

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 304**

51 Int. Cl.:

A61K 9/19	(2006.01) A61K 47/10	(2007.01)
A61K 9/08	(2006.01) A61K 38/22	(2006.01)
A61K 9/00	(2006.01) A61K 38/28	(2006.01)
A61K 47/12	(2006.01) A61K 38/26	(2006.01)
A61K 47/18	(2007.01)	
A61K 47/26	(2006.01)	
A61K 47/22	(2006.01)	
A61K 47/02	(2006.01)	
A61K 47/20	(2006.01)	
A61K 47/14	(2007.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.03.2012 PCT/US2012/028621**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **13.09.2012 WO2012122535**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.03.2012 E 12711071 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2017 EP 2683364**

54 Título: **Formulaciones estables para inyección parenteral de fármacos peptídicos**

30 Prioridad:

10.03.2011 US 201161451568 P
25.04.2011 US 201161478692 P
31.10.2011 US 201161553388 P
09.03.2012 US 201261609123 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.07.2017

73 Titular/es:

XERIS PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
3925 West Braker Lane, 3rd Floor
Austin, TX 78759, US

72 Inventor/es:

PRESTRELSKI, STEVEN y
KINZELL, JOHN

74 Agente/Representante:

URIZAR LEYBA, José Antonio

ES 2 621 304 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

5 Formulaciones Estables para Inyección Parenteral de Fármacos Peptídicos

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0001] La presente invención se refiere a formulaciones farmacéuticas y más particularmente, a formulaciones farmacéuticas de péptidos que tienen una estabilidad mejorada y a procedimientos de uso de tales formulaciones farmacéuticas en el tratamiento de diversas enfermedades, afecciones y trastornos.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0002] La diabetes es un serio problema de salud en la sociedad moderna. La insulina es un tratamiento crucial para ambos tipos de diabetes I y II. Los estudios realizados en las últimas dos décadas han demostrado que un estricto control metabólico de la glucosa usando insulina, no sólo reduce la incidencia, sino que también retrasa el desarrollo de complicaciones en personas con diabetes tipo I y tipo II. Desafortunadamente la terapia intensiva con insulina necesaria para lograr un control estricto de la glucosa, lleva asociado también un incremento significativo en el riesgo de desarrollar hipoglucemia o "bajo nivel de azúcar en sangre".

15

[0003] Los síntomas de hipoglucemia varían mucho entre pacientes, pero normalmente incluyen temblores, palpitaciones, irritabilidad, ansiedad, nerviosismo, hambre, taquicardia, dolor de cabeza y palidez. Normalmente los síntomas disminuyen e una vez la glucosa plasmática es restaurada a niveles normales. De no revertir la hipoglucemia, una disminución adicional en la glucosa plasmática puede provocar al agotamiento de glucosa en el sistema nervioso central y síntomas neuroglicopénicos asociados, tales como dificultad de concentración, disfunción del habla, visión borrosa, reducción de la temperatura corporal, cambios de comportamiento y si no se trata, inconsciencia, convulsiones y posiblemente la muerte.

20

[0004] En general, la hipoglucemia puede ser definida como una hipoglucemia menor a moderada o como una hipoglucemia severa tal como se explica a continuación:

25

Hipoglucemia menor a moderada: Se refiere a episodios en los cuales el paciente se puede tratar a sí mismo independientemente de la gravedad de los síntomas, o en los cuales cualquier medición de glucosa en sangre es asintomática siendo los niveles de glucosa en sangre inferiores a 70 mg/dl (3,9 mmol / l).

30

Hipoglucemia severa: Se define de manera operacional, como un episodio de hipoglucemia en donde el paciente no se puede a sí mismo y por ello necesita de ayuda externa. Normalmente, los síntomas neuroglicopénicos y el deterioro cognitivo comienzan a unos niveles de glucosa en sangre de alrededor de 50 mg/dl (2,8 mmol/l).

35

[0005] La mayoría de los episodios de hipoglucemia menor a moderada pueden ser auto tratados con relativa facilidad ingiriendo carbohidratos de acción rápida tales como pastillas de glucosa o comida (zumos, bebidas o aperitivos azucarados). La hipoglucemia severa, por definición, no se puede auto tratar y por tanto requiere intervención externa. Si el paciente puede tragar y es cooperativo se aconseja usar geles o productos tales como miel o jalea que se colocan en el interior de la mejilla. Si el paciente no puede tragar se inyecta glucagón por vía subcutánea o vía intramuscular, lo que se utiliza para tratar la hipoglucemia grave.

40

[0006] El glucagón es una hormona peptídica natural de 29 aminoácidos de longitud que es secretada por las células α del páncreas. La principal función del glucagón es mantener la producción de glucosa a través de ambas, la glucogenolisis y la gluconeogenesis, cuya su acción se realiza principalmente en el hígado. El glucagón es la principal hormona contra reguladora de la insulina y es utilizada como tratamiento de primera línea de la hipoglucemia severa en pacientes con diabetes.

45

[0007] Ha habido numerosos intentos por conseguir un medicamento de rescate de glucagón que trate la hipoglucemia severa en situaciones de emergencia. Actualmente, existen dos kits de glucagón disponibles en Estados Unidos, que son fabricados por Eli Lilly (Kit de emergencia de Glucagón) y Novo Nordisk (GlucaGen® HypoKit). Ambos productos combinan un vial de glucagón congelado-secado con una jeringa precargada de diluyente acuoso. El glucagón congelado-secado debe reconstituirse utilizando un procedimiento complejo de difícil uso en una situación de emergencia. Estos productos también proporcionan una inyección de gran volumen ya que el glucagón es poco soluble en agua. Recientemente ha habido intentos por mejorar la estabilidad del glucagón en una solución acuosa y crear análogos de glucagón más estables y/o por mejorar la administración de glucagón mediante inyección de materia en polvo.

50

[0008] La patente US 2006/211982 revela una formulación de glucagón en un líquido polar aprótico seleccionado entre bencil benzoato, N-metil pirrolidona y glicerina. La formulación se prepara por congelación-secado de una solución acuosa de glucagón que comprende tampón citrato a pH 3 o menor y sacarosa. El polvo se reconstituye en el líquido polar aprótico antes de la inyección, formando una formulación semisólida o sólida.

55

5 [0009] Aunque ha habido algunos progresos, se necesita todavía un medicamento de rescate de glucagón que sea más fácil de usar para tratar la hipoglucemia severa en situaciones de emergencia. Dicho medicamento deberían llevarlo siempre consigo los diabéticos y/o sus cuidadores y por tanto, dicha medicación de rescate de glucagón debería ser estable a temperaturas no refrigeradas de (25-30 °C) durante largos períodos (> 2 años). Idealmente también, este medicamento debería poderse administrar por la población en general de manera simple y no requerir excesivo procesamiento/reconstitución antes de su administración al paciente con hipoglucemia El medicamento de rescate de glucagón también debería ser funcional dentro del intervalo de temperaturas que incluye las temperaturas comprendidas entre 0 °C y 30 °C.

10 BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

15 [0010] Para abordar dichas necesidades y otras adicionales, la presente invención proporciona una formulación de rescate de glucagón estable y también proporciona los procedimientos de uso de esta formulación de glucagón estable para el tratamiento de la hipoglucemia severa. En las formulaciones de la presente invención y de manera ventajosa, el glucagón está estabilizado para poder almacenarlo a largo plazo y o para ser suministrado durante un periodo de tiempo prolongado. Como tal, las formulaciones de glucagón de la presente invención son estables durante largos periodos de tiempo a temperaturas no refrigeradas, son fáciles de administrar, no necesitan reconstitución y son funcionales dentro del intervalo de temperaturas que incluye las temperaturas de 0 °C a 30 °C.

20 [0011] Es importante destacar que la tecnología de formulación de la presente invención es de amplia aplicación para el suministro de otros muchos péptidos que como el glucagón, tienen una pobre o una limitada estabilidad y solubilidad en medio acuoso. De hecho, resulta claro ahora que la formulación de péptidos con un disolvente polar aprótico tal que DMSO, NMP, acetato de etilo o una mezcla de los mismos en soluciones no acuosas de alta concentración, es una valiosa plataforma para la distribución de esta importante clase de péptidos terapéuticos. Adicionalmente, la tecnología de formulación de la presente invención es de amplia aplicación para el suministro de dos o más péptidos en la misma solución.

[0012] Por lo tanto, la presente invención proporciona una formulación estable para inyección parenteral tal y como se define en las reivindicaciones.

[0013] El péptido es glucagón o un análogo de glucagón o un peptidomimético de glucagón. En otra realización, el primer péptido es glucagón y el segundo péptido es exenatida.

30 [0014] El péptido (o, en realizaciones en donde la formulación comprende dos o más péptidos, cada uno de los péptidos) se mezcla con un tampón no volátil y se seca hasta conseguir un polvo de péptido secado. Los tampones no volátiles adecuados incluyen pero no se limitan a, tampones de glicina, tampones de citrato, tampones de fosfato y mezclas de los mismos. En una realización preferente, el tampón no volátil es un tampón de glicina. En otra realización preferente, el tampón no volátil es una mezcla de tampón de citrato y tampón de fosfato. En algunas realizaciones, en las que la formulación comprende dos o más péptidos, el primer tampón no volátil y el segundo tampón no volátil son iguales. En algunas realizaciones, en las que la formulación comprende dos o más péptidos, el primer tampón no volátil y el segundo tampón no volátil son diferentes.

40 [0015] En algunas formulaciones de la presente invención, el péptido se mezcla con un tampón no volátil y un excipiente estabilizante y luego se seca hasta conseguir un polvo de péptido secado. Los excipientes estabilizantes adecuados incluyen, pero no se limitan a azúcares, almidones y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el azúcar es trehalosa. En algunas realizaciones, el almidón es almidón hidroxietilo (HES). En algunas realizaciones, el excipiente estabilizante está presente en la formulación en una cantidad que varía desde alrededor del 1% (p/v) a alrededor del 60% (p/v), de alrededor del 1% (p/v) a alrededor del 50% (p/v), de alrededor del 1% a alrededor del 40% (p/v), de alrededor del 1% (p/v) a alrededor del 30% (p/v), de alrededor del 1% (p/v) a alrededor del 20% (p/v), de alrededor del 5% (p/v) a alrededor del 60% (p/v), de alrededor del 5% (p/v) a alrededor del 50% (p/v), de alrededor del 5% (p/v) a alrededor del 40% (p/v), de alrededor del 5% (p/v) a alrededor del 30% (p/v), de alrededor del 5% (p/v) a alrededor del 20% (p/v), de alrededor del 10% (p/v) a alrededor del 60% (p/v), de alrededor del 10% (p/v) a alrededor del 50% (p/v), de alrededor del 10% (p/v) a alrededor del 40% (p/v), de alrededor del 10% (p/v) a alrededor del 30% (p/v), de alrededor del 10% (p/v) a alrededor del 20% (p/v). En algunas realizaciones en las que la formulación comprende dos péptidos, tanto el primer péptido en el primer tampón no volátil como el segundo péptido en el segundo tampón no volátil comprenden además un excipiente estabilizante y el excipiente estabilizante con el primer péptido en el primer tampón no volátil y el excipiente estabilizante con el segundo péptido en el segundo tampón no volátil son iguales. En otras realizaciones en donde la formulación comprende dos péptidos, tanto el primer péptido en el primer tampón no volátil como el segundo péptido en el segundo tampón no volátil, comprenden además un excipiente estabilizante, y el excipiente estabilizante con el primer péptido en el primer tampón no volátil y el excipiente estabilizante con el segundo péptido en el segundo tampón no volátil son diferentes.

60 [0016] Una vez el péptido o péptidos y el tampón no volátil o el péptido (s), el tampón no volátil y el excipiente estabilizante han sido secados hasta conseguir un polvo, el polvo de péptido secado se disuelve o reconstituye en un disolvente polar aprótico. Ejemplos de disolventes polares apróticos incluyen pero no se limitan a los siguientes: dimetil sulfóxido (DMSO), dimetil formamida (DMF), acetato de etilo, n-metil pirrolidona (NMP), dimetil acetamida (DMA), carbonato de propileno, y mezclas de los mismos. Son disolventes polares apróticos especialmente preferentes el dimetil sulfóxido (DMSO), n-metil pirrolidona (NMP), acetato de etilo y mezclas de uno o más DMSO, NMP y acetato de

etilo. En una realización preferente, el disolvente polar aprótico es DMSO. En otra realización preferente, el disolvente polar aprótico es una mezcla de DMSO y NMP. En aún otra realización preferente, el disolvente polar aprótico es una mezcla de DMSO y acetato de etilo.

[0017] En algunas realizaciones el péptido o péptidos se reconstituyen en una mezcla de un disolvente polar aprótico (por ejemplo, dimetil sulfóxido (DMSO), dimetil formamida (DMF), acetato de etilo, n-metil pirrolidona (NMP), dimetil acetamida (DMA), carbonato de propileno, o mezclas de los mismos) y un co-disolvente que deprime el punto de congelación de la formulación. En algunas realizaciones, el co-disolvente deprime el punto de congelación de la formulación al menos alrededor de 5 °C, al menos alrededor de 10 °C, al menos alrededor de 15 °C ó al menos alrededor de 20°C. En algunas realizaciones, el co-disolvente deprime la congelación de la formulación a alrededor de los 3° C, a alrededor de los 2° C, a alrededor de 1° C, o a alrededor de 0° C o inferior. En algunas realizaciones, el co-disolvente es un disolvente polar aprótico. En realizaciones preferentes, el co-disolvente se selecciona entre etanol, propilenglicol (PG), glicerol, y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el co-disolvente está presente en la formulación en una cantidad que varía desde alrededor del 10% (p/v) a alrededor de 50% (p/v), de alrededor del 10% (p/v) a alrededor del 40% (p/v), de alrededor del 10% (p/v) a alrededor de 30% (p/v), de alrededor del 10% (p/v) a alrededor del 25% (p/v), de alrededor del 15% (p/v) a alrededor del 50% (p/v), de alrededor de 15% (p/v) a alrededor del 40% (p/v), de alrededor del 15% (p/v) a alrededor del 30% (p/v) ó de alrededor del 15% (p/v) a alrededor del 25% (p/v).

[0018] Es importante destacar que las formulaciones de la presente invención tienen muy poca humedad residual y por tanto, los péptidos en dichas formulaciones permanecen estables durante largos períodos de tiempo. En realizaciones preferentes, el contenido de humedad de la formulación de la presente invención es menor de alrededor del 4%, preferiblemente menor de alrededor del 3%, preferiblemente menor de alrededor del 2%, e incluso más preferiblemente menor de alrededor del 1%, preferiblemente menor de alrededor del 0,5%, preferiblemente menor de alrededor del 0,25%, preferiblemente menor de alrededor del 0,2%, preferiblemente menor de alrededor del 0,15%, ó preferiblemente menor de alrededor del 0,1%. En otras realizaciones preferentes, el contenido de humedad de la formulación de la presente invención es de alrededor del 0,01% a alrededor del 4%, preferiblemente de alrededor del 0,01% a alrededor del 3%, preferiblemente de alrededor del 0,01% a alrededor del 2%, preferiblemente de alrededor del 0,01% a alrededor del 1%, preferiblemente de alrededor del 0,1% a alrededor del 4%, preferiblemente de alrededor del 0,1% a alrededor del 3%, preferiblemente de alrededor del 0,1% a alrededor del 2%, preferiblemente de alrededor del 0,1% a alrededor del 1%, preferiblemente de alrededor del 0,25% a alrededor del 4%, preferiblemente de alrededor del 0,25% a alrededor del 2%, preferiblemente de alrededor del 0,25% a alrededor del 3%, preferiblemente de alrededor del 0,25% a alrededor del 2%, preferiblemente de alrededor del 0,25% a alrededor del 1%, ó preferiblemente de alrededor del 0,5% a alrededor del 1%.

[0019] Cuando el péptido se mezcla con un tampón no volátil, el tampón no volátil se selecciona de manera que el péptido tenga un pH de máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación en el medio acuoso. Una vez secado, el péptido tendrá una memoria de pH de máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación y retendrá esa memoria de pH cuando se disuelva o se reconstituya en el disolvente polar aprótico. Como tal, en realizaciones preferentes, el péptido tendrá en la formulación una memoria de pH alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0 para asegurar la máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación. En otras realizaciones, el péptido tendrá en la formulación una memoria de pH alrededor de 3,0 a alrededor de 5,0 para asegurar la máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación. En otras realizaciones, el péptido tendrá en la formulación una memoria de pH alrededor de 4,0 a alrededor de 5,0 para asegurar la máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación. En aún otras realizaciones, el péptido tendrá una memoria de pH alrededor de 4,0 a alrededor de 6,0 para asegurar la máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación. En aún otras realizaciones, el péptido tendrá una memoria de pH alrededor de 6,0 a alrededor de 8,0 para asegurar la máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación. En algunas realizaciones, en donde la formulación comprende dos péptidos, el primer péptido tendrá una memoria de pH alrededor de 4,0 a alrededor de 6,0 para asegurar la máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación, y el segundo péptido tendrá una memoria de pH de aproximadamente 1,5 a alrededor de 2,5, ó alrededor de 6,0 a alrededor de 8,0 para asegurar la máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación. En algunas realizaciones, en donde la formulación comprende dos péptidos, el primer péptido tendrá una memoria de pH alrededor de 3,0 a alrededor de 5,0 para asegurar la máxima estabilidad, solubilidad máxima y mínima degradación, y el segundo péptido tendrá una memoria de pH d alrededor de 1,5 a alrededor de 2,5, o alrededor de 6,0 a alrededor de 8,0, para asegurar la máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación. En otras realizaciones, en las que la formulación comprende dos péptidos, el primer péptido tendrá una memoria de pH alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0 para asegurar la máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación, y el segundo péptido tendrá una memoria de pH alrededor de 4,0 a alrededor de 5,0 para asegurar la máxima estabilidad, solubilidad máxima y mínima degradación. Para un experto en la técnica será fácilmente evidente cómo determinar el pH óptimo para obtener un péptido que tenga máxima estabilidad, solubilidad máxima y mínima degradación.

[0020] En las formulaciones estables de la presente invención se puede formular cualquier dosis adecuada de péptido o péptidos. Normalmente, el péptido (o, en las realizaciones que comprenden dos o más péptidos, cada uno de los péptidos) está presente en una cantidad que varía de alrededor de 0,5 mg/ml a alrededor de mg/ml. En algunas realizaciones, el péptido está presente en la formulación en una cantidad que varía de alrededor de 10 mg/ml a alrededor de 60 mg/ml. En otras realizaciones, el péptido está presente en la formulación en una cantidad que varía alrededor de 20 mg/ml a alrededor de 50 mg/ml. En otras el péptido está presente en la formulación en una cantidad que varía alrededor de 5 mg/ml a alrededor de 15 mg/ml. En otras realizaciones, el péptido está presente en la formulación en una cantidad que varía alrededor de 0,5 mg/ml a alrededor de 2 mg/ml. En aún otras realizaciones, el péptido está presente en la formulación en una cantidad que varía de alrededor de 1 mg/ml a alrededor de 50 mg/ml. De

nuevo, será fácilmente evidente para los expertos que la dosificación de péptidos puede variar dependiendo del péptido utilizado y de la enfermedad, trastorno o afección a tratar.

[0021] En algunas realizaciones, las formulaciones de la presente invención comprenden además un antioxidante. En otras realizaciones, las formulaciones comprenden además un quelante. En aún otras realizaciones, las formulaciones de la presente invención comprenden además un conservante.

[0022] En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar una enfermedad, afección o trastorno que se puede tratar, aliviar o prevenir administrando a un sujeto una formulación de péptido estable como se describe en esta memoria, en una cantidad eficaz para tratar, aliviar o prevenir la enfermedad, afección o trastorno. En algunas realizaciones, la enfermedad, afección o trastorno es hipoglucemia. En algunas realizaciones, en donde la enfermedad, afección o trastorno es hipoglucemia, el procedimiento comprende administrar una formulación de glucagón estable de la presente invención en una cantidad efectiva para tratar la hipoglucemia. En algunas realizaciones, en donde la enfermedad, afección o trastorno es diabetes, el procedimiento comprende administrar una formulación de glucagón estable de la presente invención en una cantidad efectiva para tratar la diabetes.

[0023] En otro aspecto más aún, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar una formulación estable para inyección parenteral cuyo proceso comprende: secar un péptido y un tampón no volátil hasta un polvo de péptido seco; y reconstituir el polvo de péptido seco con un disolvente polar aprótico, consiguiendo de este modo una formulación estable donde el contenido de humedad de la formulación estable es inferior al 5%. En algunas realizaciones, el polvo de péptido seco tiene una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil, y el polvo de péptido seco mantiene la memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil cuando el polvo de péptido seco se reconstituye en el disolvente polar aprótico.

[0024] En aún otro aspecto, la presente invención proporciona kits para tratar una enfermedad, afección o trastorno, donde dicho kit comprende: una formulación estable que comprende uno o más péptidos o sales de los mismos, en donde el péptido (s) se ha secado en un tampón no volátil, y donde el péptido (s) seco (s) tiene una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del (de los) péptido (s) en el tampón no volátil; y un disolvente polar aprótico; en donde el contenido de humedad de la formulación es inferior al 5%, y donde el péptido (s) seco (s) mantiene la memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del péptido (s) en el tampón no volátil cuando el péptido (s) seco (s) se reconstituye en el disolvente polar aprótico; y una jeringa para administrar la formulación estable al sujeto.

[0025] En algunas realizaciones, el kit se proporciona para tratar la hipoglucemia y la formulación estable comprende una formulación de glucagón tal como se describe en esta memoria. En algunas realizaciones, el kit se proporciona para tratar la diabetes y la formulación estable comprende una formulación de insulina y plamlintida tal como se describe en esta memoria. En algunas realizaciones, la jeringa es parte de un dispositivo de inyección de pluma, un dispositivo auto inyector ó una bomba. En alguna realización, la jeringa esta precargada con la formulación estable. En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones, en las que las instrucciones dirigen la administración de la formulación estable para tratar al sujeto que la necesita.

[0026] Otros objetos, propiedades y ventajas de la presente invención serán evidentes para un experto en la técnica a partir de la siguiente descripción detallada y de las reivindicaciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0027]

La Figura 1 ilustra los niveles de glucagón en plasma después de la inyección de glucagón-glicina-trehalosa congelada-secada y disuelta en DMSO o NMP.

La Figura 2 ilustra los niveles de glucosa en sangre después de la inyección de glucagón-glicina-trehalosa congelada-secada y disuelta en DMSO o NMP.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

I. Introducción

[0028] Los péptidos pueden degradarse por la vía de varios mecanismos distintos, que incluyen desamidación, oxidación, hidrólisis, intercambio de disulfuro y racemización. Además, el agua actúa como plastificante, lo que facilita el desplegado de moléculas de proteínas y la agregación molecular irreversible. Por tanto, para proporcionar una formulación peptídica que sea estable a lo largo del tiempo a temperaturas fisiológicas, normalmente se necesita una formulación de péptido que sea no acuosa o sustancialmente no acuosa.

[0029] Reducir las formulaciones de péptidos acuosos a formulaciones en polvo secas es una manera de incrementar la estabilidad de las formulaciones de péptidos farmacéuticos. Por ejemplo, las formulaciones de péptidos se pueden secar siguiendo diversas técnicas que incluyen el secado mediante pulverización, una primera liofilización o congelación-secado y la desecación. Las formulaciones de péptido en polvo seco obtenidas mediante estas técnicas exhiben un incremento significativo de la estabilidad en el tiempo a temperatura ambiente o incluso a temperaturas fisiológicas.

5 [0030] La presente invención se basa en parte en el sorprendente descubrimiento por el que una formulación de péptido estable (por ejemplo, una formulación de rescate de glucagón estable) se puede preparar fácilmente por medio de primeramente la congelación-secado de uno o más péptidos (por ejemplo, péptido de glucagón) en un tampón no volátil hasta conseguir un polvo de péptido seco. El péptido secado tiene una "memoria de pH" concreta de pH del péptido en el tampón no volátil en el cual se secó el péptido. Una vez secado, el polvo de péptido resultante por ejemplo el glucagón congelado-secado, se disuelve en un disolvente polar aprótico, formando de este modo una formulación estable, en donde el contenido de humedad de la formulación es menor del 5% y preferiblemente menor del 4%, menor del 2%, menor del 1%, menor del 0,5%, menor del 0,25%, menor del 0,15%, o menor del 0,1%. El péptido secado mantiene su memoria de pH concreta cuando se reconstituye en el disolvente polar aprótico, es decir el pH del péptido cuando se reconstituye en el disolvente polar aprótico es aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil en el cual se secó. De manera ventajosa, la formulación (por ejemplo, la formulación de glucagón) una vez preparada, se mantiene estable durante largos periodos de tiempo, estando lista para su uso sin necesidad de reconstitución y es funcional dentro de un intervalo de temperaturas.

15 [0031] Es importante destacar que la tecnología de formulación de la presente invención es de amplia aplicación para el suministro de muchos otros péptidos que como el glucagón tienen una pobre o limitada estabilidad y solubilidad en medio acuoso. De hecho, es evidente que la formulación de péptidos con un disolvente polar aprótico (por ejemplo, DMSO, NMP, acetato de etilo o una mezcla de los mismos) en soluciones no acuosas de alta concentración es una plataforma de suministro de valor incalculable para una importante clase de agentes terapéuticos-péptidos terapéuticos. De manera ventajosa, las formulaciones estables descritas en la presente memoria favorecen el suministro uniforme de fármacos peptídicos y proporcionan una estabilidad de almacenamiento adicional frente a vías de degradación relacionadas con la agregación, oxidación e hidrólisis.

25 [0032] En ciertas realizaciones preferentes, las formulaciones estables descritas en esta memoria conservan los fármacos peptídicos en forma estable durante largos periodos de tiempo, por ejemplo para una vida útil deseada, durante el tiempo necesario de almacenamiento de la formulación sin que ocurra que antes del uso de la formulación el agente terapéutico alcance niveles inaceptables de degradación. Se desea como propiedad, que las formulaciones inyectables sean no acuosas y no reactivas con respecto al péptido. En tales realizaciones, es posible almacenar las formulaciones inyectables directamente en el propio dispositivo de inyección.

30 [0033] Las formulaciones inyectables estables de la presente invención contienen la dosis necesaria del péptido o péptidos terapéuticos a ser suministrada (por ejemplo, la dosis requerida para la terapia del fármaco) y preferiblemente tienen poco volumen. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una formulación inyectable que comprende una dosis terapéutica de un péptido (por ejemplo, glucagón) tiene un volumen de al menos alrededor de 1,0 microlitros (siendo el límite inferior una función del equipo de llenado), más preferiblemente de alrededor de 10 mililitros a alrededor de 250 microlitros. El suministro de una dosis terapéutica de péptido a un volumen bajo se logra en ciertas realizaciones preferentes concentrando la dosis del péptido terapéutico o péptidos (por ejemplo, glucagón) en una forma estable en un disolvente polar aprótico adecuado para inyectar de acuerdo con la invención.

35 [0034] Además, las formulaciones estables de la presente invención son adecuadas para su administración sin necesidad de dilución antes de la inyección. Muchos productos de péptidos terapéuticos y vacunas que se encuentran disponibles actualmente se fabrican en forma de partículas sólidas que favorecen la estabilidad mientras están en el estante. Estas formulaciones se diluyen antes de la inyección en agua estéril, en una solución de tampón de fosfato o en una solución salina isotónica. Por el contrario, en ciertas realizaciones preferentes de la presente invención, el péptido terapéutico se ha concentrado usando técnicas de procesamiento para la preparación de partículas (por ejemplo, secado por pulverización, liofilización, etc.) que se emplean rutinariamente en la industria farmacéutica para la preparación de formulaciones de inyección. En realizaciones preferentes, las dosificaciones terapéuticas de fármacos peptídicos se consiguen disolviendo los péptidos que han sido previamente congelados-secados con un tampón no volátil (y opcionalmente los componentes adicionales tales como un excipiente estabilizante) hasta conseguir a un polvo secado de muy bajo contenido de humedad residual. Una vez preparado, el polvo de péptido secado se disuelve en un disolvente polar aprótico, tal que DMSO, NMP, acetato de etilo o mezclas de estos disolventes. Por tanto, de acuerdo a los objetivos de la presente invención, las formulaciones estables de bajo volumen de la presente invención se inyectan, infunden o administran de otro modo dentro de un animal (por ejemplo, un paciente humano), sin que previamente la formulación se haya diluido antes de la inyección lo cual se requiere en la mayoría de productos de reconstitución. Como tal, en realizaciones preferentes, las formulaciones de bajo volumen de la presente invención se administran sin que previamente se hayan diluido, reconstituido o refrigerado.

55 II. Definiciones

[0035] Para los propósitos de la presente descripción, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

60 [0036] El término "agente terapéutico" engloba compuestos peptídicos junto con sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Las sales útiles son conocidas por los expertos en la técnica e incluyen sales con ácidos inorgánicos, ácidos orgánicos, bases inorgánicas o bases orgánicas. Los agentes terapéuticos útiles en la presente invención son aquellos compuestos peptídicos que producen un efecto deseado, beneficioso y a menudo farmacológico tras ser administrados en un ser humano o un animal, por si solos, o en combinación con otros excipientes farmacéuticos o ingredientes inertes.

[0037] Los términos "péptido", "polipéptido" y/o "compuesto peptídico" se refieren a polímeros de hasta alrededor de 80 restos de aminoácidos unidos entre sí mediante enlaces amídicos (CONH). Se incluyen en estos términos los análogos, derivados, agonistas, antagonistas y sales farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los compuestos peptídicos revelados en esta memoria. Los términos incluyen también péptidos y/o compuestos peptídicos que tienen D-aminoácidos, aminoácidos modificados, derivatizados ó aminoácidos que ocurren de forma no natural en la configuración D- ó L- y / o unidades peptomiméticas como parte de su estructura.

[0038] El término "portador farmacéuticamente aceptable" significa un disolvente farmacéuticamente aceptable, un agente de suspensión o vehículo para administrar un compuesto peptídico de la presente invención en un mamífero tal que un animal o un ser humano. En una realización actualmente preferente, el portador farmacéuticamente aceptable es un disolvente polar aprótico.

[0039] El término "disolvente polar aprótico" significa un disolvente polar que no contiene hidrógeno ácido y no actúa como donante de un enlace de hidrógeno. Ejemplos de disolventes polares apróticos incluyen, pero no se limitan a, dimetil sulfóxido (DMSO), dimetil formamida (DMF), acetato de etilo, n-metil pirrolidona (NMP), dimetil acetamida (DMA) y carbonato de propileno. El término disolvente polar aprótico también engloba a mezclas de dos o más disolventes polares apróticos, por ejemplo, una mezcla de dos o más dimetil sulfóxidos (DMSO), dimetil formamida (DMF), acetato de etilo, n-metil pirrolidona (NMP), dimetil acetamida (DMA) y carbonato de propileno.

[0040] El término ingrediente, excipiente o componente "farmacéuticamente aceptable" es aquel que es adecuado para su uso con seres humanos y/o animales sin que tenga efectos secundarios adversos (tales como toxicidad, irritación y respuestas alérgicas) en una razonable relación beneficio/riesgo.

[0041] El término estabilidad química significa que con respecto al agente terapéutico se forma un porcentaje aceptable de productos de degradación los cuales son producidos por vías químicas tales como la oxidación o la hidrólisis. En particular, una formulación se considera químicamente estable si no se forma más de un 20% de productos de degradación después de un año de ser almacenada a la temperatura prevista de almacenamiento del producto (por ejemplo, temperatura ambiente); o por almacenamiento del producto a 30 °C / 60% de humedad relativa durante un año; o por almacenamiento del producto a 40 °C / 75% de humedad relativa durante un mes, preferiblemente tres meses. En algunas realizaciones, una formulación químicamente estable tiene menos del 20%, menos del 15%, menos del 10%, menos del 5%, menos del 4%, menos del 3%, menos del 2% o menos del 1% de productos de degradación formados después de un largo periodo de almacenamiento a la temperatura prevista de almacenamiento del producto.

[0042] El término estabilidad física significa que con respecto al agente terapéutico se forma un porcentaje aceptable de agregados (por ejemplo, dímeros, trímeros y formas más grandes). En particular, se considera que una formulación es físicamente estable si no se forman más de alrededor de un 15% de agregados después de un año de ser almacenada a la temperatura de almacenamiento deseada del producto (por ejemplo, temperatura ambiente); o por almacenamiento del producto a 30 °C / 60% de humedad relativa durante un año; o por almacenamiento del producto a 40 °C / 75% de humedad relativa durante un mes, y preferiblemente tres meses. En algunas realizaciones, una formulación físicamente estable tiene menos del 15%, menos del 10%, menos del 5%, menos del 4%, menos del 3%, menos del 2%, o menos del 1% de agregados formados después de su almacenamiento durante un largo periodo de tiempo a la temperatura de almacenamiento prevista del producto.

[0043] El término "formulación estable" significa que al menos alrededor del 65% del agente terapéutico química y físicamente estable permanece después de dos meses de su almacenamiento a temperatura ambiente. Las formulaciones particularmente preferentes son aquellas en las que un agente terapéutico químicamente y físicamente permanece estable al menos en un 80%, un 90%, un 91%, un 92%, un 93%, un 94%, un 95%, un 96%, un 97%, un 98% o un 99% bajo estas condiciones de almacenamiento. Las formulaciones estables especialmente preferentes son aquellas que no presentan degradación después de una irradiación esterilizante (por ejemplo, radiación gamma, radiación beta o haz de electrones).

[0044] La frase "que consiste esencialmente en" se utiliza aquí para excluir cualquier elemento que altere sustancialmente las propiedades esenciales de las formulaciones estables a las que se refiere la frase.

[0045] El término "biodisponibilidad" para los propósitos de la presente invención se define como la medida en que el agente terapéutico, tal como un compuesto peptídico, se absorbe desde la formulación.

[0046] El término "sistémico", con respecto al suministro o la administración de un agente terapéutico, tal que un compuesto peptídico en un sujeto, significa que el agente terapéutico es detectable a un nivel biológicamente significativo en el plasma sanguíneo del sujeto.

[0047] El término "liberación controlada" para los propósitos de la presente invención se define como la liberación del agente terapéutico a una velocidad tal que las concentraciones de sangre (por ejemplo, plasma) se mantienen dentro del intervalo terapéutico, pero por debajo de constituir concentraciones tóxicas, durante un tiempo de alrededor de una hora o más, preferiblemente 12 horas o más.

[0048] El término "inyección parenteral" se refiere a la administración de agentes terapéuticos, tales como compuestos peptídicos, por vía de inyección bajo o a través de una o más capas de piel o membranas mucosas de un animal, tal que un ser humano. Las inyecciones parenterales estándar se administran en la región intradérmica, la subcutánea o la intramuscular de un animal, por ejemplo, un paciente humano. En algunas realizaciones, se escoge una localización profunda para inyectar un agente terapéutico como se describe en la presente memoria.

[0049] Los términos "trata" o "tratamiento" se refieren a retrasar el inicio de, retardar o revertir el progreso de, o aliviar o prevenir la enfermedad o afección a la que se aplica el término, o uno o más síntomas de tal enfermedad o afección.

[0050] Los términos "paciente", "sujeto" o "individuo" se refieren indistintamente a un mamífero, por ejemplo, un mamífero humano o no humano, por ejemplo un primate, perro, gato, bovino, ovino, porcino, equino, rata, hámster, conejo o cobaya.

III. Formulaciones peptídicas estables

[0051] En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación estable para inyección parenteral. De manera ventajosa, una vez preparada, la formulación es estable durante largos periodos de tiempo, está lista para su uso sin requerir reconstitución y es funcional en un intervalo de temperaturas. Además, la formulación estable de la presente invención es útil para la inyección parenteral de cualquier péptido que tenga pobre o limitada estabilidad y solubilidad en medio acuoso. En algunas realizaciones, las formulaciones de la presente invención aumentan la estabilidad física del péptido o péptidos de la formulación, por ejemplo evitando o disminuyendo la formación de agregados del péptido o péptidos.

[0052] La formulación de la invención queda definida en las reivindicaciones.

A. Péptidos

[0053] Las formulaciones estables de la presente invención comprenden glucagón o un análogo de glucagón o peptidomimético, o una sal del mismo (por ejemplo, acetato de glucagón).

[0054] En algunas realizaciones, la formulación comprende dos péptidos, en donde el primer péptido es amilina o un amilinomimético y el segundo péptido es insulina o un análogo de insulina. En algunas realizaciones, el primer péptido es plamintida y el segundo péptido es insulina. En algunas realizaciones, el primer péptido es plamintida y el segundo péptido es una preparación insulina de bajo contenido de zinc o una preparación de insulina libre de zinc.

[0055] En algunas realizaciones, la formulación comprende dos péptidos, en donde el primer péptido es glucagón y el segundo péptido es un péptido-1 similar al glucagón (GLP-1) o un análogo o un agonista de GLP-1 (por ejemplo, exenatida). En algunas realizaciones, el primer péptido es glucagón y el segundo péptido es GLP-1. En algunas realizaciones, el primer péptido es glucagón y el segundo péptido es exenatida.

[0056] Cualquier dosis adecuada de péptido o péptidos se puede administrar usando las formulaciones de la presente invención. La dosis administrada variará evidentemente, dependiendo de factores que son conocidos tales como las propiedades farmacodinámicas del péptido, la sal o una combinación de los mismos; la edad, la salud o el peso del sujeto; la naturaleza y severidad de los síntomas; las propiedades metabólicas del agente terapéutico y del paciente, el tipo de tratamiento concurrente, la frecuencia del tratamiento o el efecto que se desea. Normalmente, el péptido (o, si la formulación estable comprende dos o más péptidos, cada uno de los péptidos) está presente en la formulación en una cantidad que varía desde alrededor de 0,5 mg/ml a alrededor de 100 mg/ml (por ejemplo, alrededor de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, ó 100 mg/ml).

[0057] En algunas realizaciones, el péptido está presente en la formulación en una cantidad que varía de alrededor de 0,5 mg/ml a alrededor de 60 mg/ml. En algunas realizaciones, el péptido está presente en la formulación en una cantidad que varía desde alrededor de 10 mg/ml a alrededor de 50 mg/ml. En otras realizaciones, el péptido está presente en la formulación en una cantidad que varía desde alrededor de 20 mg/ml a alrededor de 50 mg/ml. En aún otras realizaciones, el péptido está presente en dicha formulación en una cantidad que varía desde alrededor de 5 mg/ml a alrededor de 15 mg/ml. En otras realizaciones, el péptido está presente en la formulación en una cantidad que varía desde alrededor de 0,5 mg/ml a alrededor de 2 mg/ml. De nuevo, será fácilmente evidente para los expertos que la dosis del péptido puede variar dependiendo del péptido usado, la enfermedad, el trastorno o la afección a tratar.

[0058] En realizaciones preferentes, el péptido se mezcla con un tampón no volátil y opcionalmente un excipiente estabilizante y luego se seca hasta conseguir ser un polvo de péptido secado. En realizaciones en las que la formulación estable comprende dos o más péptidos, cada uno de los péptidos se mezcla por separado con un tampón no volátil y opcionalmente con un excipiente estabilizante y luego se seca hasta ser un polvo de péptido secado. Los péptidos son susceptibles de hidrólisis en los enlaces con restos de asparagina y oxidación de metionina, por lo que el uso de tampones no volátiles en las formulaciones de la presente invención afecta de manera beneficiosa a la estabilidad química. Como se describirá con más detalle a continuación, aunque el pH no es relevante en un disolvente polar aprótico, el perfil de carga de un péptido en un disolvente polar aprótico afectará a su estabilidad. El perfil de carga de un péptido en un disolvente polar aprótico será una función del pH de la solución acuosa donde este se secó previamente, es decir, hay una "memoria de pH" después de la disolución o reconstitución en un disolvente polar aprótico. Un péptido disuelto en un disolvente polar aprótico conseguirá el perfil de carga deseado al secar el péptido desde de una solución acuosa tamponada al pH que produzca la óptima estabilidad, la óptima solubilidad y la mínima degradación en el disolvente polar aprótico

[0059] Como tales, los tampones no volátiles de utilidad en las formulaciones descritas en este documento son aquellos que ayudan a establecer un pH de máxima estabilidad, máxima solubilidad y mínima degradación, así como aquellos que ayudan a eliminar la humedad residual o el contenido de agua del polvo de péptido secado. Los tampones no volátiles incluyen aquellos tampones después del secado/lioofilización que no se evaporan fuera en forma similar al agua. Los tampones no volátiles adecuados incluyen, por ejemplo, tampones de glicina, tampones de citrato, tampones de fosfato y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el tampón no volátil es un tampón de glicina o un tampón de citrato. En algunas realizaciones, el tampón no volátil es un tampón de glicina. En algunas formas de realización, el tampón no volátil es una mezcla de tampón de glicina y tampón de citrato. En algunas realizaciones, el tampón no volátil es una mezcla de tampón de citrato y tampón de fosfato.

B. Excipientes Estabilizantes

[0060] En algunas realizaciones preferentes, las formulaciones descritas en este documento pueden estabilizarse adicionalmente para asegurar la estabilidad del péptido incorporado en las mismas. En algunas realizaciones, se mejora la estabilidad de la formulación inyectable al incluir uno o varios agentes estabilizantes o excipientes estabilizantes en la formulación antes del secado del péptido o péptidos. En otras realizaciones, la estabilidad de la formulación inyectable se potencia reconstituyendo el péptido o péptidos secados con un agente estabilizante o con un excipiente estabilizante en el disolvente polar aprótico.

[0061] En algunas realizaciones, el excipiente estabilizante es un crioprotector. Como se muestra a continuación en la sección de los ejemplos, la adición de un crioprotector, tal como trehalosa, protege a las formulaciones peptídicas de la presente invención contra la inestabilidad que producen los ciclos de congelación-descongelación. Además, se ha demostrado en la presente memoria que la adición de trehalosa crioprotectora también potencia una mayor descongelación de la formulación de péptido congelado. Esta propiedad de intensificar la descongelación es sorprendentemente ventajosa, particularmente en situaciones de emergencias médicas, tal como un episodio de hipoglucemia grave, en donde una formulación de péptido de la presente invención que está congelada necesita ser administrada rápidamente. Por lo tanto, en otro aspecto de la presente invención, la formulación estable tiene una estabilidad mejorada de congelación-descongelación, una velocidad de descongelación incrementada y/o un perfil de descongelación mejorado.

[0062] En algunas realizaciones, el excipiente estabilizante se selecciona entre azúcares, almidones, alcoholes de azúcar y mezclas de los mismos. Ejemplos de azúcares adecuados para excipientes estabilizantes incluyen, pero no se limitan a, trehalosa, glucosa, sacarosa, etc. Ejemplos de almidones adecuados para excipientes estabilizantes incluyen, pero no se limitan a, almidón hidroxietilo (HES) Ejemplos de alcoholes de azúcar adecuados para excipientes estabilizantes incluyen, pero no se limitan a, manitol y sorbitol. En algunas formas de realización, al menos un excipiente estabilizante (por ejemplo, un azúcar, un almidón, un alcohol de azúcar, o una mezcla de los mismos) es capaz de mejorar la estabilidad del péptido durante un proceso de congelación-descongelación, mejorar la velocidad de descongelación de la formulación, o mejorar el perfil de descongelación de la formulación.

[0063] En algunas realizaciones, el excipiente estabilizante está presente en la formulación en una cantidad que varía de alrededor de 1% (p/v) a alrededor de 60% (p/v), de alrededor de 1% (p/v) a alrededor de 50% (p/v), de alrededor de 1% (p/v) a alrededor de 40% (p/v), de alrededor de 1% (p/v) a alrededor de 30% (p/v), de alrededor de 1% (p/v) a alrededor de 20% (p/v), de alrededor de 5% (p/v) a alrededor de 60% (p/v), de alrededor de 5% (p/v) a alrededor de 50% (p/v), de alrededor de 5% (p/v) a alrededor de 40% (p/v), de alrededor de 5% (p/v) a alrededor de 30% (p/v), alrededor de 5% (p/v) a alrededor de 20% (p/v)), de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 60% (p/v), de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 50% , de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 40% (p/v), de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 30% (p/v) o de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 20% (p/v). En algunas realizaciones, el excipiente estabilizante está presente en la formulación en una cantidad que es alrededor de 1%, alrededor de 5%, alrededor de 10%, alrededor de 15%, alrededor de 20%, alrededor de 25%, alrededor de 30%, alrededor de 35%, alrededor de 40 %, alrededor de 45%, alrededor de 50%, alrededor de 55%, o alrededor de 60% (p/v).

[0064] En formulaciones que comprenden dos o más péptidos, en algunas realizaciones cada uno de los péptidos se secan en una mezcla que comprende un tampón no volátil y un excipiente estabilizante. Las mezclas del tampón no volátil y el excipiente estabilizante pueden ser iguales para cada péptido, o el tampón no volátil, el excipiente estabilizante o ambos, tanto el tampón no volátil como excipiente estabilizante que se usan para secar cada péptido pueden ser diferentes. En otras realizaciones, algunos de los péptidos pero no todos, pueden secarse en una mezcla que comprende un tampón no volátil y un excipiente estabilizante, mientras que otros péptidos pueden secarse en un tampón no volátil en ausencia de un excipiente estabilizante.

[0065] En algunas realizaciones, la formulación comprende adicionalmente también agentes estabilizantes convencionales, que incluyen por ejemplo, antioxidantes, quelantes y conservantes. Ejemplos de antioxidantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácido ascórbico, cisteína, metionina, monotioglicerol, tiosulfato de sodio, sulfitos, BHT, BHA, palmitato de ascorbilo, galato de propilo, N-acetil-L-cisteína (NAC) y vitamina E. Ejemplos de quelantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, EDTA, ácido tartárico y sales de los mismos, glicerina y ácido cítrico y sales de los mismos. Ejemplos de conservantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, alcoholes bencílicos, metil parabenos, propil parabenos y mezclas de los mismos.

[0066] En algunas realizaciones, la formulación comprende además un poliol estabilizante. Dichas formulaciones y materiales se describen, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos nos. 6.290.991 y 6.331.310, cuyos contenidos se incorporan aquí como referencia.

5 C. Reconstitución de péptidos secados

[0067] En las formulaciones estables de la presente invención, una vez que el péptido y el tampón no volátil (y opcionalmente el excipiente estabilizante) se secan hasta ser un polvo, o si la formulación comprende dos o más péptidos, una vez que cada uno de los péptidos y el tampón no volátil se secan hasta ser un polvo (cada uno opcionalmente comprendiendo también un excipiente estabilizante), el polvo de péptido secado o los polvos de péptidos secados se disuelven o reconstituyen en un disolvente polar aprótico. En algunas realizaciones, el disolvente polar aprótico se selecciona entre dimetil sulfóxido (DMSO), dimetil formamida (DMF), acetato de etilo, n-metil pirrolidona (NMP), dimetil acetamida (DMA), carbonato de propileno y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el disolvente polar aprótico es una mezcla de dos o más dimetil sulfóxidos (DMSO), dimetil formamida (DMF), acetato de etilo, n-metil pirrolidona (NMP), dimetil acetamida (DMA) y carbonato de propileno. Los disolventes polares apróticos particularmente preferidos son dimetil sulfóxido (DMSO), acetato de etilo y n-metil pirrolidona (NMP), cada uno de los cuales es un disolvente biocompatible. En algunas realizaciones, el disolvente polar aprótico es dimetil sulfóxido (DMSO). En otras realizaciones, el disolvente polar aprótico es n-metil pirrolidona (NMP). En otras realizaciones, el disolvente polar aprótico es una mezcla de dimetil sulfóxido (DMSO) y n-metil pirrolidona (NMP). En otras realizaciones, el disolvente polar aprótico es una mezcla de dimetil sulfóxido (DMSO) y acetato de etilo. En algunas realizaciones, el polvo de péptido secado se reconstituye en un disolvente polar aprótico que es puro, es decir, que no contiene un co-disolvente. En algunas realizaciones, el polvo de péptido secado se reconstituye en una solución que comprende un disolvente polar aprótico que no contiene agua como co-disolvente.

[0068] En algunas realizaciones, las formulaciones de la presente invención comprenden además al menos un co-disolvente que deprime el punto de congelación de la formulación. El co-disolvente es un disolvente polar aprótico. En algunas realizaciones, los co-disolventes se seleccionan entre etanol, propilenglicol (PG), glicerol y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el co-disolvente es etanol o propilenglicol (PG). El co-disolvente puede estar presente en la formulación en una cantidad que varía de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 50% (p/v), por ejemplo, alrededor de 10%, alrededor de 15%, alrededor de 20%, alrededor de 25%, alrededor de 30%, alrededor de 35%, alrededor de 40%, alrededor de 45%, o alrededor de 50% (p/v). En algunas realizaciones, el co-disolvente está presente en la formulación en una proporción que varía de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 50% (p/v), de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 40% (p/v), de alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 30% (p/v), de alrededor de 10% (p/v) hasta alrededor de 25%, de alrededor de 15% (p/v), a alrededor de 50% (p/v), de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 40% (p/v), de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 30% (p/v), de alrededor de 15% (p/v) a alrededor de 25% (p/v). En algunas formas de realización, al menos un co-disolvente deprime el punto de congelación de la formulación en al menos 5 °C, al menos 10 °C, al menos 15 °C, al menos 20 °C o más, al compararla con una formulación idéntica que no comprende el co-disolvente. En algunas realizaciones, al menos un co-disolvente deprime el punto de congelación de la formulación alrededor de 3 °C, alrededor de 2 °C, alrededor de 1 °C, o alrededor de 0 °C o menor.

40 D. Contenido de Humedad

[0069] Las formulaciones de la presente invención tienen muy poca humedad residual y por lo tanto, los péptidos en tales formulaciones permanecen estables durante largos periodos de tiempo. En algunas realizaciones, las formulaciones estables de la presente invención tienen un contenido de humedad que es menor del 5%. En algunas realizaciones, el contenido de humedad es menor del 4%, menor del 3%, menor del 2%, menor del 1%, menor del 0,5%, menor del 0,4%, menor del 0,3%, menor de 0,25%, menor del 0,2%, menor de 0,15%, menor del 0,1%, menor del 0,075%, menor del 0,05%, menor del 0,025% o menor de 0,01%. En algunas formas de realización preferentes, el contenido de humedad de las formulaciones de la presente invención es alrededor del 0,01% a alrededor del 5%, alrededor del 0,01% a alrededor del 4%, alrededor del 0,01% a alrededor del 3%, alrededor del 0,01% a alrededor del 2%, de alrededor de 0,01% a alrededor de 1,5%, o de alrededor de 0,01% a alrededor de 1%. En otras realizaciones preferentes, el contenido de humedad de las formulaciones de la presente invención es de alrededor del 0,1% a alrededor del 5%, alrededor del 0,1% a alrededor del 4%, alrededor del 0,1% a alrededor del 3%, alrededor del 0,1% a alrededor del 2%, de alrededor del 0,1% a alrededor del 1,5%, o de alrededor del 0,1% a alrededor del 1%. En otras realizaciones preferentes, el contenido de humedad de las formulaciones de la presente invención es de alrededor del 0,25% a alrededor del 5%, de alrededor del 0,25% a alrededor del 4%, de alrededor del 0,25% a alrededor del 3%, de alrededor del 0,25% a alrededor del 2%, ó de alrededor del 0,25% a alrededor de 1,5%. En aún otras realizaciones preferentes, el contenido de humedad de las formulaciones es de alrededor del 0,5% a alrededor del 1%.

E. Memoria de pH

[0070] La "memoria de pH" de un péptido es el perfil de carga resultante (estado de protonación) después de secar el péptido desde una solución acuosa tamponada (por ejemplo, de un tampón no volátil). El estado de protonación y, por lo tanto la solubilidad y la estabilidad de los péptidos, en disolventes no acuosos de humedad muy baja o nula, se verán afectados por el pH acuoso de la solución de péptido antes del secado y por las condiciones de secado empleadas. Cuando el péptido se seca en una especie de tampón en donde tanto los componentes ácidos como básicos son no volátiles, la memoria de pH del péptido secado será aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil. Véase por ejemplo, "Enzymatic Reactions in Organic Media, Koskinen, A.M.P., y Klibanov, A.M., eds., Springer (1996)". Además, el pH de la solución acuosa tamponada (por ejemplo, tampón no volátil) en donde el péptido se seca, puede optimizarse para obtener una memoria de pH del péptido que determine la estabilidad óptima del péptido, la máxima solubilidad y la mínima degradación cuando el péptido secado se reconstituye posteriormente en un disolvente polar aprótico. Debido a que los disolventes polares ópticos no tienen protones intercambiables, cuando el péptido secado se reconstituye en un disolvente polar aprótico, la formulación reconstituida mantendrá las propiedades de solubilidad y estabilidad de la memoria de pH óptima.

[0071] Para formulaciones estables que comprenden dos, tres, cuatro o más péptidos, cada péptido se seca de manera que tenga su propia memoria de pH, la cual está optimizada para conseguir la máxima solubilidad, la máxima estabilidad y la mínima degradación. En las realizaciones en las que hay dos o más péptidos en la formulación, el intervalo de memoria de pH del primer péptido puede solaparse parcialmente con el intervalo de memoria de pH del segundo péptido (por ejemplo, la memoria de pH del primer péptido puede ser de alrededor de 4,0 a alrededor de 6,0 y la memoria de pH del segundo péptido puede ser de alrededor de 6,0 a alrededor de 8,0), o el intervalo de memoria de pH del primer péptido puede no solaparse con el intervalo de memoria de pH del segundo péptido (por ejemplo, la memoria de pH del primer péptido puede ser de alrededor de 4,0 a alrededor de 5,0, y la memoria de pH del segundo péptido puede ser de alrededor de 6,0 a alrededor de 8,0).

[0072] La memoria de pH de un péptido puede medirse de muchas maneras. En un procedimiento, la memoria de pH de un péptido se mide reconstituyendo el péptido secado en agua no tamponada y luego se mide el pH del péptido reconstituido con un indicador de pH tal como papel de pH o un electrodo de pH calibrado. Alternativamente, la memoria de pH de un péptido puede determinarse para un péptido que se ha reconstituido en el disolvente polar aprótico (por ejemplo, DMSO) añadiendo al menos un 20% de agua al disolvente polar aprótico (por ejemplo DMSO) y midiendo el pH con un indicador de pH. Véase, por ejemplo, Baughman y Kreevoy, "Determination of Acidity in 80% Dimethyl Sulfoxide-20% Water", Journal of Physical Chemistry, 78 (4): 421-23 (1974)". Puede ser que la medición del pH en una solución de disolvente polar aprótico requiera una pequeña corrección (es decir, no más de 0,2 unidades de pH según Baughman y Kreevoy, supra).

[0073] En algunas realizaciones, un péptido secado tiene una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil donde se secó cuando este se reconstituye en un disolvente polar aprótico, cuando la memoria de pH del péptido está dentro de una unidad de pH del pH del péptido en el tampón no volátil donde se secó (por lo tanto, por ejemplo, para un péptido que tiene un pH de 3,0 en el tampón no volátil donde se seca el péptido, una memoria de pH para el péptido de 2,0 a 4,0, cuando se reconstituye en el disolvente polar aprótico, estaría dentro de una unidad de pH y, por tanto la memoria de pH del péptido secado sería aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil). En algunas realizaciones, un péptido secado tiene una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil donde se secó, cuando la memoria de pH del péptido al reconstituirse en un disolvente polar aprótico está dentro de la mitad de una unidad de pH del pH del péptido en el tampón no volátil donde se secó (por ejemplo, para un péptido que tiene un pH de 3,0 en el tampón no volátil donde se secó el péptido, una memoria de pH para el péptido de 2,5 a 3,5, al reconstituirse en el disolvente polar aprótico, estaría dentro de la mitad de una unidad de pH, y por lo tanto el pH del péptido secado sería aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil).

[0074] En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 1,5 a alrededor de 2,5. En algunas formas de realización, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 2,0 a alrededor de 4,0. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 2,5 a alrededor de 4,0. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 2,5 a alrededor de 3,5. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 3,0 a alrededor de 5,0. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 3,0 a alrededor de 4,5. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 4,0 a alrededor de 5,0. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 4,0 a alrededor de 6,0. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 6,0 a alrededor de 8,0. En algunas formas de realización, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 6,5 a alrededor de 8,0. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 6,5 a alrededor de 7,5. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 6,5 a alrededor de 9,0. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 7,0 a alrededor de 9,0. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 7,5 a alrededor de 9,0. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una memoria de pH alrededor de 8,0 a alrededor de 10,0. En algunas realizaciones, el péptido de la formulación estable tiene una

memoria de pH alrededor de 8,5 a alrededor de 10,0. En algunas realizaciones, la memoria de pH de un péptido puede ser alrededor de 1,5, alrededor de 2,0, alrededor de 2,5, alrededor de 3,0, alrededor de 3,5, alrededor de 4,0, alrededor de 4,5, alrededor de 5,0, alrededor de 5,5, alrededor de 6,0, alrededor de 6,5, alrededor de 7,0, alrededor de 7,5, alrededor de 8,0, alrededor de 8,5, alrededor de 9,0, alrededor de 9,5, ó alrededor de 10,0.

5

F. Formulaciones Ejemplares

[0075] La presente invención proporciona una formulación de glucagón estable. La formulación de glucagón comprende: un péptido de glucagón o una sal del mismo (por ejemplo, acetato de glucagón), en donde el glucagón ha sido secado en un tampón no volátil seleccionado entre un tampón de glicina, un tampón de fosfato y mezclas de los mismos, y en donde la memoria de pH del glucagón secado es alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0; y un disolvente polar aprótico seleccionado entre el grupo que consiste en dimetil sulfóxido (DMSO), acetato de etilo, n-metil pirrolidona (NMP) y mezclas de los mismos; en donde el contenido de humedad de la formulación es menor del 5% y en donde el glucagón secado mantiene la memoria de pH alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0 cuando el glucagón secado es reconstituido en el disolvente polar aprótico. En algunas realizaciones, el glucagón está presente en la formulación en una cantidad que varía alrededor de 0,5 mg/ml a alrededor de 100 mg/ml, o de alrededor de 1 mg/ml a alrededor de 50 mg/ml. En algunas realizaciones, el contenido de humedad de la formulación es menor de alrededor del 2%, menor de alrededor del 1%, menor de alrededor del 0,5%, o menor de alrededor del 0,01%. En algunas realizaciones, el contenido de humedad de la formulación es de alrededor del 0,01% a alrededor del 3%. En algunas realizaciones, la formulación comprende además un excipiente estabilizante seleccionado entre azúcares (por ejemplo, trehalosa), almidones (por ejemplo, almidón hidroxietilo (HES)), y mezclas de los mismos. El excipiente estabilizante puede estar presente en la formulación en una cantidad que varía de alrededor del 1% (p/v) a alrededor del 60% (p/v). En algunas realizaciones, la formulación comprende además un co-disolvente que deprime el punto de congelación de la formulación, en donde el co-solvente se selecciona entre etanol, propilenglicol, glicerol y mezclas de los mismos. El co-disolvente puede estar presente en la formulación en una cantidad que varía desde alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 50% (p/v).

[0076] En otras realizaciones particulares, la presente invención proporciona una formulación de glucagón estable. La formulación de glucagón comprende: un péptido de glucagón o una sal del mismo (o análogo de glucagón o peptidomimético); y un disolvente polar aprótico seleccionado entre el grupo que consiste en dimetil sulfóxido (DMSO), n- metil pirrolidona (NMP) y mezclas de los mismos; en donde el contenido de humedad de la formulación es menor del 3%. En realizaciones preferentes, el contenido de humedad de la formulación es menor del 2%, menor del 1%, menor del 0,5% y menor del 0,25%. En otras realizaciones preferentes, el contenido de humedad es del 0,25% a alrededor del 3%, preferiblemente desde alrededor del 0,25% a alrededor del 2%, más preferiblemente alrededor del 0,25% a alrededor del 1,5%, más preferiblemente alrededor del 0,25% a alrededor del 1%, más preferiblemente alrededor del 0,5% a alrededor del 1%.

[0077] En otras realizaciones particulares, la formulación de glucagón estable comprende además un tampón no volátil y un excipiente estabilizante que es un azúcar, un almidón o un alcohol de azúcar. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la formulación de glucagón comprende además un tampón de glicina y manitol, o un tampón de citrato y manitol, o un tampón de fosfato y manitol. En algunas realizaciones, la formulación de glucagón comprende además un tampón de glicina y trehalosa, o un tampón de citrato y trehalosa, o un tampón de fosfato y trehalosa. En estas realizaciones, el disolvente polar aprótico puede ser DMSO, NMP, acetato de etilo o una mezcla de los mismos. Por ejemplo, en una realización preferente, el disolvente polar aprótico es DMSO y el tampón no volátil es un tampón de glicina. En otra realización preferente, el disolvente polar aprótico es DMSO, el tampón no volátil es un tampón citrato y el excipiente estabilizante es manitol. En otras realizaciones preferentes, el disolvente polar aromático es DMSO, el tampón no volátil es un tampón de glicina y el excipiente estabilizante es trehalosa. En aún otra realización preferente, el disolvente polar aprótico es DMSO, y el tampón no volátil es un tampón de citrato. En aún otra realización preferente, el disolvente polar aprótico es NMP y el tampón no volátil es un tampón de glicina.

[0078] En otras realizaciones particulares, la presente invención proporciona una formulación estable que comprende glucagón o sal del mismo (por ejemplo acetato de glucagón), en donde el glucagón ha sido secado en un tampón no volátil y en donde el glucagón secado tiene una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del glucagón en el tampón no volátil seleccionado entre un tampón de glicina, un tampón de citrato, un tampón de fosfato y mezclas de los mismos, en donde la memoria de pH del glucagón secado es alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0; y un disolvente polar aprótico seleccionado entre dimetil sulfóxido (DMSO), n-metil pirrolidona (NMP), acetato de etilo y mezclas de los mismos; en donde el contenido de humedad de la formulación es inferior al 1% y en donde el glucagón secado mantiene la memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del glucagón en el tampón no volátil cuando el glucagón secado se reconstituye en el disolvente polar aprótico. En algunas realizaciones, la formulación de glucagón comprende además un co-disolvente que deprime el punto de congelación de la formulación, en donde el co-disolvente se selecciona entre etanol, propilenglicol, glicerol y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, la formulación de glucagón comprende además un excipiente estabilizante seleccionado entre azúcares, almidones y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el glucagón está presente en la formulación en una cantidad que varía desde alrededor de 1 mg/ml a alrededor de 50 mg/ml.

[0079] En otras realizaciones particulares, la presente invención proporciona una formulación de glucagón estable, la formulación de glucagón consiste esencialmente en: un péptido de glucagón o una sal del mismo (por ejemplo, acetato

de glucagón), en donde el glucagón ha sido secado en un tampón no volátil seleccionado entre un tampón de glicina, un tampón de citrato, un tampón de fosfato y mezclas de los mismos, y en donde el glucagón secado tiene una memoria de pH que es alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0; y un disolvente polar aprótico seleccionado entre el grupo que consiste de dimetil sulfóxido (DMSO), acetato de etilo, n-metil pirrolidona (NMP), y mezclas de los mismos; en donde el contenido de humedad de la formulación es inferior al 5% y en donde el glucagón secado mantiene la memoria de pH alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0 cuando el glucagón secado ha sido reconstituido en el disolvente polar aprótico.

[0080] En aún otras realizaciones particulares, la presente invención proporciona una formulación de glucagón estable, la formulación de glucagón consiste esencialmente en: un péptido de glucagón o una sal del mismo (por ejemplo acetato de glucagón), en donde el glucagón ha sido secado en un tampón no volátil seleccionado entre un tampón de glicina, un tampón de citrato, un tampón de fosfato y mezclas de los mismos, y en donde el glucagón secado tiene una memoria de pH que es alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0; y una mezcla de un disolvente aprótico polar y un co-disolvente que deprime el punto de congelación de la formulación, en donde el disolvente polar aprótico se selecciona entre el grupo que consiste de dimetil sulfóxido (DMSO), acetato de etilo, n-metil pirrolidona (NMP) y mezclas de los mismos, y en donde el co-disolvente se selecciona entre etanol, propilenglicol, glicerol y mezclas de los mismos; en donde el contenido de humedad de la formulación es inferior al 5% y en donde el glucagón secado mantiene la memoria de pH alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0 cuando el glucagón secado es reconstituido en el disolvente polar aprótico.

[0081] En otras realizaciones particulares, la presente invención proporciona una formulación de glucagón estable, la formulación de glucagón consiste esencialmente de: un péptido de glucagón o una sal del mismo (por ejemplo, acetato de glucagón), en donde el glucagón ha sido secado en una mezcla de un tampón no volátil y un estabilizante, en donde el tampón no volátil se selecciona entre un tampón de glicina, un tampón citrato, un tampón fosfato y mezclas de los mismos, y el excipiente estabilizante se selecciona entre azúcares (por ejemplo, trehalosa), almidones (por ejemplo, almidón hidroxietilo (HES) y mezclas de los mismos, y en donde el glucagón secado tiene una memoria de pH que es de alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0; y un disolvente polar aprótico seleccionado entre el grupo consistente de dimetil sulfóxido (DMSO), acetato de etilo, n-metil pirrolidona (NMP) y mezclas de los mismos; en donde el contenido de humedad de la formulación es inferior al 5% y en donde el glucagón secado mantiene la memoria de pH de alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0 cuando el glucagón secado has sido reconstituido en el disolvente polar aprótico.

[0082] En aún otras realizaciones particulares, la presente invención proporciona una formulación estable que comprende: insulina, en donde la insulina se ha secado en un primer tampón no volátil seleccionado entre un tampón de glicina, un tampón de citrato, un tampón de fosfato y mezclas de los mismos, y en donde la insulina secada tiene una primera memoria de pH que es aproximadamente igual al pH de la insulina en el primer tampón no volátil, en donde la primera memoria de pH es de alrededor de 1,5 a alrededor de 2,5 ó de alrededor de 6,0 a alrededor de 8,0; plamlintida, en donde la plamlintida se ha secado en un segundo tampón no volátil seleccionado entre un tampón de glicina, un tampón de citrato, un tampón de fosfato y mezclas de los mismos, y en donde la plamlintida secada tiene una segunda memoria de pH que es aproximadamente igual al pH de la plamlintida en el segundo tampón no volátil, en donde la segunda memoria de pH es de alrededor de 3,0 a alrededor de 5,0, ó de alrededor de 4,0 a alrededor de 6,0; y un disolvente polar aprótico seleccionado entre dimetil sulfóxido (DMSO), n-metil pirrolidona (NMP), acetato de etilo y mezclas de los mismos; en donde el contenido de humedad de la formulación es inferior al 1%, en donde la insulina seca mantiene la primera memoria de pH que es aproximadamente igual al pH de la insulina en el primer tampón no volátil cuando la insulina seca se ha reconstituido en el disolvente polar aprótico y en donde la plamlintida secada mantiene la segunda memoria de pH que es aproximadamente igual al pH de la plamlintida en el segundo tampón no volátil cuando la plamlintida secada se ha reconstituido en el disolvente polar aprótico. En algunas realizaciones, la formulación de insulina y de plamlintida comprende además un co-disolvente que deprime el punto de congelación de la formulación, en donde el co-disolvente se selecciona entre etanol, propilenglicol, glicerol y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, una o ambas, la insulina en el primer tampón no volátil y la plamlintida en el segundo tampón no volátil comprende además un excipiente estabilizante seleccionado entre azúcares, almidones y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el primer tampón no volátil y el segundo tampón no volátil son iguales. En algunas realizaciones, el primer tampón no volátil y el segundo tampón no volátil son diferentes. En algunas realizaciones, cada una, la insulina y plamlintida están presentes en la formulación en una cantidad que varía desde alrededor de 1 mg/ml a alrededor de 50 mg/ml. En algunas realizaciones, la primera memoria de pH es alrededor de 1,5 a alrededor de 2,5. En algunas realizaciones, la primera memoria de pH es de alrededor de 6,0 a alrededor de 8,0. En algunas realizaciones, la segunda memoria de pH es de alrededor de 3,0 a alrededor de 5,0. En algunas realizaciones, la segunda memoria de pH es de alrededor de 4,0 a alrededor de 6,0. En algunas realizaciones, la primera memoria de pH es de alrededor de 1,5 a alrededor de 2,5 y la segunda memoria de pH es de alrededor de 3,0 a alrededor de 5,0.

55 IV. Procedimientos para preparar Formulaciones de Péptidos Estables

[0083] En otro aspecto aún, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar una formulación estable para la inyección parenteral. En algunas realizaciones, el procedimiento comprende: secar un péptido y un tampón no volátil hasta conseguir un péptido seco en polvo; y reconstituir el polvo de péptido secado con un disolvente polar aprótico, consiguiendo de este modo que la formulación sea estable, en donde el contenido de humedad de la formulación estable es inferior al 5%. En algunas realizaciones, el polvo de péptido secado tiene una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil y el polvo de péptido secado mantiene la memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil, cuando el polvo de péptido secado se ha reconstituido en el disolvente polar aprótico.

5 **[0084]** El procedimiento de preparación de formulaciones de péptidos estables puede usarse para formular cualquier péptido que tenga una estabilidad o solubilidad limitada o pobre en un medio acuoso. Los péptidos (o sales de los mismos) que son adecuados para usarlos en las formulaciones de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, glucagón, insulina, leuprolida, agonistas de hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), plamintida, hormona paratiroidea (PTH), amilina, toxina botulínica, una conotoxina, hematide, un péptido anamiloide, colecistocianina, péptido inhibidor gástrico, un factor de crecimiento similar a la insulina, un factor liberador de la hormona del crecimiento, un factor antimicrobiano, un glatirámico, un péptido-1 similar al glucagón (GLP -1), un agonista GLP -1, exenatida, y análogos de los mismos. En una realización preferente, el péptido es glucagón ó un análogo de glucagón ó un peptidomimético. En otra realización, el péptido es una hormona paratiroidea. En aún otra realización, el péptido es leuprolide. En aún otra realización, el péptido es glatirámico.

10 **[0085]** En algunas realizaciones, se formulan dos, tres, cuatro o más péptidos dentro de una formulación estable. En las realizaciones en donde en la formulación estable, se formulan dos o más péptidos, cada péptido se seca por separado con un tampón no volátil hasta conseguir un polvo de péptido seco y cada polvo de péptido seco tiene una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil (es decir, el primer péptido tiene una primera memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del primer péptido en el primer tampón no volátil y el segundo péptido tiene una segunda memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del segundo péptido en el segundo tampón no volátil). Los dos polvos de péptidos secados u otros más que hubiera se reconstituyen con un disolvente polar aprótico, consiguiendo de este modo que la formulación sea estable, en donde el contenido de humedad de la formulación estable es inferior al 5% y en donde cada polvo de péptido seco mantiene la memoria de pH aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil cuando el polvo de péptido seco se ha reconstituido en el disolvente polar aprótico (es decir, el primer péptido seco mantiene la primera memoria de pH cuando el primer péptido seco se reconstituye en el disolvente polar aprótico y el segundo péptido seco mantiene la segunda memoria de pH cuando el segundo péptido seco se reconstituye en el disolvente polar aprótico).

15 **[0086]** Los tampones no volátiles que son adecuados en el procedimiento de preparación de formulaciones de péptidos estables, incluyen, por ejemplo, tampones de glicina, tampones de citrato, tampones de fosfato y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el tampón no volátil es un tampón de glicina o un tampón de citrato. En algunas realizaciones, el tampón no volátil es una mezcla de un tampón de citrato y un tampón de fosfato. En algunas realizaciones, el péptido se mezcla tanto con el tampón no volátil como con un excipiente estabilizante (tal como un azúcar, un almidón o mezclas de los mismos) y luego se seca hasta conseguir a un polvo de péptido seco. En otras realizaciones, el excipiente estabilizante (tal como un azúcar, un almidón, un alcohol de azúcar, o mezclas de los mismos) se añade al péptido reconstituido en el disolvente polar aprótico. En algunas realizaciones, el excipiente estabilizante está presente en la formulación en una cantidad que varía desde alrededor de 1% (p/v) a alrededor de 60% (p/v), por ejemplo, alrededor de 1%, alrededor de 5%, alrededor de 10%, alrededor de 15%, alrededor de 20%, alrededor de 25%, alrededor de 30%, alrededor de 35%, alrededor de 40%, alrededor de 45%, alrededor de 50%, alrededor de 55%, o alrededor de 60% (p/v). En algunas realizaciones, el excipiente estabilizante es trehalosa. En algunas realizaciones, el excipiente estabilizante es HES. En algunas realizaciones, el excipiente estabilizante es una mezcla de trehalosa y HES.

20 **[0087]** Como se ha explicado anteriormente, cuando el péptido se mezcla con el tampón no volátil, el tampón no volátil se selecciona de modo que el péptido tenga un pH de máxima estabilidad/ mínima degradación en medio acuoso. Una vez seco, el péptido tendrá una memoria de pH de máxima estabilidad/ mínima degradación y conservará esa memoria de pH cuando se disuelve o reconstituye en el disolvente polar aprótico. Como tal, en una realización, el pH del tampón no volátil es tal que el polvo de péptido seco tiene una memoria de pH de alrededor de 2 a alrededor de 3. En otra realización, el pH del tampón no volátil es tal que el polvo de péptido seco tiene una memoria de pH de alrededor de 4 a alrededor de 6. En otra realización, el pH del tampón no volátil es tal que el polvo de péptido seco tiene una memoria de pH de alrededor de 4 a alrededor de 5. En aún otra realización, el pH del tampón no volátil es tal que el polvo de péptido seco tiene una memoria de pH de alrededor de 6 a alrededor de 8.

25 **[0088]** Una vez que el péptido y el tampón no volátil (y opcionalmente otros componentes, tales como un excipiente estabilizante, que se añaden al péptido y al tampón no volátil antes del secado) se secan hasta conseguir un polvo, el polvo de péptido seco se disuelve o reconstituye en un disolvente polar aprótico tal como se describe en este documento (por ejemplo, dimetil sulfóxido (DMSO), n-metil pirrolidona (NMP), acetato de etilo y mezclas de los mismos). En algunas realizaciones, el disolvente polar aprótico es dimetil sulfóxido (DMSO). En otras realizaciones, el disolvente polar aprótico es n-metil pirrolidona (NMP).

30 **[0089]** En algunas realizaciones, el paso de reconstituir el polvo de péptido seco comprende diluir o reconstituir el péptido seco con una mezcla que comprende un disolvente polar aprótico y un co-disolvente que deprime el punto de congelación de la formulación. En algunas realizaciones, el co-disolvente se selecciona entre etanol, propilenglicol, glicerol y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el co-disolvente está presente en la formulación en una cantidad que varía desde alrededor de 10% (p/v) a alrededor de 50% (p/v), por ejemplo, alrededor de 10%, alrededor de 15%, alrededor de 20%, alrededor de 25%, alrededor de 30%, alrededor de 35%, alrededor de 40%, alrededor de 45%, o alrededor de 50% (p/v).

35 **[0090]** Las formulaciones de la presente invención tienen muy poca humedad residual y por lo tanto, los péptidos en tales formulaciones permanecen estables durante largos periodos de tiempo. En las realizaciones preferentes el contenido de humedad de la formulación estable que se prepara con el procedimiento de la presente invención, es menor del 4%, menor del 3%, menor del 2%, menor del 1%, menor del 0.5%, menor del 0,4%, menor del 0,3%, menor

del 0,25%, menor del 0,2%, menor del 0,15%, menor del 0,1%, menor del 0,075%, menor del 0,05%, menor del 0,025%, o menor del 0,01%.

[0091] En el procedimiento anterior, el secado del compuesto peptídico con el tampón no volátil (y opcionalmente el excipiente estabilizante) se lleva a cabo utilizando técnicas de secado por pulverización, técnicas de secado por congelación o técnicas de liofilización. Las técnicas de secado por pulverización son muy conocidas por los expertos en la técnica. El secado por pulverización incluye los pasos de atomización de una solución que contiene uno o más sólidos (por ejemplo, un agente terapéutico) a través de una boquilla de disco giratorio u otro dispositivo, seguido de la evaporación de las gotas del disolvente. La naturaleza del polvo resultante es una función de muchas variables entre las que se incluyen la concentración inicial de soluto, la distribución de tamaño de las gotas producidas y la velocidad de eliminación del soluto. Las partículas producidas pueden comprender agregados de partículas primarias que consisten en cristales y/o sólidos amorfos dependiendo de la velocidad y de las condiciones de eliminación del disolvente.

[0092] Un procedimiento de secado por pulverización para la preparación de polvos ultrafinos de macromoléculas biológicas tales como proteínas, oligopéptidos, polisacáridos de alto peso molecular y ácidos nucleicos, lo describe por ejemplo, el documento de patente de Estados Unidos no. 6.051.256. Los procedimientos de congelación-secado son muy conocidos en la técnica y se describen por ejemplo, en la patente de Estados Unidos no. 4.608.764 y en la patente de Estados Unidos no. 4.848.094. Los procedimientos de secado por congelación y pulverización se describen por ejemplo, en la patente de Estados Unidos no. 5.208.998. Otras técnicas de secado por pulverización se describen por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos nos. 6.253.463; 6.001.336; 5.260.306; y en las publicaciones de patentes internacionales PCT nos. WO 91/16882 y WO 96/09814.

[0093] Las técnicas de liofilización son muy conocidas por los expertos de la técnica. La liofilización es una técnica de deshidratación que tiene lugar mientras un producto se encuentra en estado congelado (sublimación del hielo bajo vacío) y bajo un vacío (secado mediante suave calentamiento). Estas condiciones estabilizan el producto y minimizan la oxidación y otros procesos de degradación. Las condiciones de congelación-secado permiten realizar el procedimiento a bajas temperaturas, por lo tanto los productos térmicamente lábiles se pueden conservar. Los pasos de congelación-secado incluyen: pretratamiento, congelación, secado primario y secado secundario. El pretratamiento incluye cualquier procedimiento que trate el producto antes de la congelación. Esto puede incluir concentrar el producto, revisar la formulación (es decir, añadir componentes para aumentar la estabilidad y/o mejorar el proceso), disminuir un disolvente de alta presión de vapor o aumentar el área de superficie. Los procedimientos de pretratamiento incluyen: concentración de la congelación, concentración de la fase de solución y la formulación específica para preservar la apariencia del producto o para proporcionar lio protección a los productos reactivos, los cuales se describen por ejemplo, en la patente de Estados Unidos nro. 6.199.297. Las afecciones de liofilización "Estándar", se describen, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos Nº 5.031.336, y en "Freeze Drying of Pharmaceuticals" (DeLuca, Patrick P., J. Vol. Sci. Technol., Vol. 14, enero / febrero de 1977); y en "The Lyophilization of Pharmaceuticals: A Literature Review" (Williams, N. A., and P. P. Polli, Journal of Parenteral Science and Technology, Vol. 38, no. 2, Marzo / Abril 1984).

[0094] En ciertas realizaciones preferentes, el ciclo de liofilización se realiza parcialmente por encima de la temperatura de transición vítrea (T_g) de la formulación del agente terapéutico para inducir un colapso de la masa que forme una torta densa que tenga humedad residual. En otras realizaciones, el ciclo de liofilización se lleva a cabo por debajo de la temperatura de transición vítrea para evitar un colapso y con ello conseguir un secado completo de las partículas.

V. Procedimientos Terapéuticos

[0095] En otro aspecto, la presente invención proporciona procedimientos para el tratamiento de enfermedades o afecciones administrando a un sujeto una formulación estable como se describe en la presente memoria, en una cantidad eficaz para tratar, aliviar o prevenir la enfermedad, la afección o el trastorno. En algunas realizaciones, la enfermedad, la afección o el trastorno a tratar con una formulación estable de la presente invención es una afección diabética. Ejemplos de afecciones diabéticas incluyen, pero no se limitan a diabetes tipo I, diabetes tipo II, diabetes gestacional, pre-diabetes, hiperglucemia, hipoglucemia y síndrome metabólico. En algunas realizaciones, la enfermedad, la afección o el trastorno es hipoglucemia. En algunas realizaciones, la enfermedad, la afección o el trastorno es la diabetes.

[0096] En algunas realizaciones, un procedimiento terapéutico de la presente invención comprende tratar la hipoglucemia administrando a un sujeto que tiene hipoglucemia una formulación estable tal como se describe en la presente memoria en una cantidad eficaz para tratar la hipoglucemia. En algunas realizaciones, se administra al sujeto una formulación estable que comprende glucagón.

[0097] En algunas realizaciones, un procedimiento terapéutico de la presente invención comprende tratar la diabetes administrando a un sujeto que tiene diabetes una formulación estable como se describe en la presente memoria en una cantidad eficaz para tratar la diabetes. En algunas realizaciones, se administra al sujeto una formulación estable que comprende insulina. En algunas realizaciones, se administra al sujeto una formulación estable que comprende plamintida. En algunas realizaciones, se administra al sujeto una formulación estable que comprende insulina y plamintida. En algunas realizaciones, se administra al sujeto una formulación estable que comprende exenatida. En algunas realizaciones, se administra al sujeto una formulación estable que comprende glucagón y exenatida.

[0098] Las dosificaciones de los fármacos peptídicos administradas como se describe en esta memoria para tratar una enfermedad, una afección o un trastorno (por ejemplo, una afección diabética, por ejemplo, hipoglucemia o diabetes) se ajustan a las dosificaciones y regímenes de pauta llevados a cabo por los expertos en la técnica. La guía general de dosificaciones apropiadas de todos los agentes farmacológicos utilizados en los procedimientos presentes se encuentra en "Goodman y Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11ª edición, 2006, supra" y en "Physicians 'Desk Reference (PDR), PDR Network, LLC" por ejemplo, en la edición 65ª (2011) o en la 66ª edición (2012), cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia. La dosificación apropiada de un fármaco peptídico para tratar una enfermedad, una afección o un trastorno como se describe en la presente memoria variará dependiendo de varios factores que incluyen la formulación de la composición, la respuesta del paciente, la gravedad de la afección, el peso del sujeto y el juicio emitido por el médico que lo prescribe. Las dosis efectivas de las formulaciones descritas suministran una cantidad médicamente eficaz de un fármaco peptídico. La dosificación puede aumentarse o disminuirse en el tiempo, dependiendo de la necesidad del paciente individual.

[0099] La determinación de una cantidad o dosis eficaz está dentro de la capacidad de los expertos en la técnica, especialmente a la luz de la descripción detallada proporcionada en esta memoria. Normalmente, las formulaciones realizadas para suministrar estas dosis pueden contener uno, dos, tres, cuatro o más péptidos o análogos de péptidos (colectivamente "péptido", a menos que se excluyan expresamente los análogos de péptidos), en donde cada péptido está presente en una concentración de alrededor de 0,1 mg/ml hasta el límite de solubilidad que tenga el péptido en la formulación. Preferiblemente esta concentración es de alrededor de 1 mg/ml a alrededor de 100 mg/ml, por ejemplo, alrededor de 1 mg/ml, alrededor de 5 mg/ml, alrededor de 10 mg/ml, alrededor de 15 mg/ml, alrededor de 20 mg/ml, alrededor de 25 mg/ml, alrededor de 30 mg/ml, alrededor de 35 mg/ml, alrededor de 40 mg/ml, alrededor de 45 mg/ml, alrededor de 50 mg/ml, alrededor de 55 mg/ml, alrededor de 60 mg/ml, alrededor de 65 mg/ml, alrededor de 70 mg/ml, alrededor de 75 mg/ml, alrededor de 80 mg/ml, alrededor de 85 mg/ml, alrededor de 90 mg/ml, alrededor de 95 mg/ml, o alrededor de 100 mg/ml.

[0100] Las formulaciones de la presente invención pueden ser para una administración subcutánea, intradérmica o intramuscular (por ejemplo, por inyección o por infusión). En algunas realizaciones, la formulación se administra por vía subcutánea.

[0101] Las formulaciones de la presente descripción se administran por infusión o por inyección utilizando cualquier dispositivo adecuado. Por ejemplo, la formulación de la presente invención puede colocarse en una jeringa, un dispositivo de inyección de pluma, un dispositivo de inyección automática o un dispositivo de bombeo. En algunas realizaciones, el dispositivo de inyección es un dispositivo de bomba de inyección de múltiples dosis o un dispositivo de auto inyección de múltiples dosis. La formulación se presenta en el dispositivo de tal manera que la formulación fluye fácilmente fuera de la aguja tras el accionamiento de un dispositivo de inyección, tal que un autoinyector, con el que suministrar los fármacos peptídicos. Los dispositivos de pluma/autoinyector adecuados incluyen, pero no se limitan a, aquellos dispositivos de pluma/ autoinyección fabricados por Becton-Dickenson, Swedish Healthcare Limited (Grupo SHL), Ypsomed Ag, y similares. Los dispositivos de bombeo adecuados incluyen, pero no se limitan a aquellos dispositivos de bombeo fabricados por Tandem Diabetes Care, Inc., Delsys Pharmaceuticals y similares.

[0102] En algunas realizaciones, las formulaciones de la presente invención se proporcionan estando listas para su administración en un vial, un cartucho o una jeringa precargada.

[0103] En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de una formulación estable tal como se describe en esta memoria para la formulación de un medicamento en el tratamiento de cualquier enfermedad, afección o trastorno que se pueda tratar con el péptido de la formulación. En algunas realizaciones, la formulación estable se utiliza para formular un medicamento en el tratamiento de una afección diabética, por ejemplo, diabetes tipo I, diabetes tipo II, diabetes gestacional, prediabetes, hiperglucemia, hipoglucemia o síndrome metabólico.

[0104] En algunas realizaciones, la formulación estable comprende glucagón o una sal del mismo (por ejemplo, acetato de glucagón). En algunas realizaciones, la formulación estable comprende glucagón y exenatida.

[0105] En algunas realizaciones, la formulación estable se usa para formular un medicamento en el tratamiento de la diabetes. En algunas realizaciones, la formulación estable comprende insulina. En algunas realizaciones, la formulación estable comprende exenatida. En algunas realizaciones, la formulación estable comprende plamintida. En algunas realizaciones, la formulación estable comprende insulina y plamintida.

VI. Kits

[0106] En otro aspecto, la presente invención proporciona kits para el tratamiento de cualquier enfermedad, afección o trastorno como se describe en esta memoria. En algunas realizaciones el kit comprende: una formulación estable que comprende uno, dos, tres, cuatro o más péptidos o sales de los mismos, en donde el péptido o péptidos se han secado en un tampón no volátil y en donde el péptido o los péptidos secados tienen una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del péptido en el tampón no volátil; y un disolvente polar aprótico; en donde el contenido de humedad de la formulación es inferior al 5% y en donde el péptido o péptidos secados mantiene la memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del péptido o péptidos en el tampón no volátil cuando el péptido o péptidos secados son reconstituidos en el disolvente polar aprótico y una jeringa para administrar la formulación estable al sujeto.

5 [0107] En algunas realizaciones, el kit comprende una formulación de glucagón estable como se describe en esta memoria de uso en el tratamiento de la hipoglucemia en un sujeto. En algunas realizaciones, el kit comprende una formulación de glucagón que comprende: glucagón o sus sales (por ejemplo, acetato de glucagón), en donde el glucagón se ha secado en un tampón no volátil y en donde el glucagón secado tiene una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del glucagón en el tampón no volátil seleccionado entre un tampón de glicina, un tampón de citrato, un tampón de fosfato y mezclas de los mismos, en donde la memoria de pH del glucagón secado es de alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0; y un disolvente polar aprótico seleccionado entre dimetil sulfóxido (DMSO), n-metil pirrolidona (NMP), acetato de etilo y mezclas de los mismos; en donde el contenido de humedad de la formulación es menor del 1% y en donde el glucagón secado mantiene la memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del glucagón en el tampón no volátil cuando el glucagón secado se reconstituye en el disolvente polar aprótico. En algunas realizaciones, la formulación de glucagón comprende además un co-disolvente que deprime el punto de congelación de la formulación, en donde el co-disolvente se selecciona entre etanol, propilenglicol, glicerol y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, la formulación de glucagón comprende además un excipiente estabilizante seleccionado entre azúcares, almidones y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el glucagón está presente en la formulación en una cantidad que varía de alrededor de 1 mg/ml a alrededor de 50 mg/ml.

10
15
20 [0108] En algunas realizaciones, el kit comprende una jeringa que es parte de un dispositivo de inyección de pluma, un dispositivo autoinyector o una bomba. En alguna realización, la jeringa esta precargada con la formulación estable. En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones, en donde las instrucciones dirigen la administración de la formulación estable para tratar al sujeto necesitado de la misma (por ejemplo, el sujeto que tiene hipoglucemia o diabetes).

VII. Ejemplos

25 [0109] La presente invención se describirá con mayor detalle por medio de ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos y no pretenden limitar la invención de ninguna manera. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente varios parámetros no críticos que pueden cambiarse o modificar para conseguir esencialmente los mismos resultados.

Ejemplo 1: Preparación de Soluciones de Glucagón para Uso en Congelación-Secado

30
35 [0110] Se prepararon diversas soluciones para contener glucagón a una concentración de 10 mg/ml. Las soluciones contenían, alternativamente, glicina, citrato o fosfato a 5 mM, proporcionando normalmente un tampón que establecía un pH de 3. La solución también contenía un azúcar, solo o en combinación, en cantidades iguales a la cantidad en peso/ volumen de glucagón (1:1) ó al 200% (2:1) de la cantidad de glucagón. Los azúcares fueron trehalosa, HES y β -ciclodextrina (β -CD). Algunas soluciones también contenían Tween-20 al 0,10% p/v como un tensioactivo. Las diferentes formulaciones se mezclaron hasta conseguir una homogeneidad sustancial de las cantidades como se describe en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1. Mezclas de glucagón para la subsiguiente liofilización

Formulación n°.	Glucagón (mg/ml)	Tampón de glicina (mM)	Tampón de citrato (mM)	Tampón de fosfato (mM)	Trehalosa (mg/ml)	HES (mg/ml)	β -CD (mg/ml)	Tween-20 (mg/ml)
1	5	5	0	0	0	0	0	00
2	5	5	0	0	0	0	0	0,01
3	5	5	0	0	10	0	0	0
4	5	5	0	0	0	10	0	0
5	5	5	0	0	5	5	0	0
6	5	5	0	0	0	0	10	0
7	5	0	5	0	0	0	0	0
8	5	0	5	0	0	0	0	0,01
9	5	0	5	0	10	0	0	0
10	5	0	5	0	0	10	0	0
11	5	0	5	0	5	5	0	0
12	5	0	5	0	0	0	10	0
13	5	0	0	5	0	0	0	0
14	5	0	0	5	0	0	0	0,01
15	5	0	0	5	10	0	0	0
16	5	0	0	5	0	10	0	0
17	5	0	0	5	5	5	0	0
18	5	0	0	5	0	0	10	0
19	5	5	0	0	10	0	0	0,01
20	5	5	0	0	0	10	0	0,01
21	5	5	0	0	5	5	0	0,01

[0111] Las formulaciones de la Tabla 1 que comprenden citrato o tampón de fosfato son ejemplos comparativos.

[0112] Para preparar las mezclas, se disolvió el glucagón en los respectivos tampones (fosfato, citrato y/o glicina, 5 mM, pH 3,0) a 10 mg/ml. La solución se mezcló entonces en una relación 1: 1 (v/v) con varios solutos, que se prepararon al doble de la concentración deseada utilizando el tampón correspondiente para obtener una concentración final de glucagón de 5 mg/ml y la concentración final de soluto deseada. A continuación se filtraron las soluciones a través de 0,2 µm de membrana de Millipore PES para eliminar los materiales insolubles. La preparación de las muestras se llevaron a cabo en una estancia refrigerada a 4 °C. La concentración y la pureza de glucagón se determinaron mediante RP- y Exclusión por Tamaño (SE)-HPLC.

10 **Ejemplo 2. Preparación de Polvo de Glucagón Seco mediante Congelación-Secado**

[0113] Las anteriores formulaciones de la Tabla 1 se pipetearon (0,3 ml) en de viales de liofilización de 3 ml (ID-13 mm). Las formulaciones se liofilizaron en un congelador-secador FTS Durastop (Stoneridge, NY). Las muestras se congelaron a -40 °C a una rampa de 2,5 °C / min y se mantuvieron durante 2 horas (h) para permitir una congelación suficiente. A continuación se aumentó la temperatura de la muestra a -5 °C a una rampa de 2 °C / min y se mantuvo durante 2 h como paso de recocido para después reducir la temperatura a 30 °C a rampa de 1,5 °C / min y se conectó al vacío a 60 mTorr. El secado primario se mantuvo durante 24 h. La temperatura se aumentó gradualmente hasta 40 °C a rampa de 0,5 °C / min y se mantuvo durante 10 horas adicionales. Cuando se completó el secado, los recipientes se taparon al vacío usando tapas XX de la empresa farmacéutica West Pharmaceuticals (producto # 10123524). Ninguna de las formulaciones mostró evidencia de colapso de la torta después de haber sido congelada-secada. El contenido de humedad del producto final secado fue inferior al 1% p/p.

Ejemplo 3. Preparación de Formulaciones de Glucagón en Disolventes Polares Apróticos

[0114] Para la formulación en disolventes polares apróticos se seleccionaron seis de los polvos secos preparados a partir de las soluciones de la Tabla 1:

1. Tampón (glicina) + trehalosa (200% en relación al glucagón) (formulación nº 3)
2. Tampón (glicina) + HES (200% en relación al glucagón) (formulación nº 4)
3. Tampón (glicina) + trehalosa (100% en relación al glucagón) + HES (100% con respecto al glucagón) (formulación nº 5)
4. Tampón (glicina) + Tween-20 (0,01% p/v) + trehalosa (200% en relación al glucagón) (formulación nº 19)
5. Tampón (glicina) + Tween-20 (0,01% p/v) + HES (200% en relación al glucagón) (formulación nº 20)
6. Tampón (glicina) + Tween-20 (0,01% p/v) + trehalosa (100% en relación al glucagón) + HES (200% en relación al glucagón) (formulación nº 21)

Ejemplo 4. Preparación de una Solución de Glucagón con una Memoria de pH

(ejemplo comparativo)

[0115] Se prepararon soluciones para contener glucagón a una concentración de 10-20 mg/ml. Las soluciones contenían tampón de citrato que estableció un pH de 4-5. La solución contenía también un alcohol de azúcar, manitol, a una concentración de 50-100 mg/ml. La formulación se mezcló hasta conseguir una homogeneidad sustancial y se congeló-secó por vía del ciclo de secado descrito en el ejemplo 2 a una humedad residual inferior al 0,5% p/p. El polvo seco se disolvió dentro de DMSO hasta una concentración de 10-20 mg/ml de glucagón y 50-100 mg/ml de manitol.

45 **Ejemplo 5. Preparación de una Solución de PTH (1-34) con baja Humedad y bajo punto de Congelación**

(ejemplo de referencia)

[0116] Se prepararon soluciones para contener PTH (1-34) a una concentración de 10-20 mg/ml. Las soluciones contenían un tampón de citrato que estableció un pH de 4-5. La solución contenía también un alcohol de azúcar, manitol, a una concentración de 50 mg/ml. La formulación se mezcló hasta conseguir una homogeneidad sustancial y se congeló-secó por vía del ciclo de secado descrito en el ejemplo 2 a una humedad residual inferior al 0,5% p/p. El polvo seco se disolvió dentro de DMSO hasta una concentración de 10-20 mg/ml de PTH (1-34) y 50-100 mg/ml de manitol.

Ejemplo 6. Aumento de los niveles de Glucagón en Sangre y de los niveles de Glucosa en Sangre después de administrar la Formación de Glucagón

5 [0117] Se probaron dos formulaciones de glucagón no acuoso en disolventes apróticos polares, basados en polvos de glucagón-glicina-trehalosa disueltos en NMP o DMSO, en un estudio farmacocinético y farmacodinámico de rata y se compararon con una formulación acuosa. A todas las ratas se les administraron dosis de glucagón a tasa de 10 µm de glucagón / rata. Las soluciones de glucagón no acuosas se administraron en 10 µm de inyección subcutánea, por ser esta la solución de control acuosa. Todas las formulaciones probadas demostraron un rápido aumento de las concentraciones de glucagón en sangre (véase la Figura 1).

10 [0118] Se analizaron los parámetros farmacocinéticos (PK) para los cuatro grupos de tratamiento más el control acuoso. A cada rata se le realizó un análisis no compartimental PK. Se calcularon los C_{max} y T_{max} a partir de los datos observados. Las estimaciones del área bajo la curva (AUC) se calcularon sin extrapolación. Los datos se analizaron utilizando un ANOVA de cinco grupos para comparar los parámetros de PK entre los grupos. No se observaron diferencias significativas en cada de C_{max} y T_{max} o AUC entre los tres grupos. Las biodisponibilidades relativas de las formulaciones de NMP y DMSO en relación al grupo control acuoso fueron todas próximas al 100% (76% y 92%, respectivamente). Por ello entonces, las formulaciones no acuosas son esencialmente bioequivalentes a la formulación acuosa de glucagón.

15 [0119] Como se había previsto a partir de los resultados farmacocinéticos, las formulaciones de glucagón no acuosas produjeron perfiles farmacodinámicos esencialmente equivalentes a una formulación de glucagón acuosa reconstituida al mismo nivel de dosis (véase la Figura 2).

Ejemplo 7: Mayor Solubilidad del Glucagón en Disolventes Polares Apróticos que en Soluciones Acuosas

25 [0120] Se preparó glucagón a 1,0 mg/ml mediante disolución en uno de los siguientes tampones (ejemplos comparativos):

1,2 mM de ácido cítrico, pH 2,0 (ajustado con HCl concentrado) ("C2,0")

2,2. mM de ácido cítrico, pH 3,0 (ajustado con HCl concentrado) ("C3,0")

30 [0121] Cada formulación se colocó en viales estériles de 2 cc, a 1 ml de volumen de llenado. Las muestras se congelaron-secaron a baja humedad residual y se reconstituyeron a varias concentraciones nominales en DMSO, NMP o un co-disolvente 50/50 DMSO / NMP. Las concentraciones de reconstitución oscilaron entre 1 y 30 mg/ml. La solubilidad se midió por inspección visual de su claridad y turbidez por vía de A630 y RP-HPLC.

35 [0122] Como se muestra en la Tabla 2 a continuación, el glucagón congelado-secado con un tampón de citrato a memoria de pH de 2,0 y 3,0 fue fácilmente soluble a concentraciones de 30 mg/ml. Las mismas formulaciones sólo fueron completamente solubles en H₂O a concentraciones más bajas. Para una memoria de pH de 3,0, la reconstitución completa solo se consiguió a 5 mg/ml en H₂O. Además, el glucagón solubilizado en H₂O fue únicamente meta estable, es decir, permaneció soluble sólo durante unas pocas horas y luego comenzó a gelificarse o fibrilar a tasas dependientes del pH y de la concentración, mientras que el glucagón solubilizado en los disolventes / co-disolventes polares apróticos fue estable indefinidamente.

40

Tabla 2. Solubilidad del glucagón a una memoria de pH de 2,0 y 3,0

Formulación	Disolvente	1 mg/ml	5 mg/ml	10 mg/ml	20 mg/ml	30 mg/ml
C2,0	H ₂ O	1	5	10	18	24
	DMSO	1	5	10	20	30
	DMSO/ NMP	1	5	10	20	30
	NMP	1	5	10	20	30
C3,0	H ₂ O	1	5	7	17	9
	DMSO	1	5	10	20	30
	DMSO/ NMP	1	5	10	20	30
	NMP	1	5	10	20	30

Ejemplo 8. Efecto del pH sobre la Solubilidad del Glucagón en Disolventes Polares Apróticos

- [0123] Cuando se observan los datos mostrados en el ejemplo 8 y la tabla 2 desde una perspectiva de memoria de pH, es evidente que se pueden conseguir mayores solubilidades para el glucagón en el disolvente polar aprótico a una memoria de pH menor (por ejemplo, pH 2,0) que a un pH mayor. Además, aunque las recuperaciones en la Tabla 2 indican esencialmente el 100% de la concentración nominal, las mediciones A_{630} mostraron una turbidez creciente en las soluciones de 30 mg/ml de glucagón a una memoria de pH de 3,0 (C3,0) en NMP puro y en el co-disolvente DMSO / NMP, mientras que las formulaciones de C2,0 con una memoria de pH de 2,0 permanecieron esencialmente libres de turbidez.
- [0124] En otro ejemplo, se midió el efecto del pH sobre la solubilidad del glucagón en disolventes polares apróticos para el acetato de glucagón disuelto en H₂O a 2 mg/ml con tanto 2 ml de glicina como 2 mM de tampón de citrato y el pH ajustado al valor deseado. Las muestras se congelaron-secaron y reconstituyeron a varias concentraciones nominales en DMSO, NMP o a co-disolvente DMSO / NMP 50/50. La solubilidad se midió vía inspección visual de claridad y turbidez mediante A_{630} y RP-HPLC.
- [0125] Se encontró que la "memoria de pH" de la liofilización tuvo un efecto clave sobre la estabilidad del glucagón. El glucagón fue soluble hasta 30 mg/ml de reconstitución para "G2.5" (memoria de pH 2.5) DMSO, DMSO / NMP y NMP liofilizados. Se observó una solubilidad reducida de manera significativa para los "G3.5" (pH 3.5) liofilizados. Todos los G3.5 liofilizados estaban turbios y las recuperaciones fueron incompletas, incluso a una concentración de reconstitución nominal de 10 mg/ml. El DMSO y los co- disolventes de DMSO / NMP mostraron recuperación de alrededor del 95%, mientras que NMP sólo mostró recuperación en alrededor de un 60%.

Ejemplo 9. Efecto de las Especies de Tampón sobre la Estabilidad del Glucagón en DMSO

- [0126] Se preparó acetato de glucagón a 1,0 mg/ml mediante disolución en uno de los siguientes tampones:
- 1,2 mM de L-glicina, pH 3,0 (ajustado con HCl concentrado)
- 2,2 mM de ácido cítrico, pH 3,0 (ajustado con HCl concentrado)
- (ejemplo comparativo)
- [0127] Estas formulaciones se liofilizaron y reconstituyeron en DMSO a una concentración nominal de 5 mg/ml de glucagón. Las formulaciones se colocaron en incubadoras de estabilidad a 5 °C, 25 °C y 40 °C. La pureza del glucagón se determinó con un procedimiento de HPLC de fase inversa.
- [0128] La estabilidad de la formulación en tampón de glicina fue significativamente mayor después de 1 mes de incubación a diversas temperaturas. La Tabla 3 a continuación muestra la pureza de RP-HPLC en varios momentos de la incubación a 40 °C.

Tabla 3. Efecto de las especies de tampón sobre la estabilidad del glucagón en DMSO

Formulación	Tiempo=0	1 semana	2 semanas	4 semanas
Glicina, pH 3,0	99,4	99,1	99,0	96,6
Citrato, pH 3,0	98,6	97,7	97,3	92,7

Ejemplo 10. Efecto de la Humedad sobre la Estabilidad de Glucagón en DMSO

- [0129] El acetato de glucagón se preparó a 1,0 mg/ml mediante disolución en uno de los siguientes tampones:
- 1,2 mM de L-glicina, pH 3,0 (ajustado con HCl concentrado)
- 2, 2 mM de L-glicina, pH 3,0 (ajustado con HCl concentrado)
- [0130] Estas formulaciones se liofilizaron y reconstituyeron en DMSO a una concentración nominal de 5 mg/ml de glucagón. Se añadió humedad adicional a la segunda formulación. El contenido de humedad se midió usando el procedimiento de Karl Fisher. La primera formulación tenía un contenido de humedad del 0,13% (p/p), mientras que la segunda formulación tenía un contenido de humedad del 0,54% (p/p). Las formulaciones se colocaron en incubadoras de estabilidad a 5 °C, 25 °C y 40 °C. La pureza del glucagón se determinó con un procedimiento de HPLC de fase inversa.

[0131] La estabilidad de la formulación con menor humedad fue mucho mayor después de 1 mes de incubación a diversas temperaturas. La tabla 4 a continuación muestra la pureza RP-HPLC en diversos momentos de la incubación a 40 °C. Incluso con contenidos de humedad inferiores al 1%, se puede detectar una diferencia significativa en la estabilidad.

5

Tabla 4. Efecto de humedad residual sobre la estabilidad del glucagón en DMSO

Formulación	Tiempo=0	1 semana	2 semanas	4 semanas
Humedad baja	99,4	99,1	99,0	96,6
Humedad añadida	99,2	98,9	98,8	95,6

Ejemplo 11: Depresión del punto de Congelación en Soluciones DMSO

10

[0132] Las muestras se almacenaron a -40 °C y calentaron a 40 °C a 8 °C por minuto con fines de cribado usando Instrumentos Perkin Elmer PYRIS Diamond de Calorimetría Diferencial de Barrido (“DSC”).

Mezclas de DMSO / NMP

15

[0133] Se ensayaron diversas mezclas de DMSO y NMP que incluyeron:

1. 90% de DMSO + 10% de NMP
2. 80% de DMSO + 20% de NMP
3. 70% de DMSO + 30% de NMP
4. 60% de DMSO + 40% de NMP
5. 50% de DMSO + 50% de NMP

20

[0134] El barrido de DSC mostró que la temperatura de cristalización de los disolventes se redujo progresivamente desde ~ 18°C para DMSO puro hasta -5,7 °C para una mezcla de 50% de NMP / 50% de DMSO. La adición del acetato de glucagón, líofilo de glicina a 5 mg/ml de glucagón produjo una reducción adicional de ~ 1 °C en el punto de congelación.

25

Mezclas de DMSO / acetato de etilo

[0135] Se probaron varias mezclas de DMSO y acetato de etilo que incluyeron:

1. 80% de DMSO + 20% de acetato de etilo (Tc = 16 °C)
2. 70% de DMSO + 30% de acetato de etilo
3. 60% de DMSO + 40% de acetato de etilo (Tc = 6,5 °C)
4. 50% de DMSO + 50% de acetato de etilo (Tc = 2,9 °C)
5. 40% de DMSO + 60% de acetato de etilo (Tc = ninguno observado)

30

[0136] Los barridos de DSC mostraron que la temperatura de cristalización de los disolventes se redujo progresivamente desde ~ 18°C para DMSO puro hasta 2,9 °C para una mezcla 50% NMP / 50% DMSO. No se observó ningún pico de cristalización para una mezcla 40% DMSO / 60% acetato de etilo. Después, estas formulaciones se almacenaron durante varios días a temperatura refrigerada (4 °C) y se observaron visualmente para evidenciar la congelación. Todas las formulaciones con acetato de etilo al 30% ó mayor en el co-disolvente, permanecieron líquidas y no se congelaron. Esto es algo diferente al Tc observado en los estudios de DSC.

40

Soluciones de DMSO con co-disolventes de alcohol

[0137] Se probaron diversas soluciones de DMSO a las que se añadió un co-disolvente de alcohol (etanol, glicerol o propilenglicol), incluyendo:

1. 95% de DMSO + 5% de alcohol

45

2. 90% de DMSO + 10% de alcohol
3. 80% de DMSO + 20% de alcohol
4. 70% de DMSO + 30% de alcohol
5. 60% de DMSO + 40% de alcohol
6. 50% de DMSO + 50% de alcohol
7. 40% de DMSO + 60% de alcohol
8. 30% de DMSO + 70% de alcohol
9. 20% de DMSO + 80% de alcohol
10. 10% de DMSO + 90% de alcohol

[0138] Estas formulaciones se almacenaron a temperatura refrigerada (4°C) durante varios días y se observaron visualmente para obtener evidencias de congelación. Todas las formulaciones con un 20% de co-disolvente de alcohol o mayor se mantuvieron líquidas y no se congelaron. Los barridos de DSC mostraron el punto de congelación de los co-disolventes de alcohol al 20% que se produjo a los 2,3 °C, 0,6 °C y 3,3 °C para el etanol, glicerol y propilenglicol, respectivamente.

Ejemplo 12. Estabilidad del Glucagón a la Congelación – Descongelación

[0139] Se preparó acetato de glucagón a 1,0 mg/ml mediante disolución en 2 mM de L-glicina de pH 3,0 (ajustado con HCl concentrado). Las formulaciones de glucagón se liofilizaron y reconstituyeron en DMSO a una concentración nominal de 5 mg/ml de glucagón. Se dividieron las muestras de solución y se añadió trehalosa a una solución hasta una concentración del 5%. Estas formulaciones se dividieron en partes proporcionales en viales y se colocaron en un incubador de estabilidad a 5 °C. A estos 5 °C, se observó que estas soluciones se congelaron. Las soluciones de glucagón se descongelaron en varios intervalos intermedios y se determinó la turbidez utilizando la absorbancia a 630 nm.

[0140] La Tabla 5 siguiente muestra la turbidez de las soluciones de glucagón a 5 °C en diversos tiempos de incubación. Las soluciones sin trehalosa mostraron aumentos en la turbidez en varios tiempos de incubación. Sin embargo, las soluciones que contenían trehalosa no mostraron un aumento de la turbidez. Las mediciones de turbidez se confirmaron mediante observación visual. Las muestras congeladas e incubadas sin trehalosa fueron turbias o borrosas tras la observación.

Tabla 5. Turbidez de las soluciones de glucagón después de la incubación a 5 °C

Formulación	Tiempo=0	1 semana	2 semanas	4 semanas
No Trehalosa	0,024	0,142	0,130	0,160
5% Trehalosa	0,016	0,029	0,028	0,035

[0141] Sorprendentemente, el uso de un aditivo de carbohidrato tal como trehalosa en soluciones de péptidos en DMSO aumenta la estabilidad del péptido durante el proceso de congelación-descongelación.

Ejemplo 13: Velocidad de Descongelación mejorada con trehalosa

[0142] Se preparó acetato de glucagón a 1,0 mg/ml mediante disolución en 2 mM de L-glicina, de pH 3,0 (ajustado con HCl concentrado) tal y como se describió anteriormente en el ejemplo 13. Al retirarlas de su almacenamiento a 5°C, se observó que las muestras de soluciones de glucagón que contenían trehalosa se descongelaron completamente en un tiempo mucho más corto que las soluciones sin trehalosa. Se observó que las muestras que contenían trehalosa tardaron menos de 30 segundos en descongelarse completamente mientras que las soluciones de glucagón sin trehalosa, se observó que normalmente tardaban en descongelarse completamente varios minutos. La capacidad para descongelar rápidamente una formulación peptídica puede ser particularmente ventajosa en un entorno médico de emergencia, en el caso de que una solución congelada tenga que ser inyectada rápidamente.

Ejemplo 14. Efecto del pH sobre la Solubilidad de la Insulina

[0143] La insulina se disolvió en H₂O a 10 mg/ml con un tampón fosfato / citrato 10 mM / EDTA 1 mM tanto a un pH de 2 como a un pH de 7. Estas disoluciones se liofilizaron hasta secarse (> 1 % de humedad residual) usando un ciclo conservador y se reconstituyeron a varias concentraciones nominales en DMSO. La solubilidad se midió por inspección visual de claridad y turbidez vía A₆₃₀.

5 [0144] A un pH de 2, se observó que la insulina era soluble a concentraciones de como mínimo 100 mg/ml. Sin embargo, a una memoria de pH 7, incluso a la concentración más baja probada de 10 mg/ml, se observó que la solubilidad de la insulina era pobre pues eran soluciones borrosas u oscuras con dispersión de luz aumentada (A₆₃₀). Se observó que algunas disoluciones de insulina de concentración menor, por ejemplo 10 mg/ml con una memoria de pH de 7, estas se disolvían lentamente hacia una solución clara durante un tiempo de alrededor de 24 horas.

10

Ejemplo 15. Efecto del pH sobre la Solubilidad de Plamlintida

(ejemplo de referencia)

15 [0145] El acetato de plamlintida se disolvió en H₂O a 2 mg/ml tanto en un tampón de citrato 10 mM, de pH 4 ó en un tampón de fosfato 10 mM, pH 7. Estas soluciones se liofilizaron hasta su secado (> 1% de humedad residual) usando un ciclo conservador y se reconstituyeron a varias concentraciones nominales en DMSO. La solubilidad se midió mediante inspección visual de claridad y turbidez vía A₆₃₀.

[0146] La plamlintida con memoria de pH 7 no fue soluble en DMSO a ninguna concentración. Sin embargo si fue soluble en DMSO a baja concentración de plamlintida con memoria de pH 4.

20

Ejemplo 16. Co-Formulaciones de péptidos en Disolventes Polares Apróticos

[0147] La preparación de las co-formulaciones se realizan secando separadamente las formulaciones de los compuestos individuales desde una solución acuosa que proporciona la solubilidad / estabilidad óptima tras su reconstitución en el disolvente polar aprótico. El pH de la disolución es una propiedad que afecta a la solubilidad del péptido. Un péptido secado, tras reconstituirse en un disolvente polar aprótico, conservará una "memoria de pH" de la formulación acuosa a partir de la cual este se secó usando un tampón no volátil. Como los disolventes polares apróticos no tienen protones intercambiables, los péptidos individuales mantendrán las propiedades de memoria de pH óptima en cuanto a solubilidad y estabilidad.

30 [0148] Las formulaciones actuales de pramlintidas y de insulina entran en conflicto en sus sistemas de tampón, haciendo difícil la compatibilidad de una formulación mixta. La mayoría de las insulinas y análogos de insulina tienen un punto isoeléctrico en el intervalo de 5-6 y por ello se formulan a un pH alrededor de 7 ó a un pH más bajo de alrededor de 2. La plamlintida tiene un punto isoeléctrico > 10,5 y se formula a un pH alrededor de 4 al cual es óptimamente estable. La interacción de las formulaciones de plamlintida e insulina a diferentes pH y a diferentes capacidades de tamponación da lugar a menudo a la precipitación de componentes solubles de insulina ó a la solubilización de componentes de insulina cristalina. Los estudios in vitro con plamlintida y formulaciones de insulina de acción corta y larga evidenciaron que la solubilidad de la insulina variaba de manera significativa al mezclar diversas cantidades de insulina con cantidades fijas de plamlintida.

40 [0149] Por lo tanto, la presente invención proporciona una formulación en donde tanto una especie de insulina de acción rápida como un análogo de amilina son estables y pueden administrarse simultáneamente a partir de una única formulación para inyección o una formulación. Esta formulación imita mejor la respuesta fisiológica natural a la elevación post-prandial de la glucosa en sangre que la técnica anterior.

45 [0150] Ejemplos de péptidos que pueden ser co-formulados incluyen, pero no se limitan a: (1) (ejemplo de referencia) insulina amilina (insulina a una memoria de pH alrededor de 2,0 ó alrededor de 7,0 y amilina ó un análogo de amilina (por ejemplo plamlintida) a una memoria de pH alrededor de 4,0); y (2) glucagón-GLP-1 (glucagón a una memoria de pH alrededor de 3,0 ó inferior y el péptido-1 similar al glucagón (GLP-1) o un análogo de éste (por ejemplo exenatida) a una memoria de pH alrededor de 4,0-5,0)

(Ejemplo de referencia)

50 [0151] Se preparó una co-formulación de insulina y plamlintida de la siguiente manera: Se realizó una formulación de insulina de 100 mg/ml de insulina, memoria de pH 2, como se ha descrito anteriormente en el ejemplo 14. Se realizó una formulación de plamlintida de 1 mg/ml de plamlintida, memoria de pH 4, como se ha descrito anteriormente en el ejemplo 15. Se mezclaron 5 µl de la formulación de insulina con 95 ml de la solución de plamlintida. Se observó que la solución resultante era clara y por tanto, se creó una co-formulación soluble de insulina y pramlintida con una memoria de pH respectivamente de 2 y 4.

55 [0152] Deberá entenderse que la descripción anterior se pretende ser ilustrativa y no restrictiva. Muchas realizaciones serán evidentes para los expertos en la técnica tras la lectura de la descripción anterior. Por lo tanto, el alcance de la invención debe determinarse no con referencia a la descripción anterior, sino en referencia a las reivindicaciones adjuntas, junto con el alcance completo de los equivalentes a los que dichas reivindicaciones dan derecho.

REIVINDICACIONES

1. Una solución estable para inyección parenteral, que comprende:
 - (a) glucagón o una sal del mismo, en donde el glucagón se ha secado en un tampón no volátil en donde el tampón no volátil es un tampón de glicina y en donde el glucagón secado tiene una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del glucagón en el tampón no volátil, en donde la memoria de pH es alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0; y
 - (b) un disolvente polar aprótico,en donde el contenido de humedad de la solución es inferior al 5%, y en donde el glucagón secado mantiene la memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del glucagón en el tampón no volátil cuando el glucagón secado se ha reconstituido en el disolvente polar aprótico.
2. La solución de acuerdo a la reivindicación 1, en donde el disolvente polar aprótico se selecciona entre el dimetil sulfóxido (DMSO), n-metil pirrolidona (NMP), acetato de etilo y mezclas de los mismos.
3. La solución de acuerdo a la reivindicación 2, en donde el disolvente polar aprótico es DMSO.
4. La solución de acuerdo a la reivindicación 1 comprende además un co-disolvente que deprime el punto de congelación de la formulación, en donde el co-disolvente se selecciona entre etanol, propilenglicol, glicerol y mezclas de los mismos.
5. La solución de acuerdo a la reivindicación 1, en donde el excipiente estabilizante se selecciona entre azúcares, almidones y mezclas de los mismos.
6. La solución de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el excipiente estabilizante es trehalosa.
7. La solución de acuerdo a la reivindicación 1, en donde el glucagón está presente en la solución en una cantidad que varía de alrededor de 0,1 mg/ml hasta el límite de solubilidad del glucagón secado ó desde alrededor de 0,1 mg/ml a alrededor de 100 mg/ml ó desde alrededor de 1 mg/ml a alrededor de 30 mg/ml.
8. Un procedimiento para preparar una solución estable para inyección parenteral, donde el procedimiento comprende:
 - (a) secar una mezcla que comprende glucagón ó una sal del mismo, en un tampón no volátil, en donde el tampón no volátil es un tampón de glicina hasta un polvo de glucagón secado, en donde el polvo de glucagón secado tiene una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del glucagón en el tampón no volátil, en donde la memoria de pH es alrededor de 2,0 a alrededor de 3,0; y
 - (b) reconstituir el polvo de glucagón secado en un disolvente polar aprótico; en donde el contenido de humedad de la solución es inferior al 5% y en donde el polvo de glucagón secado mantiene la memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del glucagón en el tampón no volátil cuando el polvo de glucagón secado es reconstituido en el disolvente polar aprótico.
9. El procedimiento de acuerdo a la reivindicación 8, en donde el disolvente polar aprótico se selecciona entre dimetil sulfóxido (DMSO), n-metil pirrolidona (NMP), acetato de etilo y mezclas de los mismos.
10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, comprende además el secado del péptido y el tampón no volátil con un excipiente estabilizante, en donde el excipiente estabilizante se selecciona entre azúcares, almidones y mezclas de los mismos.
11. El procedimiento de acuerdo a la reivindicación 8, en donde el paso (b) comprende la reconstitución del polvo del péptido secado en una solución que comprende un disolvente polar aprótico y un co-disolvente que deprime el punto de congelación de la formulación, en donde el co-disolvente se selecciona entre etanol, propilenglicol, glicerol, y mezclas de los mismos.

12. El procedimiento de acuerdo a la reivindicación 8, en donde el péptido está presente en la mezcla en una cantidad que varía desde alrededor de 0,1 mg/ml hasta el límite de solubilidad del glucagón secado ó desde alrededor de 0,1 mg/ml a alrededor de 100 mg/ml ó desde alrededor de 1 mg/ ml a alrededor de 30 mg/ml.
13. Una solución de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 ó preparada de acuerdo al procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12 para usarla en la administración a un sujeto, que comprende inyectar parenteralmente la solución al sujeto.
14. Una solución de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 ó preparada de acuerdo al procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12 para usarla en el tratamiento de la hipoglucemia que comprende inyectar parenteralmente una cantidad efectiva de dicha solución al sujeto que la necesite para tratar la hipoglucemia.
15. Una solución de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 ó preparada de acuerdo al procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12 para usarla en el tratamiento de la diabetes que comprende inyectar parenteralmente en una cantidad efectiva de dicha solución a un sujeto que la necesite para tratar la diabetes.

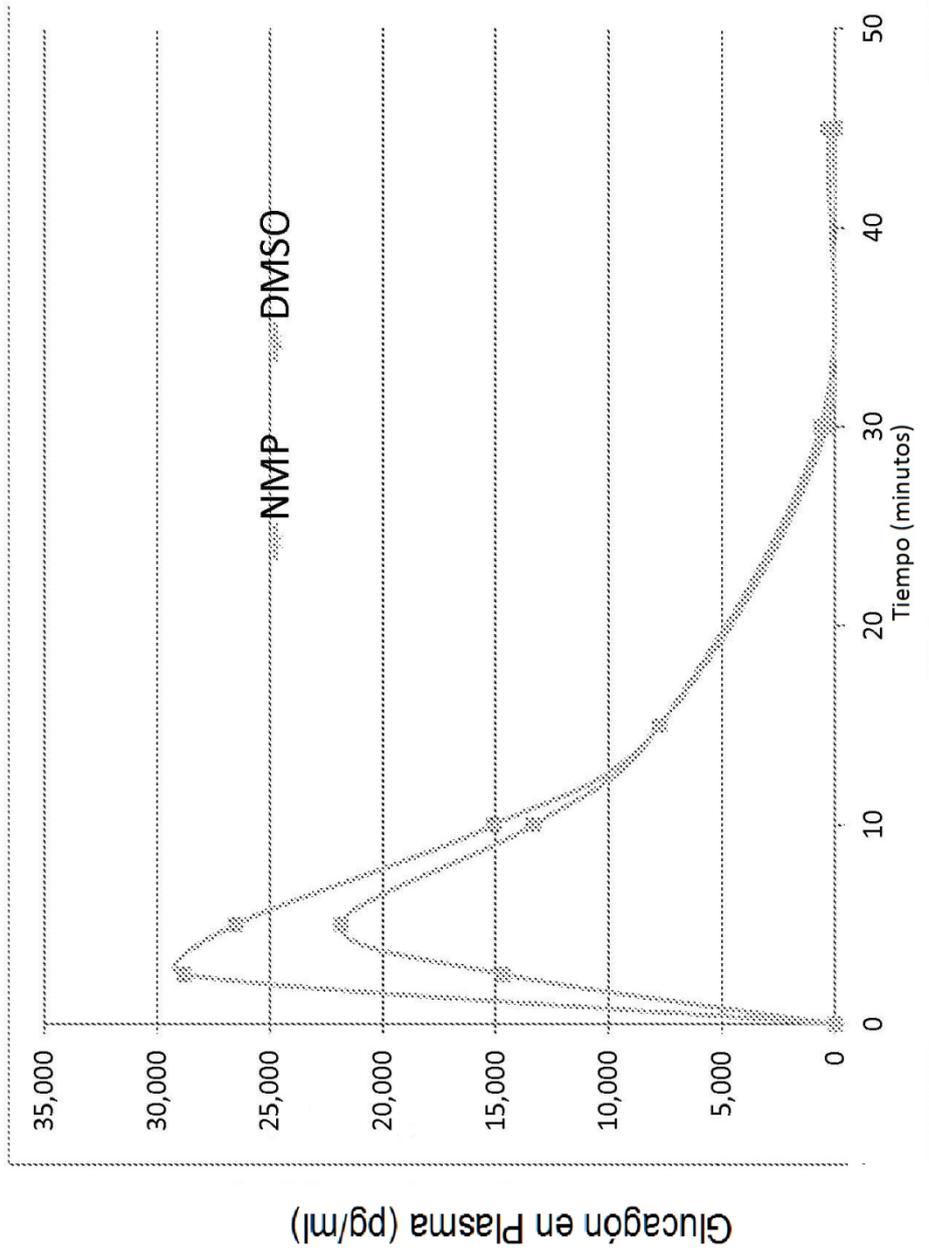


Fig. 1

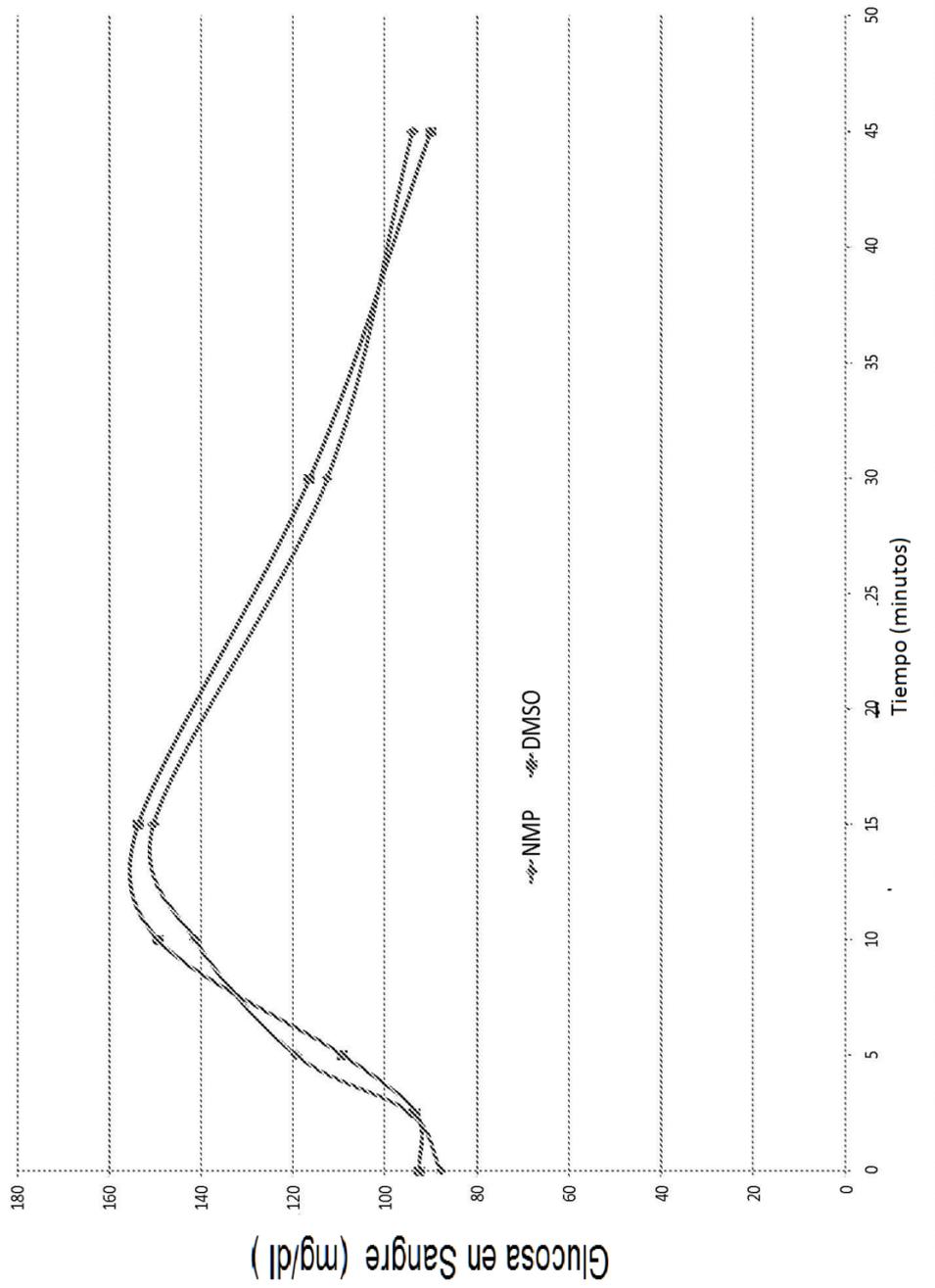


Fig. 2