

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 450 148**

51 Int. Cl.:

C07C 279/26 (2006.01)

A61K 31/155 (2006.01)

A61P 5/50 (2006.01)

C07C 229/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.2008** **E 08807218 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2013** **EP 2303838**

54 Título: **Una nueva sal de glicinato de metformina para el control de la glucosa en sangre**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.03.2014

73 Titular/es:

LABORATORIOS SILANES, S.A. DE C.V. (100.0%)
Amores No. 1304 Col. del Valle
México, D.F. 03100, MX

72 Inventor/es:

LARA OCHOA, JOSÉ MANUEL FRANCISCO

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 450 148 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

Una nueva sal de glicinato de metformina para el control de la glucosa en sangre

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a la sal glicinato de Metformina, que presenta propiedades hipoglucemiantes superiores, mayor biodisponibilidad, una farmacocinética particular y segura.

ANTECEDENTES TÉCNICOS

10 El glicinato de metformina es una biguanida con propiedades farmacológicas y farmacocinéticas diferentes a las del clorhidrato de metformina (medicamento genérico). Al igual que ésta, el glicinato de metformina actúa inhibiendo la liberación hepática de glucosa y aumentando la sensibilidad periférica a la insulina endógena al propiciar la fijación de la insulina en sus receptores; es por esto se considera un agente antihiper glucemiante, ya que de esta manera impide el acenso de las cifras de glucemia. Sin embargo, y a diferencia del clorhidrato de metformina, el glicinato de metformina ha mostrado poseer efecto hipoglucemiante en estudios preclínicos y clínicos, descendiendo las cifras de glucosa plasmática de manera directa. El mecanismo de acción por el cual causa este efecto aún no se ha definido, pero se ha visto de manera consistente en los diversos estudios. En un estudio de curva glucémica tras administración aguda de glicinato de metformina en ratas por vía oral se observó un pronunciado efecto hipoglucemiante en las ratas a las que se les administró este medicamento, en comparación con las ratas a las que se les administró clorhidrato de metformina. En otro estudio en el que se evaluó la toxicidad del glicinato de metformina en administración repetida durante 28 días en ratas por vía oral, a diferentes dosis y comparándose con clorhidrato de metformina; Con los resultados obtenidos, se concluyó que no existen diferencias en cuanto al perfil de toxicidad entre glicinato de metformina y clorhidrato de metformina a la dosis más alta, aunque se observaron diferencias en relación con los resultados de la patología clínica demuestran una hipoglucemia severa, lo que sugiere un efecto farmacológico exagerado más que tóxico e indica una actividad farmacológica muy distinta entre los dos fármacos.

25 La clase de medicamentos antidiabéticos llamada biguanidas se originan de la planta *Galega officinalis*, conocida hace varios siglos por su capacidad para reducir los síntomas de la diabetes mellitus. La Metformina es un compuesto derivado de las biguanidas que actúa principalmente por la reducción de la gluconeogénesis hepática, pero también disminuye la absorción de glucosa a nivel del tracto gastrointestinal e incrementa la sensibilidad a la insulina al incrementar la utilización periférica de la glucosa. Esto último puede deberse a que la metformina mejora la unión de la insulina a su receptor a nivel celular, lo que se explica por el incremento de actividad que induce en el posreceptor tirosina cinasa y en el consecuente incremento en el número y actividad de los transportadores GLUT4.

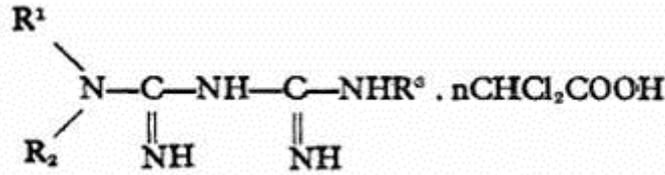
30 La Metformina no se metaboliza, se excreta directamente por la orina. Su vida media es de 6,2 horas.

35 La Metformina y el clorhidrato de Metformina poseen una mala absorción intestinal a nivel de colon y de tracto gastrointestinal inferior.

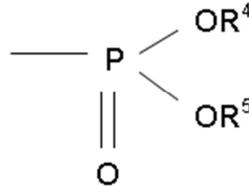
La presente invención se refiere al desarrollo de una nueva sal de biguanida basada en la Metformina conjugada con Glicina, la cual presenta una mejor absorción y paso al torrente sanguíneo, menores efectos adversos gastrointestinales y un mejor perfil farmacocinético al compararla con otras sales de Metformina conocidas en el estado del arte previo.

40 El clorhidrato de metformina tiene la desventaja de ser higroscópica. Esto dificulta su manipulación industrial para preparar composiciones sólidas como pastillas, cápsulas, etc. Además, en su forma sólida, es un cristal que es corrosivo, lo que desgasta las tableteadoras empleadas. Además, para el usuario es una sal sumamente amarga y el ácido que genera provoca, en muchos casos, trastornos gástricos con el uso prolongado.

45 La patente GB 1473256 describe por primera vez las sales de biguanida para tratar desórdenes metabólicos, en especial la diabetes mellitus, reduciendo el nivel de glucosa en la sangre, con la fórmula siguiente:



En donde R¹ representa un átomo de hidrógeno o un alquilo inferior o un grupo alquenilo inferior y R² representa un alquilo inferior, arilo, aril-(alquilo inferior), o un grupo ariloxi-(alquilo inferior) o R¹ y R² juntos representan un grupo alquenilo inferior, R³ representa un átomo de hidrógeno o un grupo de la fórmula:

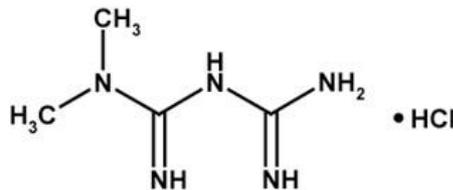


5

donde R⁴ y R⁵ representan cada uno un átomo de hidrógeno o un catión, o R⁴ representa un hidrógeno y R⁵ representa un grupo alquilo inferior, o R⁴ y R⁵ juntos representan un grupo alquileo inferior, y n significa 1 o 2.

10

La Metformina, a diferencia de otras biguanidas como la buformina o la fenformina, no causa acidosis láctica a elevados niveles séricos. El clorhidrato de Metformina es la sal que se comercializa actualmente y su fórmula es la siguiente:



Clorhidrato de Metformina

15

La patente belga BE 568,513 describe sales de adición ácidas de la Metformina, incluyendo el clorhidrato de Metformina. La solicitud de patente US 2005/0158374, describe la Metformina asociada con ácidos grasos con una absorción mejorada a nivel del tracto gastrointestinal. Esta Metformina asociada con un ácido graso (como laureato, succinato, caprato, palmitato, etc.), se obtiene a partir de una sal de metformina (por ejemplo Metformina-HCL). Estos compuestos se crearon para incrementar la absorción a nivel gastrointestinal bajo y para que el medicamento se mantenga en la sangre del paciente que así lo requiera en niveles relativamente constantes durante el día, así se evita la toma de varias dosis diarias. Las concentraciones plasmáticas de estos compuestos medidas en ratas en ng/ml con respecto al tiempo en horas demuestran una mayor biodisponibilidad que las sales de metformina no unidas a ácidos grasos. Sin embargo, el glicinato de metformina, a diferencia de los compuestos de Metformina-ácido graso, no sólo alcanza su máximo nivel plasmático dentro de los primeros minutos, sino que estos mismos niveles permanecen en plasma de manera sostenida durante las primeras 3 a 4 horas con una disminución paulatina a lo largo de 10 horas después de la toma. (Figura 1)

20

25

30

Este fenómeno que presenta el glicinato de metformina resulta particularmente ventajoso para disminuir la glicemia, debido a las altas concentraciones que alcanza en la primera hora y pudiera ser de particular utilidad en el manejo de la hiperglucemia postprandial, la cual se ha reconocido como uno de los principales factores de riesgo cardiovascular y de daño vascular. Por otro lado, al alcanzar concentraciones máximas mayores que el clorhidrato de metformina, el glicinato de metformina requiere de dosis menores para obtener efectos hipoglucemiantes similares.

Otro documento perteneciente al estado de la técnica es la patente europea EP 1039890 de Bristol-Myers Squibb Company, que trata sobre diversas sales de Metformina de ácidos dicarboxílicos, en combinación

con otro agente antidiabético y a un procedimiento que emplea dichas sales o combinaciones para tratar la diabetes, la patente protege el fumarato de metformina, succinato de metformina y el malato de metformina. Así mismo, existen en el estado de la técnica otras patentes que tratan sobre sales de metformina, como la patente americana US 4,835,184 que describe la sal p-clorofenoxiacético de metformina, las patentes francesas FR 2320735 y FR 2037002 que describen la sal de pamoato de metformina, la patente americana US 3,957,853 que describe la sal de acetilsalicilato de metformina, las patentes alemanas DE 2357864 y DE1967138 que describen la sal del ácido nicotínico de metformina, la patente japonesa JP 64008237 que revela sales de hidroxácido de metformina, que incluyen sales de ácidos dicarboxílicos hidroxí alifáticos, como son el ácido mesotartárico, ácido tartárico, ácidos mesoxálicos y maleatos oxidados, en todos estos casos se observa que son sales de ácidos orgánicos de la metformina.

Los documentos US 2008/031964 A1 y WO 2006/086856 describen la combinación de una betaína con un agente antidiabético con objeto de incrementar la eficacia de dicho agente antidiabético y disminuir sus efectos secundarios. La combinación de Glicina-betaína (trimetilglicina) y metformina en polvo se utiliza con un agente de granulación en forma de esferas. Asimismo, el documento WO 2005/065675 A se refiere a cualquiera de los compuestos de betaína en combinación con metformina, la mezcla destinada para mejorar los efectos de la metformina sobre el peso corporal del paciente y prolongar los niveles de glucosa. Sin embargo, estas combinaciones de Glicina y metformina administradas por separado no consiguen que la biodisponibilidad de la Metformina resulte de la sal de Glicinato de Metformina de la presente invención, pudiendo esta última disminuir los niveles de glucosa postprandial y evitar de este modo el choque diabético en el paciente.

En la presente invención se sintetizó una nueva sal de glicinato de 1,1-dimetilbiguanida, llamada Glicinato de metformina. Esta sal presenta ventajas sobre otras sales de metformina. Estas ventajas se deben, en primer lugar, a que el contraión glicina muestra por sí mismo efectos hipoglucemiantes. Además, es una sal que presenta una absorción más rápida, alcanzando concentraciones plasmáticas mayores a las obtenidas con el clorhidrato de metformina (Figura 1). Por otro lado, la glicina que se genera al ionizarse la sal, no es un ácido fuerte por lo que disminuye los efectos gástricos indeseables. Finalmente, el glicinato de metformina presenta características físicas favorables para la manipulación a escala industrial, facilitando así la elaboración de composiciones farmacéuticas al ser menos corrosiva, poseer mejores propiedades reológicas y ser menos susceptible de compactarse.

DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

FIGURA 1, muestra las concentraciones plasmáticas de glicinato de metformina (GLI-MET3), comparadas con clorhidrato de metformina (HCL-MET2).

FIGURA 2, muestra el espectro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de protones para el glicinato de metformina.

FIGURA 3, muestra el espectro del carbono 13 (RMN) para el glicinato de metformina.

FIGURA 4, muestra el espectro de infrarrojo (IR) para el glicinato de metformina.

FIGURA 5, muestra el espectro de masas obtenido por la técnica de FAB⁺ donde se aprecia el ión molecular del catión a 259 m/z y FAB⁻ donde se aprecia el ión molecular del anión a 75 m/z.

FIGURA 6, muestra la celda unitaria obtenida por la difracción de rayos X de monocristal.

FIGURA 7, muestra la formación cristalina obtenida de la difracción de rayos X.

FIGURA 8, Curvas de cinética de glucosa en Machos. (Media \pm SD), Diferencias estadísticamente significativas (*) P_{value} < 0.05, (**) P_{value} < 0.01 comparadas con el grupo control utilizando la prueba múltiple de Dunnett.

FIGURA 9, Curvas de cinética de glucosa en Hembras. (Media \pm SD), Diferencias estadísticamente significativas

(*) P_{value} < 0.05, (**) P_{value} < 0.01 Diferencias estadísticamente significativas comparadas con el grupo control utilizando la prueba múltiple de Dunnett.

(^a) P_{value} < 0.05, Diferencias estadísticamente significativas comparación entre grupo B y C.

(⁰⁰) P_{value} < 0.01, Diferencias estadísticamente significativas, comparación entre el grupo B y D.

FIGURA 10, Tabla de datos de la cinética de glucosa en sangre (mg/dL). Machos.

(*) $P_{\text{value}} < 0.05$, (***) $P_{\text{value}} < 0.001$, Diferencias estadísticamente significativas comparadas con el grupo control usando la prueba de Dunnett múltiple.

FIGURA 11, Tabla de datos de la cinética de glucosa en sangre (mg/dL). Hembras.

5 (*) $P_{\text{value}} < 0.05$, (***) $P_{\text{value}} < 0.001$, Diferencias estadísticamente significativas comparadas con el grupo control usando la prueba de Dunnett múltiple.

(^a) $P_{\text{value}} < 0.05$, diferencias estadísticamente significativas entre el grupo B y grupo C usando la prueba de Tukey múltiple.

10 (^o) $P_{\text{value}} < 0.05$, (^{oo}) $P_{\text{value}} < 0.01$ diferencias estadísticamente significativas entre el grupo B y grupo D usando la prueba de Tukey múltiple.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

15 A continuación se indica una realización preferente pero no limitativa de la síntesis de la sal Glicinato de Metformina la cual se sintetizó a partir de la sal Clorhidrato de Metformina, donde la Metformina libre se obtuvo liberando el contraión clorhidrato, utilizando para ello una columna de intercambio iónico, la metformina base liberada se disolvió en medio acuoso y luego se adicionó glicina a temperatura ambiente con agitación continua, luego el producto resultante es calentado hasta obtener una solución concentrada, se adiciona un disolvente orgánico tal que no reaccione con los componentes presentes y donde la glicina sea insoluble con el fin de crear insolubilidad en el medio y favorecer la cristalización del medio saturado, todo esto con el fin de precipitar el exceso de glicina y luego separarla por filtrado, al filtrado se le concentró nuevamente hasta lograr la precipitación de la sal de glicinato de metformina.

La sal obtenida se identificó mediante resonancia magnética nuclear, infrarrojo, espectrometría de masas y finalmente por Difracción de Rayos X de monocristal. El análisis de los espectros indicó que la nueva sal obtenida es diferente a otros compuestos de Metformina.

25 El espectro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de protones mostró desplazamientos en 2.814 ppm, 2.916 ppm, 4.677 ppm.

El espectro del ¹³C mostró desplazamientos en 37.754 ppm, 44.824 ppm, 158.761 ppm, 160.308 ppm y 180.049 ppm.

El espectro infrarrojo (IR), muestra señales de absorción características en 3.367,34 cm⁻¹, 3.175,88 cm⁻¹, 1.618,78 cm⁻¹, 1.573,96 cm⁻¹.

30 El espectro de masas se obtuvo por la técnica FAB⁺ obteniéndose un ión molecular para el catión a 259 m/z, lo cual se corresponde con el compuesto esperado, debemos recordar que el ión molecular es igual al peso molecular multiplicado por dos y al resultado hay que adicionar la unidad (129 x 2 + 1 = 259 m/z).

El espectro de masas para el anión se obtuvo también por la técnica FAB⁻ obteniéndose un ión molecular para el anión a 75 m/z, lo cual es una lectura directa de lo esperado.

35 La difracción de rayos X de monocristal obtenida corresponde a un cristal triclinico, de grupo espacial P-1 con las siguientes dimensiones de la celda unitaria:

$$a = 5,993 \text{ \AA} \quad \alpha = 90,94^\circ$$

$$b = 8,673 \text{ \AA} \quad \beta = 95,10^\circ$$

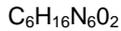
$$c = 10,51 \text{ \AA} \quad \gamma = 107,58^\circ$$

40 **Características del Glicinato de Metformina:**

a) Nombre químico completo:

Glicinato de N,N-dimetilimidodicarbonimidico diamida.

b) Fórmula condensada:



c) Peso molecular:

204,24

5 d) Requerimientos de almacenaje:

Conservar en envases bien cerrados y a temperatura ambiente.

e) Datos de Solubilidad

10 Muy soluble en agua, libremente soluble en metanol, etanol. Insoluble en acetato de etilo, éter, cloroformo, benceno. Solubilidad en agua aproximadamente 1,4 grs/ml a 25°C. Punto de fusión: 166° - 172° C

f) Estado: Sólido (polvo).

g) Estabilidad química: por reacción con un ácido fuerte el glicinato de metformina nos da una nueva sal de metformina y nueva sal de glicina por reacción de la parte básica de la glicina.

15 Los estudios que a continuación se indican son una realización preferente de la invención aunque no limitativas, tanto en las composiciones a administrar que pueden ser en forma de pastilla, capleta, gel, pasta, polvo, gránulos de liberación prolongada, cápsula, pastilla de liberación prolongada, líquido con agente buffer, pastillas efervescentes, suspensión, jarabe, aerosol y otras, así como en la vía de administración que puede ser oral, inyectable intravenosa, inyectable intramuscular, nasal, intraperitoneal, sublingual, etc.

20 **Estudio de citotoxicidad in vitro del Glicinato de metformina.**

Las líneas celulares y cultivos celulares primarios utilizados fueron los siguientes:

Células de origen hepático: CCL13, ATCC (American Type Culture Collection)

Células de origen renal: CRL 1633, ATCC (American Type Culture Collection)

Cultivos primarios: hepatocitos.

25 Los parámetros de citotoxicidad evaluados fueron los siguientes:

Morfología celular y adhesión celular.

Prueba de reducción del metiltiazoltetrazolio (Prueba de MTT).

El rango de concentraciones evaluadas fue de 250 mg/mL a 0.12 mg/mL

Se evaluaron dos tiempos de exposición: 24 y 72 horas.

30 **Resultados:**

El Glicinato de metformina evaluado no fue citotóxico para ninguno de los tipos celulares utilizados en este estudio en los dos períodos de exposición evaluados (24 y 72 horas).

Estudio de dosis letal media (DL₅₀) para Glicinato de metformina.

35 La prueba de determinación de la Dosis Letal 50 (DL₅₀) en ratas Wistar vía oral se realizó cumpliendo las normas internacionales y lo establecido para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Todo el procedimiento fue concebido como se estipula en el ensayo 423 de las Directrices de la Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo ("Organization for Economic Cooperation and Development")

ES 2 450 148 T3

Número de animales: Se utilizaron 96 ratas Wistar adultos jóvenes de 3 meses de edad, ambos sexos.

Aleatorización: 12 lotes con 8 animales por lote. Cuatro lotes se utilizaron para los estudios preeliminares para la búsqueda del intervalo de dosis y ocho lotes para el estudio final.

5 Método: Previo ayuno se administró el producto a diferentes dosis vía oral con sonda orogástrica. Durante el desarrollo del estudio en forma paralela se utilizó un grupo control.

Volumen: $3,8 \pm 0,4$ mL (correspondiente a un volumen no mayor de 2 mL por cada 100g de peso corporal de la rata).

Período de observación: 24 horas.

Resultados:

10 DL₅₀ vía oral obtenida para el Glicinato de metformina: $2,4625 \pm 0,195$ g/kg (la DL₅₀ del clorhidrato de metformina es de 1,45 g/kg)

La prueba χ^2 resultó con un valor de $p=0,723$

La OCDE define a la DL₅₀ como "dosis única de una sustancia derivada estadísticamente que causa la muerte en el 50% de los animales en experimentación".

15 **Estudio de Toxicidad Subaguda del glicinato de metformina.**

La prueba de Determinación de la Toxicidad Subaguda a 28 días se realizó cumpliendo las normas internacionales, y lo establecido para el cuidado y uso de animales de laboratorio.

20 Número de animales: se utilizaron 50 ratas Wistar adultos jóvenes, 3 meses de edad, ambos sexos. Cinco lotes con diez animales cada uno. Cuatro grupos experimentales (10 animales c/grupo) y un grupo control.

Previo ayuno se administró el producto a diferentes dosis, (baja, media, alta y grupo satélite y control) vía oral con sonda orogástrica, durante 28 días.

Dosis utilizadas:

Baja: 0,1 g/Kg

25 Media: 0,5 g/Kg

Alta: 1,0 g/kg

Satélite 1,0 g/Kg

Control: Solo el vehículo (Agua bidestilada)

Periodo de Observación: 28 días. Grupo satélite 15 días post-tratamiento (28 + 15)

30 Durante los 28 días se efectuaron los siguientes estudios: Observación de aparición de signos y síntomas, exámenes hematológicos y estudio anatomopatológico. Todo el procedimiento fue concebido como se estipula en el ensayo 407 de las Directrices de la Organización para la Cooperación Económica al Desarrollo.

Resultados:

35 Observaciones clínicas: Heces semipastosas a dosis altas (duración 2 días). No se observó mortalidad durante el estudio de 28 días. No se observaron cambios en conducta. En las autopsias no se observaron cambios drásticos en los diferentes órganos.

Estudio anatomopatológico: no se observaron cambios macroscópicos significativos en órganos blanco.

Grupo Control: No se observaron alteraciones

Observaciones post-estudio:

Ya que no existía documentación antes de efectuar este estudio, se podría inferir que la presencia de heces semipastosas en la dosis alta y en el grupo satélite se considere como efectos adversos potenciales solo a la dosis alta administrada.

- 5 La posibilidad de determinar algún efecto adverso a largo plazo (después de 28 días) no fue demostrada, ya que no se demostraron efectos posteriores después de la última administración del medicamento.

Los probables efectos adversos observados con la dosis alta (heces semipastosas) se revirtieron durante el curso del estudio (09-11avo día).

- 10 La extrapolación de una dosis probable para determinar el efecto de nivel adverso no observable, podría quedar establecida entre 0.5 y 1.0 g/Kg.

Estudio de biodisponibilidad del Glicinato de metformina

- 15 Se administraron pastillas de glicinato de metformina equivalentes a 850 mg de clorhidrato de metformina (HCL- metformina) a 12 voluntarios sanos y se compararon con la respuesta de otros 12 voluntarios a quienes se les administró clorhidrato de metformina 850 mg. Se tomaron muestras en los 24 voluntarios con el fin de realizar una curva de farmacocinética, resultando los siguientes parámetros farmacocinéticos: concentración máxima (C_{max}) 591 ng/ml, tiempo máximo (t_{max}) 2,5 horas, área bajo la curva de los 10 minutos a las 24 horas ($ABC_{(10-24)}$) de 26,811 ng•ml/hr, con una biodisponibilidad relativa de 2,8 µg/ml. (ver resultados en la Figura 1).

- 20 El glicinato de metformina inicia su biodegradación y su liberación en los primeros minutos, por lo tanto existe una absorción rápida, con aparición de niveles plasmáticos entre 0,00 y 0,13 h. Estos niveles permanecen en circulación por más de 10,00 horas.

El remanente circulante (niveles menores de 200 ng/ml), está presente y tiende a disminuir en las siguientes 12 horas y desaparece cuando no se administra el fármaco a la mañana siguiente.

Estudio de Tolerabilidad gástrica y eventos adversos del glicinato de metformina.

- 25 Se realizó un estudio en 24 voluntarios sanos a quienes se les administró una pastilla de glicinato de metformina (12 voluntarios) o clorhidrato de metformina (12 voluntarios) en una dosis equivalente a 850 mg durante 30 días de manera continua a la misma hora. Se les realizó una endoscopía antes de la primera toma del medicamento y una al final de los 30 días del estudio.

- 30 En este estudio se utilizó el Score de Lanza, utilizado para evaluar el daño gástrico medido mediante la suma de rangos. A mayor media de rangos, mayor daño gástrico.

En este estudio encontramos que el grupo que recibió glicinato de metformina presentó una media de suma de rangos de 225 versus 258 del grupo que recibió clorhidrato de metformina ($p=0,43$).

- 35 Aunque no se aprecian diferencias estadísticamente significativas, sí encontramos que el grupo que recibió glicinato de metformina presenta menor daño gástrico en comparación con el grupo que recibió clorhidrato de metformina quienes presentaron una mayor proporción de voluntarios con Lanza de 4 (calificación máxima en la escala).

En el seguimiento de los pacientes buscando eventos adversos serios, ninguno de los dos grupos presentó alguno, lo que corrobora la seguridad de ambos medicamentos.

Estudio de curva glucémica tras administración aguda en rata por vía oral

- 40 En el presente estudio agudo se administró una sola dosis de glicinato de metformina (1500 mg/kg de base), clorhidrato de metformina (1500 mg/kg de base) o glicina (871,6 mg/kg, equivalente a la contenida en la dosis probada de glicinato de metformina) a dos grupos de 10 machos y 10 hembras de ratas Sprague Dawley (20 ratas por grupo) mediante sondaje por vía oral. Un grupo de 20 ratas únicamente recibió el vehículo y sirvió como grupo control. Durante los 14 días siguientes a la administración se evaluaron los efectos tóxicos. A diferentes tiempos tras la administración (5, 10, 15, 30, 60, 180 y 360 minutos) se determinó el nivel de glucosa sanguínea. Seis horas tras la administración se realizaron análisis de bioquímica sanguínea completa. La dosis de metformina base administrada se seleccionó por ser cercana a la dosis letal. Con estas dosis se presentó mortalidad en 3 hembras del grupo que recibió glicinato de metformina en las 3-4 horas siguientes a la administración, y en una hembra que recibió

clorhidrato de metformina en las 6 horas siguientes a la administración. En los machos, ya sea en el ensayo de glicinato metformina o el ensayo de metformina HCl y glicina no se presentó mortalidad. La causa de las muertes se debió a un descenso muy pronunciado de la glucemia. Véanse Figuras 8, 9 10 y 11.

5 Se observó un efecto hipoglucemiante en los grupos tratados con glicinato de metformina y con clorhidrato de metformina en ambos sexos, aunque fue mucho más pronunciado en hembras. La glucemia disminuyó más en los animales tratados con la sal de la invención, glicinato de metformina que en los animales tratados con clorhidrato de metformina. Dicha diferencia fue estadísticamente significativa. El efecto fue máximo a las 3 horas con ambas sustancias, tiempo en el que se registraron descensos de los niveles de glucosa de 31% y 19% en los machos tratados con glicinato de metformina y clorhidrato de metformina respectivamente, y de 70% y 40% en las hembras respectivamente, tomado como referencia los valores registrados en el grupo control.

15 Seis horas después de la administración, el efecto sobre la glucemia todavía persistía. Por el contrario, en los animales tratados con glicina no se observó ningún efecto en el nivel de glucosa en sangre con respecto al grupo control.

Seis horas después de la administración, además de otras diferencias con respecto al grupo control, se observó lactato aumentado de forma estadísticamente significativa en ambos sexos tratados con glicinato de metformina con respecto a los tratados con clorhidrato de metformina.

20 El estudio mostró que el efecto farmacológico de glicinato de metformina, que se refleja en la reducción de la glucosa en sangre y aumento del nivel de lactato en el plasma en el día de la administración oral, es más pronunciada en mujeres que en hombres y también más pronunciada que en los animales tratados con metformina glicinato. Ambos efectos son bien conocidos deL metformina HCl y son signos de un aumento de la captación de glucosa celular y la estimulación de la glucólisis anaeróbica. La glicina, que se utiliza en la dosis equimolares de glicinato (871.6 mg / kg), no mostró un efecto reductor de glucosa marcada. Este resultado sugiere que la reducción más pronunciada de los niveles de glucosa en el grupo que recibió metformina glicinato con respecto a la metformina HCl no ha sido causada por un simple efecto aditivo farmacológico de la glicina. Figuras 8 a 11.

30 Destacando, se observó que un efecto en el nivel de glucosa en sangre después de una única administración oral en los machos y más pronunciada en las hembras en comparación con los animales del grupo control y también en comparación con los animales de los grupos de elementos de referencia. Las hembras mostraron un aumento estadísticamente significativo menor nivel de glucosa en sangre 15 minutos, 30 minutos y también 3 y 6 horas después de una sola administración oral con metformina glicinato en comparación con las mujeres del grupo de control. Las hembras tratadas con metformina HCl mostraron estadísticamente menor nivel de glucosa en la sangre 3 y 6 horas tras la administración oral en comparación con las hembras del grupo control.

35 En general, el nivel más bajo de glucosa en la sangre se detectó tres horas después de la administración oral única con glicinato de metformina y clorhidrato de metformina en ambos sexos.

40 En conclusión, la sal de la invención, glicinato de metformina, mostró un efecto farmacológico más pronunciado sobre la glucosa en sangre y el lactato en plasma que el clorhidrato de metformina. La diferencia fue más pronunciada en hembras. Por el contrario, la glicina no mostró efectos sobre la glucosa en sangre, lo cual sugiere que el efecto más pronunciado sobre glucosa que se observa en el grupo tratado con glicinato de metformina no se debe a un efecto farmacológico aditivo de la glicina. Las muertes registradas en este estudio fueron causadas por un efecto hipoglucemiante que resultó notoriamente marcado. A dosis terapéuticas, el efecto hipoglucemiante fué reproducido en ensayos clínicos, donde también se observó una reducción de hemoglobina glicosilada de 1%.

50 El glicinato de metformina de la invención presenta propiedades farmacológicas y farmacocinéticas diferentes al clorhidrato de metformina (medicamento genérico). Ello hace que no pueda considerarse una sal bioequivalente y por tanto aquí se reportan estudios que caractericen su actividad farmacodinámica, su perfil farmacocinético y perfil de seguridad. Los estudios preclínicos y clínicos muestran las diferencias con respecto al clorhidrato de metformina. La sal de la invención, glicinato de metformina ha demostrado tener una actividad farmacológica diferente con respecto a la sal clorhidrato en lo que se refiere a la actividad hipoglucemiante. Esta diferencia se ha puesto de manifiesto en ensayos preclínicos y clínicos. Asimismo ha demostrado poseer un perfil farmacocinético diferente en humanos.

55 Por todo lo anteriormente descrito cualquier experto en el área podrá notar la novedad y el alcance inventivo del desarrollo de esta nueva sal farmacéutica para el tratamiento de la diabetes, cabe señalar que el comportamiento de las curvas de concentración plasmática del fármaco hacen evidente una biodisponibilidad mayor no solo al comparar con el clorhidrato de metformina si no también con las sales

ES 2 450 148 T3

de metformina con ácidos grasos, esto es evidente al analizar los diferenciales entre las áreas bajo las curvas (ver resultado Fig. 1), los tiempos de sostenimiento de altas concentraciones (cuatro horas) no se han reportado en el estado del arte estudiado, este fenómeno es por lo tanto un resultado técnico inesperado y ventajoso para el tratamiento de los pacientes diabéticos.

REIVINDICACIONES

1. La sal glicinato de metformina.
2. La sal según la reivindicación 1, caracterizada por que el espectro de resonancia magnética nuclear (RMN) de protones mostró desplazamientos en 2.814 ppm, 2.916 ppm, 4.677 ppm.
- 5 3. La sal según la reivindicación 1, caracterizada por que el espectro de resonancia magnética nuclear (RMN) del carbono 13 mostró desplazamientos en 37.754 ppm, 44.824 ppm, 158.761 ppm, 160.308 ppm y 180.049 ppm.
4. La sal según la reivindicación 1, caracterizada por que el espectro infrarrojo (IR), presenta señales de absorción características en $3.367,34\text{ cm}^{-1}$, $3.175,88\text{ cm}^{-1}$, $1.618,78\text{ cm}^{-1}$, $1.573,96\text{ cm}^{-1}$.
- 10 5. La sal según la reivindicación 1, caracterizada por que se encuentra como principio activo en una composición farmacéutica en forma de pastilla, capleta, gel, pasta, polvo, gránulos de liberación prolongada, cápsula, pastilla de liberación prolongada, líquido con agente buffer, pastillas efervescentes, suspensión, jarabe o aerosol.
- 15 6. Un procedimiento de obtención de la sal glicinato de metformina, caracterizada por que comprende las siguientes etapas:
 - se hace pasar una solución de la sal clorhidrato de metformina por una columna de intercambio iónico para obtener metformina libre,
 - se disuelve dicha metformina liberada en medio acuoso y, subsecuentemente, se le adiciona glicina a temperatura ambiente agitando continuamente,
- 20 - se concentra la mezcla resultante aplicando calor y se agrega un disolvente orgánico donde la glicina es insoluble, hasta que el exceso de glicina precipita,
 - se filtra dicho precipitado de glicina y el filtrado resultante se concentra hasta que se obtiene un precipitado de glicinato de metformina,
 - se lava y se purifica dicho precipitado de glicinato de metformina.
- 25 7. La sal según la reivindicación 1, para uso en el tratamiento de la hiperglicemia en animales de sangre caliente, caracterizada por que dicho tratamiento consiste en administrar diversas dosis de glicinato de metformina por varias vías, en concreto: inyectable intravenosa, inyectable intramuscular, nasal, intraperitoneal o sublingual.
8. La sal para uso según la reivindicación 7, en que dicha administración es administración oral.

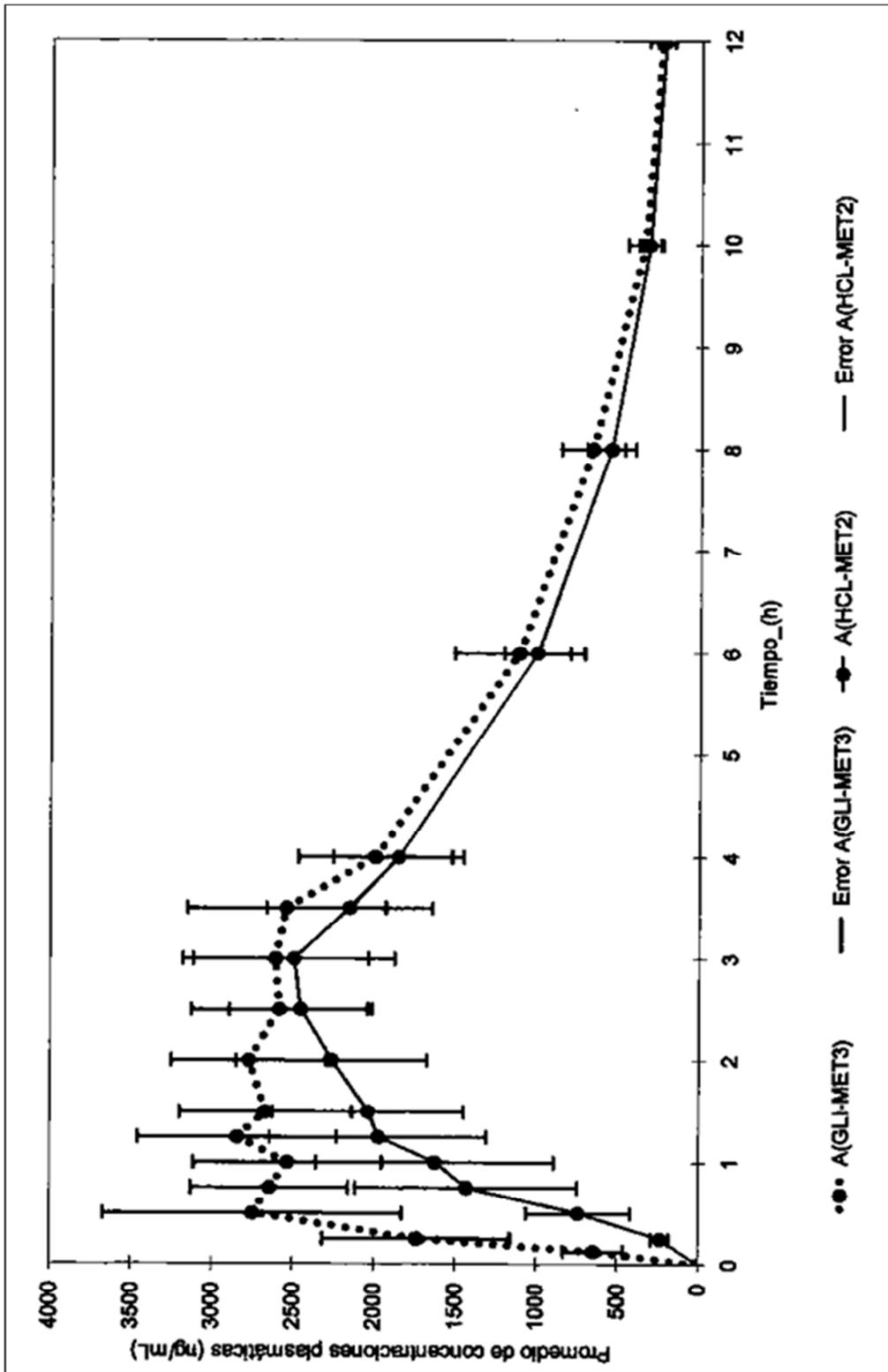


FIGURA 1

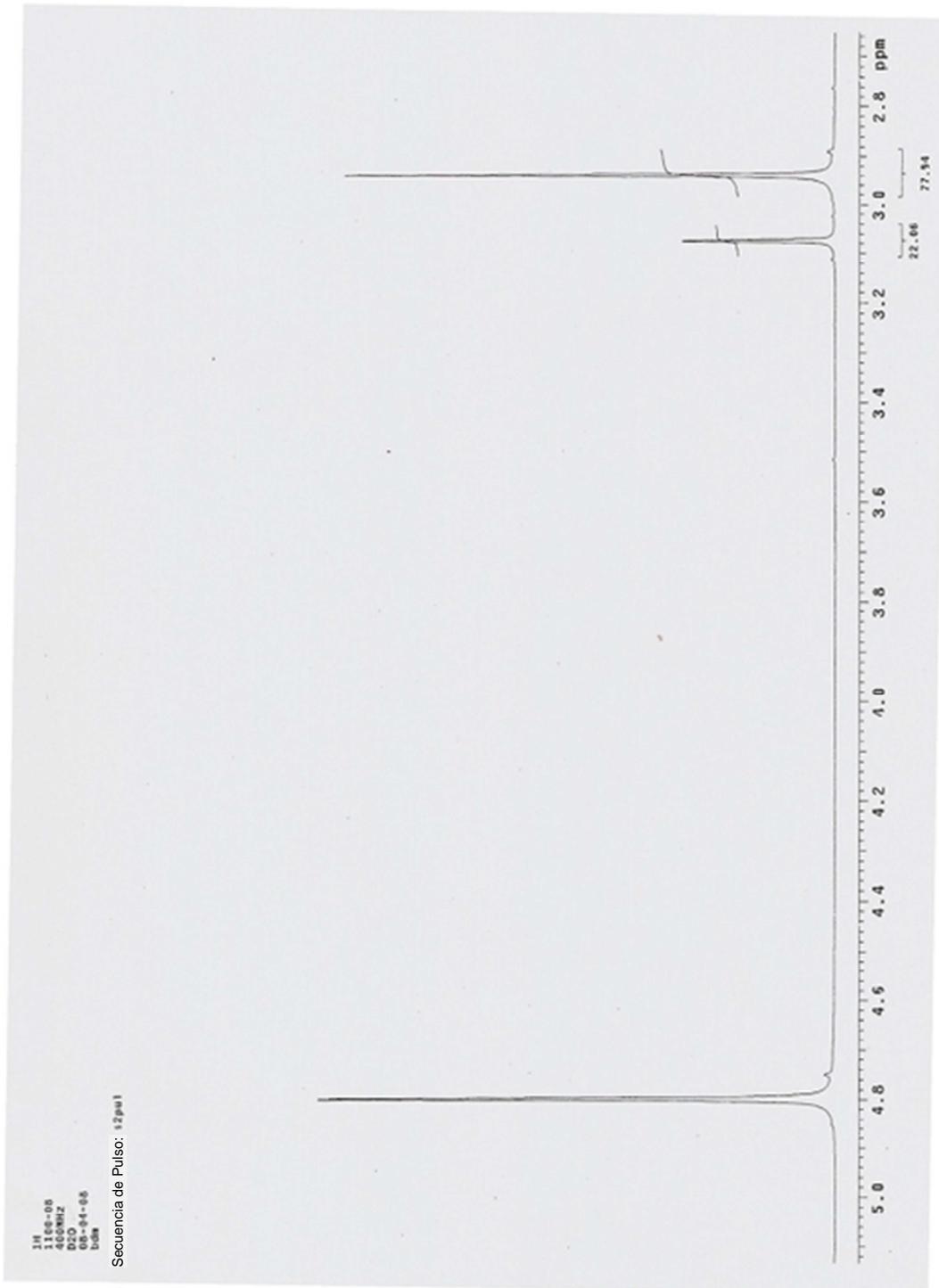


FIGURA 2

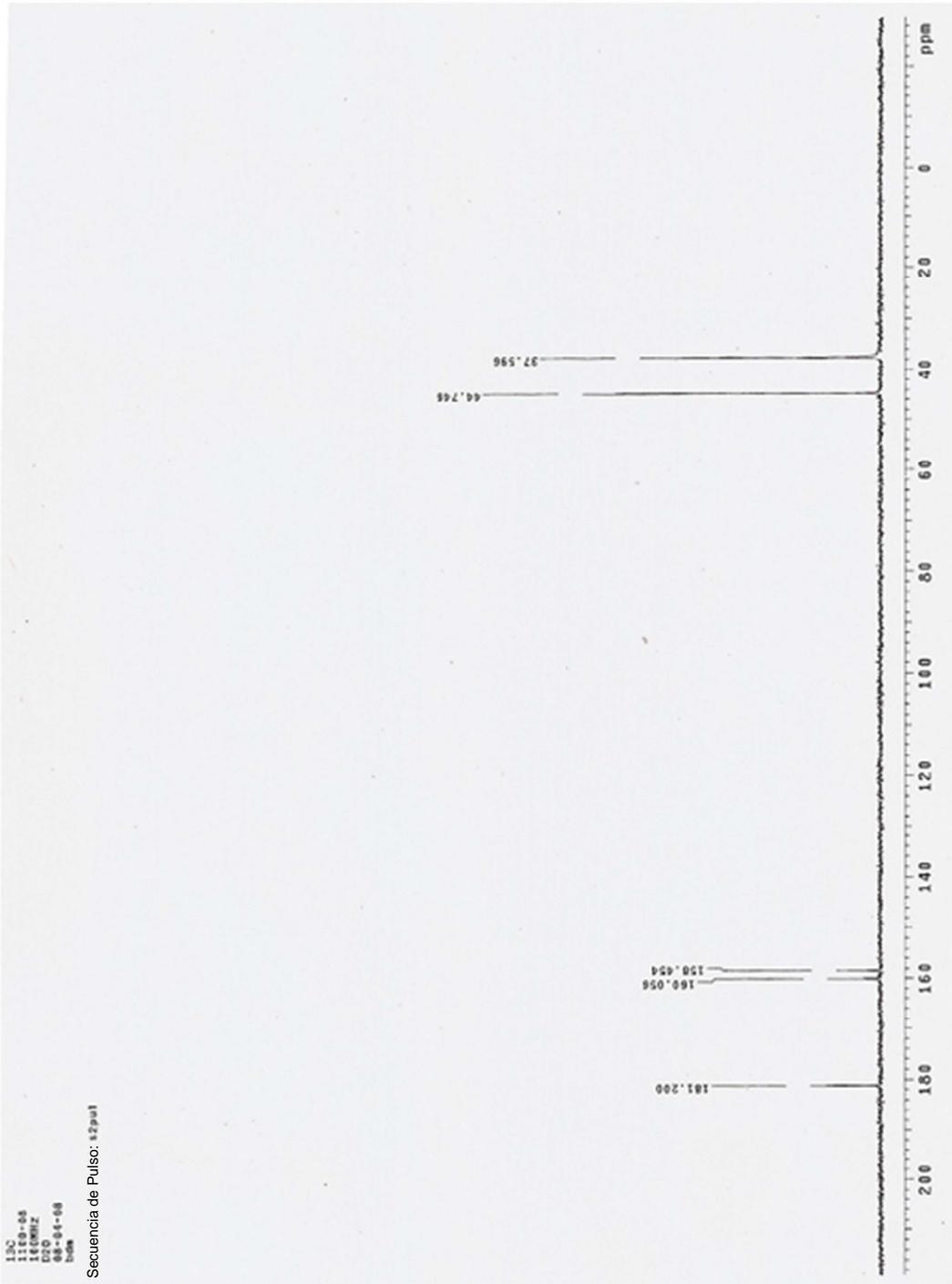


FIGURA 3

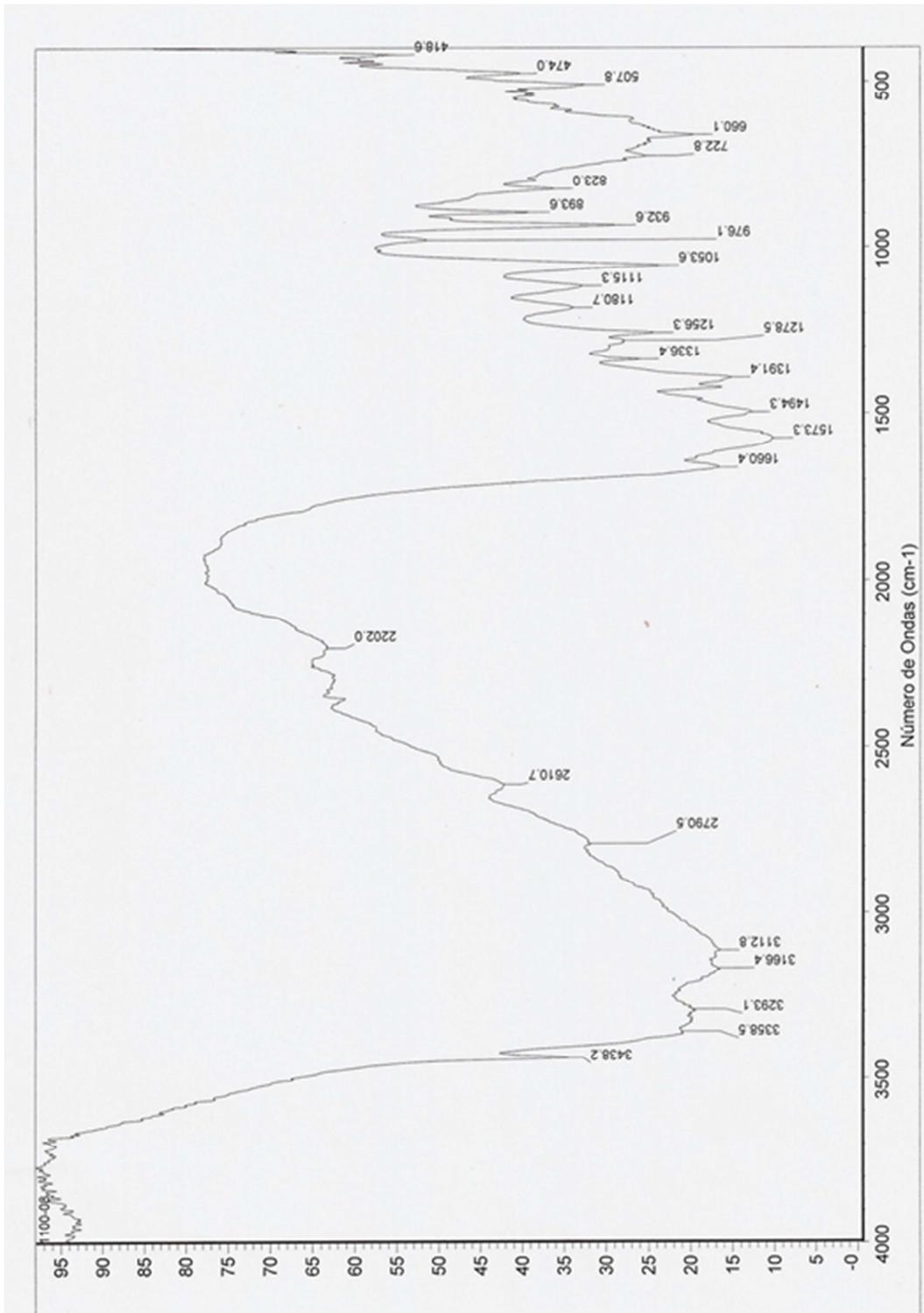


FIGURA 4

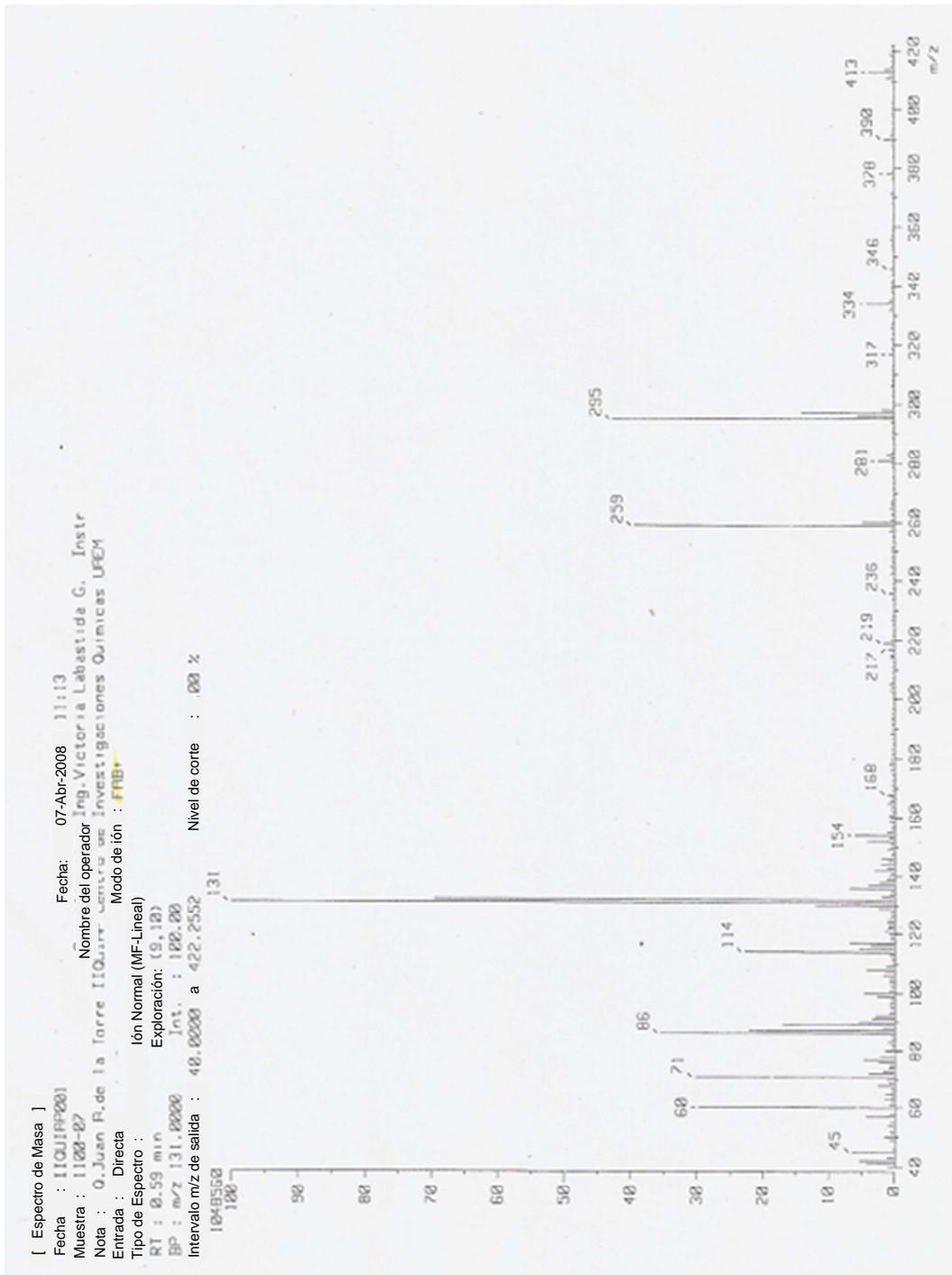


FIGURA 5

FIGURA 6

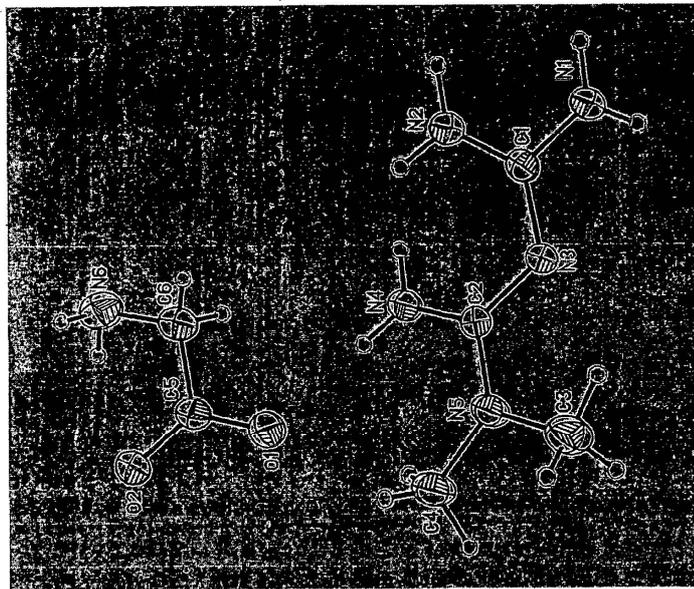
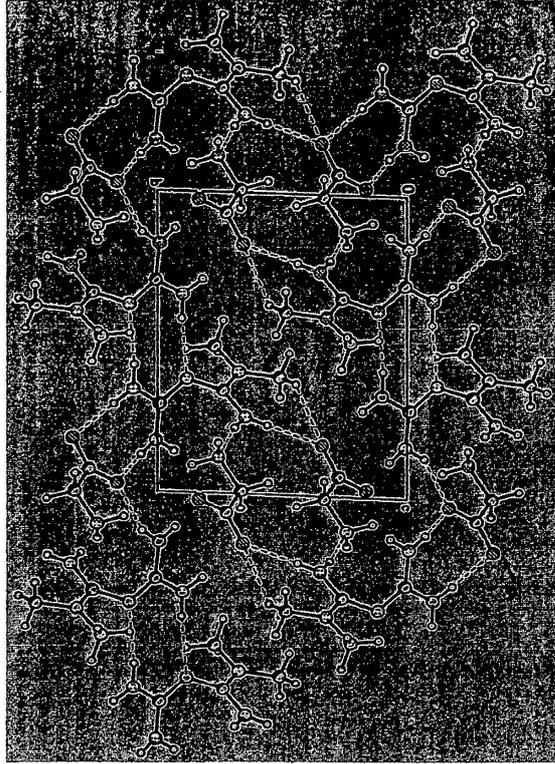


FIGURA 7



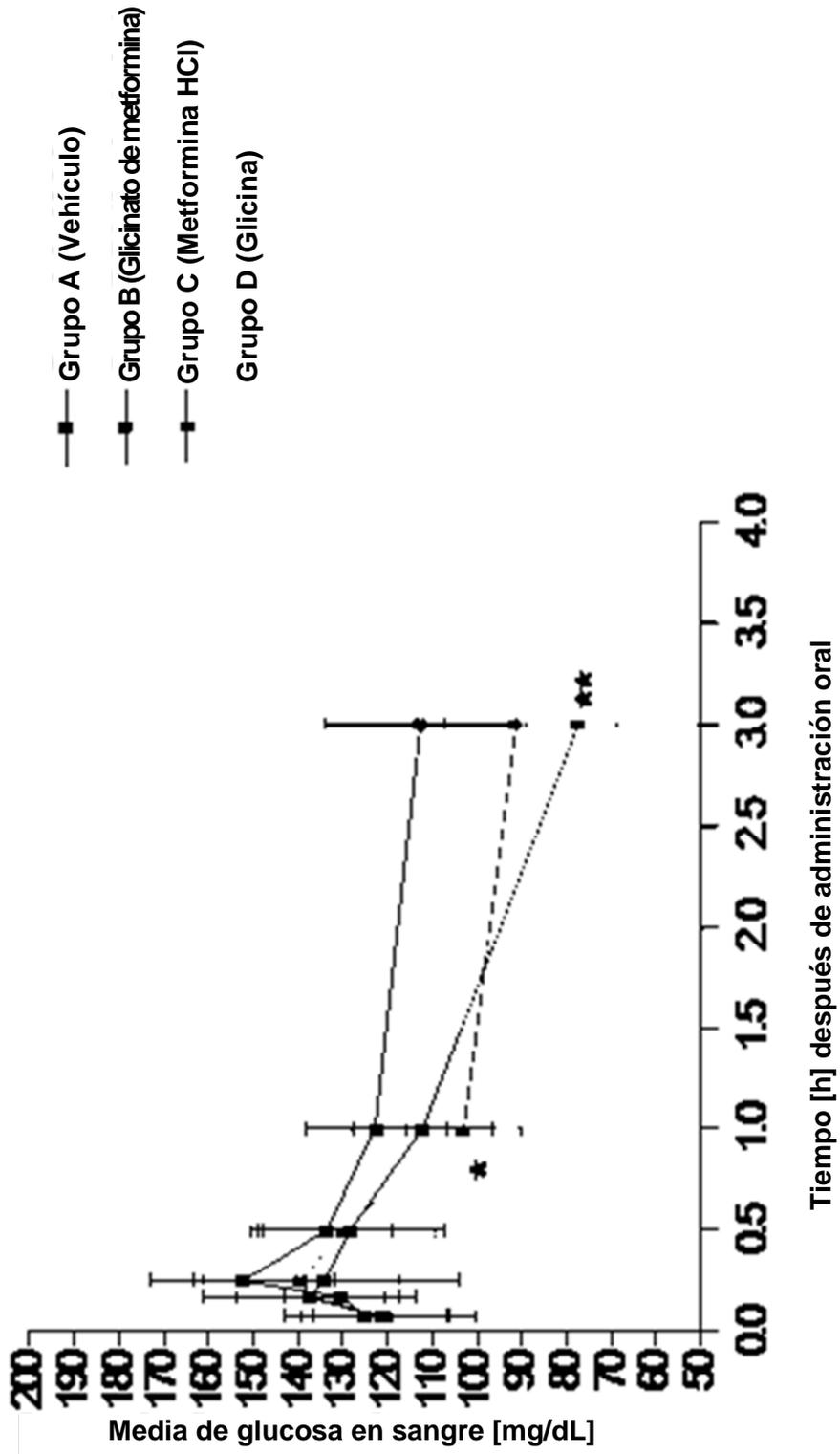


FIGURA 8

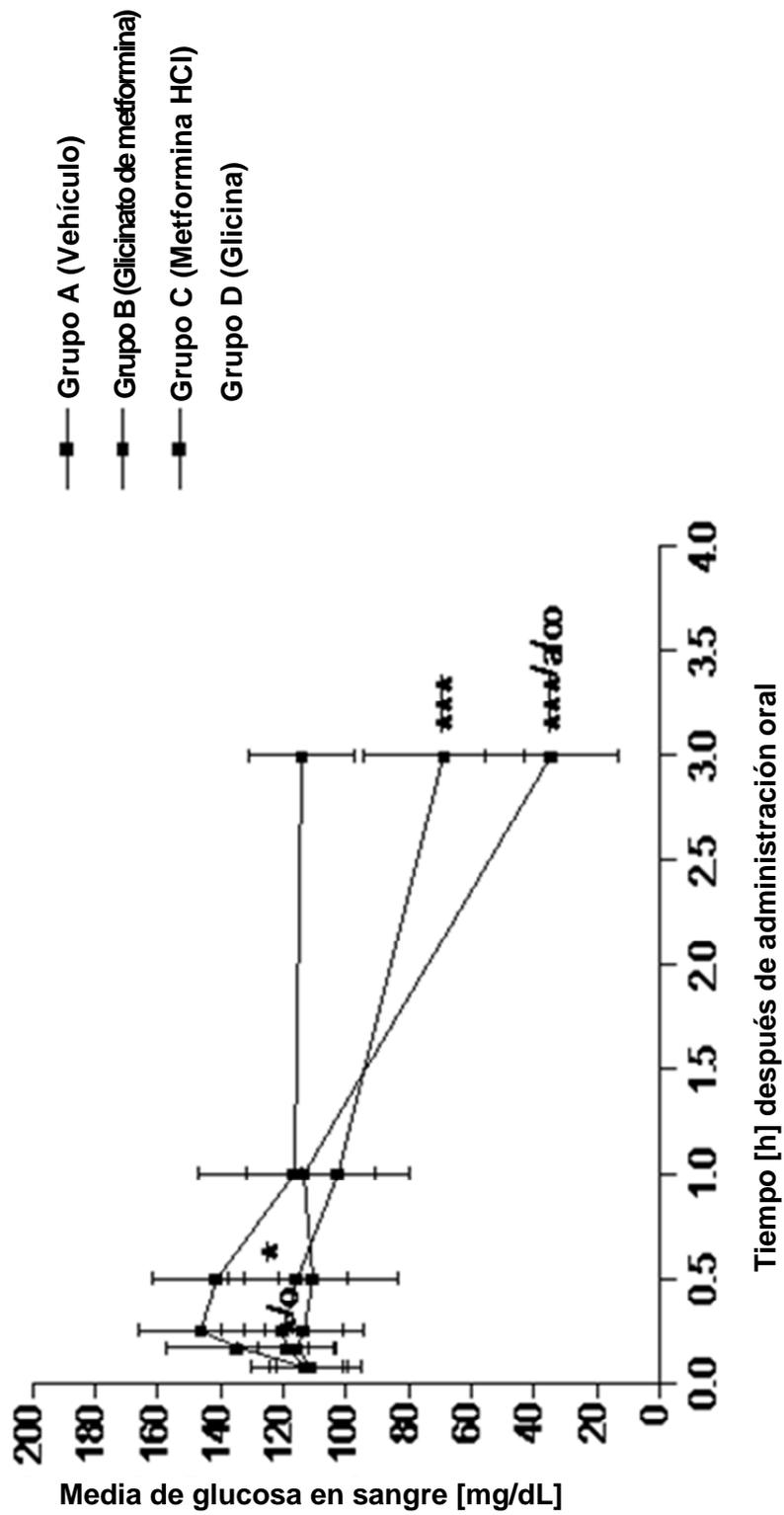


FIGURA 9

Cinética de glucosa en sangre [mg / dL]. Machos. (N, Media ± SD)

Grupo	Artículo	Dosis [mg / kg]	Colección sanguínea en los puntos de tiempo [min] después de administración oral						
			5	10	15	30	60	180	
A	Vehículo	-	10	10	10	10	10	10	10
			124.9 ±	130.4 ±	152.4 ±	133.6 ±	122.6 ±	112.7 ±	
B	Glucinato de metformina	1500	18.2	12.7	20.7	14.2	16.0	21.4	10
			10	10	10	10	10	10	
C	Metformina HCl	1500	121.5 ±	137.5 ±	134.0 ±	128.2 ±	112.3 ±	77.3*** ±	
			15.2	23.9	29.7	20.9	15.5	29.9	
D	Glucosa	871.6	10	10	10	10	10	10	10
			119.9 ±	137.2 ±	139.5 ±	130.1 ±	103.2* ±	91.3 ±	
			19.7	16.5	21.9	20.4	12.8	22.3	10
			10	10	10	10	10	10	
			111.5 ±	120.8 ±	128.2 ±	126.2 ±	117.1 ±	99.4 ±	
			14.5	12.2	12.9	14.4	11.1	10.4	

FIGURA 10

Tabla 4: Cinética de glucosa en sangre [mg / dL]. Hembras. (N, Media ± SD)

Grupo	Artículo	Dosis [mg / kg]	Colocación sanguínea en los puntos de tiempo [min] después de administración oral						
			5	10	15	30	60	180	
A	Vehículo	-	10	10	10	10	10	10	10
			112.8 ± 17.3	134.9 ± 22.8	146.2 ± 19.9	141.6 ± 20.3	116.6 ± 15.0	114.1 ± 16.9	
B	Glucinato de metformina	1500	10	10	10	10	10	10	9
			111.1 ± 11.5	115.6 ± 12.4	113.6 ⁷⁹ ± 19.1	110.8 ⁸ ± 27.1	113.6 ± 33.8	34.7 ^{79/80} ± 21.0	
C	Metformina HCl	1500	10	10	10	10	10	10	10
			111.8 ± 13.2	119.3 ± 15.3	120.4 ± 19.2	116 ± 18.4	102.5 ± 11.9	68.8 ⁸⁰ ± 25.4	
D	Glucosa	871.6	10	10	10	10	10	10	10
			128.6 ± 23.0	134.9 ± 31.4	144.7 ± 33.9	118.2 ± 36.4	106.3 ± 26.0	105.9 ± 25.0	

FIGURA 11