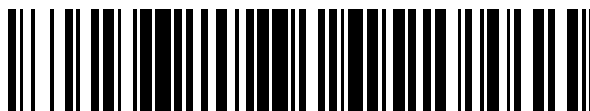


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 660 320**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00	(2006.01)
A61K 38/26	(2006.01)
A61K 38/28	(2006.01)
A61K 47/10	(2007.01)
A61K 47/18	(2007.01)
A61K 47/20	(2006.01)
A61K 47/26	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.11.2004 PCT/DK2004/000792**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **02.06.2005 WO05049061**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2004 E 04797453 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2017 EP 1687019**

54 Título: **Formulaciones peptídicas que contienen propilenglicol que son óptimas para la producción y para el uso en dispositivos de inyección**

30 Prioridad:

20.11.2003 DK 200301719

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.03.2018

73 Titular/es:

**NOVO NORDISK A/S (100.0%)
Novo Allé
2880 Bagsvård, DK**

72 Inventor/es:

**PEDERSEN, TINA BJELDSKOV;
BONDE, CLAUDE y
ENGELUND, DORTHE KOT**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 660 320 T3

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

DESCRIPCIÓN

Formulaciones peptídicas que contienen propilenglicol que son óptimas para la producción y para el uso en dispositivos de inyección

CAMPO DE LA INVENCION

- 5 La presente invención se refiere a formulaciones farmacéuticas que comprenden el péptido Arg³⁴, Lys²⁶(N-ε-(γ-Glu(N-α-hexadecanoil)))³⁴-GLP-1(7-37) y propilenglicol.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 La inclusión de agentes de isotonicidad en las formulaciones farmacéuticas que contienen péptidos es ampliamente conocida y uno de los agentes isotónicos más comunes en tales formulaciones es el manitol. Sin embargo, los inventores de la presente han observado que el manitol causa problemas durante la producción de las formulaciones peptídicas, ya que cristaliza, lo que da lugar a depósitos en el equipo de producción y en el producto final. Tales depósitos aumentan la necesidad de limpiar el equipo de llenado durante la producción de la formulación y esto da como resultado una reducción en la capacidad de producción. Además, tales depósitos pueden dar también como resultado una reducción del rendimiento de producto final puesto que puede que sea necesario desechar viales/cartuchos que contengan la formulación peptídica si existen partículas presentes. Finalmente, los inventores de la presente han observado que en las formulaciones peptídicas que se han de administrar mediante inyección, la presencia de manitol da como resultado una obstrucción de los dispositivos de inyección.

- 15 Por consiguiente, es deseable identificar un agente isotónico alternativo al manitol para su inclusión en formulaciones que contengan péptidos y, en particular, para su inclusión en formulaciones peptídicas que se administren mediante inyección. PRIDAL L ET AL: "ABSORTION OF GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-1 CAN BE PROTRACTED BY ZINC OR PROTAMINE", INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, ELSEVIER BV, NL, vol. 136, 1 de enero de 1996 (1996-01-01) describe una composición que comprende la amida GLP-1 (7-36) combinada con fosfato disódico y un agente isotónico, glicerol, a un pH de aproximadamente 7 (pH= 6.9).

COMPENDIO DE LA INVENCION

- 25 Los inventores de la presente han descubierto que las formulaciones peptídicas que contienen propilenglicol con ciertas concentraciones muestran una reducción de depósitos en el equipo de producción y en el producto final y también muestran una reducción de la obstrucción de los dispositivos de inyección. Las presentes composiciones se pueden formular con cualquier péptido y también son física y químicamente estables, lo que las hace, por tanto, duraderas y adecuadas para medios de administración invasivos (p. ej., inyección, inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o infusión) así como no invasivos (p. ej., nasal, oral, pulmonar, transdérmica o transmucosa, p. ej., bucal).

- 30 La presente invención se refiere, por tanto, a una formulación farmacéutica que comprende el péptido Arg³⁴, Lys²⁶(N-ε-(γ-Glu(N-α-hexadecanoil)))³⁴-GLP-1(7-37) y propilenglicol, donde el propilenglicol se encuentra presente en una concentración de 1-100 mg/mL y el pH de la formulación es de 7-10. En una realización preferida, las formulaciones farmacéuticas de la invención contienen además un tampón y un conservante.

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas. El contenido que no esté englobado por el alcance de las reivindicaciones no forma parte de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- 40 La Figura 1 muestra una fotografía de microgotas secadas en portaobjetos de microscopio, de izquierda a derecha, de formulaciones placebo (sin péptido), que no contienen agente isotónico (p. ej., solo agua, conservante y tampón), manitol, sorbitol, xilitol, sacarosa o glicerol como agente isotónico, conteniendo el portaobjetos del extremo derecho manitol con el péptido Arg³⁴, Lys²⁶(N-ε-(γ-Glu(N-α-hexadecanoil)))³⁴-GLP-1(7-37).

La Figura 2 muestra imágenes de microscopio óptico, de izquierda a derecha, de algunas de las microgotas secadas de formulaciones placebo que contienen manitol, arginina, inositol o glicerol como agente isotónico.

- 45 La Figura 3 muestra imágenes de microscopio óptico de agujas obstruidas tratadas con formulaciones placebo que contienen mioinositol, maltosa o glicerol como agente isotónico.

La Figura 4 muestra imágenes de microscopio óptico de depósitos en las agujas tratadas con formulaciones placebo que contienen glicina, lactosa o manitol como agente isotónico.

- 50 La Figura 5 muestra un equipo de llenado después de 24 horas de llenado simulado con un medio de Arg³⁴, Lys²⁶(N-ε-(γ-Glu(N-α-hexadecanoil)))³⁴-GLP-1(7-37) que contiene mioinositol.

La Figura 6 muestra depósitos en el equipo de llenado después de 24 horas de llenado simulado con una formulación placebo que contiene manitol.

La Figura 7 muestra depósitos en agujas tratadas con formulaciones de Arg³⁴, Lys²⁶(N-ε-(γ-Glu(N-α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) que contienen manitol (panel superior) y propilenglicol (panel inferior).

5 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una formulación farmacéutica que comprende el péptido Arg³⁴, Lys²⁶(N-ε-(γ-Glu(N-α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) y propilenglicol, donde la concentración final de propilenglicol en la formulación es de 1-100 mg/mL y el pH de la formulación se encuentra en el intervalo de 7-10.

10 Las formulaciones farmacéuticas de la invención resultan ser óptimas para la producción porque muestran una reducción de los depósitos en el equipo de producción respecto a formulaciones que contienen otros agentes de isotonicidad medida mediante los estudios de llenado simulado descritos en los Ejemplos. Además, las formulaciones farmacéuticas de la invención resultan ser óptimas para su uso en dispositivos de inyección porque muestran una reducción en la obstrucción de los dispositivos de inyección respecto a formulaciones que contienen otros agentes de isotonicidad medida mediante los estudios de uso simulado descritos en los Ejemplos.

15 El péptido que se incluirá en la formulación de la invención es un agonista de GLP-1, tal como se ha definido en las reivindicaciones de la presente, donde se sobreentiende que un "agonista de GLP-1" se refiere a un péptido que activa completa o parcialmente el receptor de GLP-1 humano. En una realización preferida, el "agonista de GLP-1" es un péptido tal como se ha definido en las reivindicaciones de la presente que se une a un receptor de GLP-1, preferentemente con una constante de afinidad (K_D) o una potencia (CE₅₀) inferior a 1 μM, p. ej., inferior a 100 nM
20 medida con los métodos conocidos en la técnica (remítase a, p. ej., el documento WO 98/08871) y muestra actividad insulínica, donde la actividad insulínica se puede medir en ensayos *in vivo* o *in vitro* conocidos para los expertos en la técnica. Por ejemplo, el agonista de GLP-1 se puede administrar a un animal y medirse la concentración de insulina con el tiempo.

El agonista de GLP-1 es Arg³⁴, Lys²⁶(N-ε-(γ-Glu(N-α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37).

25 El agonista de GLP-1 se encuentra presente en una concentración de 0.1 mg/mL a 100 mg/mL, más preferentemente en una concentración de 0.1 mg/mL a 50 mg/mL y de la forma más preferente en una concentración de 0.1 mg/mL a 10 mg/mL.

En una realización, la concentración final de propilenglicol en las formulaciones de la invención es de 1 a 50 mg/mL

En otra realización, la concentración final de propilenglicol en las formulaciones de la invención es de 5 a 25 mg/mL.

30 En otra realización más, la concentración final de propilenglicol en las formulaciones de la invención es de 8 a 16 mg/mL.

En una realización adicional más, la concentración final de propilenglicol en las formulaciones de la invención es de 13 a 15 mg/mL.

35 En otra realización más, la concentración final de propilenglicol en las formulaciones de la invención es de 13.5 a 14.5 mg/mL.

En otra realización de la invención, la formulación tiene un pH en el intervalo de 7.0 a 9.5.

En una realización adicional de la invención, la formulación tiene un pH en el intervalo de 7.0 a 8.0.

En una realización adicional más de la invención, la formulación tiene un pH en el intervalo de 7.2 a 8.0.

En una realización adicional de la invención, la formulación tiene un pH en el intervalo de 7.0 a 8.3.

40 En una realización adicional más de la invención, la formulación tiene un pH en el intervalo de 7.3 a 8.3.

En una realización preferida de la invención, las formulaciones contienen, además de un péptido y propilenglicol, un tampón y/o un conservante.

45 Cuando se ha de incluir un tampón en las formulaciones de la invención, el tampón se selecciona a partir del grupo compuesto por acetato sódico, carbonato sódico, citrato, glicilglicina, histidina, glicina, lisina, arginina, dihidrogenofosfato sódico, hidrogenofosfato disódico, fosfato sódico y tris(hidroximetil)aminometano o mezclas de estos. Cada uno de estos tampones concretos constituye una realización alternativa de la invención. En una realización preferida de la invención el tampón es glicilglicina, dihidrogenofosfato sódico, hidrogenofosfato disódico, fosfato sódico o mezclas de estos.

- 5 Cuando se ha de incluir un conservante farmacéuticamente aceptable en las formulaciones de la invención, el conservante se selecciona a partir del grupo compuesto por fenol, *m*-cresol, *p*-hidroxibenzoato de metilo, *p*-hidroxibenzoato de propilo, 2-fenoxietanol, *p*-hidroxibenzoato de butilo, 2-feniletanol, alcohol bencílico, clorobutanol y tiomerosal o mezclas de estos. Cada uno de estos conservantes concretos constituye una realización alternativa de la invención. En una realización preferida de la invención el conservante es fenol o *m*-cresol.
- 10 En una realización adicional de la invención el conservante se encuentra presente en una concentración de 0.1 mg/mL a 50 mg/mL, más preferentemente en una concentración de 0.1 mg/mL a 25 mg/mL y de la forma más preferente en una concentración de 0.1 mg/mL a 10 mg/mL.
- El uso de un conservante en las composiciones farmacéuticas es muy conocido para el experto en la técnica. Por conveniencia, se hace referencia a *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 19.^a edición, 1995.
- 15 En una realización adicional de la invención la formulación puede comprender además un agente quelante, donde el agente quelante se puede seleccionar a partir de sales de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido cítrico y ácido aspártico y mezclas de estos. Cada uno de estos agentes quelantes concretos constituye una realización alternativa de la invención.
- 20 En una realización adicional de la invención, el agente quelante se encuentra presente en una concentración de 0.1 mg/mL a 5 mg/mL. En una realización adicional de la invención, el agente quelante se encuentra presente en una concentración de 0.1 mg/mL a 2 mg/mL. En una realización adicional de la invención, el agente quelante se encuentra presente en una concentración de 2 mg/mL a 5 mg/mL.
- El uso de un agente quelante en las composiciones farmacéuticas es muy conocido para el experto en la técnica. Por conveniencia, se hace referencia a *Remington: The science and Practice of Pharmacy*, 19.^a edición, 1995.
- 25 En una realización adicional de la invención, la formulación puede comprender además un estabilizante seleccionado a partir del grupo de polímeros de alto peso molecular o compuestos de bajo peso molecular, donde tales estabilizantes incluyen polietilenglicol (p. ej., PEG 3350), alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa, diversas sales (p. ej., cloruro sódico), L-glicina, L-histidina, imidazol, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptófano, treonina y mezclas de estos. Cada uno de estos estabilizantes concretos constituye una realización alternativa de la invención. En una realización preferida de la invención el estabilizante se selecciona a partir del grupo compuesto por L-histidina, imidazol y arginina.
- 30 En una realización adicional de la invención, el polímero de alto peso molecular se encuentra presente en una concentración de 0.1 mg/mL a 50 mg/mL. En una realización adicional de la invención, el polímero de alto peso molecular se encuentra presente en una concentración de 0.1 mg/mL a 5 mg/mL. En una realización adicional de la invención el polímero de alto peso molecular se encuentra presente en una concentración de 5 mg/mL a 10 mg/mL. En una realización adicional de la invención, el polímero de alto peso molecular se encuentra presente en una concentración de 0 mg/mL a 20 mg/mL. En una realización adicional de la invención, el polímero de alto peso molecular se encuentra presente en una concentración de 20 mg/mL a 30 mg/mL. En una realización adicional de la invención, el polímero de alto peso molecular se encuentra presente en una concentración de 30 mg/mL a 50 mg/mL.
- 35 En una realización adicional de la invención, el compuesto de bajo peso molecular se encuentra presente en una concentración de 0.1 mg/mL a 50 mg/mL. En una realización adicional de la invención, el compuesto de bajo peso molecular se encuentra presente en una concentración de 0.1 mg/mL a 5 mg/mL. En una realización adicional de la invención, el compuesto de bajo peso molecular se encuentra presente en una concentración de 5 mg/mL a 10 mg/mL. En una realización adicional de la invención, el compuesto de bajo peso molecular se encuentra presente en una concentración de 10 mg/mL a 20 mg/mL. En una realización adicional de la invención, el compuesto de bajo peso molecular se encuentra presente en una concentración de 20 mg/mL a 30 mg/mL. En una realización adicional de la invención, el compuesto de bajo peso molecular se encuentra presente en una concentración de 30 mg/mL a 50 mg/mL.
- 40 El uso de un estabilizante en las composiciones farmacéuticas es muy conocido para el experto en la técnica. Por conveniencia, se hace referencia a *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 19.^a edición, 1995.
- 45 En una realización adicional de la invención, la formulación de la invención puede comprender además un agente tensioactivo, donde el agente tensioactivo se puede seleccionar entre un detergente, aceite de ricino etoxilado, glicéridos poliglicolizados, monoglicéridos acetilados, ésteres de ácidos grasos y sorbitán, poloxámeros tales como el 188 y el 407, ésteres de ácidos grasos y polioxietilensorbitán, derivados de polioxietileno tales como derivados alquilados y alcoxilados (tweens, p. ej., Tween-20 o Tween-80), monoglicéridos o derivados etoxilados de estos, diglicéridos o derivados de polioxietileno de estos, glicerol, ácido cólico o derivados de este, lecitinas, alcoholes y fosfolípidos, glicerofosfolípidos (lecitinas, cefalinas, fosfatidilserina), gliceroglicolípidos (galactopiranosido), esfingofosfolípidos (esfingomielina) y esfingoglicolípidos (ceramidas, gangliósidos), DSS (docusato sódico, docusato cálcico, docusato potásico, SDS (dodecilsulfato sódico o laurilsulfato sódico), ácido dipalmitoilfosfatídico, caprilato

sódico, conjugados de ácidos biliares y sales de estos y glicina o taurina, ácido ursodesoxicólico, colato sódico, desoxicolato sódico, taurocolato sódico, glicocolato sódico, *N*-hexadecil-*N,N*-dimetil-3-amonio-1-propanosulfonato, agentes tensioactivos monovalentes aniónicos (alquilarilsulfonatos), palmitoilisofosfatidil-L-serina, lisofosfolípidos (p. ej., ésteres de 1-acil-*sn*-glicerol-3-fosfato y etanolamina, colina, serina o treonina), derivados alquilo, alcoxilo (éster de alquilo), alcoxi (éter de alquilo) de lisofosfatidil- y fosfatidilcolinas, p. ej., derivados lauroílo y miristoílo de lisofosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina y modificaciones del grupo de cabeza polar, es decir, colinas, etanolaminas, ácido fosfatídico, serinas, treoninas, glicerol, inositol y los BISHOP, DCP, DOTMA, DODAC cargados positivamente, lisofosfatidilserina y lisofosfatidiltreonina, agentes tensioactivos zwitteriónicos (p. ej., *N*-alquil-*N,N*-dimetilamonio-1-propanosulfonato, 3-colamido-1-propildimetilamonio-1-propanosulfonato, dodecilsulfocolina, miristoil-lisofosfatidilcolina, lisolectina de huevo de gallina), agentes tensioactivos catiónicos (bases de amonio cuaternario) (p. ej., bromuro de cetiltrimetilamonio, cloruro de cetilpiridinio), agentes tensioactivos no iónicos, copolímeros de bloque de óxido de polietileno/óxido de polipropileno (Pluronic/Tetronics, Triton X-100, dodecil-β-D-glucopiranosido) o tensioactivos poliméricos (Tween-40, Tween-80, Brij-35), derivados de ácido fusídico (p. ej., taurodihidrofusidato sódico, etc.), ácidos grasos de cadena larga y sales de estos C6-C12 (p. ej., ácido oleico y ácido caprílico), acilcarnitinas y derivados, derivados N^α-acilados de lisina, arginina o histidina, o derivados con cadena lateral acilada de lisina o arginina, derivados N^α-acilados de dipéptidos que comprenden cualquier combinación de lisina, arginina o histidina y un aminoácido neutro o ácido, un derivado N^α-acilado de un tripéptido que comprende cualquier combinación de un aminoácido neutro y dos aminoácidos cargados, o el agente tensioactivo se puede seleccionar a partir del grupo de derivados de imidazolina, o mezclas de estos. Cada uno de estos agentes tensioactivos concretos constituye una realización alternativa de la invención.

El uso de un agente tensioactivo en las composiciones farmacéuticas es muy conocido para el experto en la técnica. Por conveniencia, se hace referencia a *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 19.^a edición, 1995.

Las formulaciones de la invención se pueden preparar mediante técnicas convencionales, p. ej., tal como se describe en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 1985 o en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 19.^a edición, 1995, donde dichas técnicas convencionales de la industria farmacéutica conllevan disolver y mezclar los ingredientes según proceda para obtener el producto final deseado.

Tal como se ha mencionado anteriormente, en una realización preferida, las formulaciones de la invención contienen, además de un péptido y propilenglicol, un tampón y/o un conservante.

Dado que las formulaciones de la invención son óptimas para la producción y para el uso en dispositivos de inyección, puesto que muestran una reducción de los depósitos del equipo de producción y una reducción de la obstrucción de los dispositivos de inyección, los métodos de producción anteriores se pueden utilizar para producir formulaciones peptídicas adecuadas para el uso en la producción y/o para el uso en dispositivos de inyección.

Las formulaciones de la invención son adecuadas para la administración a un mamífero, preferentemente a un ser humano. La vía de administración de las formulaciones de la invención puede ser cualquier vía que transporte de forma eficaz el péptido contenido en la formulación al sitio de acción apropiado o deseado, tal como oral, nasal, bucal, pulmonar, transdérmica o parenteral.

Debido a la capacidad del polipropilenglicol para reducir la obstrucción de los dispositivos de inyección, en comparación con otros agentes isotónicos y con el manitol en particular, en una realización preferida, las formulaciones de la invención se administrarán por vía parenteral a un paciente que lo necesite. La administración parenteral se puede llevar a cabo mediante inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa por medio de una jeringa, opcionalmente una jeringa de pluma. Como alternativa, la administración parenteral se puede llevar a cabo por medio de una bomba de infusión.

Una opción adicional es una composición que puede ser un polvo o un líquido para la administración de la formulación en forma de aerosol nasal o pulmonar. Como otra opción adicional, la formulación se puede administrar también por vía transdérmica, p. ej., a partir de un parche, opcionalmente un parche iontoforético, o por vía transmucosa, p. ej., por vía bucal. No se debe considerar que las formas posibles de administrar las formulaciones de la invención mencionadas anteriormente limitan el alcance de la invención.

Los siguientes ejemplos ilustran varios aspectos de la invención, pero no se pretende en ningún caso que limiten el alcance de esta.

50 Ejemplos

EJEMPLO 1

Experimentos de llenado simulado, pruebas de goteo y obstrucción de candidatos de reemplazo para el manitol

Dado que los experimentos de laboratorio han mostrado que en lo que respecta a la obstrucción de agujas y

depósitos en las agujas, las formulaciones sin péptido (“placebo”) proporcionan las mismas conclusiones que las formulaciones con péptido con una concentración de 0.3-5.0 mg/mL, los estudios de exploración selectiva en el Ejemplo 1 se han llevado a cabo utilizando placebo excepto en los casos donde se indique lo contrario.

Preparación de formulaciones con diferentes agentes isotónicos

- 5 El conservante (5.5 mg/mL de fenol) y el tampón (1.24 mg/mL de hidrogenofosfato disódico dihidratado) se disolvieron en agua y se añadió el agente isotónico manteniendo la agitación. Se ajustó el pH a pH 7.9 utilizando hidróxido sódico y/o ácido clorhídrico. Finalmente, la formulación se filtró a través de un filtro de 0.22 µm. Los agentes isotónicos evaluados en cada formulación y sus concentraciones se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición de las formulaciones probadas

N.º de formulación	Modificador de la tonicidad
1	Glucosa monohidratada (38.0 mg/mL)
2	Lactosa monohidratada (65.0 mg/mL)
3	Maltosa (67.2 mg/mL)
4	Glicina (15.1 mg/mL)
5	Polietilenglicol 400 (77.5 mg/mL)
6	L-arginina (24.6 mg/mL)
7	Mioinositol (35.2 mg/mL)
8	Propilenglicol (13.7 mg/mL)
9	Dimetilsulfona (18 mg/mL)
10	Manitol (35.9 mg/mL)
11	Sorbitol (39.5 mg/mL)
12	Xilitol (39.5 mg/mL)
13	Sacarosa (79.1 mg/mL)
14	Glicerol (16 mg/mL)

10

Osmolaridad

Se determinó la osmolaridad de las distintas formulaciones placebo y los resultados se muestran en la Tabla 2.

- 15 Una disolución isotónica tiene una osmolaridad de aproximadamente 0.286 osmol/L. Como se puede observar a partir de la Tabla 2, tres de las formulaciones (PEG 400, sacarosa y xilitol) están a más de un 20% de ser isotónicas (0.229-0.343 osmol/L), sin embargo, para este tipo de experimentos no se espera que la osmolaridad influya en los resultados, no obstante, la tonicidad de las formulaciones se debería ajustar en futuros experimentos.

Tabla 2. La osmolaridad medida de las formulaciones

N.º de formulación	Agente isotónico	Osmolaridad
1	Glucosa monohidratada (38.0 mg/mL)	0.315
2	Lactosa monohidratada (65.0 mg/mL)	0.283
3	Maltosa (67.2 mg/mL)	0.306
4	Glicina (15.1 mg/mL)	0.286
5	Polietilenglicol 400 (77.5 mg/mL)	0.370
6	L-arginina (24.6 mg/mL)	0.318
7	Mioinositol (35.2 mg/mL)	0.285
8	Propilenglicol (13.7 mg/mL)	0.268
9	Dimetilsulfona (18 mg/mL)	0.274
10	Manitol (35.9 mg/mL)	0.284
11	Sorbitol (39.5 mg/mL)	0.310
12	Xilitol (39.5 mg/mL)	0.351
13	Sacarosa (79.1 mg/mL)	0.346
14	Glicerol (16 mg/mL)	0.262

Prueba de goteo

- 20 Se coloca una microgota de cada formulación en un portaobjetos de microscopio y se deja secar. El depósito se examina visualmente a simple vista y con microscopio óptico.

En la Figura 1 se muestra una fotografía de las microgotas secadas de algunas de las formulaciones. En esta figura se observa claramente que el manitol produce depósitos en el portaobjetos de microscopio cuando se deja secar. No se observaron depósitos con sorbitol, xilitol, sacarosa y glicerol. La microgota del extremo derecho (Form. 1)

contiene manitol y Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37).

En la Figura 2, se muestran los candidatos que producen los mayores depósitos en el portaobjetos de microscopio. Por comparación, se muestra el glicerol, que no produce depósitos (manitol, arginina, inositol).

Prueba de obstrucción

- 5 En esta prueba, se probaron 10 NovoPens[®] de 1.5 mL montadas con NovoFine 30[®] G (aguja de 30 G) para cada formulación, 5 de ellas colocadas en posición vertical y 5 en horizontal. Los Pensystems se almacenaron a temperatura ambiente entre pruebas. Cada día se examinó la aguja en busca de depósitos y se llevó a cabo una inyección de aire previa a la inyección en un tejido. El grado de resistencia y la obstrucción, si la había, se comprobaron. Las inyecciones se realizaron diariamente con la misma aguja y esto se llevó a cabo durante 9 días laborales para todas las formulaciones.

Los resultados de la prueba de obstrucción se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Prueba de obstrucción de NovoPen 1.5 utilizando 30G NovoFine

Agente isotónico (n.º de observaciones)	Alguna resistencia	Resistencia	Mucha resistencia	Obstruido	Gota en la parte superior de la aguja	Gota secada en la punta de la aguja	Gota gelatinosa sobre la aguja	Depósitos sobre la aguja
Manitol (90)	10	0	0	0	0	2	0	43
Glicerol (90)	13	0	0	0	1	0	3	0
Sacarosa (90)	23	0	0	0	0	0	21	0
Propilenglicol (90)	20	0	0	0	0	0	0	0
PEG 400 (90)	25	1	0	0	12 (5 en la aguja)	0	0	0
Arginina (90)	26	2	0	0	3 (2 en la aguja)	1	0	0
Xilitol (90)	14	0	0	0	5	0	0	0
Dimetilsulfona (90)	21	0	0	0	4	0	0	0
sorbitol (90)	12	0	0	0	9	1	0	1
Mioinositol (90)	20	1	2	6	6	0	0	47
Glucosa (90)	32	11	5	0	16 (7 en la aguja)	1	0	(1 en la aguja)
glicina (90)	41	9	2	0	1 (2 en la aguja)	0	0	31 (2 en la aguja)
maltosa (90)	35	8	7	4	16 (6 en la aguja)	0	0	1 (5 en la aguja)
lactosa (90)	44	10	8	0	5	0	0	31 (2 en la aguja)

- 15 En la Tabla 3 y en la Figura 3 se observó que el inositol y la maltosa obstruían la aguja. Por comparación, el glicerol, que no obstruye la aguja se muestra en la Figura 3. En la Figura 4 y en la Tabla 3, se observó que las formulaciones que contenían glicina, lactosa y manitol daban lugar a una gran cantidad de depósitos sobre la aguja. Para la glicina, los depósitos eran una microgota depositada a lo largo de la aguja, mientras que para la lactosa y el manitol los depósitos tenían lugar en la parte superior de la aguja.

Llenado simulado

- 20 Se sometió 1 L de cada formulación a un experimento de llenado simulado que duró 24 horas. Después de 24 horas, se inspeccionó la presencia de depósitos en el equipo de llenado.

Basándose en los resultados de los estudios de llenado simulado (no se muestran los datos), las formulaciones placebo se pueden dividir en tres categorías. 1. Aquellos agentes isotónicos que no producen depósitos en el equipo de llenado: xilitol, glicerol, glucosa monohidratada, maltosa, PEG 400 y propilenglicol. 2. Aquellos agentes isotónicos que producen pocos depósitos y tienen propiedades de llenado superiores en comparación con el manitol: sorbitol, sacarosa y glicina. 3. Aquellos agentes isotónicos que son comparables o peores que el manitol: manitol, lactosa monohidratada, arginina, mioinositol y dimetilsulfona.

Conclusión

En el experimento de llenado simulado, se descubrió que el xilitol, glicerol, glucosa, maltosa, PEG 400, propilenglicol, sorbitol, sacarosa y glicina eran candidatos de reemplazo para el manitol adecuados. Sin embargo, debido a que la glucosa es un sacárido reductor y, por tanto, puede iniciar una degradación no deseada en la formulación, este modificador de la tonicidad se descarta. Además, la maltosa se descarta debido a la obstrucción de las agujas. Esto da lugar a los siguientes candidatos: glicerol, xilitol, sorbitol, sacarosa, glicina, propilenglicol y PEG 400, de los cuales se ha descubierto que tienen propiedades adecuadas como candidatos de reemplazo para el manitol en formulaciones peptídicas en lo que respecta a la prueba de goteo, obstrucción de las agujas y llenado simulado.

Sin embargo, basándose en las siguientes consideraciones, el propilenglicol se eligió como agente isotónico sobre el resto de candidatos para ser investigado adicionalmente en experimentos de comparación directa con el manitol:

- a. se observó que el propilenglicol no tiene influencia en la estabilidad física y química de las formulaciones que contienen Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37);
- b. se observó que el propilenglicol no tiene influencia en las pruebas de conservantes antimicrobianos y
- c. el uso de propilenglicol no requeriría que se probasen estudios de toxicidad adicionales

EJEMPLO 2

Comparación de formulaciones placebo que contienen manitol y propilenglicol en estudios de llenado simulado y estudios de uso simulado

Preparación de las formulaciones

El conservante y el tampón se disolvieron en agua y se añadió el agente de isotonicidad manteniendo la agitación. El pH se ajustó al pH objetivo utilizando hidróxido sódico y/o ácido clorhídrico. Finalmente, la formulación se filtró a través de un filtro de 0.22 μm. Las composiciones de las formulaciones fueron las siguientes:

Hydrogenofosfato disódico dihidratado:	1.42 mg/mL
Fenol:	5.5 mg/mL
Propilenglicol o manitol:	13.7 o 35.9 mg/mL
Agua para inyección:	hasta 1.0 mL
pH: 7.90	

Estudio de llenado simulado

Un estudio de llenado simulado de 24 horas de duración se llevó a cabo según se ha descrito en el Ejemplo 1 y después de 24 horas, se inspeccionó la presencia de depósitos en el equipo de llenado. No se observaron depósitos en el equipo de llenado para la formulación de propilenglicol. En comparación, después de 24 horas, se observó una gran cantidad de depósitos en el equipo de llenado para la formulación de manitol (remítase a la Figura 6).

Estudio de uso simulado

Para el estudio de uso simulado, se llevó a cabo una prueba de obstrucción según se ha descrito en el Ejemplo 1. Se utilizó la misma aguja durante el periodo de estudio de diez días laborales y cada día se inspeccionó la presencia de depósitos en la aguja. La Figura 7 muestra fotografías de agujas tratadas con formulaciones que contenían propilenglicol (panel superior) o manitol (panel inferior). Se observaron depósitos en la aguja en un 48% de los casos cuando se utilizó manitol como agente isotónico, mientras que no se observaron depósitos cuando se utilizó propilenglicol como agente isotónico.

EJEMPLO 3**Comparación de propilenglicol y manitol en formulaciones que contienen Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37)****Preparación de las formulaciones**

- 5 El conservante, el agente isotónico (manitol o propilenglicol) y el tampón se disolvieron en agua y se ajustó el pH al pH deseado. El Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) se disolvió en agua manteniendo una agitación lenta. Las dos disoluciones se mezclaron a continuación y el pH se ajustó al pH deseado utilizando hidróxido sódico y/o ácido clorhídrico. Finalmente, la formulación se filtró a través de un filtro de 0.22 μm. Las composiciones de las formulaciones fueron las siguientes:
- 10 Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) (6.25 mg/mL),
 Hidrogenofosfato disódico dihidratado (1.42 mg/mL),
 Fenol (5.5 mg/mL)
 Manitol o propilenglicol (35.9 o 14.0 mg/mL),
 Agua para inyección (hasta 1.0 mL),
- 15 pH: 8.15

Estudio de uso simulado

- Para el estudio de uso simulado, se llevó a cabo una prueba de obstrucción según se ha descrito en el Ejemplo 1, con la excepción de que se utilizó una aguja G31. Se utilizó la misma agua G31 durante el periodo de estudio de diez días laborales y cada día se inspeccionó la presencia de depósitos en la aguja. La Figura 7 muestra fotografías de agujas sin depósitos cuando se tratan con las formulaciones que contienen propilenglicol (panel inferior) o que muestran depósitos cuando se tratan con las formulaciones que contienen manitol (panel superior).
- 20

Para la formulación que contenía manitol, se observó obstrucción de la aguja en 1 de cada 10 casos en el día 4, 2 de cada 10 casos en el día 5, 3 de cada 10 casos en el día 8 y 4 de cada 10 casos en el día 9. En comparación, no se observó obstrucción de las agujas para la formulación que contenía propilenglicol.

- 25 Se cree que se obtendrían también resultados similares a los obtenidos con la formulación que contiene propilenglicol descrita anteriormente si se ajustase el pH a 7.40, 7.70 o 7.90. Además, algunas formulaciones adicionales que se podrían probar incluyen las que tienen las siguientes composiciones:

Agentes tamponantes: glicilglicina (1.32 mg/mL), L-histidina (1.55 mg/mL), Hepes (2.38 mg/mL) o bicina (1.63 mg/mL)

- 30 Conservantes: fenol (5.0 o 5.5 mg/mL), alcohol bencílico (18 mg/mL) o una mezcla de *m*-cresol y fenol (2.5/2.0 mg/mL)

Propilenglicol: 14.0 o 14.3 mg/mL

Agua para inyección: hasta 1.0 mL

pH: 7.40, 7.70, 7.90 u 8.15

- 35 **Ejemplo de referencia 4**

Influencia de la concentración de péptido en la obstrucción de las agujas

Las formulaciones de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) se prepararon según se ha descrito en el Ejemplo 3 utilizando concentraciones de péptido que variaban entre 0-5 mg/mL de Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37). Las composiciones de las formulaciones fueron las siguientes:

- 40 Liraglutida: 0, 0.3, 3 y 5 mg/mL

Hidrogenofosfato disódico dihidratado: 0.71 mg/mL

Dihidrogenofosfato sódico dihidratado: 0.62 mg/mL

Manitol: 36.9 mg/mL

ES 2 660 320 T3

Fenol: 5.0 mg/mL

Agua para inyección: hasta 1.0 mL

pH 7.40

- 5 Se llevó a cabo un estudio de uso simulado como en el Ejemplo 3, con la excepción de que se utilizó una aguja G30 y los resultados (no se muestran los datos) indicaron que el efecto obstructor de las formulaciones que contenían manitol respecto a la ausencia de obstrucción con las formulaciones de propilenglicol se observó que era independiente de la concentración de péptido.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Novo Nordisk A/S
- 10 <120> Formulaciones peptídicas que contienen propilenglicol que son óptimas para la producción y para el uso en dispositivos de inyección
- <130> 6683.204-WO
- <140> PCT/DK2004/000792
< 141> 18-11-2004
- 15 <150> PA 2003 01719
< 151> 20-11-2003<160> 1
- <170> PatentIn versión 3.1
- <210> 1
< 211> 44
20 < 212> PRT
< 213> Constructo sintético
- <220>
< 221> MOD_RES
< 222> (44)..(44)
25 < 223> La lisina en la posición 44 está amidada
- <400> 1
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15
Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30
Ser Gly Ala Pro Pro Ser Lys Lys Lys Lys Lys Lys
35 40
- 30

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una formulación farmacéutica que comprende el péptido Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37) y propilenglicol, donde dicho propilenglicol se encuentra presente en dicha formulación en una concentración final de desde 1 mg/mL hasta 100 mg/mL y donde dicha formulación tiene un pH de desde 7.0 hasta 10.0.
2. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicha formulación es adecuada para la administración parenteral llevada a cabo mediante inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa por medio de una jeringa, opcionalmente una jeringa de pluma.
- 10 3. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la concentración de propilenglicol es desde 1 mg/mL hasta 50 mg/mL.
4. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la concentración de propilenglicol es desde 5 mg/mL hasta 25 mg/mL.
- 15 5. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la concentración de propilenglicol es desde 8 mg/mL hasta 16 mg/mL.
6. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el pH de dicha formulación es de 7.0 a 9.5.
7. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde dicho péptido consiste en Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37).
- 20 8. La formulación de acuerdo con la reivindicación 7, donde el pH de dicha formulación es de 7.0 a 8.3.
9. La formulación de acuerdo con la reivindicación 8, donde el pH de dicha formulación es de 7.3 a 8.3.
10. La formulación de acuerdo con la reivindicación 9, donde el pH de dicha formulación es de 8.0 a 8.3.
11. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además un conservante.
- 25 12. La formulación de acuerdo con la reivindicación 11, donde dicho conservante se encuentra presente en una concentración de desde 0.1 mg/mL hasta 20 mg/mL.
13. La formulación de acuerdo con la reivindicación 11 o 12, donde dicho conservante es fenol.
14. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además un tampón.
- 30 15. La formulación de acuerdo con la reivindicación 14, donde dicho tampón se selecciona a partir del grupo compuesto por glicilglicina, dihidrogenofosfato sódico, hidrogenofosfato disódico, fosfato sódico o mezclas de estos.
16. La formulación de acuerdo con la reivindicación 14, donde dicho tampón es fosfato disódico dihidratado.
- 35 17. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la concentración de dicho Arg³⁴, Lys²⁶(N-ε-(γ-Glu(N-α-hexadecanoil))) -GLP-1(7-37) es desde 0.1 mg/mL hasta 50 mg/mL o desde 0.1 mg/mL hasta 10 mg/mL.

FIGURA 1



FIGURA 2



Manitol



Argi-

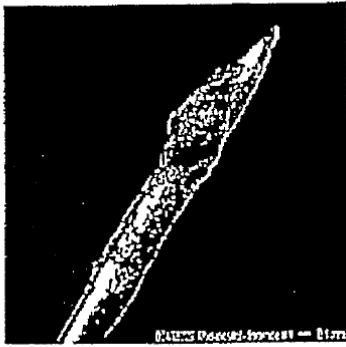


Inosi-

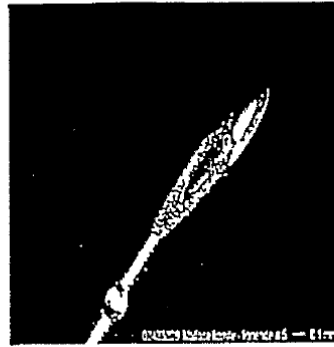


Glice-

FIGURA 3



Mioinositol

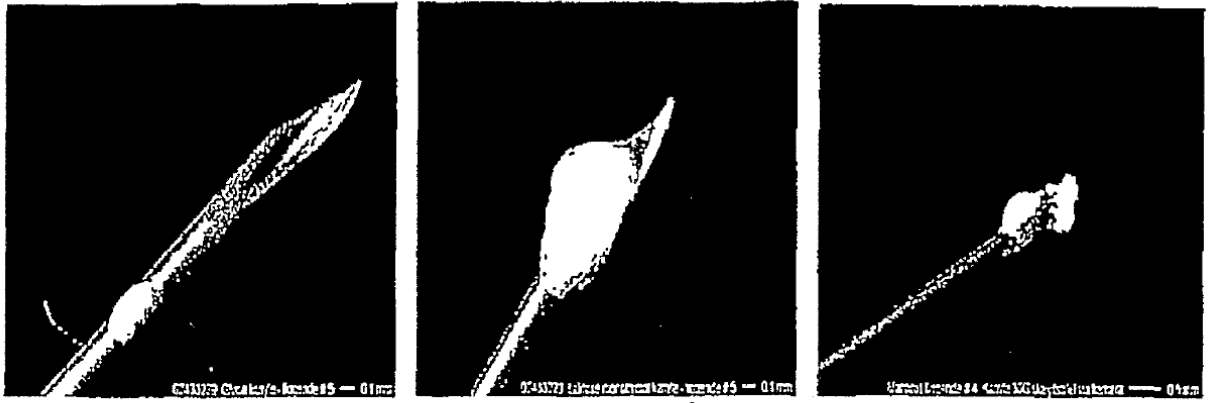


Maltosa



Glicerol

FIGURA 4



Glicina

Lactosa

Manitol

FIGURA 5

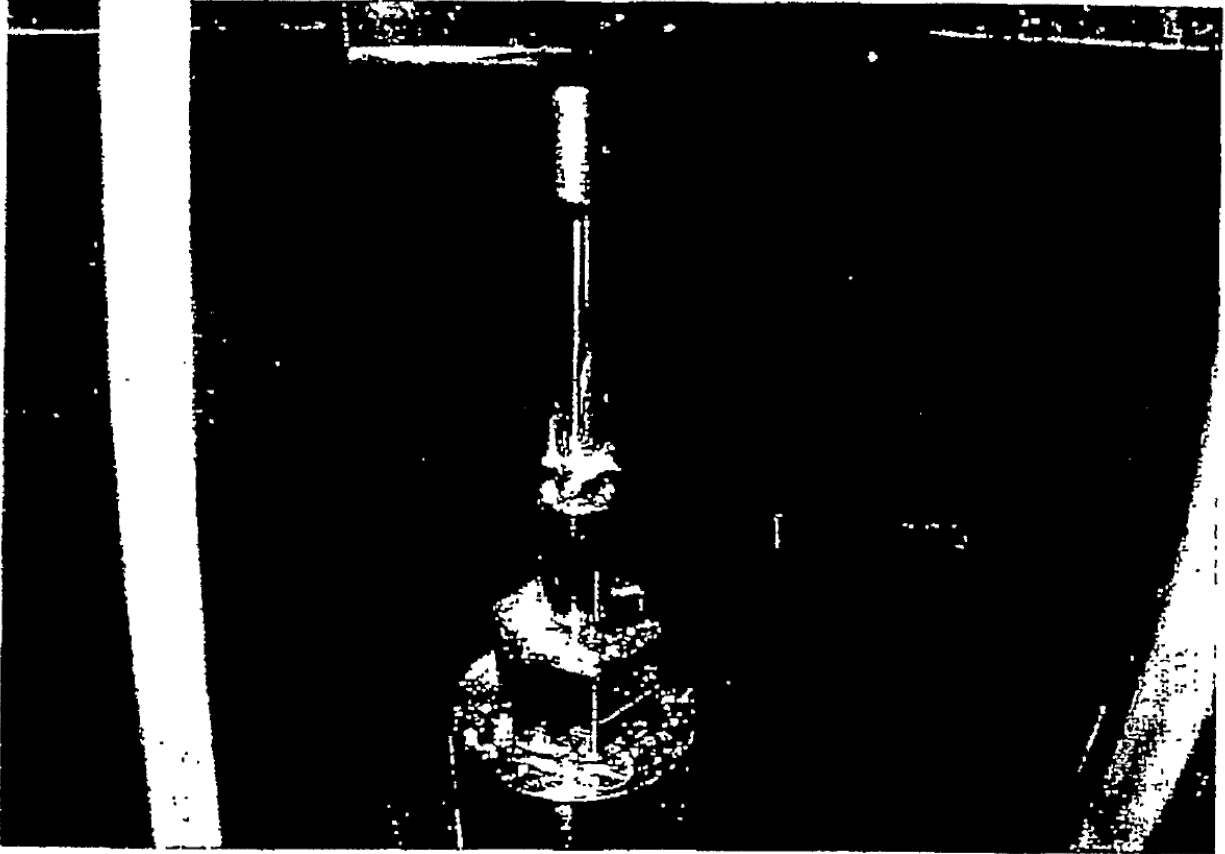


FIGURA 6

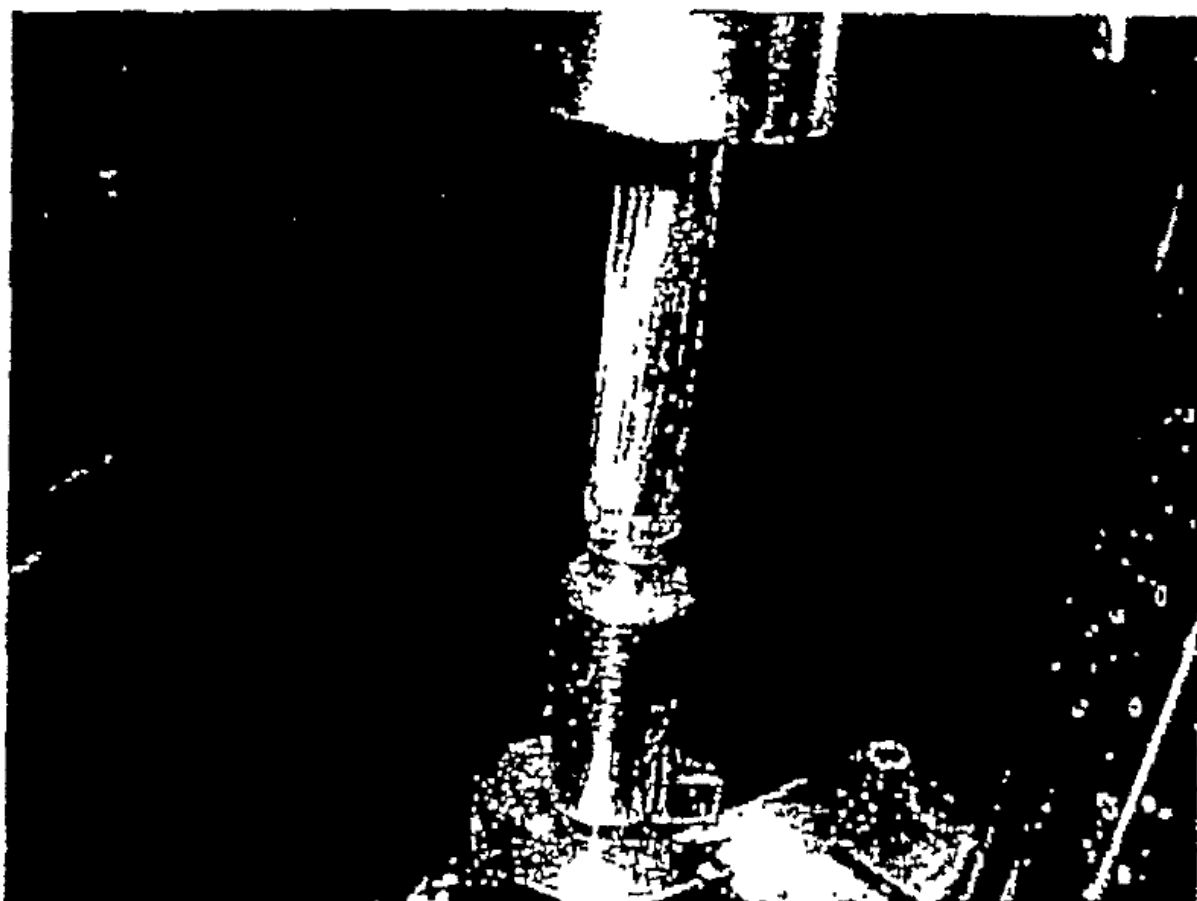


FIGURA 7

