces y remover porciones químicas. Las modificaciones en los grupos laterales de aminoácidos incluyen, sin limitación, acilación de grupos lisina- ϵ -amino, N-alquilación de arginina, histidina o lisina, alquilación de grupos ácido carboxílico glutámico o aspártico, y desamidación de glutamina o asparagina. Las modificaciones del grupo amino terminal incluyen, sin limitación, las modificaciones des-amino, N-alquilo inferior, N-di-alquilo inferior y N-acilo. Las modificaciones del grupo carboxilo terminal incluyen, sin limitación, las modificaciones amida, alquilamida inferior, dialquilamida y éster alquílico inferior. Además, uno o más grupos laterales, o grupos terminales, pueden ser protegidos por grupos protectores conocidos por un químico experto en proteínas.

Como se usa en el presente documento, "fragmento," cuando se usa en referencia a un polipéptido, es un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que es la misma que parte pero no toda la secuencia de aminoácidos del polipéptido entero que ocurre naturalmente. Los fragmentos pueden ser "libres" o comprendidos dentro de un polipéptido más grande del cual forman una parte o región como una sola región continua en un solo polipéptido más grande. A modo de ejemplo, un fragmento de GLP-1 que ocurre naturalmente incluiría los aminoácidos 7 a 36 de los aminoácidos 1 a 36 que ocurren naturalmente. Además, los fragmentos de un polipéptido también pueden ser variantes de la secuencia parcial que ocurre naturalmente. Por ejemplo, un fragmento de GLP-1 que comprende los aminoácidos 7-30 de GLP-1 que ocurren naturalmente también puede ser una variante que tiene sustituciones de aminoácidos dentro de su secuencia parcial.

Como se usa en el presente documento "conjugado" (sustantivo) o "conjugado" (verbo) se refiere a dos moléculas que se unen una a otra. Por ejemplo, un primer polipéptido puede ser covalentemente o no covalentemente unido a un segundo polipéptido. El primer polipéptido puede ser covalentemente unido por un

enlazador químico o puede ser genéticamente fusionado al segundo polipéptido, en donde el primer y el segundo polipéptidos comparten estructura de base de polipéptido común.

5 Como se usa en en el presente documento "orientado en tándem" se refiere a dos o más polipéptidos que son adyacentes unos a otros como parte de la misma molécula. Pueden ser enlazados ya sea covalentemente o no covalentemente. Dos o más polipéptidos orientados en tándem pueden formar parte de la misma estructura de polipéptido. Los polipéptidos orientados en tándem pueden tener orientación directa o invertida y/o pueden ser separados por otras secuencias de aminoácidos.

10 Como se usa en en el presente documento, "reducir" o "reducción de" glucosa en la sangre o plasma se refiere a una disminución en la cantidad de glucosa en la sangre observada en la sangre de un paciente después de la administración de un agente hipoglucémico. Las reducciones de glucosa en la sangre o plasma pueden ser medidas o evaluadas por individuo o como un cambio promedio para un grupo de sujetos. Además, las reducciones promedio de glucosa en la sangre o plasma se pueden medir y evaluar para un grupo de sujetos tratados como un cambio promedio a partir de la línea basal y/o como un cambio promedio comparado con el cambio promedio de glucosa en la sangre o plasma entre sujetos a quienes se administra placebo.

15 Como se usa en en el presente documento "que potencia la actividad de GLP-1" se refiere a un incremento en cualquiera y todas las actividades asociadas con GLP-1 que ocurren naturalmente. A modo de ejemplo, el incremento de actividad de GLP-1 se puede medir después de la administración de por lo menos un polipéptido que tiene actividad de GLP-1 a un sujeto y comparar con la actividad de GLP-1 en el mismo sujeto antes de la administración del polipéptido que tiene actividad de GLP-1 o en comparación con un segundo sujeto a quien se administra placebo.

20 Como se usa en en el presente documento, "enfermedades asociadas con niveles elevados de glucosa en sangre" incluyen, pero no se limitan a, diabetes de tipo I y de tipo II, intolerancia a la glucosa, hiperglicemia y enfermedad de Alzheimer.

25 Como se usa en en el presente documento, "co-administración" o "co-administrar", se refiere a la administración de dos o más compuestos al mismo paciente. La co-administración de dichos compuestos puede ser simultánea o aproximadamente al mismo tiempo (v.gr., dentro de la misma hora) o puede ser dentro de varias horas o días uno de otro. Por ejemplo, un primer compuesto se puede administrar una vez a la semana mientras que un segundo compuesto se co-administra diariamente.

30 Como se usa en en el presente documento "concentración máxima en plasma" o " $C_{\text{máx}}$ " significa la concentración más alta observada de una sustancia (por ejemplo, un polipéptido que tiene actividad de GLP-1 o un agonista de GLP-1) en el plasma de un mamífero después de la administración de la sustancia al mamífero.

35 Como se usa en en el presente documento, "área bajo la curva" o "AUC" es el área bajo la curva en una gráfica de la concentración de una sustancia en el plasma contra el tiempo. Se puede medir la AUC de la integral de las concentraciones instantáneas durante un intervalo de tiempo y tiene las unidades masa x tiempo/volumen, que también se pueden expresar como concentración molar x tiempo tal como nM x día. AUC típicamente se calcula por el procedimiento trapezoidal (v.gr., lineal, lineal-log). AUC, en general, se da para el intervalo de tiempo cero a infinito, y otros intervalos de tiempo son indicados (por ejemplo, AUC (t1,t2) en donde t1 y t2 son los tiempos de inicio y final para el intervalo). Por lo tanto, como se usa en en el presente documento, "AUC_{0-24h}" se refiere a una AUC durante un período de 24-horas, y "AUC_{0-4h}" se refiere a una AUC durante un período de 4-horas.

40 Como se usa en en el presente documento, "AUC media ponderada" es el AUC dividida entre el intervalo de tiempo en el cual se calcula el AUC de tiempo. Por ejemplo, el AUC_{0-24h} media ponderada representaría el AUC_{0-24h} dividida entre 24 horas.

45 Como se usa en en el presente documento, "intervalo de confianza" o "CI" es un intervalo en el cual una medición o ensayo cae correspondiente a una probabilidad dada p en donde p se refiere a un 90% o 95% de CI y se calculan ya sea alrededor de una media aritmética, una media geométrica, o mínimos cuadrados. Como se usa en en el presente documento, una media geométrica es la media de los valores transformados por logaritmos naturales retro-transformados a través de exponenciación, y los mínimos cuadrados pueden o no ser una media geométrica también pero se derivan del modelo de análisis de varianza (ANOVA) usando efectos fijos.

50 Como se usa en en el presente documento, el "coeficiente de variación (CV)" es una medida de dispersión y se define como la relación de la desviación estándar a la media. Se reporta como un porcentaje (%) al multiplicar el cálculo anterior por 100 (%CV).

Como se usa en en el presente documento " $T_{\text{máx}}$ " se refiere al tiempo observado para alcanzar la concentración máxima de una sustancia en el plasma de un mamífero después de la administración de esa sustancia al mamífero.

55 Como se usa en en el presente documento, "semivida en suero o plasma" se refiere al tiempo requerido para que la mitad de la cantidad de una sustancia administrada a un mamífero sea metabolizada o eliminada del suero o plasma del mamífero por procesos biológicos normales.

Descripción detallada de la invención

5 En un aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica capaz de potenciar la actividad de GLP-2 en un ser humano, preparada a partir de una composición liofilizada que comprende el polipéptido de la SEC ID N° 1, 2,8% de manitol, 4,2% de trehalosa deshidratada, 0,01% de polisorbato 80 y 20 mM de tampón fosfato a pH 7,2, y además en la que dicha composición proporciona una concentración máxima en plasma de dicho polipéptido de 8 nM a 54 nM y un área área bajo la curva de por lo menos 99 nM por día a 637 nM por día de dicho polipéptido tras una única dosis.

10 Como se entiende en la técnica, se pueden usar varios procedimientos para recolectar, medir y evaluar datos farmacocinéticos tales como la concentración de compuesto activo en sangre, plasma y/u otro tejido. Como también se entiende en la técnica, se pueden utilizar varios procedimientos para recolectar, medir y evaluar varios datos farmacodinámicos tales como, pero sin limitarse a, los niveles de glucosa, insulina, péptido C, glucagón y otros biomarcadores en sangre y/o plasma y/o otro tejido. De conformidad con la invención, por lo menos un polipéptido que tiene actividad de GLP-1 puede ser un agonista de GLP-1., tal como el polipéptido de la SEC ID N° 1.

15 Los polipéptidos que tienen actividad de GLP-1 pueden comprender por lo menos un fragmento y/o variante de GLP-1 humano. Los dos fragmentos de GLP-1 humano que ocurren naturalmente están representados en SEC ID N°2.

7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17

His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-

18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28

20 Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-

29 30 31 32 33 34 35 36 37

Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-Xaa (SEC ID N° 2)

25 en la que: Xaa en la posición 37 es Gly (de aquí en adelante designado como "GLP-1(7-37)"), o -NH₂ (de aquí en adelante designado como "GLP-1(7-36)"). Los fragmentos de GLP-1 pueden incluir, pero no se limitan a, moléculas de GLP-1 que comprenden, o que consisten alternativamente de, los aminoácidos 7 a 36 de GLP-1 humano (GLP-1(7-36)). Variantes de GLP-1 o fragmentos de las mismas pueden incluir, pero no se limitan a, uno, dos, tres, cuatro, cinco o más sustituciones de aminoácidos en GLP-1 de tipo silvestre o en los fragmentos de GLP-1 que ocurren naturalmente mostrados en la SEC ID N° 2. Variantes de GLP-1 o fragmentos de GLP-1 pueden incluir, pero no se limitan a, sustituciones de un residuo de alanina análogo a alanina 8 de GLP-1 de tipo silvestre, dicha alanina siendo mutada a una glicina (de aquí en adelante designada como "A8G") (Véase, por ejemplo, los mutantes descritos en la patente de EE.UU. N° 5.545.618).

35 En algunos aspectos, por lo menos un fragmento y variante de GLP-1 comprenden GLP-1(7-36(A8G)) y está genéticamente fusionado a albúmina de suero humano. En una realización adicional, los polipéptidos de la invención comprenden una, dos, tres, cuatro, cinco o más moléculas de GLP-1 orientadas en tándem y/o fragmentos y/o variantes de las mismas fusionados al N- o C-terminal de albúmina de suero humano o variante de la misma. Otras realizaciones tienen dichos polipéptidos A8G fusionados al N- o C-terminal de albúmina o variante de la misma. Un ejemplo de dos fragmentos y/o variantes GLP-1(7-36)(A8G) orientados en tándem fusionados al N-terminal de la albúmina de suero humano comprende SEQ ID NO:1, que se presenta en la figura 3. En otro aspecto, por lo menos un fragmento y variante de GLP-1 comprende por lo menos dos GLP-1(7-36(A8G)) en tándem y genéticamente fusionados a la albúmina de suero humano. Por lo menos dos GLP-1(7-36(A8G)) pueden ser genéticamente fusionados en el N-terminal de la albúmina de suero humano. Por lo menos un polipéptido que tiene actividad de GLP-1 puede comprender SEC ID N° 1.

45 Variantes de GLP-1(7-37) pueden indicarse, por ejemplo, como Glu²²-GLP-1(7-37)OH que designa una variante de GLP-1 en la cual la glicina normalmente encontrada en la posición 22 de GLP-1(7-37)OH ha sido reemplazada por ácido glutámico; Val⁸-Glu²²-GLP-1(7-37)OH designa un compuesto GLP-1 en el cual la alanina normalmente encontrada en la posición 8 y glicina normalmente encontrada en la posición 22 de GLP-1(7-37)OH han sido reemplazadas por valina y ácido glutámico, respectivamente. Ejemplos de variantes de GLP-1 incluyen, pero no se limitan a,

Val⁸-GLP-1(7-37)OH

Gly⁸-GLP-1(7-37)OH

Glu²²-GLP-1(7-37)O- H

Asp²²-GLP-1(7-37)OH

Arg²²-GLP-1(7-37)OH

Lys²²-GLP-1(7-37)OH

ES 2 442 869 T3

Cys ²² -GLP-1(7-37)OH	Val ⁸ -Glu ²² -GLP-1(7-37)OH	Val ⁸ -Asp ²² -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Arg ²² -GLP-1(7-37)OH	Val ⁸ -Lys ²² -GLP-1(7-37)OH	Val ⁸ -Cys ²² -GLP-1(7-37)OH
Gly ⁸ -Glu ²² -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Asp ²² -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Arg ²² -GLP-1(7-37)OH
Gly ⁸ -Lys ²² -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Cys ²² -GLP-1(7-37)OH	Glu ²² -GLP-1(7-36)OH
Asp ²² -GLP-1(7-36)OH	Arg ²² -GLP-1(7-36)OH	Lys ²² -GLP-1(7-36)OH
Cys ²² -GLP-1(7-36)OH	Val ⁸ -Glu ²² -GLP-1(7-36)OH	Val ⁸ -Asp ²² -GLP-1(7-36)OH
Val ⁸ -Arg ²² -GLP-1(7-36)OH	Val ⁸ -Lys ²² -GLP-1(7-36)OH	Val ⁸ -Cys ²² -GLP-1(7-36)OH
Gly ⁸ -Glu ²² -GLP-1(7-36)OH	Gly ⁸ -Asp ²² -GLP-1(7-36)OH	Gly ⁸ -Arg ²² -GLP-1(7-36)OH
Gly ⁸ -Lys ²² -GLP-1(7-36)OH	Gly ⁸ -Cys ²² -GLP-1(7-36)OH	Lys ²³ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Lys ²³ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Lys ²³ -GLP-1(7-37)OH	His ²⁴ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -His ²⁴ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -His ²⁴ -GLP-1(7-37)OH	Lys ²⁴ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Lys ²⁴ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Lys ²³ -GLP-1(7-37)OH	Glu ³⁰ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Glu ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Glu ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	Asp ³⁰ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Asp ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Asp ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	Gln ³⁰ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Gln ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Gln ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	Tyr ³⁰ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Tyr ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Tyr ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	Ser ³⁰ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Ser ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Ser ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	His ³⁰ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -His ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -His ³⁰ -GLP-1(7-37)OH	Glu ³⁴ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Glu ³⁴ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Glu ³⁴ -GLP-1(7-37)OH	Ala ³⁴ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Ala ³⁴ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Ala ³⁴ -GLP-1(7-37)OH	Gly ³⁴ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Gly ³⁴ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Gly ³⁴ -GLP-1(7-37)OH	Ala ³⁵ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Ala ³⁵ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Ala ³⁵ -GLP-1(7-37)OH	Lys ³⁵ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Lys ³⁵ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Lys ³⁵ -GLP-1(7-37)OH	His ³⁵ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -His ³⁵ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -His ³⁵ -GLP-1(7-37)OH	Pro ³⁵ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Pro ³⁵ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Pro ³⁵ -GLP-1(7-37)OH	Glu ³⁵ -GLP-1(7-37)OH
Gly ⁸ -Glu ³⁵ -GLP-1(7-37)OH	Val ⁸ -Ala ²⁷ -GLP-1(7-37)OH	Val ⁸ -His ³⁷ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Glu ²² -Lys ²³ -GLP-1(7-37)OH	Val ⁸ -Glu ²² -Glu ²³ -GLP-1(7-37)OH	Val ⁸ -Glu ²² -Ala ²⁷ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Gly ³⁴ -Lys ³⁵ -GLP-1(7-37)OH	Val ⁸ -His ³⁷ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -His ³⁷ -GLP-1(7-37)OH
Val ⁸ -Glu ²² -Ala ²⁷ -GLP-1(7-37)OH	Gly ⁸ -Glu ²² -Ala ²⁷ -GLP-1(7-37)OH	Val ⁸ -Lys ²² -Glu ²³ -GLP-1(7-37)OH
Gly ⁸ -Lys ²² -Glu ²³ -GLP-1(7-37)OH	Val ⁸ -Glu ³⁵ -GLP-1(7-37)OH	

5 Variantes de GLP-1 también pueden incluir, pero no se limitan a, GLP-1 o fragmentos de GLP-1 que tienen modificación química de uno o más de sus grupos laterales de aminoácidos. Una modificación química incluye, pero no se limita a, añadir porciones químicas, creando nuevos enlaces, y remover porciones químicas. Las modificaciones en los grupos laterales de aminoácidos incluyen, sin limitación, acilación e grupos lisina-ε-amino, N-alquilación de arginina, histidina o lisina, alquilación de grupos ácido carboxílicos glutámico o aspártico, y desamidación de glutamina o asparagina. Las modificaciones del grupo amino terminal incluyen, sin limitación, las modificaciones des-amino, N-alquilo inferior, N-di-alquilo inferior y N-acilo. Las modificaciones del grupo carboxilo terminal incluyen, sin limitación, las modificaciones amida, alquilamida inferior, dialquilamida y éster alquílico inferior.

10 Además, uno o más grupos laterales, o grupos terminales, pueden ser protegidos por grupos protectores conocidos por un químico experto en proteínas.

Los fragmentos o variantes de GLP-1 también pueden incluir polipéptidos en los cuales uno o más aminoácidos han sido añadidos al N-terminal y/o C-terminal de GLP-1(7-37)OH de dicho fragmento o variante. Los aminoácidos en

5 GLP-1 en los cuales se han añadido aminoácidos al N-terminal o C-terminal son denotados por el mismo número que el aminoácido correspondiente en GLP-1(7-37)OH. Por ejemplo, el aminoácido N-terminal de un compuesto de GLP-1 obtenido al añadir dos aminoácidos al N-terminal de GLP-1(7-37)OH está en la posición 5; y el aminoácido C-terminal de un compuesto de GLP-1 obtenido al añadir un aminoácido al C-terminal de GLP-1(7-37)OH está en la posición 38. Por lo tanto, la posición 12 es ocupada por fenilalanina y la posición 22 es ocupada por glicina en estos dos compuestos de GLP-1, como en GLP-1(7-37)OH. Los aminoácidos 1-6 de un GLP-1 con aminoácidos añadidos al N-terminal pueden ser los mismos que o una sustitución conservativa del aminoácido en la posición correspondiente de GLP-1(1-37)OH. Los aminoácidos 38-45 de un GLP-1 con aminoácidos añadidos al C-terminal pueden ser los mismos que o una sustitución conservativa del aminoácido en la posición correspondiente de glucagón o exendina-4.

10 En otro aspecto de la presente invención, la composición que comprende por lo menos un polipéptido de SEC ID N° 1 se administra a un humano de una vez al día a una vez cada mes y se puede administrar una vez al día, una vez cada dos días, una vez cada tres días, una vez cada siete días, una vez cada catorce días, una vez cada cuatro semanas y/o una vez cada mes. En otro aspecto, una primera dosis y una segunda dosis de una composición que comprende por lo menos un polipéptido de SEC ID N° 1 se administra a un ser humano. La primera y segunda dosis pueden ser la misma o pueden ser diferentes. Cada dosis de por lo menos un polipéptido de SEC ID N° 1 puede comprender aproximadamente 0,25 µg a aproximadamente 1000 mg de por lo menos un polipéptido de SEC ID N° 1. Las dosis pueden incluir, pero no se limitan a, 0,25 µg, 0,25 mg, 1 mg, 3 mg, 6 mg, 16 mg, 24 mg 48 mg, 60 mg, 80 mg, 104 mg, 20 mg, 400 mg. 800, mg hasta aproximadamente 1000 mg de dicho por lo menos un polipéptido de SEC ID N° 1.

15 Cualquiera humano al que se administre una composición que comprende por lo menos un polipéptido que tiene actividad de GLP-1, de conformidad con las reivindicaciones, puede tener hiperglucemia, intolerancia a la glucosa, y/o diabetes, que puede ser T2DM. T

20 Los polipéptidos de la invención como se define en las reivindicaciones que tienen actividad de GLP-1 se pueden administrar por vía subcutánea en las piernas, brazos o abdomen de dicho ser humano.

25 En un aspecto de la presente invención, el ser humano tratado con por lo menos un agonista de GLP-1 como se define en las reivindicaciones puede tener hiperglucemia y/o diabetes. El ser humano puede tener T2DM.

30 Un agonista de GLP-1 se puede administrar por varias vías conocidas en la técnica incluyendo, pero sin limitarse a, inyección subcutánea, inyección intramuscular, inyección intravenosa, por vía mucosa, oral, y/o por inhalación. En otro aspecto de la presente invención, la composición que comprende un agonista de GLP-1 además comprende uno o más compuestos se selecciona del grupo de: ligando de receptor activado por proliferación de peroxisoma (PPAR), tiazolidinodiona (*v.gr.*, glitazonas), metformina, insulina y sulfonilurea. En otro aspecto, se proveen procedimientos que comprenden la etapa de coadministrar por lo menos un agonista de GLP-1 con uno o más compuestos seleccionados del grupo de: ligando de receptor activado por proliferación de peroxisoma (PPAR), tiazolidinodiona, inhibidores de DPP-IV, metformin, insulina y sulfonilurea. La composición que comprende por lo menos un agonista de GLP-1 puede tener una o más de estos compuestos además de por lo menos un polipéptido que tiene actividad de GLP-1, siendo dicho polipéptido como se define en las reivindicaciones.

35 La presente invención provee usos en el tratamiento de enfermedades asociadas con niveles elevados de glucosa en sangre, incluyendo pero sin limitarse a diabetes mellitus de tipo II, usando el GLP-1 y polipéptidos que tienen actividad de GLP-1 como se describe aquí. También se provee el uso de polipéptidos que tienen actividad de GLP-1 en la fabricación de un medicamento que se formulan para administración en cada uno de los usos en terapia que se describen en el presente documento.

40 Un experto en la técnica entenderá los diversos procedimientos para medir y calcular los parámetros descritos aquí de farmacocinética (por ejemplo, pero sin limitarse a, $C_{máx}$, AUC, $T_{máx}$, semivida en suero) y farmacodinámica (por ejemplo, pero sin limitarse a, niveles de glucosa en el suero, plasma y sangre). Más aún, el experto en la técnica entenderá los diversos procedimientos para hacer comparaciones estadísticas (por ejemplo, pero sin limitarse a, comparaciones de cambio de línea basal para post-tratamiento y/o comparaciones entre grupos de tratamiento) y/o análisis de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos descritos aquí. Más aún, el experto en la técnica entenderá y será capaz de utilizar algunos otros procedimientos para recopilar y analizar datos farmacocinéticos, farmacodinámicos y otros datos clínicos.

Ejemplos

45 Los siguientes ejemplos ilustran varios aspectos no limitantes de esta invención. Para los siguientes ejemplos, a menos que se indique otra cosa, SEC ID N°1 se formuló como 25 mg/ml de una forma liofilizada que comprende 2.8% de manitol, 4.2% de dihidrato de trehalosa, 0,01% de polisorbato 80, 20 mM de tampón fosfato a pH 7.2. Composiciones que comprendían SEC ID N°1 se diluyeron con agua para inyección según fue necesario para dosificación respectiva.

Ejemplo 1

Este fue un estudio de dosis ascendente, controlado con placebo, ciego simple de una composición farmacéutica que comprendía SEC ID N°1 (0,25 mg a 104 mg) administrada por vía subcutánea en el abdomen de sujetos sanos.

Treinta y nueve sujetos de sexo masculino y de sexo femenino sanos fueron reclutados en el estudio. Cinco cohortes de sujetos sanos recibieron dosis cada vez mayores en dos semanas de una composición farmacéutica que comprendía SEC ID N°1 inyectada por vía subcutánea en el abdomen como sigue: Cohorte 1 (0,25 mg + 1 mg); Cohorte 2 (3 mg + 6 mg); Cohorte 3 (16 mg + 24 mg); Cohorte 4 (48 mg + 60 mg); y Cohorte 5 (80 mg + 104 mg). Con los cohortes 1-4, seis sujetos fueron distribuidos aleatoriamente para recibir compuesto activo y dos sujetos fueron distribuidos aleatoriamente para recibir placebo. Dentro del cohorte 5, cinco sujetos fueron distribuidos aleatoriamente para recibir compuesto activo y dos sujetos fueron distribuidos aleatoriamente para recibir placebo. Por lo tanto, 29 sujetos recibieron tratamiento con compuesto activo y 10 sujetos recibieron placebo. Las exposiciones a la composición farmacéutica que comprendía SEC ID N°1 incrementaron de una manera mayor que la proporcional a la dosis en la prueba de intervalo de dosis. La semivida de SEC ID N°1 fue de aproximadamente 7 días para todas las dosis, con $T_{m\acute{a}x}$ variando de 2 a 4 días.

Los parámetros farmacocinéticos en sujetos sanos que recibieron compuesto activo se resumen en la tabla 1. Los datos farmacocinéticos para sujetos que recibieron placebo no se resumen. AUC (semana 1) representa el área bajo la curva de concentración *versus* tiempo calculada desde el tiempo de la primera dosis hasta una semana después de la primera dosis. AUC (semana 2) representa el área bajo la curva de concentración *versus* tiempo calculada desde el tiempo de la segunda dosis hasta una semana después de la segunda dosis. $C_{m\acute{a}x}$ (semana 1) representa la concentración máxima observada desde el tiempo de la primera dosis hasta una semana después de la primera dosis. $C_{m\acute{a}x}$ (semana 2) representa la concentración máxima observada desde el tiempo de la segunda dosis hasta una semana después de la segunda dosis.

Tabla 1 Resumen de parámetros farmacocinéticos en sujetos sanos

Dosis (mg) (semana 1 + semana 2)	N	AUC (semana 1) (nM x día)	AUC (semana 2) (nM x día)	$C_{m\acute{a}x}$ (semana 1) (nM)	$C_{m\acute{a}x}$ (semana 2) (nM)
Cohorte 1 0,25 + 1	6	NC	3,5 (64,7)	NC	0,64 (46,2)
Cohorte 2 3 + 6	6	10,7 (31,6)	39,1 (19,2)	1,9 (37,4)	6,6 (22,2)
Cohorte 3 16 + 24	6	75,9 (29,2)	181 (38,2)	13,3 (26,6)	30,0 (44,1)
Cohorte 4 48 + 60	6	296 (50,2)	714 (17,8)	54,1 (52,3)	123 (17,6)
Cohorte 5 80 + 104	5	668 (33,5)	1936 (22,4)	122 (29,2)	319 (22,7)
Datos presentados como media geométrica (%CV)					
NC- No calculado – concentraciones por abajo del limite de cuantificación de la prueba					

Ejemplo 2

Este fue un estudio de dosis múltiple controlado con placebo, ciego simple, en sujetos con T2DM. Cincuenta y cuatro sujetos de sexo masculino y de sexo femenino fueron reclutados en el estudio. Los sujetos fueron ya sea controlados con dieta o tomaron metformin, una sulfonilurea, o una combinación de metformin o una sulfonilurea. Los sujetos que tomaron metformin y/o una sulfonilurea antes de iniciar el estudio suspendieron estos tratamientos 2 semanas antes de la primera dosis. Los sujetos fueron distribuidos aleatoriamente para placebo o una composición farmacéutica que comprendía SEC ID N°1 mediante inyección subcutánea en el abdomen una vez a la semana durante dos semanas como sigue: Cohorte 1 (9 mg + 9 mg; 4 placebo, 14 activo); Cohorte 2 (16 mg + 16 mg; 5 placebo, 12 activo); Cohorte 3 (32 mg + 32 mg; 5 placebo, 14 activo). Cuarenta sujetos fueron distribuidos aleatoriamente para tratamiento con compuesto activo y catorce sujetos fueron distribuidos aleatoriamente para placebo.

Cincuenta y tres sujetos completaron el estudio. Un sujeto que fue distribuido aleatoriamente para recibir tratamiento con compuesto activo en el cohorte 2 fue sacado del estudio antes de la administración de la segunda dosis (16 mg). Un segundo sujeto que fue distribuido aleatoriamente para recibir tratamiento con compuesto activo en el cohorte 2 recibió sólo una primera dosis (16 mg). Este segundo sujeto no se incluyó en análisis farmacocinéticos. Tres sujetos no tomaron la dosis (dos sujetos de placebo y un sujeto distribuido aleatoriamente para recibir tratamiento con compuesto activo en el cohorte 3 (32 mg)). Los sujetos que no tomaron la dosis no fueron incluidos en ninguno de los análisis farmacocinéticos.

La semivida para SEC ID N°1 fue aproximadamente 4 a 6 días para todas las dosis. $T_{m\acute{a}x}$ varió de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 días post-dosis sin dependencia clara de la dosis. Los parámetros farmacocinéticos se resumen en la figura 1 y la tabla 2 para sujetos que recibieron compuesto activo. Los sujetos distribuidos aleatoriamente para placebo no se incluyen en la figura 1 o tabla 2.

Tabla 2 Resumen de parámetros farmacocinéticos en sujetos que recibieron compuesto activo con T2DM

Dosis (mg) Concentración de la inyección	N	AUC (semana 1) (nM x día)	AUC (semana 2) (nM x día)	$C_{m\acute{a}x}$ (semana 1) (nM)	$C_{m\acute{a}x}$ (semana 2) (nM)
9 mg + 9 mg	14	51 (45)	86 (43)	11,3 (51,4)	14,5 (43,4)
16 mg + 16 mg	12	42 (90) ¹	84 (40) ²	11,4 (59,7) ¹	16,0 (29,3) ²
32 mg + 32 mg	13	58 (78)	122 (55)	12,0 (76,2)	21,1 (52,7)

Datos presentados como media geométrica (%CV)

1. n = 11

2. n = 10

Ejemplo 3

Los perfiles farmacodinámicos de los sujetos descritos en el ejemplo 2 se proveen en este ejemplo. Los sujetos recibieron inyecciones subcutáneas de placebo o una composición farmacéutica que comprendía SEC ID N°1 dosificada una vez a la semana durante dos semanas como sigue: Cohorte 1 (9 mg + 9 mg; 4 placebo, 14 activo); Cohorte 2 (16 mg + 16 mg; 5 placebo, 12 activo); Cohorte 3 (32 mg + 32 mg; 5 placebo, 14 activo). Los sujetos fueron dosificados el día 1 y el día 8. Los efectos de SEC ID N°1 sobre la glucosa y fructosamina en sujetos con T2DM fueron evaluados. Los sujetos con T2DM fueron ya sea controlados con dieta o tomaron metformin, una sulfonilurea, o una combinación de metformin o una sulfonilurea y fueron retirados de estos tratamientos 2 semanas antes de la primera dosis. Los perfiles de glucosa en ayunas y de 24 horas se evaluaron en la línea basal y 24 horas después de la primera y la segunda dosis. La fructosamina se evaluó en la línea basal y el día 13, el día 21 y visita de seguimiento final (día 56 o día 63) después de la dosis.

Todos los sujetos que recibieron el tratamiento aleatorio correcto se incluyeron en análisis farmacodinámicos. Un sujeto en el cohorte 2 fue dosificado correctamente el día 1 pero fue retirado antes de la segunda dosis. Este sujeto se incluyó en el análisis farmacodinámico para datos recopilados antes del día 8 y excluidos de los resúmenes de PD después del día 8 de dosificación. Dos sujetos, distribuidos aleatoriamente para recibieron placebo y que no tomaron la dosis fueron excluidos de todos los análisis farmacodinámicos. Un sujeto distribuido aleatoriamente para compuesto activo a 32 mg en el cohorte 3 no tomó la dosis y fue excluido de todos los análisis farmacodinámicos.

A todos los niveles de dosis, se observaron reducciones clínicamente y estadísticamente significativas en la media ponderada de las concentraciones de glucosa en el plasma de 24 horas y glucosa en ayunas (FPG). Los datos de glucosa se muestran en la tabla 3.

Tabla 3 Reducciones de glucosa en ayunas y de 24 horas en sujetos que recibieron compuesto activo con T2DM cuando se compararon con placebo

	Dosis de SEQ ID NO.:1 (mg)					
	Cohorte 1 (N=14)		Cohorte 2 (N=12)		Cohorte 3 (N=14)	
	9	9+9	16	16+16	32	32+32
FPG	-7,36 (-25,9, +11,2)	-23,8 (-47,9, -0,28)	-22,9 (-40,7, -5,0)	-32,5 (-57,3, -7,7)	-26,7 (-46,32, -7,06)	-50,7 (-75,4, -26,0)

(95% CI)						
AUC ₀₋₂₄	-25,2	-31,0	-28,0	-34,8	-34,8	-56,4
(95% CI)	(-43,0, 6,4)	(-55,6, -6,4)	(-45,7, -10,3)	(-60,6, -8,9)	(-54,1, -15,5)	(-82,2, -30,5)
Valores de glucosa en mg/dl; Cambio de línea basal comparado con placebo						

Reducciones notables en fructosamina se vieron a todos los niveles de dosis el día 13 y el día 21 después de la dosis. Las reducciones no se esperarían en la visita de seguimiento final (el día 56 o el día 63) debido a la semivida estimada de SEC ID N° 1. Comparaciones de fructosamina en sujetos con T2DM que recibieron compuesto activo cuando se comparó con sujetos de placebo se resumen en la tabla 4.

5 **Tabla 4 Resumen de fructosamina en sujetos que recibieron compuesto activo con T2DM cuando se comparó con sujetos de placebo**

Parámetro	Dosis (mg)		
	9 mg	16 mg	32 mg
	Diferencia de medias de LS (95% CI)	Diferencia de medias de LS (95% CI)	Diferencia de medias de LS (95% CI)
Día 13	-34,3 (-61,6, -7,18)	-35,5 (-66,0, -5,05)	-37,0 (-66,1, -7,83)
Día 21	-26,7 (-57,3, 3,93)	-26,9 (-61,2, 7,43)	-49,6 (-82,3, -16,8)
Seguimiento final	35,62 (9,68, 59,6)	5,70 (-22,3, 33,7)	12,47 (-14,2, 39,2)
Valores de fructosamina en µmol/l; Cambio de línea basal comparado con placebo			

Ejemplo 4

10 Este fue un estudio de una sola dosis, ciego simple, distribuido aleatoriamente, abierto, en voluntarios sanos y en sujetos con T2DM. Sesenta y dos sujetos de sexo masculino y de sexo femenino fueron reclutados en el estudio. Los sujetos con T2DM fueron ya sea controlados con dieta, tomaron metformin o tomaron una tiazolidinodiona, y permanecieron en sus tratamientos previos durante todo el estudio. Los sujetos con T2DM recibieron una composición farmacéutica que comprendía SEC ID N°1 mediante inyección subcutánea como dosis individuales de 16 mg (abdomen (N=8); brazo (N=7); o pierna (N=7)) o 64 mg (abdomen (N=8); brazo (N=8); o pierna (N=8)). Los voluntarios sanos recibieron ya sea 16 mg (N=8) o 64 mg (N=8) de compuesto activo por inyección subcutánea en el abdomen. Por lo tanto, 16 voluntarios normales sanos recibieron compuesto activo y 46 sujetos con T2DM recibieron compuesto activo.

20 En sujetos con T2DM, las exposiciones fueron comparables a través de todos los sitios de inyección y se incrementaron de una manera moderadamente mayor que proporcional. Las exposiciones fueron comparables entre sujetos sanos y sujetos con T2DM. Los perfiles de concentración y gráficas de caja de AUC se presentan en las figuras 1 y 2, respectivamente. Los parámetros farmacocinéticos se resumen en la tabla 5. AUC (semana 1) representa el área bajo la curva de concentración *versus* tiempo calculada desde el tiempo de la dosificación hasta una semana después de la dosificación. AUC(0-∞) representa el área bajo la curva de concentración *versus* tiempo desde el tiempo de dosificación extrapolado a tiempo infinito con base en la tasa de eliminación de SEC ID N°1. Para seis sujetos que recibieron el nivel de dosis de 16 mg, los datos disponibles no permitieron la estimación de la tasa de eliminación de SEC ID N°1. Por lo tanto, la extrapolación a tiempo infinito no fue posible y AUC (0-∞) no se calculó para estos sujetos.

Tabla 5 Resumen de parámetros farmacocinéticos en sujetos sanos y en sujetos con T2DM

Dosis (mg)	Población	Sitio de Inyección	N	AUC (semana 1) (nM x día)	AUC (0-∞) (nM x día)	C _{máx} (nM)
16 mg	Sana	Abdomen	8	62,5 (16)	133 ¹ (24)	15 (37)
	T2DM	Abdomen	8	29,9 (101)	99,6 ¹ (37)	8,4 (136)
		Brazo	7	35,3 (99)	118 ¹ (36)	8,8 (70)
		Pierna	7	57,8 (39)	117 ¹ (29)	14 (56)

64 mg	Sana	Abdomen	8	245 (23)	590 (23)	53 (22)
	T2DM	Abdomen	8	218 (53)	562 (39)	49 (40)
		Brazo	8	238 (22)	637 (26)	54 (23)
		Pierna	8	213 (69)	555 (49)	50 (54)
Datos presentados como media geométrica (%CV)						
¹ n=6						

Ejemplo 5

5 Los perfiles farmacodinámicos de los sujetos descritos en el ejemplo 4 se proveen en este ejemplo. Los perfiles farmacodinámicos de la dosis individual de una composición farmacéutica que comprendía SEC ID N°1 se investigaron en este estudio e incluyeron los efectos de SEC ID N°1 sobre la glucosa, insulina, glucagón y C-péptido en sujetos con T2DM. Los sujetos con T2DM fueron ya sea controlados con dieta, tomaron metformin o tomaron una tiazolidinodiona, y permanecieron en sus tratamientos previos durante todo el estudio. Los sujetos recibieron una composición farmacéutica en una sola dosis que comprendía SEC ID N°1 como sigue: dosis individuales de 16 mg o 64 mg se administraron por inyección(es) subcutánea en el abdomen de 16 voluntarios normales, sanos o se administraron en el brazo, la pierna o el abdomen de 46 sujetos con T2DM, como se describe en el ejemplo 4. La glucosa en ayunas se evaluó 48 horas después de la dosis antes del desayuno. Los perfiles de glucosa post-prandiales (4-horas) se evaluaron 48 horas después de la dosis durante el período de 4 horas después del desayuno.

15 Reducciones en glucosa fueron consistentes a través de los sitios de inyección para cada dosis administrada. Las reducciones clínicamente y estadísticamente significativas en glucosa post-prandial (media ponderada de glucosa de 4 horas) y glucosa en ayunas en el plasma (FPG) se observaron a la dosis de 64 mg. Los datos de glucosa se muestran en la tabla 6.

Tabla 6 Reducciones de glucosa en ayunas y post-prandial (4 horas) en sujetos con T2DM cuando se compara con la línea basal

	16 mg Abdomen	16 mg Brazo	16 mg Pierna	64 mg Abdomen	64 mg Brazo	64 mg Pierna
	N=8	N=7	N=7	N=8	N=8	N=8
FPG	-21,1	-13,1	-4,1	-34,9	-21,5	-29,3
(95% CI)	(-41,5, -0,75)	(-26,1, -0,15)	(-16,5, +8,2)	(-54,1, -15,6)	(-26,7, -16,3)	(-43,0, -15,5)
AUC ₀₋₄	-16,1	-6,0	-10,8	-52,5	-41,3	-52,8
(95% CI)	(-44,5,+12,2)	(-27,2, +14,9)	(-27,2, +5,6)	(-82,0, -23,0)	(-70,9, -11,7)	(-64,7, -40,8)
Valores de glucosa en mg/dl; Cambio con respecto a los valores basales						

20

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> SmithKline Beecham Corporation

<120> Procedimientos para administrar agentes hipoglucémicos duraderos

<130> PU62137

25 <140> Desconocido

<141> 2007-09-12

<150> 60/825, 472 <151> 2006-09-13

<160> FastSEQ para Windows Versión 4.0

<210> 1

<211> 645

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 1

```

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
 1      5      10      15
Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg His Gly
      20      25      30
Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala
      35      40      45
Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Asp Ala His Lys
      50      55      60
Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
65      70      75      80
Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe
      85      90      95
Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
      100     105     110
Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
      115     120     125
Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
      130     135     140
Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
145     150     155     160
Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
      165     170     175
Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
      180     185     190
Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
      195     200     205
Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
      210     215     220
Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
225     230     235     240
Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
      245     250     255
Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
      260     265     270
Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe

```

ES 2 442 869 T3

	275		280		285											
Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	
	290					295					300					
Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	
305					310					315					320	
Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	
				325				330						335		
Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	
			340					345					350			
Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	
		355					360					365				
Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	
370						375					380					
Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	
385				390				395							400	
Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Glu	Thr	Thr	
				405				410						415		
Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	
			420					425					430			
Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	
		435					440					445				
Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	
450						455					460					
Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	
465					470					475					480	
Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	
				485				490						495		
Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	
			500					505					510			
Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	
		515					520					525				
Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	
	530					535					540					
Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	
545					550					555					560	
Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	
				565					570					575		
Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	
			580					585					590			
Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	
		595					600					605				
Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	
	610					615					620					
Glu	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Gln	
625					630					635					640	
Ala	Ala	Leu	Gly	Leu												
				645												

<210> 2

<211> 31

ES 2 442 869 T3

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> VARIANTE

5 <222> 31

<223> Xaa = Cualquier aminiácido

<400> 2

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly

1				5					10				15	
Gln	Ala	Ala	Lys	Glu	Phe	Ile	Ala	Trp	Leu	Val	Lys	Gly	Arg	Xaa
			20					25					30	

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica capaz de potenciar la actividad de GLP-1 en un ser humano preparada a partir de una composición liofilizada que comprende el polipéptido de la SEC ID N° 1, 2,8% de manitol, 4,2% de trehalosa deshidratada, 0,01% de polisorbato 80 y 20 mM de tampón fosfato a pH 7,2 y, además, en la que dicha composición proporciona una concentración máxima en plasma de dicho polipéptido de 8 nM a 54 nM y un valor del área bajo la curva (0-∞) de al menos 99 nM por día a 637 nM por día de dicho polipéptido tras una única dosis.
2. Una composición liofilizada que comprende el polipéptido de la SEC ID N° 1, 2,8% de manitol, 4,2% de trehalosa deshidratada, 0,01% de polisorbato 80 y 20 mM de tampón fosfato a pH 7,2.
3. Una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 1 para su uso en terapia.
- 10 4. Una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de la hiperglucemia o la diabetes.
5. El uso de acuerdo con la reivindicación 4 en el tratamiento de diabetes mellitas de tipo II.
6. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en el que la composición farmacéutica es administrada una vez a la semana.
- 15 7. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en el que la composición farmacéutica es administrada una vez cada 14 días.
8. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 3 a 5, en el que la composición farmacéutica es administrada una vez al mes.

Figura 1 Perfil farmacocinético de la SEC ID N°: 1 en sujetos con diabetes melitus de tipo II
Media (95%) Gráfico de la concentración en plasma (nM ELISA) por tiempo (horas)

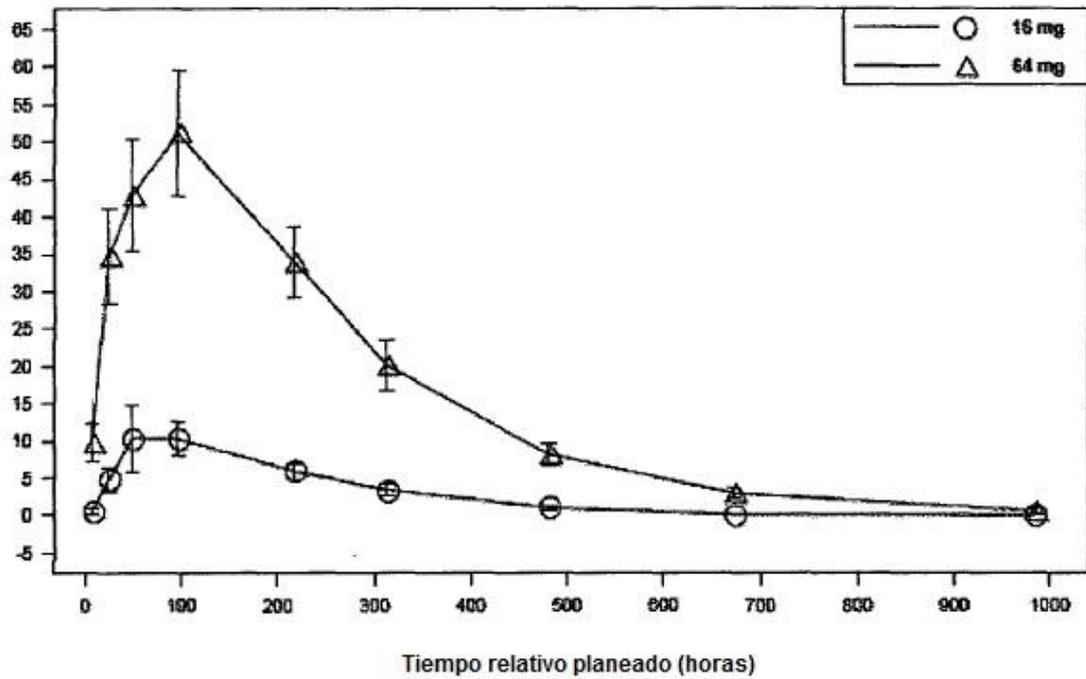


Figura 2 SEC ID N°.1 Exposición-Cajas de exposiciones ($AUC(0-\infty)$) por sitio de inyección (abdomen, piernas y brazos) y dosis en sujetos con diabetes tipo II

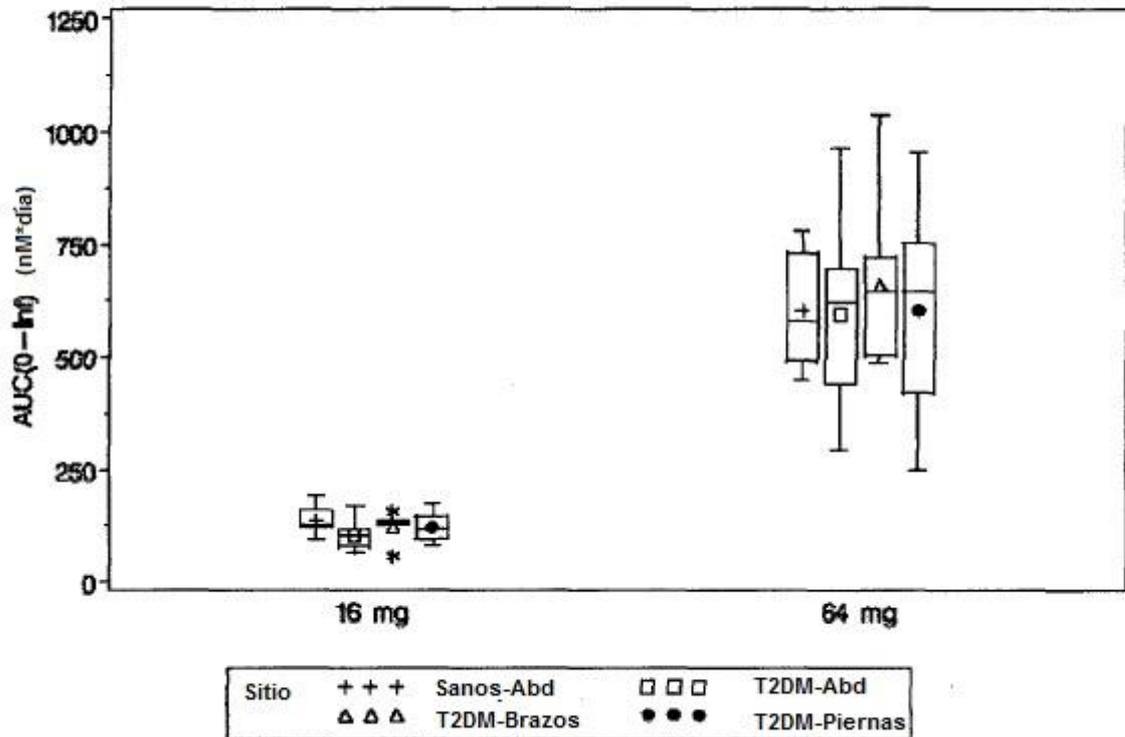


Figura 3

SEC ID N°.: 1

```

HGEFTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGRHGEFTFTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLVKGR 60
DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAE 120
NCDKSLHTL FGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNP NLPRLVRPE 180
VDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLL 240
PKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERA FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT 300
KVHTECCHGD LLECADDRADLAKY ICENQDS ISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMP 360
ADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSV VLLLRLAKTYETTLEK 420
· CCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFQ LGEYKFNALLVRYTKKVPQVS 480
TPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE 540
SLVNR RPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKA 600
TKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL 674
    
```