

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 854**

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

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2004 E 17196501 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2019 EP 3300721**

54 Título: **Formulaciones de péptidos que contienen propilenglicol que son óptimas para la producción y para su 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:

21.10.2019

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 727 854 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 de péptidos que contienen propilenglicol que son óptimas para la producción y para su uso en dispositivos de inyección

5 Campo de la invención

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

Antecedentes de la invención

10 La inclusión de agentes de isotonicidad en formulaciones farmacéuticas que contienen péptidos se conoce ampliamente y uno de los agentes isotónicos más comunes usados en tales formulaciones es manitol. Sin embargo, los presentes inventores han observado que el manitol provoca problemas durante la producción de formulaciones de péptidos a medida que se cristaliza lo que resulta en 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 resulta en una capacidad de producción reducida. Adicionalmente, tales depósitos pueden resultar además en el rendimiento reducido del producto final ya que los viales/cartuchos que contienen la formulación de péptidos pueden necesitar descartarse si las partículas están presentes. Finalmente, los presentes inventores han observado que en las formulaciones de péptidos que se administran por inyección, la presencia de manitol resulta en la obstrucción de los dispositivos de inyección.

En consecuencia, es conveniente identificar un agente isotónico alternativo al manitol para su inclusión en formulaciones que contienen péptidos y en particular, para su inclusión en formulaciones de péptidos que se administran por inyección.

25 PRIDAL L Y OTROS: "ABSORPTION 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 (01/01/1996), describe una composición que comprende GLP-1 (7-36) amida en combinación con fosfato disódico y un agente isotónico glicerol a pH aproximadamente 7 (pH= 6,9).

Breve descripción de la invención

30 Los presentes inventores han descubierto que las formulaciones de péptidos que contienen propilenglicol a ciertas concentraciones exhiben depósitos reducidos en los equipos de producción y en el producto final y exhiben además reducción de la obstrucción de los dispositivos de inyección. Las presentes composiciones pueden formularse con cualquier péptido y son, además, estables físicamente y químicamente, haciendo que estas sean estables y adecuadas para medios de administración invasivos (por ejemplo inyección, inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o infusión) así como también no invasivos (por ejemplo nasal, oral, pulmonar, transdérmico o transmucosal, por ejemplo, bucal).

35 La presente invención por lo tanto 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 el propilenglicol está presente en una concentración de 5-50 mg/ml y el pH de la formulación es de 7-10. En una modalidad preferida, las formulaciones farmacéuticas de la invención contienen además un tampón y un conservante. La presente invención también se refiere a una jeringa que contiene la formulación como se define en la presente descripción. Además, la presente invención se refiere a un dispositivo de inyección que contiene la formulación como se define en la presente descripción. La invención se define en las reivindicaciones adjuntas. Los temas que no se abarcan por el alcance de las reivindicaciones no forman parte de la presente invención.

45 Breve descripción de las figuras

50 La Figura 1 muestra una fotografía de gotas secas en portaobjetos de microscopio de las formulaciones de izquierda a derecha, placebo (sin péptido) que no contienen agente isotónico (o solamente agua, conservante y tampón), manitol, sorbitol, xilitol, sacarosa o glicerol como el agente isotónico con el portaobjetos de más a la derecha que contiene manitol con el péptido Arg³⁴, Lys²⁶(N-ε-(γ-Glu(N-α-hexadecanoil))-GLP-1(7-37).

55 La Figura 2 muestra imágenes de microscopía óptica de izquierda a derecha, algunas de las gotas secas de las formulaciones de placebo que contienen manitol, arginina, inositol o glicerol como el agente isotónico.

La Figura 3 muestra imágenes de microscopía óptica de agujas obstruidas dosificadas con formulaciones de placebo que contienen mioinositol, maltosa o glicerol como el agente isotónico.

La Figura 4 muestra imágenes de microscopía óptica de depósitos en agujas dosificadas con formulaciones de placebo que contienen glicina, lactosa o manitol como el agente isotónico.

La Figura 5 muestra el equipo de llenado después de 24 horas de llenado simulado con Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil)))-GLP-1(7-37) en medio que contiene mio-inositol.

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

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

Descripción de la invención

15 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 5-50 mg/ml y el pH de la formulación está en el intervalo de 7-10.

20 Se encontró que las formulaciones farmacéuticas de la invención son óptimas para la producción debido a que muestran depósitos reducidos en los equipos de producción con respecto a las formulaciones que contienen otros agentes de isotonicidad según se mide mediante los estudios simulados de llenado descritos en los Ejemplos. Además, se encontró que las formulaciones farmacéuticas de la invención son óptimas para su uso en dispositivos de inyección debido a que muestran reducción de la obstrucción de los dispositivos de inyección con respecto a las formulaciones que contienen otros agentes de isotonicidad según se mide por los estudios de uso simulado descritos en los Ejemplos.

25 El péptido a incluir en la formulación de la invención es un agonista del GLP-1 donde se entiende que "un agonista del GLP-1" se refiere a cualquier péptido, como se define en las presentes reivindicaciones, que activa completa o parcialmente el receptor del GLP-1 humano. En una modalidad preferida el "agonista del GLP-1" es cualquier péptido, como se define en las presentes reivindicaciones, que se une a un receptor de GLP-1, preferentemente con una constante de afinidad (K_D) o una potencia (EC₅₀) de menos de 1 μM, por ejemplo más abajo de 100 nM según se midió por métodos conocidos en la técnica (ver, por ejemplo, el documento WO 98/08871) y exhibe actividad insulínica, donde la actividad insulínica puede medirse mediante ensayos *in vivo* o *in vitro* conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, el agonista del GLP-1 puede administrarse a un animal y la concentración de insulina se mide en el tiempo.

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

35 El agonista del GLP-1 está presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 100 mg/ml, con mayor preferencia en una concentración de 0,1 mg/ml a 50 mg/ml, y con la máxima preferencia en una concentración de 0,1 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml.

40 En una modalidad, la concentración final de propilenglicol en las formulaciones de la invención es de 1 a 50 mg/ml.

45 En otra modalidad, la concentración final de propilenglicol en las formulaciones de la invención es de 5 a 25 mg/ml.

Aún en otra modalidad, la concentración final de propilenglicol en las formulaciones de la invención es de 8 a 16 mg/ml.

50 Aún en una modalidad adicional, la concentración final de propilenglicol en las formulaciones de la invención es de 13 a 15 mg/ml.

55 Aún en otra modalidad, la concentración final de propilenglicol en las formulaciones de la invención es de 13,5 a 14,5 mg/ml.

En otra modalidad de la invención, la formulación tiene un pH en el intervalo de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 9,5 donde el término "aproximadamente" como se usa en conexión con un pH significa + o - 0,1 unidades de pH del número indicado.

60 En una modalidad adicional de la invención, la formulación tiene un pH en el intervalo de 7,0 a 8,0.

Aún en una modalidad adicional de la invención, la formulación tiene un pH en el intervalo de 7,2 a 8,0.

65 En una modalidad adicional de la invención, la formulación tiene un pH en el intervalo de 7,0 a 8,3.

Aún en una modalidad adicional de la invención, la formulación tiene un pH en el intervalo de 7,3 a 8,3.

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

5 Cuando se va a incluir un tampón en las formulaciones de la invención, el tampón se selecciona del grupo que consiste en acetato de sodio, carbonato de sodio, citrato, glicilglicina, histidina, glicina, lisina, arginina, dihidrógeno fosfato de sodio, hidrógeno fosfato de disodio, fosfato de sodio y tris(hidroximetil)-aminometano, o sus mezclas. Cada uno de estos tampones específicos constituye una modalidad alternativa de la invención. En una modalidad preferida de la invención el tampón es glicilglicina, fosfato dihidrógeno de sodio, fosfato hidrógeno disódico, fosfato de sodio o sus mezclas.

15 Cuando un conservante farmacéuticamente aceptable se va a incluir en las formulaciones de la invención, el conservante se selecciona del grupo que consiste en fenol, m-cresol, p-hidroxibenzoato de metilo, propil p-hidroxibenzoato, 2-fenoxietanol, butil p-hidroxibenzoato, 2-feniletanol, alcohol bencílico, clorobutanol, y timerosal, o sus mezclas. Cada uno de estos conservantes específicos constituye una modalidad alternativa de la invención. En una modalidad preferida de la invención el conservante es fenol o m-cresol.

20 En una modalidad adicional de la invención el conservante está presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 50 mg/ml, con mayor preferencia en una concentración de 0,1 mg/ml a 25 mg/ml, y con la máxima preferencia en una concentración de 0,1 mg/ml a 10 mg/ml

El uso de un conservante en composiciones farmacéuticas es bien conocido por los expertos. Por conveniencia se hace referencia a Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19na edición, 1995.

25 En una modalidad adicional de la invención, la formulación puede comprender además un agente quelante donde el agente quelante puede seleccionarse de sales de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido cítrico y ácido aspártico, y sus mezclas. Cada uno de estos agentes quelantes específicos constituye una modalidad alternativa de la invención.

30 En una modalidad adicional de la invención, el agente quelante está presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 5 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención, el agente quelante está presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 2 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención, el agente quelante está presente en una concentración de 2 mg/ml a 5 mg/ml.

35 El uso de un agente quelante en composiciones farmacéuticas es bien conocido por los expertos. Por conveniencia se hace referencia a Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19na edición, 1995.

40 En una modalidad adicional de la invención la formulación puede comprender además un estabilizador seleccionado del grupo de polímeros de alto peso molecular o compuestos de bajo peso molecular donde tales estabilizadores incluyen polietilenglicol (por ejemplo, PEG 3350), polivinilalcohol (PVA), polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa, diferentes sales (por ejemplo cloruro de sodio), L-glicina, L-histidina, imidazol, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptófano, treonina y sus mezclas. Cada uno de estos estabilizantes específicos constituye una modalidad alternativa de la invención. En una modalidad preferida de la invención el estabilizador se selecciona del grupo que consiste en L-histidina, imidazol y arginina.

45 En una modalidad adicional de la invención el polímero de alto peso molecular está presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 50 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el polímero de alto peso molecular está presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 5 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el polímero de alto peso molecular está presente en una concentración de 5 mg/ml a 10 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el polímero de alto peso molecular está presente en una concentración de 0 mg/ml a 20 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el polímero de alto peso molecular está presente en una concentración de 20 mg/ml a 30 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el polímero de alto peso molecular está presente en una concentración de 30 mg/ml a 50 mg/ml.

55 En una modalidad adicional de la invención el compuesto de bajo peso molecular está presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 50 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el compuesto de bajo peso molecular está presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 5 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el compuesto de bajo peso molecular está presente en una concentración de 5 mg/ml a 10 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el compuesto de bajo peso molecular está presente en una concentración de 10 mg/ml a 20 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el compuesto de bajo peso molecular está presente en una concentración de 20 mg/ml a 30 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el compuesto de bajo peso molecular está presente en una concentración de 30 mg/ml a 50 mg/ml.

65 El uso de un estabilizante en composiciones farmacéuticas es bien conocido por los expertos. Por conveniencia se hace referencia a Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19na edición, 1995.

En una modalidad adicional de la invención, la formulación de la invención puede comprender además un tensioactivo donde un tensioactivo puede seleccionarse de un detergente, aceite de ricino etoxilado, glicéridos poliglicolizados, monoglicéridos acetilados, ésteres de ácidos grasos de sorbitán, poloxámeros, tales como 188 y 407, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno sorbitán, derivados de polioxietileno tales como derivados alquilados y alcóxilados (tweens, por ejemplo, Tween-20 o Tween-80), monoglicéridos o derivados etoxilados de los mismos, diglicéridos o derivados de los mismos de polioxietileno, glicerol, ácido cólico o derivados de los mismos, lecitinas, alcoholes y fosfolípidos, glicerofosfolípidos (lecitinas, cefalinas, fosfatidil serina), gliceroglicolípidos (galactopiransoida), esfingofosfolípidos (esfingomielina), y esfingoglicolípidos (ceramidas, gangliósidos), DSS (ducosato de sodio, ducosato de calcio, ducosato de potasio, SDS (dodecil sulfato de sodio o lauril sulfato de sodio), ácido dipalmitoilfosfatídico, caprilato de sodio, ácidos biliares y sales de los mismos y conjugados de glicina o taurina, ácido ursodesoxicólico, colato de sodio, desoxicolato de sodio, taurocolato de sodio, glicocolato de sodio, N-hexadecil-N,N-dimetil-3-amonio-1-propanosulfonato, tensioactivos monovalentes aniónicos (alquil-aril-sulfonatos), palmitoil lisofosfatidil-L-serina, lisofosfolípidos (por ejemplo, 1-acil-sn-glicero-3-fosfato ésteres de etanolamina, colina, serina o treonina), alquilo, alcoxilo (alquil éster), alcoxi (alquil éter)- derivados de lisofosfatidil y fosfatidilcolinas, por ejemplo, derivados de lauroilo y miristoílo de lisofosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina, y modificaciones del grupo de la cabeza polar, que es colinas, etanolaminas, ácido fosfatídico, serinas, treoninas, glicerol, inositol y cargados positivamente DODAC, DOTMA, DCP, BISHOP, lisofosfatidilserina y lisofosfatidiltreonina, tensoactivos zwitteriónicos (por ejemplo, N-alquil-N,N-dimetilamonio-1-propanosulfonato, 3-colamido-1-propildimetilamonio-1-propanosulfonato, dodecilfosfocolina, miristoil lisofosfatidilcolina, lisolecitina de huevo de gallina, tensioactivos catiónicos (bases de amonio cuaternarias) (por ejemplo, bromuro de cetil-trimetilamonio, cloruro de cetilpiridinio), tensioactivos no iónicos, copolímeros en bloque de polietileneóxido/polipropileneóxido (Pluronic/Tetronics, Tritón X-100, Dodecil β -D-glucopiranosido o surfactantes poliméricos (Tween-40, Tween-80, Brij-35), derivados del ácido fusídico (por ejemplo, tauro-dihidrofusidato de sodio, etc.), ácidos grasos de cadena larga y sus sales C6-C12 (por ej. ácido oleico y ácido caprílico), acilcarnitinas y derivados, Derivados de lisina N^oacilados, arginina o histidina, o derivados acilados de la cadena lateral de lisina o arginina, Derivados N^oacilados de dipéptidos que comprenden cualquier combinación de lisina, arginina o histidina y un aminoácido neutro o ácido, derivado N-acilado de un tripéptido que comprende cualquier combinación de un aminoácido neutro y dos aminoácidos cargados, o el tensioactivo puede seleccionarse del grupo de derivados de imidazolina, o sus mezclas. Cada uno de estos tensoactivos específicos constituye una modalidad alternativa de la invención.

El uso de un tensoactivo en composiciones farmacéuticas es bien conocido por los expertos. Por conveniencia se hace referencia a Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19na edición, 1995.

Las formulaciones de la invención pueden prepararse mediante técnicas convencionales, *por ejemplo*, como se describe en Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 1985 o en Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 19^{na} edición, 1995, donde tales técnicas convencionales de la industria farmacéutica implican disolver y mezclar los ingredientes según sea apropiado para obtener el producto final deseado.

Como se mencionó anteriormente, en una modalidad preferida, las formulaciones de la invención contienen, además de un péptido y propilenglicol, un tampón y/o un conservante.

Como las formulaciones de la invención son óptimas para la producción y para su uso en dispositivos de inyección ya que muestran depósitos reducidos de los equipos de producción y reducción de la obstrucción de los dispositivos de inyección, los métodos de producción anteriores pueden usarse para producir formulaciones peptídicas adecuadas para su uso en la producción y/o para su uso en dispositivos de inyección.

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

Debido a la capacidad del propilenglicol para reducir la obstrucción de los dispositivos de inyección en comparación con otros agentes isotónicos y con el manitol en particular, en una modalidad preferida, las formulaciones de la invención deben administrarse por vía parenteral a un paciente que lo necesita. La administración parenteral puede realizarse por inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa por medio de una jeringa, opcionalmente una jeringa tipo lapicera. Alternativamente, la administración parenteral puede realizarse 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 un aerosol nasal o pulmonar. Como todavía una opción adicional, la formulación también puede administrarse transdérmicamente, *por ejemplo*, desde un parche, opcionalmente un parche iontoforético, o transmucosalmente, *por ejemplo*, bucalmente. Las formas posibles mencionadas anteriormente de administrar las formulaciones de la invención no deben considerarse limitantes del alcance de la invención. Por supuesto, se entiende que en dependencia del péptido o péptido incluidos en las formulaciones de la invención, las formulaciones pueden usarse en métodos de tratamiento de enfermedades o afecciones para las cuales se indica el uso del péptido. Un experto en la técnica comprenderá que cuando se usa en tales métodos de tratamiento, las formulaciones tendrían que administrarse en la cantidad efectiva

para tratar la afección o enfermedad para la que se administra el péptido, donde se entiende que una “cantidad efectiva” o una “efectiva...cantidad” significa una dosificación que es suficiente para que el tratamiento del paciente con la enfermedad o afección a tratar sea efectivo en comparación con el tratamiento sin la dosificación administrada. Debe entenderse que “una cantidad efectiva” es la dosis efectiva a ser determinada por un profesional calificado, que puede valorar las dosificaciones para lograr la respuesta deseada. Los factores para la consideración de la dosis incluirán la potencia, la biodisponibilidad, los perfiles farmacocinéticos/farmacodinámicos deseados, la afección o enfermedad a tratar (por ejemplo diabetes, obesidad, pérdida de peso, úlceras gástricas), los factores relacionados con el paciente (por ejemplo, peso, salud, edad, etcétera), la presencia de medicamentos administrados conjuntamente (por ejemplo, insulina), el tiempo de administración, u otros factores conocidos por un profesional médico.

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente varios aspectos de la invención:

Ejemplos

Ejemplo 1

Experimentos de llenado simulados, pruebas de la gota y obstrucción de candidatos de reemplazo para el manitol

Dado que los experimentos de laboratorio han demostrado que con respecto a la obstrucción de las agujas y los depósitos en las agujas, las formulaciones sin péptido (“placebo”) proporcionan las mismas conclusiones que las formulaciones con péptido a 0,3-5,0 mg/ml, los estudios de selección en el Ejemplo 1 se han realizado con el uso de placebo excepto cuando se indique de otro modo.

Preparación de formulaciones con diferentes agentes isotónicos

El conservante (5,5 mg/ml de fenol) y el tampón 1,24 mg/ml de fosfato de hidrógeno disodio, dihidrato) se disolvieron en agua y el agente isotónico se añadió mientras se agitaba. El pH se ajustó a pH 7,9 mediante el uso de hidróxido de sodio y/o ácido clorhídrico. Finalmente, la formulación se filtró a través de un filtro de 0,22 µm. Los agentes isotónicos probados en cada formulación y sus concentraciones se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1 Composición de las formulaciones analizadas

Núm. de la formulación	Modificador de tonicidad
1	Monohidrato de glucosa (38,0 mg/ml)
2	Monohidrato de lactosa (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	Mio-inositol (35,2 mg/ml)
8	Propilenglicol (13,7 mg/ml)
9	Dimetilsulfón (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)

Osmolaridad

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

Una solución isotónica tiene una osmolaridad de alrededor de 0,286 osmol/L. Como puede observarse en la Tabla 2 tres de las formulaciones (PEG 400, sacarosa y xilitol) son más del 20 % de ser isotónicas (0,229-0,343 osmol/l), sin embargo, para este tipo de experimentos la osmolaridad no se espera que influya en los resultados, sin embargo, la tonicidad de las formulaciones debe ajustarse en futuros experimentos.

5

Tabla 2. La osmolaridad medida de las formulaciones

Núm. de la formulación	Agente isotónico	Osmolaridad
1	Monohidrato de glucosa (38,0 mg/ml)	0,315
2	Monohidrato de lactosa (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	Mio-inositol (35,2 mg/ml)	0,285
8	Propilenglicol (13,7 mg/ml)	0,268
9	Dimetilsulfón (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

10

15

Prueba de la gota

Una gota de cada formulación se coloca en un portaobjetos de microscopio y se deja secar. El depósito se examina visualmente a ojo y por microscopio óptico.

20

Una fotografía de las gotas secas de algunas de las formulaciones se muestra en la Figura 1. En esta figura se observa claramente que el manitol provoca depósitos en el portaobjetos cuando se deja secar. No se observaron depósitos para sorbitol, xilitol, sacarosa y glicerol. La gota en el extremo derecho (Forma 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 provocan la mayoría de los depósitos en el portaobjetos del microscopio. Para la comparación se muestra el glicerol, que no provoca depósitos, (manitol, arginina, inositol).

25

Prueba de obstrucción

30

En esta prueba 10 NovoPens[®] 1,5 ml montado con Novofine 30[®] G (aguja G 30) se probaron para cada formulación, 5 de ellas colocadas en posición vertical y 5 en posición horizontal. Los Pensystems se almacenaron a temperatura ambiente entre las pruebas. Cada día la aguja se examinó para determinar los depósitos y se realizó una inyección de aire antes de la inyección en un tejido. Se indicó el grado de resistencia y obstrucción, si existe. Las inyecciones se realizaron diariamente con la misma aguja, y esto se realizó durante 9 días hábiles para todas las formulaciones.

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

35

Tabla 3 Prueba de obstrucción en Novopen 1,5 usando 30G Novofine

Agente isotónico (número de observaciones)	Alguna resistencia	Resistencia	Mucha resistencia	Obstruido	Gota en la parte superior de la aguja	Gota seca en la parte superior de la aguja	Gota tipo gel en la aguja	Depósitos en 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

40

	Propilenglicol (90)	20	0	0	0	0	0	0
	PEG 400 (90)	25	1	0	0	12 (5 en la aguja)	0	0
	arginina (90)	26	2	0	0	3 (2 en la aguja)	1	0
	Xilitol (90)	14	0	0	0	5	0	0
5	Dimetilsulfón (90)	21	0	0	0	4	0	0
	sorbitol (90)	12	0	0	0	9	1	0
	Mio-inositol (90)	20	1	2	6	6	0	0
	Glucosa (90)	32	11	5	0	16 (7 en la aguja)	1	0
	glicina (90)	41	9	2	0	1 (2 en la aguja)	0	0
	maltosa (90)	35	8	7	4	16 (6 en la aguja)	0	0
10	lactosa (90)	44	10	8	0	5	0	0

En la Tabla 3 y en la Figura 3 se observó que el inositol y la maltosa obstruyen la aguja. Para la comparación, el glicerol el cual 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 contienen glicina, lactosa y manitol dieron lugar a muchos depósitos en la aguja. Para la glicina, los depósitos fueron una gota depositada bajo la aguja, mientras que para lactosa y el manitol los depósitos se produjeron en la parte superior de la aguja.

Llenado simulado

1 L de cada formulación se sometió a un experimento de llenado simulado que duró 24 horas. Después de 24 horas el equipo de llenado se inspeccionó para determinar la presencia de depósitos.

En función de los resultados de los estudios de llenado simulados (datos no mostrados), las formulaciones de placebo pueden dividirse en tres categorías. 1. Aquellos agentes isotónicos que no provocan depósitos en el equipo de llenado: Xilitol, glicerol, monohidrato de glucosa, maltosa, PEG 400 y propilenglicol. 2. Aquellos agentes isotónicos que provocan pocos depósitos y tienen propiedades de llenado superiores en comparación con manitol: Sorbitol, sacarosa y glicina. 3. Aquellos agentes isotónicos que son comparables o peores que el manitol: Manitol, monohidrato de lactosa, arginina, mio-inositol y dimetilsulfón.

Conclusión

En el experimento de llenado simulado el xilitol, glicerol, glucosa, maltosa, PEG 400, propilenglicol, sorbitol, sacarosa y glicina se encontraron como candidatos de reemplazo adecuados para el manitol. Sin embargo, como la glucosa es un sacárido reductor, y por lo tanto es capaz de iniciar degradación no deseada en la formulación, este modificador de la tonicidad se elimina. Además, la maltosa se elimina debido a la obstrucción de las agujas. Esto conduce a los siguientes candidatos: glicerol, xilitol, sorbitol, sacarosa, glicina, propilenglicol y PEG 400, que se encuentra que tienen propiedades adecuadas como candidatos de reemplazo para el manitol en las formulaciones peptídicas con respecto a la prueba de la gota, la obstrucción de agujas y el llenado simulado.

Sin embargo, sobre la base de las siguientes consideraciones, el propilenglicol se eligió como el agente isotónico sobre los otros candidatos para investigarse aún más en estudios comparativos directos con manitol:

- se observó que el propilenglicol no tiene influencia sobre la estabilidad física y química de formulaciones que contienen Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α hexadecanoil))-GLP-1(7-37));
- se observó que el propilenglicol no tiene influencia sobre la prueba de conservación antimicrobiana; y
- el uso de propilenglicol no requeriría que se realizaran estudios de toxicidad adicionales

40

Ejemplo 2

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

5 Preparación de las formulaciones

El conservante y el tampón se disolvieron en agua y el agente isotónico se añadió mientras se agitaba. El pH se ajustó al pH objetivo mediante el uso de hidróxido de sodio 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		hidrogeno fosfato disódico, dihidrato	1,42 mg/mL
		Fenol:	5,5 mg/ml
		Propilenglicol o manitol:	13,7 o 35,9 mg/ml
15		Agua para inyección:	hasta 1,0 ml.
		pH: 7,90	

Estudio de llenado simulado

20 Un estudio de llenado simulado que duró 24 horas se realizó como se describió en el Ejemplo 1 y después de 24 horas, el equipo de llenado se inspeccionó para determinar la presencia de depósitos. No se observaron depósitos en el equipo de llenado para la formulación de propilenglicol. Por comparación, después de 24 horas, se observaron muchos depósitos en el equipo de llenado para la formulación de manitol (ver la Figura 6).

Estudio de uso simulado

25 Para el estudio de uso simulado, se realizó una prueba de obstrucción como se describió en el Ejemplo 1. La misma aguja se usó durante el período del estudio de diez días hábiles y cada día, la aguja se inspeccionó para determinar la presencia de depósitos. La Figura 7 muestra fotografías de agujas dosificadas con las formulaciones que contienen propilenglicol (panel superior) o manitol (panel inferior). Los depósitos en la aguja se observaron en el 48 % de los casos cuando se usó manitol como el agente isotónico, mientras que no se observaron depósitos cuando se usó propilenglicol como el agente isotónico.

Ejemplo 3

35 Comparación de propilenglicol con manitol en Formulaciones que contiene Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))-GLP-1(7-37))

Preparación de las formulaciones

40 El conservante, el agente isotónico (manitol o propilenglicol) y el tampón se disolvieron en agua y el pH se ajustó al pH deseado. Arg³⁴, Lys²⁶(N^ε-(γ-Glu(N^α-hexadecanoil))-GLP-1(7-37)) se disolvió en agua mientras se agitaba lentamente. Luego, las dos soluciones se mezclaron y el pH se ajustó al pH deseado mediante el uso de hidróxido de sodio 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:

45	Arg ³⁴ , Lys ²⁶ (N ^ε -(γ-Glu(N ^α -hexadecanoil))-GLP-1(7-37)) (6,25 mg/ml),
	hidrogeno fosfato disódico dihidrato (1,42 mg/ml),
	fenol (5,5 mg/ml),
	manitol o propilenglicol (35,9 o 14,0 mg/ml),
50	Agua para Inyección (hasta 1,0 ml),
	pH: 8,15

Estudio de uso simulado

55 Para el estudio de uso simulado, se realizó una prueba de obstrucción como se describió en el Ejemplo 1 excepto que se usó una aguja G31. La misma aguja G31 se usó durante el período del estudio de diez días hábiles y cada día, la aguja se inspeccionó para determinar la presencia de depósitos. La Figura 7 muestra fotografías de agujas sin depósitos cuando se dosifica con las formulaciones que contienen el propilenglicol (panel inferior) o muestra depósitos cuando se dosifica con manitol (panel superior).

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

Se cree que los resultados similares a los obtenidos con la formulación que contiene propilenglicol descrita anteriormente también se obtendrían si el pH se ajustara a 7,40, 7,70 o 7,90. Además, las formulaciones adicionales que podrían probarse incluyen las que tienen las siguientes composiciones:

- 5 Agentes tamponantes: glicilglicina (1,32 mg/ml), L-Histidina (1,55 mg/ml), Hepes (2,38 mg/ml), o bicina (1,63 mg/ml)
 Conservantes: fenol (5,0 o 5,5 mg/ml), bencilalcohol (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
 10 Agua para inyección: hasta 1,0 ml
 pH: 7,40, 7,70, 7,90 u 8,15

Ejemplo 4

- 15 Influencia de la concentración del 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 como se describe en el Ejemplo 3 mediante el uso de concentraciones de péptidos que varían de 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:

- 20 Liraglutida: 0, 0,3, 3 y 5 mg/ml
 hidrogeno fosfato disódico, dihidrato 0,71 mg/mL
 Dihidrógeno fosfato de sodio, dihidrato: 0,62 mg/ml
 25 Manitol: 36,9 mg/ml
 Fenol: 5,0 mg/ml
 Agua para inyección: hasta 1,0 ml
 pH 7,4

30 Un estudio de uso simulado se llevó a cabo como en el Ejemplo 3 excepto que se usó una aguja G30 y los resultados (datos no mostrados) indicaron que el efecto de obstrucción de las formulaciones que contienen manitol en relación con la ausencia de la obstrucción con las formulaciones de propilenglicol se observó independiente de la concentración del péptido.

- 35 Listado de secuencias

<110> Novo Nordisk A/S

40 <120> FORMULACIONES DE PÉPTIDOS QUE CONTIENEN PROPILENGLICOL QUE SON ÓPTIMAS PARA LA PRODUCCIÓN Y PARA SU USO EN DISPOSITIVOS DE INYECCIÓN

<130> 6683EP01

45 <160> 3

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 44

50 <212> PRT

<213> Constructo sintético

<220>

<221> MOD_RES

55 <222> (44)..(44)

<223> La lisina en la posición 44 está amidada

<400> 1

60

ES 2 727 854 T3

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

15 <210> 2
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Constructo sintético

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(3)
 <223> Los residuos Xaa-Xaa son: SD (exendina-3) o GE (exendina-4)

<400> 2

His Xaa Xaa Gly Thr Phe Ile Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu
 1 5 10 15

Glu Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro
 20 25 30

Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35 40

25
 30 <210> 3
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Constructo sintético

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (31)..(31)
 <223> Este residuo es P o Y

<400> 3

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 Xaa
 20 25 30

40

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, en donde dicho propilenglicol está presente en dicha formulación en una concentración final de 5 mg/ml a 50 mg/ml, y en donde dicha formulación tiene un pH de 7,0 a 10,0.
- 10 2. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha formulación es adecuada para la administración parenteral realizada por inyección subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa por medio de una jeringa, opcionalmente una jeringa similar a una lapicera.
- 15 3. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la concentración de propilenglicol es de 8 mg/ml a 25 mg/ml.
- 20 4. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la concentración de propilenglicol es de 5 mg/ml a 16 mg/ml.
- 25 5. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el pH de dicha formulación es de 7,0 a 9,5.
- 30 6. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un conservante.
- 35 7. La formulación de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicho conservante está presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 20 mg/ml.
- 40 8. La formulación de acuerdo con la reivindicación 6 o 7, en donde dicho conservante es fenol.
- 45 9. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un tampón.
10. La formulación de acuerdo con la reivindicación 9, en donde dicho tampón se selecciona del grupo que consiste en glicilglicina, dihidrógeno fosfato de sodio, fosfato hidrógeno disódico, fosfato de sodio o sus mezclas.
11. La formulación de acuerdo con la reivindicación 9, en donde dicho tampón es dihidrato de fosfato disódico.
12. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la concentración de dicho Arg³⁴, Lys²⁶(N-ε-(γ-Glu(N-α-hexadecanoil))-GLP-1(7-37) es de 0,1 mg/ml a 50 mg/ml, o de 0,1 mg/ml a 10 mg/ml.
13. Una jeringa que contiene la formulación como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1-12.
14. La jeringa de acuerdo con la reivindicación 13, en donde dicha jeringa es una jeringa tipo lapicero
15. Un dispositivo de inyección que comprende la formulación como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1-12.

FIGURA 1

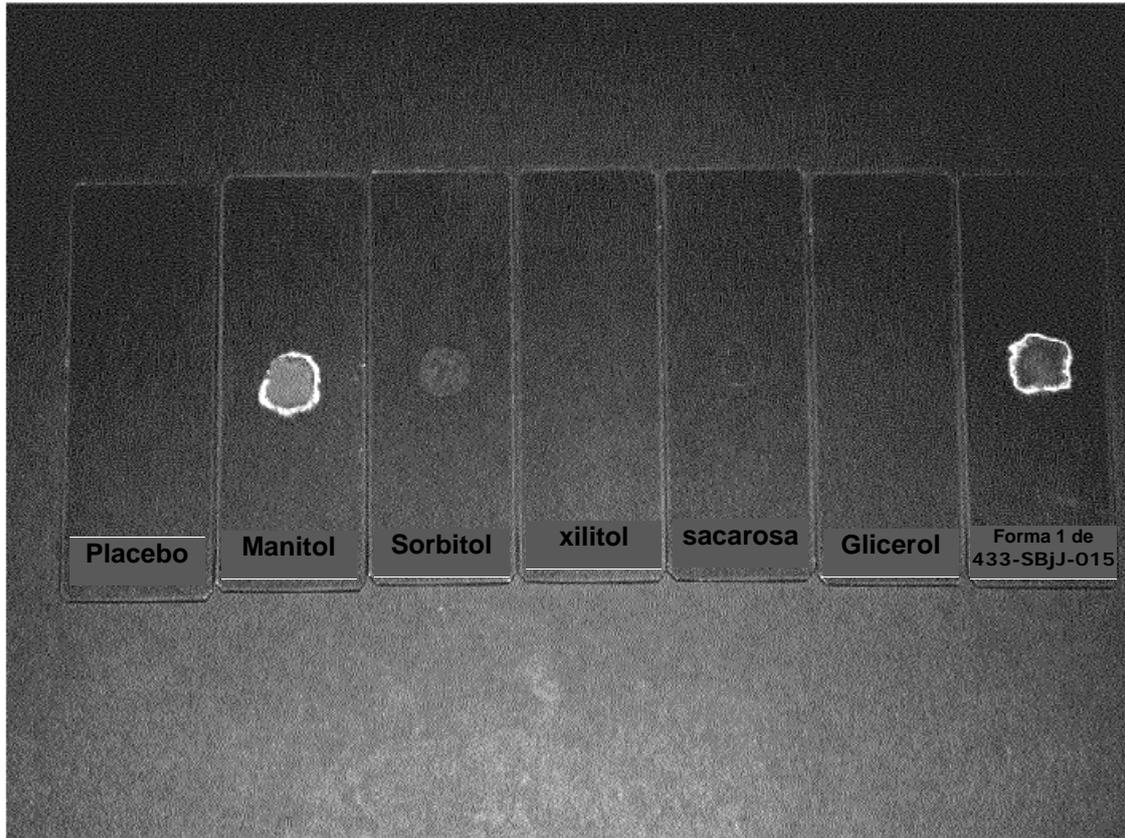
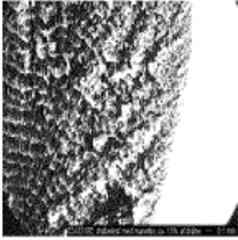
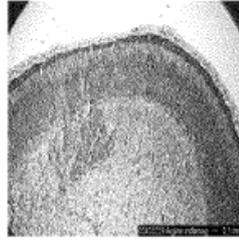


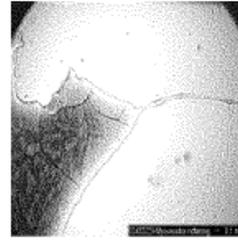
FIGURA 2



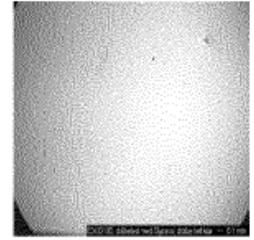
Manitol



Arginina



Inositol



Glicerol

FIGURA 3



Mio-inositol



Maltosa

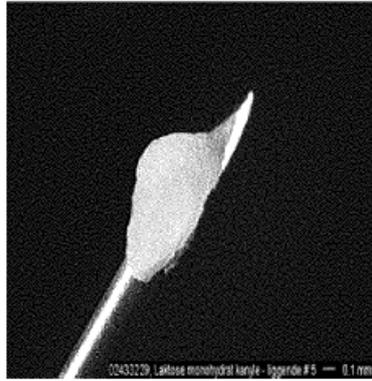


Glicerol

FIGURA 4



Glicina



Lactosa



Manitol

FIGURA 5



FIGURA 6

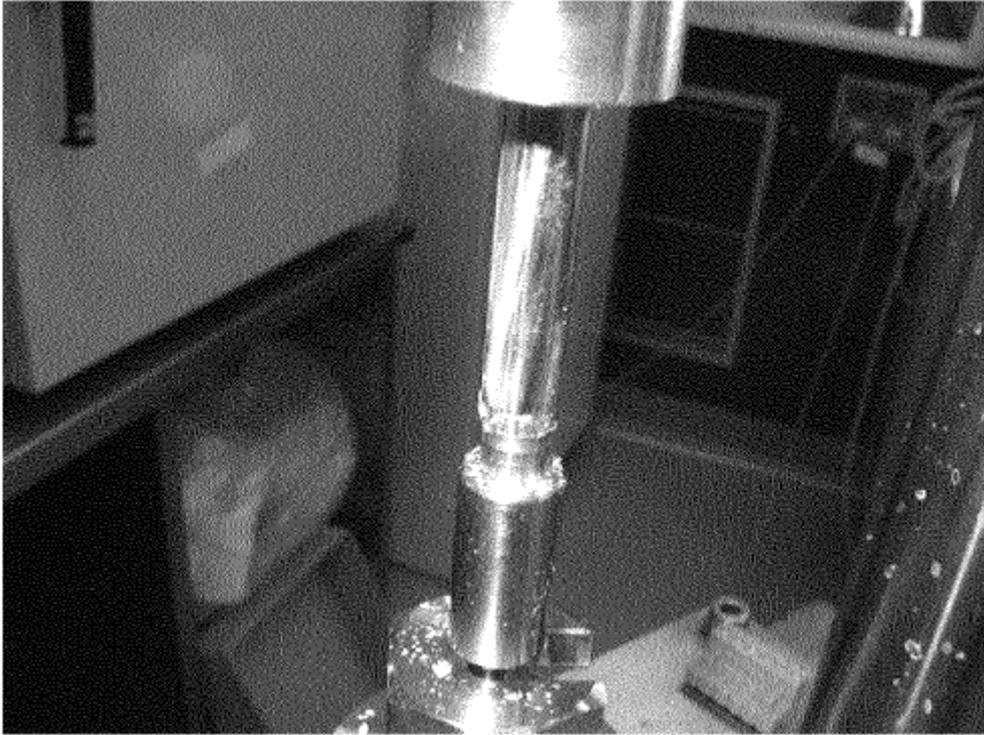


FIGURA 7

