

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 667 069**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/08** (2006.01)

**A61K 47/18** (2007.01)

**A61K 38/26** (2006.01)

**A61P 3/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.11.2010 PCT/EP2010/067249**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.05.2011 WO11058082**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.11.2010 E 10776997 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.01.2018 EP 2498801**

54 Título: **Composición farmacéutica que comprende desPro<sup>36</sup>exendina-4(1-39)-Lys<sub>6</sub>-NH<sub>2</sub> y metionina**

30 Prioridad:

**13.11.2009 DE 102009052832**  
**18.03.2010 DE 102010011919**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**09.05.2018**

73 Titular/es:

**SANOFI-AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH**  
**(100.0%)**  
**Brüningstrasse 50**  
**65929 Frankfurt am Main, DE**

72 Inventor/es:

**BRUNNER-SCHWARZ, ANETTE;**  
**MÜLLER, WERNER y**  
**SIEFKE-HENZLER, VERENA**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 667 069 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**

Composición farmacéutica que comprende desPro<sup>36</sup>exendina-4(1-39)-Lys<sub>6</sub>-NH<sub>2</sub> y metionina

5 Es objeto de la presente invención una composición líquida que comprende desPro<sup>36</sup>exendina-4(1-39)-Lys<sub>6</sub>-NH<sub>2</sub> o/y una sal de la misma tolerable desde el punto de vista farmacológico, y en caso dado al menos una sustancia auxiliar aceptable desde el punto de vista farmacéutico, caracterizada por que contiene metionina y está exenta de EDTA e histidina, y por que la composición contiene desPro<sup>36</sup>exendina-4(1-39)-Lys<sub>6</sub>-NH<sub>2</sub> en una cantidad de 0,01 mg/mL a 1,5 mg/mL.

10 Otro objeto es la composición según la invención para el tratamiento de Diabetes mellitus. Otro objeto es el empleo de una composición según la invención para la producción de un medicamento para el tratamiento de Diabetes mellitus. Un objeto ulterior de la presente invención es un procedimiento para la producción de una composición según la invención, que comprende formulación de un agonista de GLP-1 o/y una sal del mismo tolerable desde el punto de vista farmacológico con metionina, y en caso dado al menos una sustancia auxiliar aceptable desde el punto de vista farmacológico. Otro objeto adicional es un procedimiento es un procedimiento para el tratamiento de un paciente con una composición según la invención, que comprende administración de la composición a los  
15 pacientes.

Las composiciones habituales de compuestos GLP-1 contienen un agente de isotonización, un tampón para el ajuste del valor de pH y un agente conservante.

El documento WO2001/04156 (Zealand Pharmaceuticals) da a conocer una composición líquida constituida por desSer<sup>39</sup>-Exendin-4(1-39)-NH<sub>2</sub>, hidrogenofosfato sódico y agentes conservantes.

20 El documento WO 2004/035623 (Zealand Pharmaceuticals) da a conocer una composición líquida que comprende una exendina estabilizada, histidina 50 mM, sacarosa 100 a 200 mM, manitol u otros azúcares aceptables, metionina 20 mM, asparagina-glutamina 20 mM o Asp con un pH de 5,3. La estabilización se provoca mediante determinadas modificaciones de componentes de aminoácido de exendina-4(1-39), por ejemplo en las posiciones Gln13, Met14, Trp25 o Asn28.

25 El documento WO 2005/021022 (Novo Nordisk) da a conocer una composición líquida que comprende GLP-1 acetilado, fenol como agente conservante, manitol y glicerina como agente de isotonización, y opcionalmente un tampón.

30 El documento WO 2006/051110 (Novo Nordisk) da a conocer composiciones líquidas que contienen liraglutida (compuesto de GLP-1), poloxámero 188 o poloxámero 407 (Pluronic F-127) como sustancia tensioactiva, fenol, propilenglicol y fosfato sódico (pH 7,7). La adición de poloxámero-188 o poloxámero-407 condujo a una estabilización.

El documento US 2008/260840 da a conocer formulaciones en suspensión de un péptido insulínico.

35 El documento US 2008/146490 da a conocer una formulación previa que comprende una mezcla con baja viscosidad, que forma una fase fluidocristalina tras contacto con un fluido acuoso. La mezcla de baja viscosidad comprende una diacilipida neutra y/o tocoferol, un fosfolípido, un disolvente orgánico biocompatible y un análogo de GLP-1.

El documento US 2001/012829 da a conocer formulaciones que comprenden un compuesto GLP-1 estabilizado al que está fijado un sustituyente lipófilo.

40 El documento WO 2005/028516 da a conocer marcadores de afinidad de proteína de plasma como sistema de administración de producto activo.

El documento WO 2009/102467 da a conocer dispositivos, formulaciones y un procedimiento para la administración de productos activos.

El documento WO 2010/044867 da a conocer partículas de producto activo altamente concentradas y formulaciones y suspensiones de las mismas.

45 El documento CN101366692 da a conocer una composición de exendina-4.

50 Las exendinas son un grupo de péptidos que pueden reducir las concentraciones de glucosa en sangre. Las exendinas presentan una cierta similitud de la secuencia con GLP-1 (7-36) (53%, Goke et al. J. Biol Chem 268, 19650-55). Exendina-3 y exendina-4 estimulan un aumento de la producción de cAMP celular en células pancreáticas acinares de conejillo de indias mediante interacción con receptores de exendina (Raufman, 1996, Reg. Peptides 61:1-18). Exendina-3, en contrapartida a exendina-4, provoca un aumento de la liberación de amilasa en células pancreáticas acinares. Las exendinas actúan como agonistas de GLP-1.

El péptido 1 tipo glucagón (GLP-1) es una hormona endocrina, que aumenta la respuesta de insulina tras ingesta oral de glucosa o grasa. GLP-1 regula generalmente las concentraciones de glucagón, retarda el vaciado del estómago, estimula la biosíntesis de (pro-)insulina, aumenta la sensibilidad frente a insulina, y estimula la biosíntesis de glicógeno dependiente de insulina (Holst (1999), Curr. Med. Chem 6:1005, Nauck et al. (1997) Exp Clin Endocrinol Diabetes 105: 187, Lopez-Delgado et al. (1998) Endocrinology 139:2811). GLP-1 humano presenta 37 restos aminoácido (Heinrich et al., Endocrinol. 115:2176 (1984), Uttenthal et al., J Clin Endocrinol Metabol (1985) 61:472). Los fragmentos activos de GLP-1 incluyen amida GLP-1 (7-36) y GLP-1 (7-37).

Se propusieron exendina-3, exendina-4 y agonistas de exendina para el tratamiento de Diabetes mellitus y la prevención de la hiperglucemia, reduciendo éstas la motilidad y el vaciado del estómago (US 5,424,286 y WO98/05351).

Los análogos de exendina pueden estar caracterizados por sustituciones de aminoácido y/o truncado C-terminal de la secuencia nativa de exendina-4. Tales análogos de exendina se describen en los documentos WO 99/07404, WO 99/25727 y WO 99/25728.

La síntesis en fase sólida de AVE0010 se describe en el documento WO 01/04156 A1. AVE0010 presenta la secuencia: desPro<sup>36</sup>Exendin-4(1-39)-Lys<sub>6</sub>-NH<sub>2</sub>. Esta sustancia se da a conocer como SEQ ID NO:93 en el documento WO 01/04156:

H-G-E-G-T-F-T-S-D-L-S-K-Q-M-E-E-E-A-V-R-L-F-I-E-W-L-K-N-G-G-P-S-S-G-A-P-P-S-  
K-K-K-K-K-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:1)

Exendina-4 (39 AS) presenta la secuencia:

H-G-E-G-T-F-T-S-D-L-S-K-Q-M-E-E-E-A-V-R-L-F-I-E-W-L-K-N-G-G-P-S-S-G-A-P-P-P-  
S-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:2)

Exendina-3 presenta la secuencia (J. Bio. Chem., 267, 1992, 7402-7405):

H-His-Ser-Asp-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-  
Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-  
NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 3)

GLP-1 presenta la secuencia:

H-A-E-G-T-F-T-S-D-V-S-S-Y-L-E-G-Q-A-A-K-E-F-I-A-W-L-V-K-G-R-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 4)

La tarea de la presente invención consistía en aumentar la estabilidad de formulaciones líquidas que comprenden AVE0010. En especial se debe mejorar la integridad física y química. Esta tarea se solucionó formulándose AVE0010 con metionina.

Se descubrió que la metionina puede aumentar la estabilidad al almacenaje de una composición que comprende AVE0010. La metionina influye sobre la integridad física de estas composiciones.

Sorprendentemente se descubrió que, mediante la adición de metionina, se puede mejorar la estabilidad al almacenaje de una composición según la invención, reduciéndose la proporción de productos de oxidación de metionina, de proteínas con peso molecular elevado y de impurezas totales. De manera individual o conjuntamente, estos parámetros son una medida de la integridad química de las composiciones.

Además, sorprendentemente se descubrió que la actividad biológica de las composiciones según la invención se aumentó mediante la adición de metionina.

La estabilidad de polipéptidos eficaces desde el punto de vista farmacéutico se puede reducir mediante diversos mecanismos. A éstos pertenece el pH, la temperatura, la luz, y las acciones de determinados componentes.

Una serie de componentes habituales de formulaciones de agonistas de GLP-1 pueden ser desfavorables para la integridad química y/o física y la estabilidad al almacenaje de formulaciones, que contienen un agonista de GLP-1. Éstos son, por ejemplo, polisorbato 20, polisorbato 80, poloxámero 188, cloruro de benzalconio y lisina. Por lo tanto, las composiciones según la invención están preferentemente exentas de estos componentes.

Un objeto de la presente invención es una composición líquida que comprende AVE0010 o/y una sal del mismo, tolerable desde el punto de vista farmacológico, y en caso dado al menos una sustancia auxiliar aceptable desde el punto de vista farmacéutico, estando caracterizada la composición por que contiene metionina.

La composición según la invención contiene metionina preferentemente en una cantidad de 0,5 mg/mL a 20 mg/mL, de modo más preferente en una cantidad de 1 mg/mL a 5 mg/mL. Se puede emplear metionina en la forma D. Asimismo se puede emplear metionina en la forma L. Del mismo modo se pueden emplear mezclas de la forma D y de la forma L en cualquier proporción.

- 5 La composición según la invención está especialmente exenta de agentes tensioactivos, como polioles y ésteres y éteres parciales y de ácidos grasos de alcoholes polivalentes, como glicerina y sorbitol. Las composiciones según la invención están especialmente exentas de ésteres y éteres parciales y de ácidos grasos de glicerina y sorbitol, seleccionados a partir de un grupo que comprende Span®, Tween®, Myrj®, Brij®, Cremophor®. Además, las composiciones según la invención están especialmente exentas de polioles, que se seleccionan a partir del grupo  
10 constituido por polipropilenglicoles, polietilenglicoles, polixámeros, pluronics, tetronics. En especial, la composición según la invención está exenta de al menos una sustancia seleccionada a partir de polisorbato y poloxámero.

En especial, la composición según la invención está sensiblemente exenta, preferentemente exenta de polisorbato, como por ejemplo polisorbato 20.

- 15 En especial, la composición según la invención está sensiblemente exenta, preferentemente exenta de polisorbato, como por ejemplo polisorbato 80.

En especial, la composición según la invención está sensiblemente exenta, preferentemente exenta de poloxámero, como por ejemplo poloxámero 188.

En especial, la composición según la invención está sensiblemente exenta, preferentemente exenta de cloruro de benzalconio.

- 20 La composición según la invención está exenta de histidina.

La composición según la invención está exenta de EDTA, en especial sodio-EDTA.

La composición según la invención puede contener una o varias sustancias, que se emplean habitualmente para el tamponado del valor de pH (sustancias tampón). Son ejemplos de tales sustancias tampón acetato, citrato y fosfato, por ejemplo en cantidades de hasta 5 mg/mL, hasta 4 mg/mL, hasta 3 mg/mL o hasta 2 mg/mL.

- 25 La composición según la invención puede estar asimismo exenta esencialmente de sustancias tampón. Del mismo modo, la composición según la invención puede estar exenta de sustancias tampón.

La invención según la invención puede estar sensiblemente exenta de citrato, acetato y/o fosfato, o también estar exenta de citrato, acetato y/o fosfato.

La composición según la invención está sensiblemente exenta, preferentemente exenta de histidina y sodio-EDTA.

- 30 En especial, la composición según la invención no contiene insulina.

La composición farmacéutica de la presente invención puede presentar un pH ácido o fisiológico. Un intervalo de pH ácido se sitúa preferentemente en el intervalo de pH 1 - 6,8, pH 3,5 - 6,8, o pH 3,5 - 5. Un pH fisiológico se sitúa preferentemente en el intervalo de pH 2,5 - 8,5, más preferentemente pH 4,0 a 8,5, de modo aún más preferente pH 6,0 a 8,5. Es especialmente preferente un valor de pH de aproximadamente 4,5. Para el ajuste del valor de pH son apropiados ácidos diluidos inofensivos desde el punto de vista fisiológico (típicamente HCl), o bien álcalis (típicamente NaOH).  
35

La composición según la invención puede contener un agente conservante apropiado. Los agentes conservantes apropiados son, por ejemplo, fenol, m-cresol, alcohol bencílico y/o p-hidroxibenzoato. Es preferente m-cresol.

- 40 La composición según la invención puede contener además agentes de isotonización apropiados. Son apropiados, por ejemplo, glicerina, dextrosa, lactosa, sorbitol, manitol, glucosa, NaCl, compuestos de calcio o magnesio, como CaCl<sub>2</sub>, etc. Las concentraciones de glicerina, dextrosa, lactosa, sorbitol, manitol y glucosa se sitúan habitualmente en el intervalo de 100-250 mM, NaCl en una concentración de hasta 150 mM. Es preferente glicerina.

- 45 La composición está prevista en especial para la administración parenteral. La composición según la invención es preferentemente una composición inyectable, más preferentemente para la inyección subcutánea. La composición de la presente invención es apropiada en especial para la inyección una vez al día.

La formulación según la invención, tras un almacenaje de 1 mes, 2 meses, 4 meses o 6 meses a una temperatura de +5°C o 25 °C, una actividad de al menos un 80 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o al menos un 98 % de la actividad respecto al momento inicial.

- 50 En la presente solicitud, "actividad" significa la actividad del agonista de GLP-1, que se emplea en la formulación según la invención. Los procedimientos para la determinación de la actividad de un agonista de GLP-1 son conocidos por el especialista.

La composición según la invención presenta preferentemente una actividad biológica del agonista de GLP-1 de al menos un 89 % o al menos un 90 % en el caso de almacenaje durante 6 meses a 25°C. La composición según la invención presenta preferentemente una actividad biológica del agonista de GLP-1 de al menos un 45 % o al menos un 50 % en el caso de almacenaje durante 6 meses a 40°C. El agonista de GLP-1 es AVE0010 (lixisenatida, H-desPro<sup>36</sup>-exendina-4-Lys<sub>6</sub>-NH<sub>2</sub>).

La formulación según la invención presenta una integridad química especialmente tras almacenaje de 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses o 6 meses. Integridad química significa en especial que, tras un almacenaje a una temperatura de +5°C, 25°C o 40°C, al menos un 80 %, al menos un 90 %, al menos un 95 % o al menos un 98 % del producto activo está en forma sensiblemente inalterada desde el punto de vista químico en el momento inicial.

Integridad química puede significar la integridad química del agonista de GLP-1. Los agonistas de GLP-1 pueden contener un resto metionina (por ejemplo posición 14 en AVE0010). Integridad química del agonista de GLP-1 significa en especial que se impide la oxidación de este resto metionina. En este caso, integridad química significa en especial que la proporción de metionina oxidada respecto a la metionina total en el agonista de GLP-1, en el caso de almacenaje durante 1, 2, 3, 4 o 6 meses, es menor que un 0,7 %, menor que un 0,6 %, menor que un 0,5 %, menor que un 0,4 % o menor que un 0,3 %. El almacenaje se puede efectuar a 5°C, 25°C o 40°C. Es preferente un almacenaje durante 6 meses a 5°C, siendo la proporción de metionina oxidada menor que un 0,3 %. Es igualmente preferente un almacenaje durante 6 meses a 25°C, siendo la proporción de metionina oxidada menor que un 0,7 %, menor que un 0,6 %, menor que un 0,5 %, menor que un 0,4 % o menor que un 0,3 %. Es igualmente preferente un almacenaje durante 6 meses a 40°C, siendo la proporción de metionina oxidada menor que un 1 %, menor que un 0,7 %, menor que un 0,6 %, menor que un 0,5 %, menor que un 0,4 % o menor que un 0,3 %.

Integridad química puede significar una proporción lo menor posible de impurezas totales en la formulación según la invención. La proporción de impurezas totales respecto a la masa total del agonista de GLP-1 presente en la formulación, en el caso de almacenaje durante 6 meses a 40°C, es especialmente menor que un 50 %, menor que un 10 % en el caso de almacenaje a 25°C, o/y menor que un 1,8 % en el caso de almacenaje a 5°C.

Integridad química puede significar una proporción lo menor posible de proteínas con peso molecular elevado en la formulación según la invención. La proporción de proteínas con peso molecular elevado, respecto a la masa total de agonista de GLP-1 presente en la formulación, en el caso de almacenaje durante 6 meses a 40°C, es especialmente menor que un 5 %, menor que un 4 %, menor que un 3 % o menor que un 2 %. En el caso de almacenaje durante 6 meses a 25°C, la proporción de proteínas con peso molecular elevado, respecto a la masa total agonista de GLP-1 presente en la formulación, es especialmente menor que un 0,8 %, menor que un 0,7 %, o menor que un 0,6 %.

La formulación según la invención presenta una integridad física, especialmente tras almacenaje de 1 mes, 2 meses, 4 meses o 6 meses. Integridad física significa en especial que, tras un almacenaje a una temperatura de +5°C, 25°C o 40°C, ésta contiene al menos un 80 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o al menos un 98 % de producto activo en forma sensiblemente inalterada desde el punto de vista físico en el momento inicial.

Integridad física puede significar la integridad del agonista de GLP-1. Integridad física significa en especial que el agonista de GLP-1 no forma agregaciones, como por ejemplo fibrillas.

Las secuencias de AVE0010 (SEQ ID NO:1), exendina-4 (SEQ ID NO:2) y exendina-3 (SEQ ID NO:3) muestran un grado elevado de coincidencia. Las secuencias de AVE0010 y exendina-4 son idénticas en las posiciones 1-37. La secuencia 1-39 de exendina-4 es idéntica en 37 de las 39 posiciones (94 %) a la secuencia de exendina-3 en las posiciones 48-86. Por medio de las secuencias, el especialista puede convertir sin problema datos de posición aquí indicados, que se refieren a una determinada secuencia (por ejemplo a la secuencia de AVE0010 o exendina-4), a otras secuencias.

Las sales tolerables desde el punto de vista farmacéutico se pueden producir en un paso de procedimiento ulterior una vez concluidos los pasos de síntesis del procedimiento según la invención. La producción de sales de péptidos tolerables desde el punto de vista farmacéutico es conocido por el especialista. Una sal tolerable desde el punto de vista farmacéutico es acetato.

Del mismo modo son preferentes sales de AVE0010 tolerables desde el punto de vista farmacológico.

AVE0010 se emplea en una cantidad de 0,01 mg/mL a 0,5 mg/mL o 0,05 mg/mL a 1,5 mg/mL.

En una forma de realización especial, la formulación según la invención comprende los siguientes componentes:

- (a) desPro<sup>36</sup>exendina-4(1-39)-Lys<sub>6</sub>-NH<sub>2</sub> (por ejemplo aproximadamente 0,1 mg/mL),
- (b) acetato sódico-trihidrato (aproximadamente 3,5 mg/mL),
- (c) m-cresol (aproximadamente 2,7 mg/mL),
- (d) L-metionina (aproximadamente 3 mg/mL),

(e) glicerina al 85% (aproximadamente 18 mg/mL),

(f) ácido clorhídrico aproximadamente 0,1 N, en tanto sea necesario para el ajuste de un valor de pH de aproximadamente 4,5,

5 (g) disolución de NaOH aproximadamente 0,1 N, en tanto sea necesaria para el ajuste de un valor de pH de aproximadamente 4,5, y

(h) agua.

En especial, la formulación según la invención está constituida por los citados componentes (a) a (h).

10 En la presente solicitud, "aproximadamente" significa que los componentes pueden estar presentes, por ejemplo, dentro de los intervalos de  $\pm 10$ ,  $\pm 20$  o  $\pm 30$  en los valores numéricos indicados en las composiciones según la invención.

Un envase apropiado para la composición según la invención es, por ejemplo, una jeringa o un recipiente de vidrio con un cierre apropiado, del cual se pueden extraer dosis individuales eficaces terapéuticamente en caso necesario. Para la administración son igualmente apropiados lápices de inyección ("lápices", "pens"), que comprenden un depósito (por ejemplo un cartucho), que contiene una composición farmacéutica según la invención.

15 En el presente documento se da a conocer un procedimiento para el tratamiento de un paciente con una composición según la invención que comprende administración de la composición a los pacientes.

20 La composición según la invención está prevista en especial para empleo en el tratamiento de Diabetes mellitus, en especial en el tratamiento de Diabetes mellitus tipo I o tipo II. Otras posibles indicaciones son síntomas que están asociados a Diabetes mellitus. La composición según la invención se emplea preferentemente para el ajuste de la concentración de glucosa en plasma postprandial o/y postabsortiva en ayunas, para la mejora de la tolerancia a la glucosa, para la prevención de una hipoglucemia, para la prevención de una pérdida de función de las células  $\beta$  del páncreas, para la pérdida de peso o/y para la prevención de un aumento de peso.

25 Otro objeto según la invención es el empleo de una composición según la invención para la producción de un medicamento para el tratamiento de Diabetes mellitus, en especial de tipo I o tipo II, o/y de síntomas asociados a la misma, como se describe en este caso.

30 Otro objeto según la invención es un procedimiento para la producción de una composición según la invención, que comprende formulación del agonista de GLP-1 AVE0010 o/y de una sal del mismo tolerable desde el punto de vista farmacológico con metionina, y en caso dado al menos una sustancia auxiliar aceptable desde el punto de vista farmacéutico. La composición según la invención se puede emplear junto con la administración de metformina, sulfonilurea o glitazonas, una insulina/un derivado de insulina de acción prolongada y/o una combinación de los mismos, en especial en una terapia complementaria para la administración de metformina. La composición según la invención se puede emplear en pacientes cuyo nivel de azúcar en sangre no se puede controlar, o bien ajustar suficientemente mediante la administración de metformina, sulfonilurea o glitazonas, una insulina/un derivado de insulina de acción prolongada y/o una combinación de los mismos. La composición según la invención se puede emplear en pacientes con diabetes tipo II como complemento a una dieta, para mejorar el ajuste/control de azúcar en sangre.

35 La composición de Pro<sup>36</sup>exendina-4(1-39)-Lys<sub>6</sub>-NH<sub>2</sub> (AVE0010) contiene en especial liraglutida y/o una sal tolerable desde el punto de vista farmacológico junto con metionina y/o una sal tolerable desde el punto de vista farmacológico.

40 Como derivado de insulina de acción prolongada se cita en especial Lantus®, N<sup>EB29</sup>-tetradecanoilo de insulina humana (B30) o Insuman®.

45 La composición según la invención es especialmente preferente para empleo en una terapia complementaria con metformina y/o una insulina/un derivado de insulina de acción prolongada y/o una sal del mismo tolerable desde el punto de vista farmacológico para el tratamiento de diabetes tipo II y/o obesidad, en especial de pacientes que tienen menos de 50 años y/o tienen un índice de masa corporal de al menos 30. La composición según la invención es apropiada en especial para empleo en una terapia complementaria para el tratamiento de diabetes tipo II con metformina y AVE0010. Metformina y AVE0010 se pueden administrar en un intervalo de tiempo de 24 h. Metformina y AVE0010 se pueden administrar respectivamente en una dosificación diaria. Metformina y AVE0010 se pueden administrar por medio de diversas vías de administración. Se puede administrar metformina por vía oral, 50 AVE0010 por vía subcutánea.

Los pacientes que se tratan con la composición según la invención pueden tener un valor de HbA1c de un 7 % a un 10 %. Éstos tienen preferentemente una edad de 18 a 50 años.

La composición según la invención para empleo en una terapia complementaria es aplicable en especial en pacientes en los que la diabetes tipo II no se puede controlar suficientemente solo con metformina.

En especial, se administra metformina al menos 1,0 g/día, preferentemente al menos 1,5 g/día durante 3 meses.

La invención se explica además mediante los siguientes ejemplos y figuras.

Leyendas

5 Las figuras 1 y 2 muestran el contenido porcentual en metionina oxidada Met(ox) respecto a la metionina total presente en AVE0010 tras almacenaje a diversas temperaturas. 1: momento inicial t0. 2: almacenaje durante 1 mes. 3: almacenaje durante 3 meses. 3: almacenaje durante 6 meses. Figura 1: carga 894. Figura 2: carga 897.

Las figuras 3 y 4 muestran el contenido porcentual en impurezas proteicas con peso molecular elevado (respecto a AVE0010) tras almacenaje a diversas temperaturas. 1: momento inicial t0. 2: almacenaje durante 1 mes. 3: almacenaje durante 3 meses. 3: almacenaje durante 6 meses. Figura 3: carga 894. Figura 4: carga 897.

10 Las figuras 5 y 6 muestran el contenido porcentual total en impurezas (respecto a AVE0010) tras almacenaje a diversas temperaturas. 1: momento inicial t0. 2: almacenaje durante 1 mes. 3: almacenaje durante 3 meses. 3: almacenaje durante 6 meses. Figura 5: carga 894. Figura 6: carga 897.

Ejemplo 1

Composición líquida que comprende AVE0010 y metionina

15 El objetivo de la investigación es la valoración de la estabilidad química o/y física de formulaciones de AVE0010 (disolución para inyección, 0,1 mg/mL) con y sin metionina, si el producto se almacena en cartuchos bajo condiciones de larga duración y condiciones aceleradas hasta 6 meses.

Se sometieron a ensayo las siguientes composiciones:

Composición A (2 cargas paralelas AVE0010\_09\_894\_A y AVE0010\_09\_897\_A)

20

Sustancia	Especificación según farmacopea	Cantidad por unidad
AVE0010	Sanofi-Aventis	0,10 mg
Acetato sódico-trihidrato	Ph.Eur./USP	3,50 mg
m-cresol	Ph.Eur./USP	2,70 mg
Glicerina al 85 %	Ph.Eur./USP	18,00 mg
Ácido clorhídrico 0,1 N	Ph.Eur./USP	hasta pH 4,5
Disolución de NaOH 0,1 N	Ph.Eur./USP	hasta pH 4,5
Agua para inyección (Wfi)	Ph.Eur./USP	hasta 1,0 mL

Composición B (2 cargas paralelas AVE0010\_09\_894\_B y AVE0010\_09\_897\_B)

Sustancia	Especificación según farmacopea	Cantidad por unidad
AVE0010	Sanofi-Aventis	0,10 mg
Acetato sódico-trihidrato	Ph.Eur./USP	3,50 mg
m-cresol	Ph.Eur./USP	2,70 mg
L-metionina	Ph.Eur./USP	3,00 mg

ES 2 667 069 T3

Sustancia	Especificación según farmacopea	Cantidad por unidad
Glicerina al 85 %	Ph.Eur./USP	18,00 mg
Ácido clorhídrico 0,1 N	Ph.Eur./USP	hasta pH 4,5
Disolución de NaOH 0,1 N	Ph.Eur./USP	hasta pH 4,5
Agua para inyección (Wfi)	Ph.Eur./USP	hasta 1,0 mL

Las formulaciones se almacenan en unidades que están previstas para estudios clínicos y para comercialización.

Denominación	Descripción
Cartucho de inyección	Cartucho, 3 mL incoloro, tipo vidrio I (Ph.Eur.), N° SAP 100922
Tapa rebordeada y un disco de sellado gris insertado en la misma	7,5 mm
	Tapa rebordeada: aluminio
	Disco de sellado (externo): goma de isopreno, N° Mat. 7773/35
	Disco de sellado (interno): goma de bromobutilo, N° Mat. 4780/40
	Cierre tipo I (Ph. Eur./USP)
	N° SAP 164571
Tapón de matraz	9,2 x 11 mm
	Goma de bromobutilo, negra
	N° SAP 120521

5 En la siguiente tabla se reúnen tiempos de almacenaje, condiciones de almacenaje, momentos de ensayo.

Condición	Intervalos de ensayo (meses)			
	0	1	3	6
Almacenaje prolongado				
+5 ± 3°C	x	x	x	x
Condiciones aceleradas (temperatura, humedad del aire)				
+25 ± 2°C/60 ± 5% RH		x	x	x

Condición	Intervalos de ensayo (meses)		
+40 ± 2°C/75 ± 5% RH	x	x	x

Las formulaciones se almacenan en posición horizontal. RH significa humedad relativa del aire. Momento de ensayo 0 es el momento de partida. Los resultados del ensayo en el momento 0 se emplean como referencia para todas las condiciones analizadas. Durante el ensayo se almacenan las muestras a +5 ± 3°C.

5 La estabilidad física y química de las formulaciones alojadas se determina por medio de los siguientes ensayos:

- Descripción
- Claridad de la disolución y su color
- pH
- 10 • Estabilidad química (pureza e impurezas, determinadas mediante HPLC, en especial proporción de productos de oxidación y de impurezas totales)
- Proteínas con peso molecular elevado, determinadas mediante HPSEC
- Partículas visibles
- Actividad biológica de las formulaciones

#### Resultados

15 Las formulaciones se investigaron respecto a los siguientes parámetros por separado para las cargas paralelas (894 y 897):

- 20 • Actividad biológica de AVE0010. A 5°C y 25°C, la actividad ascendía al menos a un 96 % de la actividad inicial, también después de 6 meses. Las actividades de las composiciones según la invención eran mayores que las actividades de las composiciones comparativas. A 40°C, la actividad después de 6 meses en ausencia de metionina ascendía aproximadamente a un 43 %. En presencia de metionina, la actividad ascendía aproximadamente a un 51 %, es decir, era claramente mayor que en ausencia de metionina.
- 25 • Productos de oxidación. Las medidas se llevaron a cabo en un aparato de HPLC (tipo alliance) de Water Systems, empleándose el método de superficie de picos de un 100 %. Para la separación se empleó un gradiente de un 0,1 % de TFA y acetonitrilo como fase móvil, y un ácido en fase inversa C18 (Jupiter) como fase sólida. A 5 °C, la proporción de metionina oxidada Met(ox) en AVE0010 en ausencia de metionina ascendía a un 0,3 %. A 25 °C, la proporción ascendía a un 0,6 - 0,8 %, a 40 °C a un 1,3 %. Si la formulación contenía metionina, la proporción de metionina oxidada era claramente menor. En todas las condiciones analizadas, ésta ascendía como máximo a un 0,2 %. Por lo tanto, a 25 °C la proporción era aproximadamente apenas 1/4 a 1/3 del contenido en ausencia de metionina, a 40°C incluso solo 1/6 (véase figuras 1 y 2).
- 30 • Proteínas con peso molecular elevado. A 5°C, la proporción se situaba entre un 0,1 y un 0,3 %, y permanecía sensiblemente inalterada durante el tiempo de almacenaje total. A 25°C, la proporción en ausencia de metionina aumentaba a un 0,9, o bien un 1,3 %. En presencia de metionina, la proporción ascendía a un 0,4 hasta un 0,5 %, es decir, era menor que la mitad. A 40°C, la proporción en ausencia de metionina ascendía a un 5,4 %, o bien un 6,2 %, mientras que ascendía apenas a un 1,6, o bien un 1,7 % en presencia de metionina, es decir, era claramente menor (véase figuras 3 y 4).
- 35 • Impurezas totales. A 5°C, las impurezas totales aumentaban insignificadamente de un 1,2 a un 1,8, o bien un 1,9 % durante el tiempo de almacenaje de 6 meses (ausencia de metionina). Si estaba presente metionina, el aumento era algo menor. A 25°C se observó un aumento a un 10,6 %, o bien un 11,8 %. En presencia de metionina, los valores se situaban por debajo de un 10 %. A 40°C, la proporción aumentó hasta un 54 % (sin metionina). Si estaba presente metionina, la proporción ascendía apenas a un 47 % aproximadamente (véase figuras 5 y 6).
- 40

Los valores de % son valores de contenido (valores de % de impurezas) de los productos de oxidación, la suma de impurezas y de proteínas de peso molecular más elevado (HMWP).

## ES 2 667 069 T3

Todos los valores se han determinado por medio de HPLC, con el denominado método del 100 %. En este caso se trata especialmente de una HPLC en fase inversa (columna C 18), en la que se utilizó un método de gradiente de fase móvil:

a) 0,1 % de TFA, 15 % de ACN y b) 0,1 % de TFA, 75 % de ACN.

### 5 Detección a 215 nm (UV).

Las proteínas de peso molecular elevado (HMWP) se han detectado con HPSEC, descrito en la Farmacopea Europea 6.0 para insulina inyectable.

Preparaciones

Los datos se reúnen en las siguientes tablas

Valores medios AVE0010_09_894_A + B								
	AVE0010_09_894_A				AVE0010_09_894_B			
	t <sub>0</sub>	1 mes	3 meses	6 meses	t <sub>0</sub>	1 mes	3 meses	6 meses
5°C								
Impurezas totales	1,2	1,5	2,1	1,8	1,1	1,3	1,5	1,7
Ensayo AVE0010	101,5	99,6	98,0	97,8	101,1	100,5	99,4	98,6
Proteínas con peso molecular elevado	0,3	0,3	0,4	0,3	0,2	0,2	0,2	0,3
Productos de oxidación	0,3	0,4	0,4	0,3	0,1	0,2	0,1	0,1
25°C								
Impurezas totales	1,2	3,0	6,4	11,8	1,1	2,5	5,7	9,8
Ensayo AVE0010	101,5	97,9	94,0	88,6	101,1	98,7	94,8	90,9
Proteínas con peso molecular elevado	0,3	0,4	0,6	1,3	0,2	0,3	0,3	0,5
Productos de oxidación	0,3	0,4	0,5	0,8	0,1	0,2	0,2	0,2
40°C								
Impurezas totales	1,2	13,4	34,3	54,1	1,1	12,1	30,4	46,8
Ensayo AVE0010	101,5	87,1	66,6	42,5	101,1	88,8	70,8	50,9
Proteínas con peso molecular elevado	0,3	1,0	2,6	6,2	0,2	0,5	0,9	1,7
Productos de oxidación	0,3	0,6	0,9	1,3	0,1	0,2	0,2	0,2

## ES 2 667 069 T3

Valores medios AVE0010_09_897_A + B								
	AVE0010_09_897_A				AVE0010_09_897_B			
5°C	t <sub>0</sub>	1 mes	3 meses	6 meses	t <sub>0</sub>	1 mes	3 meses	6 meses
Impurezas totales	1,2	1,6	1,8	1,9	1,0	1,3	1,5	1,7
Ensayo AVE0010	99,2	98,2	97,5	96,7	99,5	99,2	98,0	97,1
Proteínas con peso molecular elevado	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
Productos de oxidación	0,3	0,3	0,3	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1
25°C	t <sub>0</sub>	1 mes	3 meses	6 meses	t <sub>0</sub>	1 mes	3 meses	6 meses
Impurezas totales	1,2	3,3	6,7	10,6	1,0	2,7	5,8	9,1
Ensayo AVE0010	99,2	96,6	92,8	87,4	99,5	97,8	93,6	90,0
Proteínas con peso molecular elevado	0,1	0,2	0,5	0,9	0,1	0,1	0,2	0,4
Productos de oxidación	0,3	0,4	0,5	0,6	0,1	0,1	0,2	0,2
40°C	t <sub>0</sub>	1 mes	3 meses	6 meses	t <sub>0</sub>	1 mes	3 meses	6 meses
Impurezas totales	1,2	13,1	33,5	53,9	1,0	11,8	29,8	47,0
Ensayo AVE0010	99,2	86,8	66,5	42,6	99,5	88,0	70,7	51,0
Proteínas con peso molecular elevado	0,1	0,8	2,2	5,4	0,1	0,4	0,9	1,6
Productos de oxidación	0,3	0,5	0,8	1,3	0,1	0,1	0,2	0,2

### Conclusión

La proporción de productos de oxidación, de proteínas con peso molecular elevado y de impurezas totales, individualmente o de manera conjunta, son una medida de la integridad química de las composiciones. De los resultados con las composiciones ejemplares descritos anteriormente se deduce que las composiciones líquidas según la invención, que comprenden

- 5
- un agonista de GLP-1 o/y una sal del mismo tolerable desde el punto de vista farmacológico (en especial AVE0010 o/y una sal del mismo tolerable desde el punto de vista farmacológico),
  - en caso dado al menos una sustancia auxiliar aceptable desde el punto de vista farmacéutico,
- 10
- y metionina,

presentan una estabilidad y/o integridad química mejorada. La proporción de metionina oxidada, en impurezas totales y en proteínas con peso molecular elevado en las composiciones según la invención es menor que en las composiciones comparativas. La composición según la invención (cargas 894\_B y 897\_B) y las composiciones comparativas (cargas 894\_A y 897\_A) se diferencian en la presencia de metionina. Por lo tanto, la mejora de la

estabilidad o/y de la integridad química se puede atribuir al componente metionina en las composiciones según la invención.

#### Ejemplo 2

En otro ensayo se investigó cómo influyen Na-EDTA e histidina en una composición según la invención.

#### 5 Composición B (como en el ejemplo 1)

Sustancia	Especificación según farmacopea	Cantidad por unidad
AVE0010	Sanofi-Aventis	0,10 mg
Acetato sódico-trihidrato	Ph.Eur./USP	3,50 mg
m-cresol	Ph.Eur./USP	2,70 mg
L-metionina	Ph.Eur./USP	3,00 mg
Glicerina al 85 %	Ph.Eur./USP	18,00 mg
Ácido clorhídrico 0,1 N	Ph.Eur./USP	hasta pH 4,5
Disolución de NaOH 0,1 N	Ph.Eur./USP	hasta pH 4,5
Agua para inyección (Wfi)	Ph.Eur./USP	hasta 1,0 mL

#### Composición C

Sustancia	Especificación según farmacopea	Cantidad por unidad
AVE0010	Sanofi-Aventis	0,10 mg
Acetato sódico-trihidrato	Ph.Eur./USP	3,50 mg
EDTA sodio	Ph.Eur./USP	1,00 mg
m-cresol	Ph.Eur./USP	2,70 mg
L-metionina	Ph.Eur./USP	3,00 mg
L-histidina	Ph.Eur./USP	3,10 mg
Glicerina al 85 %	Ph.Eur./USP	18,00 mg
Ácido clorhídrico 0,1 N	Ph.Eur./USP	hasta pH 4,5
Disolución de NaOH 0,1 N	Ph.Eur./USP	hasta pH 4,5
Agua para inyección (Wfi)	Ph.Eur./USP	hasta 1,0 mL

10 Según un diseño de estudio estándar se trataron conejos con la composición B o C o una disolución salina a través de la vía subcutánea (s.c.) o intramuscular (i.m.). Respectivamente la mitad de los conejos se mataron después de 24 h o 120 h para determinar histológicamente las acciones agudas o subagudas de la administración. Además se determinó si tuvo lugar una reparación/regeneración de posibles modificaciones.

5 En el caso de inyección subcutánea de la composición C, a diferencia de la disolución salina de control, los animales mostraban una reacción inflamatoria ligera a moderada en el tejido conjuntivo subcutáneo después de 24 h. 120 h después de la inyección subcutánea se pudo observar una clara tendencia a la reparación de las modificaciones observadas mediante una reacción fibroblástica. De este modo, la compatibilidad se pudo valorar aún como moderada (en lugar de incompatible).

En la composición B, los animales mostraban diferencias nulas o mínimas respecto a la disolución salina de control (buena compatibilidad) tras inyección subcutánea.

10 Tras inyección intramuscular de la composición C, los animales mostraban una necrosis muscular (multifocal o diseminada), que se podía diferenciar claramente de las disoluciones salinas de control, en las que solo era visible el canal de inyección como zona necrótica claramente descrita. En la composición C, después de 120 h se observó una mineralización del tejido muscular necrótico, que se podía apreciar incluso en la sección de los animales. Aunque las mineralizaciones reducidas, o bien focales, son habituales en conejos en diferentes puntos, las mineralizaciones tras inyección de la composición C estaban claramente asociadas a las zonas necróticas. De este modo, la reversibilidad de las lesiones ocasionada por la inyección es más que cuestionable. En base a estos hallazgos, la composición C se valoró como incompatible tras inyección intramuscular en conejos.

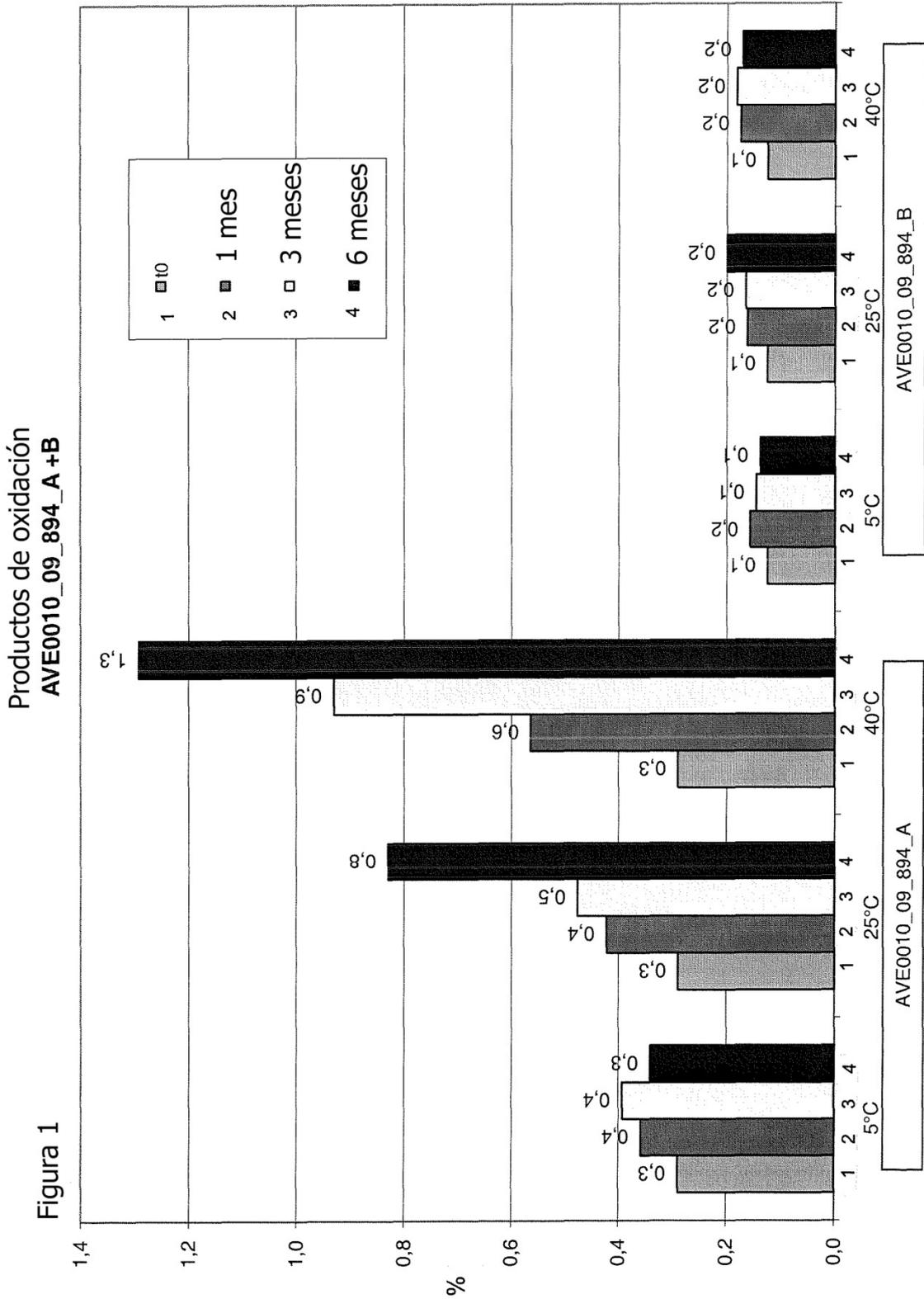
15 La composición B mostraba una buena compatibilidad (diferencias nulas o mínimas respecto a la disolución salina de control) tras inyección intramuscular.

20 De estos datos se deduce que la composición B, en comparación con la composición C, presentaba una compatibilidad mejorada en el caso de administración intramuscular o subcutánea. La inyección subcutánea es la vía de administración preferente para las composiciones descritas en esta solicitud, que comprenden un agonista de GLP-1, en especial AVE0010.

De este modo, las composiciones según la invención, que comprenden un agonista de GLP-1, en especial AVE0010, están exentas de EDTA y/o histidina. Del mismo modo, las composiciones según la invención pueden estar sensiblemente exentas de EDTA e histidina.

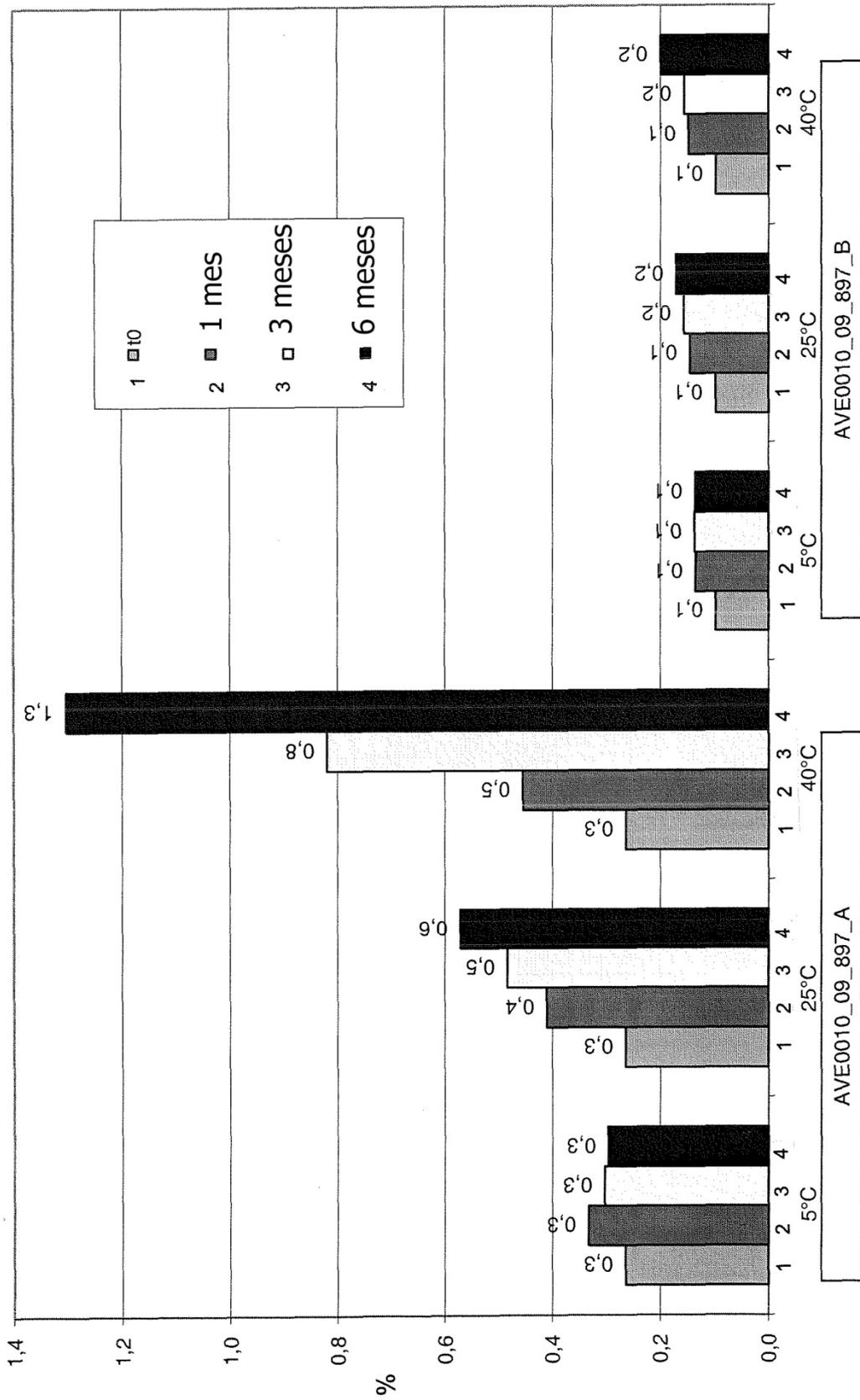
**REIVINDICACIONES**

- 5 1.- Composición líquida que comprende desPro<sup>36</sup>exendina-4(1-39)-Lys<sub>6</sub>-NH<sub>2</sub> y/o una sal de la misma tolerable desde el punto de vista farmacológico, y opcionalmente al menos un aceptable desde el punto de vista farmacéutico, caracterizada por que contiene metionina y está exenta de EDTA e histidina, y por que la composición contiene desPro<sup>36</sup>exendina-4(1-39)-Lys<sub>6</sub>-NH<sub>2</sub> en una cantidad de 0,01 mg/mL a 1,5 mg/mL.
- 2.- Composición líquida según la reivindicación 1, caracterizada por que contiene un conservante aceptable desde el punto de vista farmacéutico, en especial m-cresol.
- 3.- Composición líquida según la reivindicación 1 o 2, caracterizada por que contiene glicerina.
- 10 4.- Composición líquida según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que presenta un valor de pH de 3,5 a 5.
- 5.- Composición líquida según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que contiene metionina en una cantidad de 0,5 mg/mL a 20 mg/mL, preferentemente en una cantidad de 1 mg/mL a 5 mg/mL.
- 6.- Composición líquida según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que presenta los siguientes componentes:
- 15 (a) desPro<sup>36</sup>exendina-4(1-39)-Lys<sub>6</sub>-NH<sub>2</sub>,  
 (b) acetato sódico,  
 (c) m-cresol,  
 (d) L-metionina,  
 (e) glicerina al 85%,  
 20 (f) ácido clorhídrico aproximadamente 0,1 N, en tanto sea necesario para el ajuste de un valor de pH de aproximadamente 4,5,  
 (g) disolución de NaOH aproximadamente 0,1 N, en tanto sea necesaria para el ajuste de un valor de pH de aproximadamente 4,5, y  
 (h) agua.
- 25 7.- Composición según una de las reivindicaciones precedentes para empleo en el tratamiento de diabetes mellitus.
- 8.- Composición para empleo según la reivindicación 7 para el tratamiento de diabetes tipo II.
- 9.- Composición para empleo según la reivindicación 7 u 8, caracterizada por que ésta se administra junto con metformina, una sulfonilurea, una glitazona y/o una insulina de acción prolongada y/o una combinación de las mismas y/o una sal de las mismas tolerable desde el punto de vista farmacológico.
- 30 10.- Composición para empleo según la reivindicación 9, caracterizada por que, en el caso de la administración, se trata de una terapia complementaria en pacientes que no pudieron obtener un control de azúcar en sangre suficiente con metformina, una sulfonilurea, una glitazona y/o una insulina de acción prolongada.
- 11.- Composición para empleo según la reivindicación 9 o 10, caracterizada por que los pacientes tratados tienen un valor de HbA1c de un 7 % a un 10 %.
- 35 12.- Composición para empleo según una de las reivindicaciones 7 a 11 para la administración en pacientes una vez al día.
- 13.- Composición según una de las reivindicaciones 1 a 6 para empleo como complemento a una dieta para la administración en pacientes con diabetes tipo II, para mejorar el control de azúcar en sangre.
- 14.- Composición para empleo según la reivindicación 13 para administración en pacientes una vez al día.



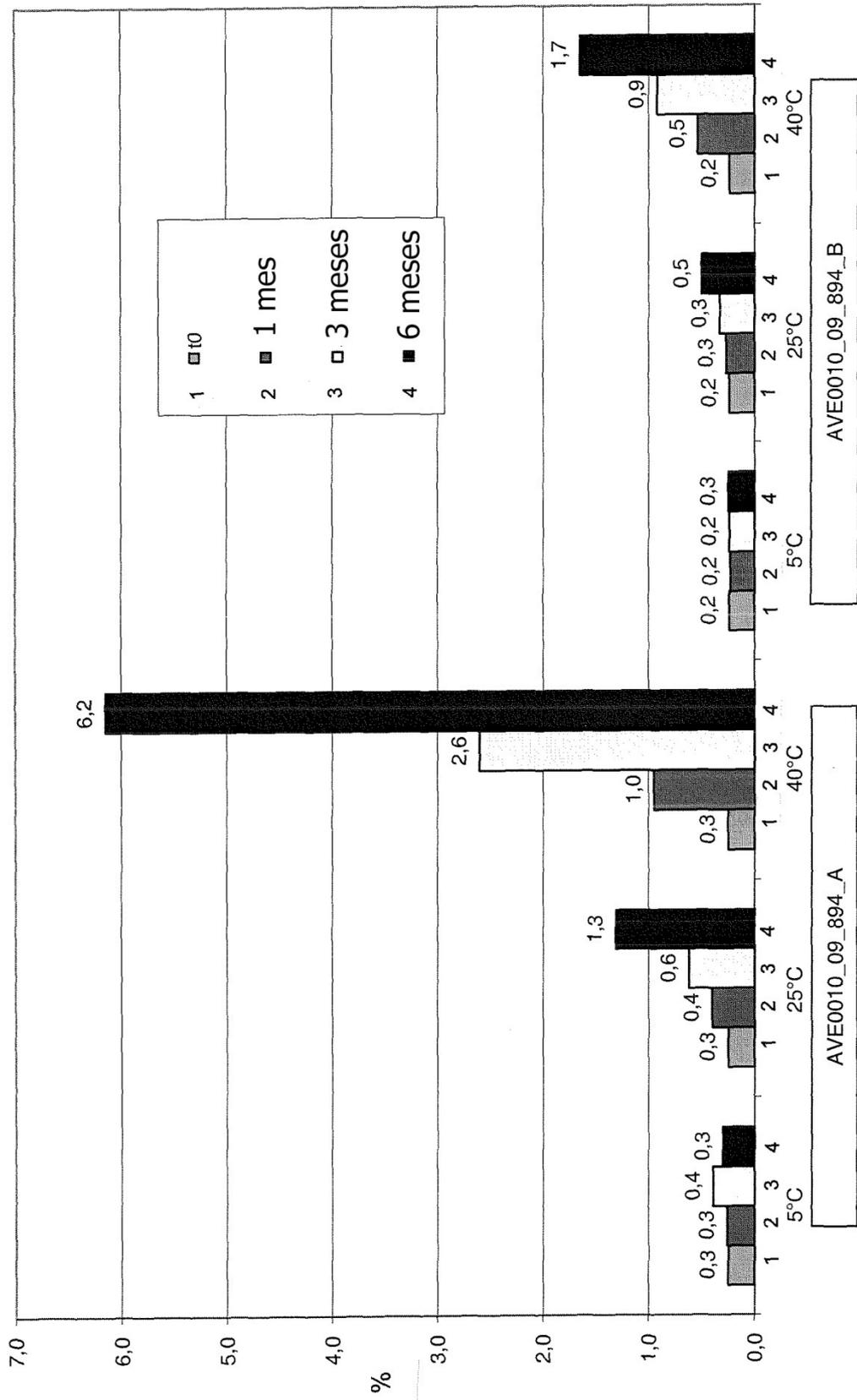
Productos de oxidación  
AVE0010\_09\_897\_A +B

Figura 2



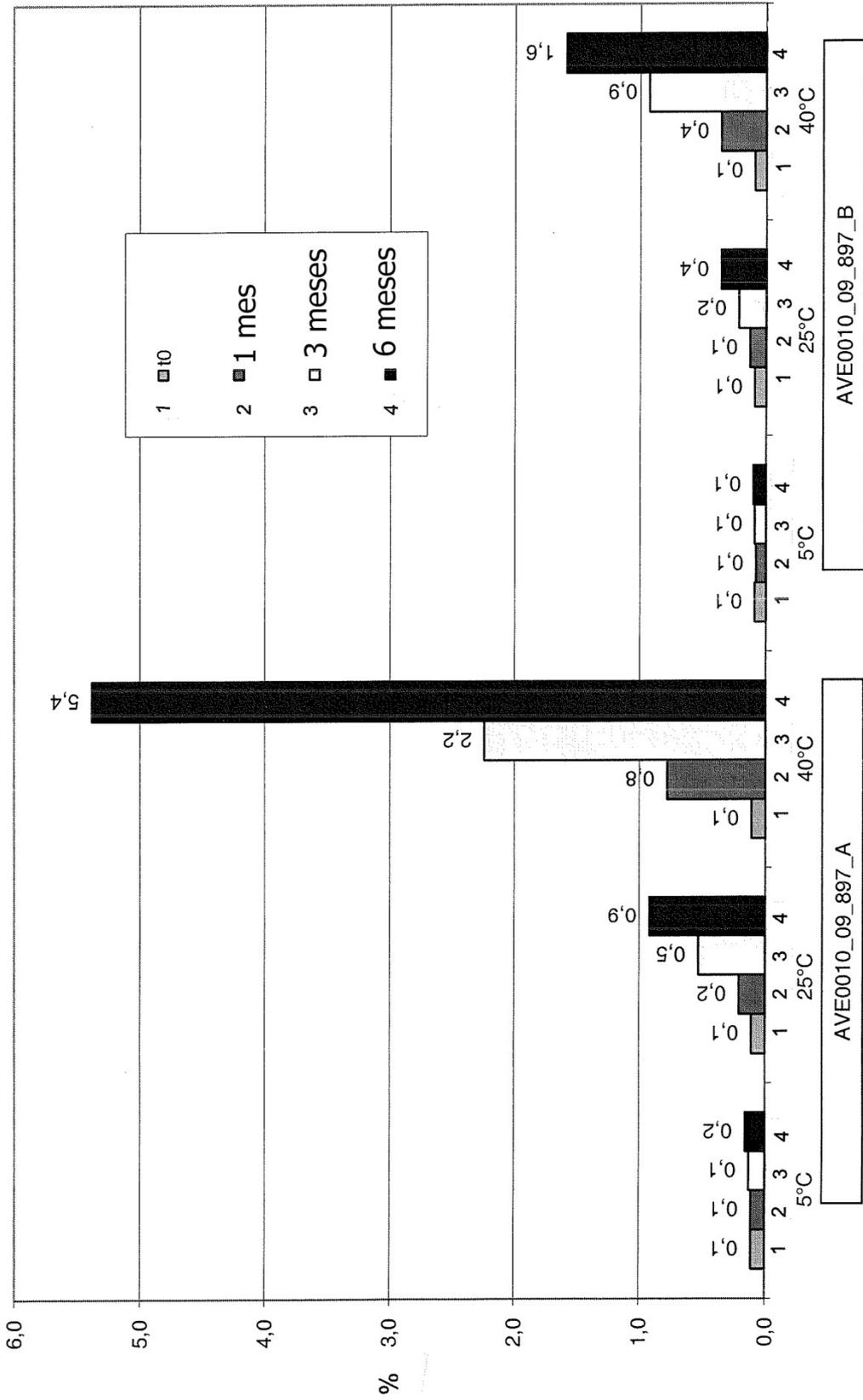
Proteínas con peso molecular elevado  
AVE0010\_09\_894\_A + B

Figura 3



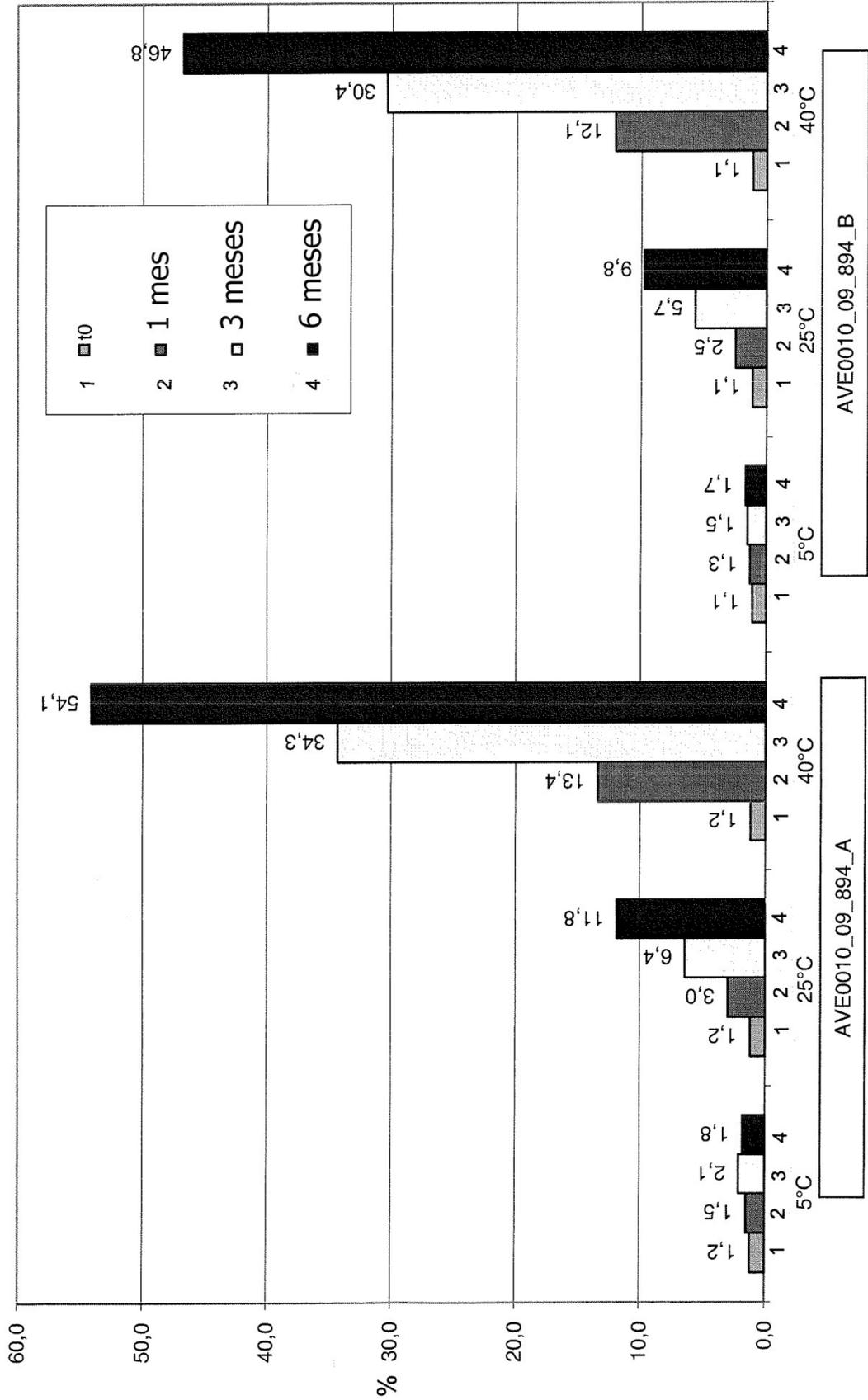
Proteínas con peso molecular elevado  
AVE0010\_09\_897\_A + B

Figura 4



Impurezas totales  
AVE0010\_09\_894\_A + B

Figura 5



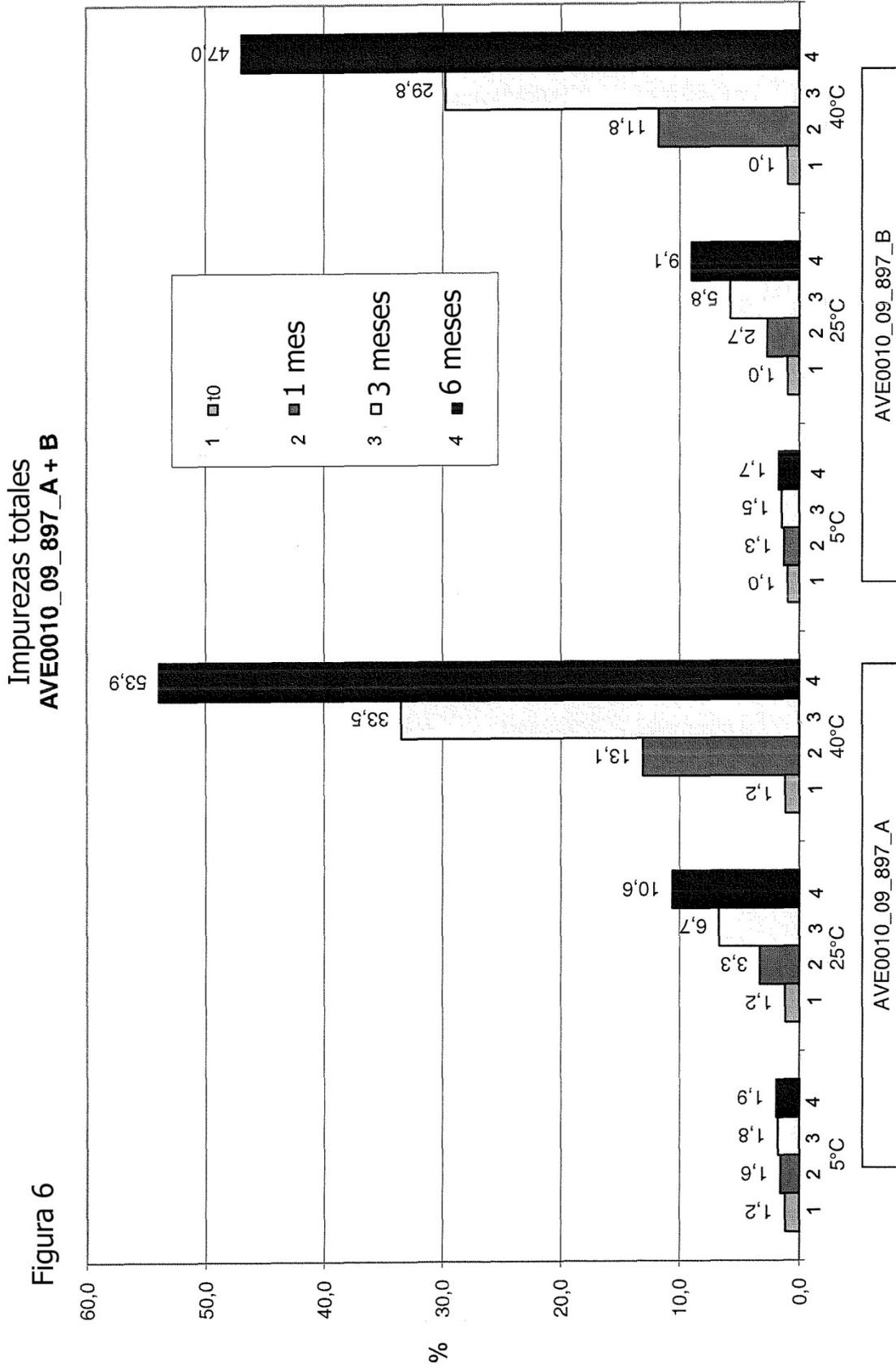


Figura 6