

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 775 498**

51 Int. Cl.:

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 31/724 (2006.01)

A61K 38/26 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.02.2016 PCT/US2016/018003**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.08.2016 WO16133863**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.02.2016 E 16710352 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2020 EP 3258919**

54 Título: **Formulación en polvo nasal para el tratamiento de la hipoglucemia**

30 Prioridad:

17.02.2015 US 201562117031 P

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

27.07.2020

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**MANTRIPRAGADA, SANKARAM B.;
PICHE, CLAUDE A. y
VAN BETSBRUGGE, JO JAN FILIP**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 775 498 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

Formulación en polvo nasal para el tratamiento de la hipoglucemia

Campo de la invención

5 Esta solicitud se refiere a una formulación en polvo que contiene glucagón para administración nasal, útil en el tratamiento de la hipoglucemia y, en particular, el tratamiento de la hipoglucemia grave. La solicitud se refiere además a un procedimiento para preparar esta formulación en polvo, y a dispositivos y procedimientos para usar la formulación en polvo.

Antecedentes de la invención

10 La diabetes ha alcanzado proporciones epidémicas en gran parte del mundo occidental y es un problema de salud pública grave y creciente en muchas economías en desarrollo. A nivel mundial, hay aproximadamente 285 millones de personas con diabetes y se espera que ese número alcance los 438 millones para 2030 (IDF Diabetes Atlas, 2009.)

15 Las complicaciones de la diabetes generalmente se asocian con niveles de glucosa en sangre crónicamente elevados (hiperglucemia), que dan como resultado enfermedades cardíacas, renales y oculares, amputaciones y deterioro neurológico. Desafortunadamente, existen complicaciones muy reales y graves asociadas con el uso de medicamentos utilizados para tratar la hiperglucemia relacionada con la diabetes. Una de las complicaciones más comunes de los tratamientos utilizados para reducir los niveles de azúcar en sangre es la hipoglucemia (azúcar en sangre baja), que se observa con mayor frecuencia en pacientes que reciben tratamiento con insulina (es decir, todas las personas con diabetes tipo 1 y aproximadamente el 30 % de los pacientes con diabetes tipo 2) pero también en pacientes con diabetes tipo 2 que reciben tratamiento con sulfonilurea. De hecho, si no fuera por la barrera de la hipoglucemia, las personas con diabetes probablemente podrían tener niveles normales de glucosa en sangre y, por lo tanto, evitar las complicaciones asociadas con la hiperglucemia (Cryer, 2002).

20 Dependiendo de la gravedad del episodio, la hipoglucemia causa una amplia gama de problemas físicos que van desde debilidad, mareos, sudoración, escalofríos y hambre hasta síntomas más graves que incluyen visión borrosa, cambio de comportamiento, convulsiones, coma e incluso la muerte. Además de los efectos físicos de la hipoglucemia, hay importantes efectos psicológicos que incluyen vergüenza, miedo a otro episodio, altos niveles de ansiedad y bajos niveles de felicidad general que afectan negativamente al control de la glucosa y la calidad de vida (Deary, 2008).

25 La hipoglucemia grave en una persona consciente debe tratarse mediante la ingestión oral de hidratos de carbono, preferentemente como comprimidos de glucosa o equivalentes. Para la hipoglucemia grave en un individuo inconsciente fuera del hospital, el tratamiento recomendado es 1 mg de glucagón mediante inyección intramuscular (IM) o subcutánea (SC). Para la hipoglucemia grave en un individuo inconsciente en presencia de asistencia médica profesional y acceso intravenoso, se recomienda la dextrosa intravenosa. En todos los casos, una vez que se ha revertido la hipoglucemia, se debe dar acceso al paciente a hidratos de carbono orales para recuperarse completamente y prevenir la hipoglucemia repetida.

30 El glucagón, un tratamiento altamente eficaz para la hipoglucemia grave tanto fuera como dentro del entorno hospitalario, actualmente está disponible solo como un polvo que debe mezclarse con un diluyente inmediatamente antes de la administración mediante inyección. Aunque este es un procedimiento que sería relativamente fácil para las personas con diabetes que se inyectan insulina, no se están tratando a sí mismas porque, por definición, la hipoglucemia grave es un episodio de hipoglucemia en el que el paciente requiere asistencia de un tercero (Cryer, 2009). Para cualquier persona no médica que se enfrenta a una situación de emergencia en la que un paciente con diabetes está en coma hipoglucémico o sufre convulsiones relacionadas con la hipoglucemia, la reconstitución y la inyección del glucagón inyectable actual es un procedimiento complejo y desalentador que está lleno de posible errores.

35 De hecho, investigadores australianos han publicado un estudio en el que los padres de niños y adolescentes con diabetes usaron uno de los kits de glucagón disponibles actualmente (GlucoGen Hypokit, Novo Nordisk) en una situación de emergencia simulada (Harris et al, 2001). Se pidió a cada padre que fingiera que eran las 3:00 y que su hijo estaba inconsciente. Luego se les dio un kit de glucagón de emergencia sin abrir y se les pidió que administraran el medicamento en un trozo de carne envuelto para simular un muslo. Un pequeño grupo de 11 profesionales de la salud de la diabetes (cinco endocrinólogos y seis educadores en diabetes) sirvieron como control indirecto.

40 De los 136 padres que participaron en el estudio, 106 eran padres de adolescentes con una duración media de diabetes de 4,7 años y 30 eran padres de niños más pequeños con una duración media de diabetes de 2,4 años. Más del 90 % informó haber recibido preparación previa sobre el uso de glucagón. El 69 % de estos padres experimentaron dificultades para manejar el kit de emergencia de glucagón actual. Las dificultades incluyeron dificultad para abrir el paquete, retirar la funda de la aguja, mezclar los ingredientes y doblar las agujas. En promedio, estos padres necesitaron 2 minutos y 30 segundos para completar el procedimiento (intervalo de 30 segundos a > 12 minutos). Además, el 6 % abortó la inyección por completo y el 4 % de los participantes inyectaron solo aire o solo diluyente. Por el contrario, los profesionales de la diabetes realizaron el procedimiento en 1 minuto y 17 segundos (intervalo de 1-1,75 minutos). La cantidad de errores observados en esta muestra de padres es desconcertante, especialmente a

la luz del hecho de que se trataba de una simulación cronometrada y no de una verdadera emergencia.

Las dificultades asociadas con el uso del kit de emergencia de glucagón se corroboran en un informe reciente del Institute for Safe Medication Practices (ISMP) Canada (ISMP Canada Safety Bulletin, 2010). El informe del ISMP de septiembre de 2010 documenta tres incidentes separados en los que el diluyente se administró solo, sin que el polvo de glucagón se haya reconstituido con el diluyente antes de la administración. Esto dio como resultado un fallo completo en la administración de la dosis prevista de glucagón a las personas que experimentaron una crisis hipoglucémica grave y, de acuerdo con el informe, dio como resultado daño al paciente en uno de los casos.

Se realizó una encuesta telefónica con 102 pacientes con diabetes tipo 1 para conocer sus opiniones sobre los kits de emergencia de glucagón disponibles actualmente (Yanai, 1997). La mayoría de los pacientes (67 %) declararon que preferirían un glucagón administrado por vía intranasal si estuviera disponible y el 82 % de estos pacientes asumieron que sus familiares, maestros y colegas preferirían administrar terapia de emergencia por vía intranasal. De manera análoga, entre los profesionales de atención de emergencia que con frecuencia son los primeros en ser llamados para tratar a un paciente que sufre un episodio de hipoglucemia grave, existe una preocupación importante con respecto a la vía de administración inyectada. Inherente al uso de objetos punzantes, existe el riesgo muy real de exposición accidental a la sangre y pinchazos con agujas y el posible asociado de contraer enfermedades infecciosas potencialmente mortales (Leiss J 2006). Dentro de este contexto, algunos profesionales de emergencias buscan activamente vías de administración no invasivas, incluidas la intranasal, como un medio para mejorar la atención del paciente de emergencia, aumentar la seguridad del paciente y del cuidador al tiempo que aumenta el grupo de profesionales sanitarios que pueden responder eficazmente a la emergencia (Curran, 2007).

Estas consideraciones dejan en claro que el enfoque actual para la administración de glucagón en situaciones de emergencia es insuficiente, y que existe una necesidad real de enfoques alternativos para administrar glucagón para tratar la hipoglucemia grave.

Se han propuesto varios enfoques para la administración de glucagón mediante administración intranasal, pero no han dado como resultado la disponibilidad de una alternativa aprobada para el glucagón inyectado. En general, estos enfoques se pueden dividir en dos grupos, los que usan administrar una formulación líquida y los que usan algún tipo de formulación seca.

Dentro del grupo de formulaciones líquidas, las composiciones utilizadas en Pontiroli (1983), Pontiroli (1985), Freychet (1988), Pontiroli (1989), Pontiroli (1993) y Pacchioni (1995) fueron formulaciones que necesitaban pulverizarse en la nariz. Más recientemente, Sibley y col., 2013, informaron el uso exitoso de lo que estaba destinado a ser glucagón inyectable mediante pulverización de la solución de glucagón reconstituida por vía intranasal en un paciente en un entorno fuera del hospital.

Debido a que el glucagón no es estable en estado líquido, las composiciones líquidas utilizadas en estos estudios debían reconstituirse inmediatamente antes de su uso y, por lo tanto, no son ideales para el uso de emergencia en el tratamiento de la hipoglucemia grave. Además, en muchos de estos estudios, los pacientes debían respirar profundamente inmediatamente después de la dosificación de estas composiciones. Dado que los pacientes con hipoglucemia grave a menudo están inconscientes o incluso comatosos, no se les puede pedir que respiren profundamente. Como tales, estas composiciones no son ideales para la administración intranasal para el tratamiento de la hipoglucemia grave, y no superan los desafíos de las formulaciones inyectables que implican el uso de una aguja por profesionales no médicos y deben prepararse antes de su uso.

Dentro del segundo grupo, la Patente de Estados Unidos N.º 5.059.587 desvela polvos para la administración nasal de péptidos fisiológicamente activos, incluido el glucagón. Estos polvos incluyen un ácido orgánico soluble en agua como promotor de absorción.

Jorgensen y col. 1991 desvelaron una "formulación en polvo de glucagón para administración nasal". Esta formulación se desvela como que contiene glucagón, didecilsulfatidilcolina (DDPC) y α -ciclodextrina (α -CD), y se informa que proporciona una respuesta dependiente de la dosis con respecto a los aumentos de glucosa en plasma y glucagón en plasma. No se desvelan cantidades composicionales ni procedimientos para elaborar la formulación en esta referencia.

La formulación de Jorgensen 1991 o HypoGon® Nasal (NovoNordisk) se identifica como el material utilizado en varios estudios posteriores, y en uno de estos informes se dice que la formulación tiene una composición de glucagón:DDPC: α -CD en una relación 5:10:85 en peso. En estos estudios, se informa que la administración intranasal a adultos de la formulación en polvo de Jorgensen 1991 muestra un aumento en la concentración de glucosa en plasma en adultos con hipoglucemia. En estos estudios, los niveles de glucosa aumentaron después de la dosificación para alcanzar una meseta aproximadamente 30 minutos después de la dosificación. Por el contrario, el tratamiento con glucagón inyectado en estos estudios dio como resultado niveles de glucosa que continuaron aumentando desde el momento de la administración durante al menos 90 minutos (Hvidberg, 1994; Rosenfalck, 1992). Se informa que la administración intranasal a niños con hipoglucemia de la formulación en polvo de Jorgensen 1991 aumenta la concentración de glucosa en plasma poco después de la dosificación a niveles máximos 25-30 minutos después de la dosificación, después de lo cual los niveles de glucosa disminuyeron. Por el contrario, el tratamiento de niños con glucagón inyectado dio como resultado niveles de glucosa en plasma que continuaron aumentando durante al menos

45 minutos (Stenninger, 1993).

Sakr, 1996 informa una comparación de formulaciones en aerosol y en polvo que contienen glucagón y dimetil- β -ciclodextrina (DM β CD). La pulverización nasal se preparó mediante la disolución de glucagón comercial en el "disolvente del fabricante" que contenía DM β CD al 2 o 5 % p/v. Los polvos se obtuvieron mediante liofilización de las soluciones de pulverización.

Teshima y col. (2002) encontraron que un aumento máximo de glucosa en plasma de 1,56 mmol/l (28,08 mg/dl) en voluntarios sanos tras la administración intranasal de un polvo que contiene glucagón y celulosa microcristalina en una relación de 1:69. También informaron que la forma de polvo es estable a 5 y 25 °C durante al menos 84 días. Para un producto intranasal en pacientes con hipoglucemia inducida por insulina, un aumento de solo 1,5 mmol/l puede ser inadecuado para devolver al paciente a los niveles normales de glucosa en sangre. Además, el volumen de polvo (es decir, 70 mg para una formulación de relación 1:69) es considerable y puede ser excesivo para su uso con los dispositivos disponibles.

Matilainen y col. (2008, 2009) investigaron la estabilidad en estado sólido y la disolución de polvos de glucagón/ γ -CD y glucagón/lactosa a una temperatura y/o humedad aumentadas durante hasta 39 semanas, siendo mejor la estabilidad en estado sólido del polvo de glucagón/ γ -CD. El polvo no se usó para administración intranasal.

Endo y col. (2005) informaron que el uso de eritritol como excipiente y como vehículo en un inhalador de glucagón en polvo seco para la administración pulmonar. El polvo se formuló mediante la mezcla de partículas de glucagón micronizadas y excipientes con partículas transportadoras más grandes. Para lograr la deposición alveolar para la posterior absorción sistémica, se redujo el tamaño de un inhalador de polvo seco (DPI, de sus siglas en inglés) de glucagón a un diámetro medio de masa entre 1 y 6 micrómetros, medido mediante análisis de difracción láser.

Onoue y col. (2009) informaron que la adición de ácido cítrico en el inhalador de polvo seco de glucagón para la inhalación pulmonar mejoró el comportamiento de disolución y no afectó la estabilidad en estado sólido. La administración intratraqueal de inhalador de polvo seco de glucagón (50 μ g/kg en ratas) que contiene ácido cítrico condujo a un efecto hiperglucémico 2,9 veces más potente en ratas, en comparación con el glucagón inhalado sin ácido cítrico. Las divulgaciones de Endo (2005) y Onoue (2009) presentan administración pulmonar de glucagón. Como los pacientes con hipoglucemia grave pueden estar inconscientes o severamente desorientados, no se puede esperar que respiren profundamente para asegurar la administración pulmonar. Como tal, la administración pulmonar de glucagón no es apropiada para el tratamiento de la hipoglucemia grave.

El documento WO 92/16196 desvela composiciones en polvo para administración intranasal de un agente fisiológicamente activo que contiene: (a) un éter alquílico inferior de celulosa, (b) una ciclodextrina o un derivado de la misma, y (c) un fosfolípido y, opcionalmente, excipientes tales como un tampón o un aglutinante. El documento US 2006/0074025 describe una formulación farmacéutica para la administración intranasal de la proteína 1 similar al glucagón (GLP-1, de sus siglas en inglés), que comprende una mezcla acuosa de GLP-1, un agente solubilizante, un quelante y un agente tensioactivo. El documento US 2011/0237510 desvela una formulación compuesta de un azúcar tal como la glucosa y un tensioactivo como la miristoil lisofosfolina (LMPC, de sus siglas en inglés) que está diseñada para estabilizar las porciones hidrófilas e hidrófobas de la molécula de glucagón.

A pesar de estos esfuerzos, no hay un producto actual disponible para pacientes que utilice un polvo nasal para administrar glucagón para el tratamiento de la hipoglucemia grave.

Es un objeto de la presente invención proporcionar dicha formulación de polvo nasal.

Sumario de la invención

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona una formulación en polvo de glucagón. Esta composición en polvo comprende glucagón β -ciclodextrina y un tensioactivo fosfolípido que es dodecilsfosfolina, y está formulada de manera que al menos una porción del polvo esté presente en una fase caracterizada por un mesopico de XRPD según lo determinado por difracción de rayos X en polvo. En realizaciones específicas adicionales, la composición en polvo consiste en:

- (a) 5 a 15 % en peso de glucagón;
- (b) 5 a 51 % en peso de tensioactivo fosfolípido;
- (c) 44 a 90 % en peso de β -ciclodextrina y
- (d) opcionalmente, hasta un 10 % en peso de un ácido orgánico de bajo peso molecular, o una sal de éster soluble en agua farmacéuticamente aceptable del mismo.

De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, se proporciona un aplicador nasal para una formulación en polvo. El aplicador incluye un depósito de formulación en polvo y una formulación en polvo de acuerdo con la invención contenida dentro del depósito

De acuerdo con un tercer aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento para preparar la formulación en polvo de la invención. Este procedimiento comprende las etapas de:

- (a) formar una primera mezcla del glucagón y el agente tensioactivo en un vehículo acuoso, en el que el tensioactivo está presente a una concentración mayor que o igual a la concentración crítica de micelas;
- (b) añadir la ciclodextrina a la primera mezcla para formar una segunda mezcla;
- (c) secar la segunda mezcla para formar una formulación sólida; y
- 5 (d) procesar la formulación sólida para producir un polvo uniforme, incluyendo dicho polvo uniforme al menos una porción del polvo en una fase caracterizada por un mesopico de XRPD. En realizaciones específicas, el secado de la segunda mezcla se puede llevar a cabo mediante liofilización o secado por pulverización de la segunda mezcla.

Breve descripción de los dibujos

- 10 **Figura 1:** Concentración de glucosa en plasma en mmol/l a lo largo del tiempo tras la administración intranasal a perros a una dosis de 1 mg de glucagón mediante una formulación en polvo con una relación en peso de glucagón:DPC:β-CD de 10:10:80.
- Figura 2:** Concentración de glucosa en plasma en mmol/l a lo largo del tiempo tras la administración intranasal a perros a una dosis de 1 mg de glucagón mediante una formulación en polvo con una relación en peso de glucagón:DDPC:β-CD de 10:10:80.
- 15 **Figura 3:** Concentración de glucosa en plasma en mmol/l a lo largo del tiempo tras la administración intranasal a perros a una dosis de 1 mg de glucagón mediante una formulación en polvo con una relación en peso de glucagón:LLPC:β-CD de 10:10:80.
- Figura 4:** Concentración de glucosa en plasma en mmol/l a lo largo del tiempo tras la administración intranasal a perros a una dosis de 750 μg de glucagón mediante una formulación en polvo con una relación en peso de glucagón:D8PC:β-CD de 10:10:80.
- 20 **Figura 5:** Concentración de glucosa en plasma en mmol/l a lo largo del tiempo tras la administración intranasal a una sola fosa nasal de perros a una dosis de 750 μg de glucagón mediante una formulación en polvo con una relación en peso de glucagón:DLPG:α-CD de 5:25:70. **Figura 6:** Difractogramas de rayos X en polvo de formulaciones en polvo de glucagón:DPC:β-CD y de glucagón-DDPC-β-CD en una relación en peso de 10:10:80.
- 25 **Figura 7:** Concentraciones promedio de glucosa en plasma en adultos con diabetes tipo 1 e hipoglucemia inducida por insulina tratadas con glucagón intranasal e inyectado.
- Figura 8A:** Concentraciones promedio de glucagón en plasma en niños, de 12 a 17 años, con diabetes tipo 1 tratada con glucagón intranasal e inyectado. La línea superior es intramuscular, la línea inferior es intranasal.
- 30 **Figura 8B:** Concentraciones promedio de glucosa en plasma en niños, de 12 a 17 años, con diabetes tipo 1 tratada con glucagón intranasal e inyectado. La línea superior es intramuscular, la línea inferior es intranasal.
- Figura 9A:** Concentraciones promedio de glucagón en plasma en adultos con (línea superior) y sin (línea inferior) congestión nasal, y con congestión y tratamiento previo con un descongestionante nasal (línea media).
- Figura 9B:** Concentraciones promedio de glucosa en plasma en adultos con (línea superior) y sin (línea inferior) congestión nasal, con congestión y tratamiento previo con un descongestionante nasal (línea media).
- 35 **Figura 10:** Dispositivo de aplicación ejemplar para formulaciones de polvo nasal (dispositivo Aptar).

Descripción detallada de la invención

Algunos de los atributos deseados para una formulación en polvo intranasal con potencial comercial se enumeran a continuación.

- Capacidad de administración de dosis uniforme mediante un dispositivo para administración intranasal
- 40 • Ausencia de una fracción significativa de partículas pequeñas para impedir la administración accidental a los pulmones
- Contenido del fármaco adecuado para proporcionar la dosis total de fármaco requerido para lograr el efecto terapéutico como una dosis única en una sola fosa nasal
- 45 • Contenido del fármaco adecuado para administrar la dosis total en unas pocas decenas de miligramos, o el máximo permitido por el dispositivo de administración
- El contenido adecuado del fármaco y las características de absorción deben ser eficaces a pesar de la presencia de congestión nasal, que puede estar asociada con alergias o resfriado común
- Estabilidad durante el almacenamiento en condiciones ambientales durante un período de tiempo prolongado, preferentemente al menos 18 meses
- 50 • Buen perfil de seguridad y tolerabilidad

Los intentos anteriores para desarrollar una formulación intranasal en polvo no alcanzan uno o varios de los atributos deseados.

Las composiciones descritas en la presente invención están diseñadas para cumplir algunos y, preferentemente, todos

estos atributos deseados en composiciones que tienen tres componentes requeridos: glucagón, β -ciclodextrina y un tensioactivo fosfolípido que es dodecilsfosfolina.

Glucagón y análogos de glucagón

5 Como se usa en la especificación y las reivindicaciones de esta solicitud, "glucagón" se refiere a un polipéptido de la secuencia

His-Ser-Gln-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Tyr-Ser-Lys-Tyr-Leu-Asp-Ser-Arg-Arg-Ala-Gln-Asp-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr (SEQ ID NO: 1).

10 El glucagón puede sintetizarse químicamente, producirse mediante tecnología de ADN recombinante o extraerse de fuentes naturales. La expresión "análogo de glucagón" se refiere a variantes de esta secuencia que retienen la capacidad de estimular el aumento de la glucosa en sangre *in vivo* pero que pueden ofrecer beneficios para usos farmacéuticos, tales como mayor actividad, mayor solubilidad o mayor estabilidad.

15 En Chabenne y col., (2014) se desvelan ejemplos de análogos de glucagón en los que un aminoácido de la secuencia natural se reemplaza con una alanina, así como análogos con múltiples sustituciones. Un análogo ejemplar en el que se modifican tres aminoácidos para dar como resultado un análogo de glucagón con actividad biológica mejorada es [Lys^{17,18}, Glu²¹] glucagón. Zealand Pharma ha desvelado una multitud de análogos de glucagón, por ejemplo, en las publicaciones de Patentes de EE.UU. 20140080757, 2014001733, 20130316941, 20130157935, 20130157929, 20120178670, 20110293586, 20110286982, 20110286981 y 20100204105. Se informa que estos análogos tienen una mayor afinidad de unión por el receptor GLP que el receptor de glucagón, pero no obstante retienen la actividad del glucagón. Zealand Pharma también ha comenzado ensayos clínicos de un análogo de glucagón para el tratamiento de la hipoglucemia designado como ZP4207. La publicación de Patente de EE.UU. 20130053310 desvela otros análogos de glucagón útiles en el tratamiento de la hipoglucemia.

Tensioactivos fosfolípidos

25 Los fosfolípidos son componentes ubicuos de las membranas biológicas que forman parte de las células y los tejidos del cuerpo humano, incluida la mucosa nasal. Los tensioactivos fosfolípidos más prevalentes en la célula son las fosfatidilcolinas y las fosfolinas (PC, de sus siglas en inglés), aunque los fosfatidilglicerol (PG, de sus siglas en inglés) son componentes importantes de las membranas biológicas.

30 Se pueden usar PC y PG en las formulaciones desveladas en el presente documento. También se pueden usar lisofosfolípidos procedentes de una PC o PG de diacilo mediante la eliminación de uno de los grupos acilo. Los fosfolípidos preferidos son solubles en agua o agua acidificada, aunque podría usarse un codisolvente farmacéuticamente aceptable tal como etanol, dimetilsulfóxido o N-metilpirrolidona si fuera necesario para mejorar la solubilidad de los fosfolípidos.

35 Los ejemplos de tensioactivos fosfolípidos son dodecilsfosfolina (DPC, de sus siglas en inglés), 1,2-didecil-*sn*-glicero-3-fosfolina (DDPC (de sus siglas en inglés) o "didecilsfosfatidilcolina"), 1-didecanoil-*sn*-glicero-3-fosfolina (LLPC (de sus siglas en inglés) o "lisoilauroilfosfatidilcolina"), 1,2-dioctanoil-*sn*-glicero-3-fosfolina (D8PC (de sus siglas en inglés) o "dioctanoilfosfatidilcolina") y 1,2-dilauroil-*sn*-glicero-3-fosfo(1'-*rac*-glicerol) (DLPG (de sus siglas en inglés) o "dilauroilfosfatidilglicerol").

Los tensioactivos fosfolípidos preferidos son aquellos que forman micelas, en lugar de bicapas a la concentración utilizada durante la fabricación de la formulación en polvo. Esto incluye DPC, DDPC, LLPC y D8PC, pero no DLPG.

40 En general, la formación de micelas en oposición a las bicapas se puede predecir en función de la estructura de los tensioactivos fosfolípidos, que están formados por dos o tres partes: un grupo principal de colina o glicerol que contiene fósforo, una cadena principal de glicerol opcional y una o dos cadenas de acilo. La longitud de la cadena de acilo y el número de cadenas de acilo por molécula son importantes para determinar si determinado fosfolípido forma una micela o una bicapa. Cuando solo está presente una cadena de acilo, como en DPC y LLPC que tienen 12 carbonos en su única cadena de acilo, es probable que se formen micelas en lugar de bicapas, siempre que la longitud de la cadena de acilo sea inferior a 14. Los fosfolípidos de diacilo contienen dos cadenas de acilo por molécula. Cuando la longitud de la cadena de cada cadena es inferior a 12, tienden a formar micelas. DLPG, DDPC y D8PC son diacilsfosfolípidos. DLPG contiene 12 carbonos por cadena de acilo y forma bicapas. DDPC contiene 10 carbonos por cadena de acilo. Forma bicapas o micelas dependiendo de la concentración (Marsh, 1990). D8PC contiene 8 carbonos por cadena de acilo y forma principalmente micelas.

50 En realizaciones específicas de la invención, la formulación contiene un solo tipo de tensioactivo fosfolípido. En otras realizaciones, el componente tensioactivo fosfolípido de la formulación puede estar compuesto de mezclas de tensioactivos fosfolípidos, que incluyen, por ejemplo, una combinación de dos, tres o cuatro de los tensioactivos identificados anteriormente.

Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas como clase se componen de 5 o más unidades de α -D-glucopiranosido unidas 1- \rightarrow 4, como en la amilosa (almidón). Como se usa en esta solicitud, sin embargo, el término " ciclodextrinas " se refiere a las ciclodextrinas más comunes y típicas que contienen seis, siete u ocho restos de glucosa en el anillo creando una forma de cono, a saber:

- 5 • α (**alfa**)-**ciclodextrina**: molécula de anillo de azúcar de 6 miembros
- β (**beta**)-**ciclodextrina**: molécula de anillo de azúcar de 7 miembros
- γ (**gamma**)-**ciclodextrina**: molécula de anillo de azúcar de 8 miembros

La α -CD se utilizó en la formulación en polvo (HypoGon® Nasal) por Novo Nordisk en ensayos clínicos (Stenniger y Aman, 1993; Rosenfalck, 1992). Se informa que la solubilidad acuosa de α -CD es de aproximadamente 5 % en peso.

- 10 Otras dos ciclodextrinas, una con solubilidad acuosa inferior a la de α -CD (β -CD, 1,85 % en peso) y otra con una solubilidad acuosa superior a la de α -CD (HP- β -CD) también son adecuadas para su uso en las composiciones de la invención, como es γ (gamma) -ciclodextrina que es fácilmente soluble en agua.

- 15 Las ciclodextrinas en las composiciones de la invención actúan como un material de relleno, y también se adhieren a la superficie de la mucosa nasal y ayudan a la absorción de glucagón. Tras la administración a la fosa nasal, el ingrediente principal (de un 90 % a un 70 % en peso), a saber, la ciclodextrina ayuda a que el polvo se adhiera a la superficie de la mucosa. Cuanto menos soluble sea la ciclodextrina, más tiempo se espera que el polvo sea físicamente mucoadhesivo. En base a las propiedades de solubilidad de las ciclodextrinas, se espera que la mucoadhesividad disminuya en el orden β -CD > α -CD > HP- β -CD. Debido a esto, el material de relleno más preferido es β -CD.

Las ciclodextrinas de la invención pueden usarse individualmente, o como mezclas de dos o más ciclodextrinas.

20 Formulación de polvo

La formulación en polvo de la invención contiene los tres ingredientes, el glucagón, el tensioactivo fosfolípido y la ciclodextrina en cantidades que son eficaces para proporcionar una cantidad terapéutica de glucagón en una cantidad de polvo que se puede administrar en una sola dosis en una sola fosa nasal. En realizaciones específicas, la formulación en polvo consiste en:

- 25 (a) 5 a 15 % en peso de glucagón;
- (b) 5 a 51 % en peso de tensioactivo fosfolípido;
- (c) 44 a 90 % en peso de β -ciclodextrina y
- (d) opcionalmente, hasta un 10 % en peso de un ácido orgánico de bajo peso molecular, o una sal de éster soluble en agua farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 30 Como se refleja en los ejemplos a continuación, las formulaciones en polvo de este tipo tienen excelentes propiedades cuando se usan para administrar glucagón por vía intranasal, sin embargo, un conjunto similar de ingredientes en el producto Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992/HypoGon® Nasal no proporcionó resultados comparables y aparentemente se abandonó después de realizar pruebas iniciales en sujetos humanos.

- 35 Basado en las diversas descripciones en la materia, se cree que el producto Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992/HypoGon® Nasal contenía glucagón, DDPC y alfa-CD en una relación en peso de 5:10:85. No se proporciona información sobre cómo se combinaron estos ingredientes. Por lo tanto, no es posible una comparación directa de esta formulación con la formulación de la invención. Sin embargo, los datos disponibles para cada formulación ilustran el hecho de que las formulaciones son diferentes. Es importante destacar que la formulación descrita en Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992 se administró en una dosis dividida con la mitad de la dosis administrada en cada fosa nasal.
- 40 Si bien esto puede realizarse con relativa facilidad en un entorno de investigación clínica, en condiciones de uso práctico, esto complica significativamente el tratamiento de rescate para los cuidadores no médicos en el tratamiento de un episodio de hipoglucemia grave, ya que requeriría la administración de dos dosis de medicamentos de rescate. También se informa de estornudos en el 50 % de los pacientes tratados, una tasa mucho más alta que la observada (menos del 2 %) con la formulación descrita en la presente invención.

- 45 Se informa que la administración intranasal a adultos de la formulación en polvo de Jorgensen 1991 muestra un aumento en la concentración de glucosa en plasma en adultos con hipoglucemia. En adultos sanos con hipoglucemia inducida por insulina, los niveles de glucosa aumentaron después de la dosificación para alcanzar una meseta aproximadamente 45 minutos después de la dosificación. Por el contrario, el tratamiento con glucagón inyectado en este estudio dio como resultado niveles de glucosa que continuaron aumentando desde el momento de la administración durante al menos 90 minutos (Hvidberg, 1994). En otro estudio realizado con adultos con diabetes tipo 1 e hipoglucemia inducida por insulina, los niveles de glucosa aumentaron después de la dosificación para alcanzar una meseta aproximadamente 30 minutos después de la dosificación intranasal, en comparación con al menos 90 minutos para el glucagón inyectado (Rosenfalck, 1992).

A diferencia del perfil de glucosa observado con la formulación de Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992, los datos generados con la formulación en polvo descrita en la presente invención muestran que las concentraciones de glucosa en plasma continúan aumentando durante al menos 90 minutos después de la dosificación (Figura 7, línea inferior). Tal como muestra, esto es comparable al resultado obtenido con glucagón intramuscular durante el mismo período de tiempo (Figura 7, línea superior).

Se informa que la administración intranasal a niños con diabetes tipo 1 con hipoglucemia inducida de la formulación en polvo de Jorgensen 1991/Rosenfalk 1992 aumenta la concentración de glucosa en plasma poco después de la dosificación a niveles máximos 25-30 minutos después de la dosificación, después de lo cual los niveles de glucosa disminuyeron, en comparación con los niveles de glucosa en plasma que continuaron aumentando durante al menos 45 minutos después de la inyección SC (Stenninger, 1993). Los valores máximos de glucagón después del tratamiento ocurrieron aproximadamente 10 minutos después de la administración intranasal (Rosenfalck 1992; Stenninger 1993). A diferencia del perfil de glucosa observado con la formulación de Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992, los datos generados en niños (12-<17 años) con la formulación en polvo descrita en la presente invención muestran concentraciones de glucosa en plasma que continúan aumentando durante al menos 60 minutos después de la dosificación (Figura 8B). Además, las concentraciones máximas de glucagón en plasma no se produjeron hasta aproximadamente 20 minutos después de la dosificación (Figura 8A).

Dado que los episodios de hipoglucemia grave son impredecibles y podrían ocurrir en personas que usan insulina y están afectadas por congestión nasal, se realizó un estudio para evaluar la PK y la PD de la formulación en polvo inventada en esta situación. Como se describe en el Experimento 11 y se muestra en las Figuras 9A y 9B, la farmacocinética y la farmacodinámica resultantes del tratamiento con el polvo nasal de la presente invención no se ven afectadas negativamente por la congestión nasal. Esto apoya la utilidad de la presente invención para tratar episodios de hipoglucemia grave en personas que pueden estar padeciendo congestión nasal. Como se observó en personas sin congestión nasal, el tiempo para alcanzar los niveles máximos de glucagón en plasma fue de aproximadamente 20 minutos después de la dosificación. Nunca se ha informado que los datos indiquen si la formulación de Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992 se puede usar o no en el tratamiento de una persona con congestión nasal que podría verse en personas que padecen un resfriado común o rinitis alérgica estacional.

Los solicitantes creen que estas diferencias en los resultados surgen de una diferencia estructural entre la formulación de polvo reivindicada y el polvo de Jorgensen 1991/Rosenfalck 1992. Como se discute a continuación, la solubilización conjunta de los componentes de fosfolípidos y ciclodextrina seguida de secado y formación de polvo da como resultado la formación de alguna estructura que tiene un máximo de XRPD característico que está ausente de cualquier material solo. Este máximo se retiene cuando se añade glucagón a la composición. Sin estar sujeto a ninguna teoría en particular, se cree que el glucagón o análogo del glucagón se asocia con el fosfolípido micelar en solución y mantiene cierta asociación después del secado, aunque sin alterar la estructura formada por el fosfolípido y la ciclodextrina, y que esta asociación presenta mejor el glucagón para la absorción nasal. Por lo tanto, la formulación en polvo reivindicada no es simplemente una mezcla de los tres componentes, sino que contiene una estructura física única que es detectable a través de técnicas de difracción de rayos X en polvo.

Esta comprensión de la estructura de la formulación de la invención es coherente con la información conocida sobre la interacción del glucagón con los tensioactivos fosfolípidos. El glucagón forma estructuras complejas en una relación molar de aproximadamente 55:1 de fosfolípido:glucagón (Epanand y Sturtevant, 1982). También se ha demostrado que el glucagón puede unirse a 50 moléculas de fosfolípidos, y que 20 de ellas están estrechamente unidos (Epanand y Sturtevant, 1981). Boesch y col. (1980) y Brown y col. (1981) informan que la conformación del glucagón unido a varios lípidos micelares, incluido la DPC, es, en gran medida, independiente del tipo de lípido. La conformación se describe como bien definida y predominantemente extendida. La estequiometría del complejo DPC:glucagón se informó como 40:1. También se sugiere que la conformación del glucagón unido a las micelas es muy similar a la del glucagón unido a las bicapas lipídicas.

La relación molar de fosfolípido (DPC, DDPC, LLPC, D8PC o DLPG): glucagón en una relación en peso de 10:10 como en algunas de las formulaciones preferidas entre 6:1 y 10:1, sugiere que los fosfolípidos están muy unidos al glucagón en las formulaciones intranasales en polvo.

Los estudios de difracción de rayos X en polvo sobre la formulación en polvo de la presente invención muestran claramente la presencia de valores máximos que probablemente estén asociados con una estructura micelar o mesofásica en la formulación. Estos valores máximos se caracterizan por ángulos de difracción bajos ($6,6^\circ 2\theta$ para DPC y $7,3^\circ 2\theta$ para DDPC). (Figura 6) Estos mismos valores máximos se ven en muestras en las que el glucagón no está incluido, y se hace referencia en esta solicitud como "mesopicos de XRPD". Este mesopico de XRPD es característico de las formulaciones en polvo de la invención.

La Figura 6 presenta resultados de difracción de rayos X en polvo superpuestos para composiciones de glucagón-DPC- β -ciclodextrina (Archivo 474320) y glucagón-DDPC- β -ciclodextrina (Archivo 407476). El patrón de difracción retiene valores máximos de ángulo alto consistentes con la presencia de ciclodextrina cristalina (por ejemplo, el máximo 61 a alrededor de $18-20^\circ -2\theta$), lo cual no es inesperado ya que la ciclodextrina está presente en un exceso sustancial en relación con el fosfolípido y el glucagón. Además, cada patrón tiene un valor máximo de ángulo de difracción bajo a $6,6$ y $7,3^\circ -2\theta$, respectivamente. Estos valores máximos también están presentes en muestras sin

- glucagón que se obtienen solubilizando el fosfolípido a concentraciones de formación de micelas, agregando la ciclodextrina y luego secando la solución resultante. Como se usa en esta solicitud, la afirmación de que "al menos una porción del polvo está presente en una fase caracterizada por un mesopico de XRPD según lo determinado por la difracción de rayos X en polvo" indica que los valores máximos de ángulo bajo son detectables en el difractograma de rayos X en polvo, y claramente distinguible del ruido de la medición. En realizaciones preferidas, el tamaño del mesopico de XRPD (según lo determinado por la altura del valor máximo) es aproximadamente un 30 % de la altura del valor máximo a aproximadamente $18-20^\circ -2\theta$ (como en el patrón para el Archivo 407476 en la Figura 6) o mayor, y puede ser aproximadamente igual a la altura de este valor máximo (como en el patrón para el Archivo 474320 en la Figura 6).
- Se ha observado la formación de una fase caracterizada por un mesopico de XRPD en muestras con y sin glucagón, y utilizando diferentes formulaciones y técnicas de secado. Se ha observado que puede ocurrir alguna variación en la forma y posición del mesopico de XRPD dependiendo de las condiciones de secado. Por ejemplo, se observó la liofilización de grandes cantidades que conduce a una capa congelada más gruesa y tiempos de secado más largos en un experimento que condujo a la formación de dos mesopicos de XRPD ensanchados y superpuestos.
- Un beneficio adicional de la presente invención es su utilidad como tratamiento de emergencia, incluso en condiciones ambientales extremas, particularmente en condiciones de frío. La formulación de la invención permanece directamente utilizable incluso cuando la temperatura está por debajo del punto de congelación y las pruebas han demostrado que el polvo almacenado a -20°C se puede usar directamente con una administración y absorción aceptables de glucagón. Por el contrario, los kits de emergencia que contienen un vehículo líquido para la reconstitución del glucagón antes de su uso deben mantenerse por encima del punto de congelación del vehículo. De manera análoga, las soluciones de glucagón también deben mantenerse por encima del punto de congelación de la solución, que estará a una temperatura más alta si se usa un disolvente como DMSO para proporcionar estabilidad a la solución.

Procedimiento de preparación de las composiciones de la invención

- Un aspecto adicional de la presente invención es un procedimiento para preparar una formulación en polvo que tiene actividad glucagón que comprende glucagón, una ciclodextrina y un tensioactivo fosfolípido en el que al menos una porción del polvo está presente en una fase caracterizada por un mesopico de XRPD según lo determinado por difracción de rayos X en polvo. El procedimiento comprende las etapas de
- formar una primera mezcla del glucagón y el agente tensioactivo en un vehículo acuoso, en el que el tensioactivo está presente a una concentración mayor que o igual a la concentración crítica de micelas;
 - añadir la ciclodextrina a la primera mezcla para formar una segunda mezcla;
 - secar la segunda mezcla para formar una formulación sólida; y
 - procesar la formulación sólida para producir un polvo uniforme, incluyendo dicho polvo uniforme al menos una porción del polvo en una fase caracterizada por un mesopico de XRPD.

La etapa a, formación de una primera mezcla, se puede lograr mediante la adición de glucagón a un disolvente, por ejemplo, agua, y luego la adición del tensioactivo. Alternativamente, el tensioactivo puede solubilizarse primero seguido de la adición de glucagón. Los dos componentes de la mezcla también pueden solubilizarse individualmente y luego combinarse para formar la primera mezcla.

Preferentemente, el disolvente se acidifica a un pH de 4 o menos para mejorar la solubilidad del glucagón. La acidificación se puede lograr con un ácido mineral, tal como HCl, ácido fosfórico o ácido sulfúrico, o un ácido orgánico tal como ácido acético, ácido cítrico, ácido glicólico o ácido láctico, o usando una combinación de un ácido mineral y un ácido orgánico. En formulaciones preferidas, el ácido es ácido acético.

La cantidad de disolvente utilizada para formar la primera mezcla es suficiente para solubilizar el glucagón y el tensioactivo fosfolípido en la primera mezcla. Se puede usar un exceso de disolvente, aunque los excesos grandes aumentan la cantidad de tiempo y energía necesarios en la etapa de secado y, por lo tanto, no se prefieren.

La ciclodextrina se puede añadir a la primera mezcla como un sólido, o en un disolvente, tal como agua para formar la segunda mezcla. La mezcla se puede llevar a cabo mediante procedimientos que incluyen la mezcla estática y dinámica. La mezcla dinámica se puede hacer mediante el uso de una hélice insertada en el líquido, que está unida a un eje y rotada por un motor. La mezcla estática se puede llevar a cabo haciendo fluir el líquido a través de una ruta tortuosa dentro de un mezclador estático. La presencia de una interfaz aire-agua durante la mezcla en condiciones de mezcla de alta velocidad puede dar como resultado la formación de espuma. La mezcla a alta velocidad también puede, a su vez, dar como resultado la desestabilización de la proteína debido al esfuerzo de cizallamiento. Para minimizar la formación de espuma y, preferentemente, eliminarla, se prefieren condiciones de mezcla a baja velocidad. En el caso de la mezcla dinámica, la velocidad está determinada por las revoluciones por minuto (rpm) del agitador. Los valores de rpm preferidos están entre 100 y 1000. En el caso de la mezcla estática, las condiciones de bajo cizallamiento se obtienen mediante la selección de una bomba que permita un flujo no laminar.

La segunda mezcla se seca para eliminar el disolvente (por ejemplo, agua) y dejar un producto sólido. El secado se puede realizar mediante liofilización, secado por pulverización, secado en bandeja u otras técnicas. Las características físicas macroscópicas del producto variarán dependiendo de la técnica de secado, y pueden estar en forma de un sólido escamoso de liofilización o una torta sólida seca. Independientemente del procedimiento utilizado en el secado, la eliminación del exceso de agua de la formulación tiene efectos importantes sobre las características y la estabilidad del polvo.

Los polvos con un contenido de humedad excesivo pueden ser pegajosos y formar aglomeraciones que dan como resultado un polvo que es difícil de manipular para llenar un dispositivo de administración. Es importante destacar que el nivel de contenido de agua residual tiene un impacto directo en la estabilidad. En el caso del glucagón, se entiende bien que la estabilidad y las características físicas se ven afectadas negativamente por el agua. De manera específica, en presencia de exceso de agua, el glucagón forma fibrillas amiloides que afectan negativamente la estabilidad y el perfil de toxicidad del glucagón. (Pederson 2010). Debido a esta propensión a formar fibrillas amiloides, los productos de glucagón disponibles actualmente se suministran como un polvo para disolver en agua inmediatamente antes de su uso. El agua también puede afectar negativamente la estabilidad del glucagón debido a la hidrólisis, oxidación y desamidación. Con este fin, los datos generados con las formulaciones de la invención indican que los niveles de contenido de humedad residual superiores al 5 % en el polvo a granel dan como resultado una estabilidad reducida en comparación con el polvo con un contenido de agua residual inferior al 5 %. Los polvos adecuados para administración nasal, por lo tanto, normalmente tienen niveles de contenido de agua residual por debajo del 5 %.

Los polvos adecuados para administración nasal normalmente tienen distribuciones de tamaño de partícula de modo que la mayoría de las partículas son mayores de aproximadamente 10 micrómetros y menores de aproximadamente 1000 µm. Preferentemente, las distribuciones de tamaño de partícula serán tales que el D10 esté dentro del intervalo de 3-75 µm, el D50 esté dentro del intervalo de 15 a 450 µm, y el D90 esté dentro del intervalo de 80-1000 µm, con un lapso de 1,5 a 15.

Los polvos adecuados para la administración nasal requieren características físicas que permitan una fluidez adecuada para permitir su llenado en un dispositivo de descarga nasal. La fluidez está determinada por varios parámetros, que incluyen el tamaño de partícula, forma, densidad, textura superficial, área superficial, densidad, cohesión, adhesión, elasticidad, porosidad, higroscopicidad y friabilidad.

Los polvos con el tamaño de partícula apropiado y las características de fluidez pueden producirse procesando el polvo a granel para eliminar partículas que son demasiado pequeñas o demasiado grandes. Los procedimientos para procesar el polvo a granel para eliminar las partículas que son demasiado pequeñas o demasiado grandes pueden incluir moler el polvo a granel para romper partículas más grandes y tamizar para aislar las partículas del intervalo de tamaño de partícula deseado. Se pueden realizar varios procedimientos de tamizado, incluido el tamizado por lanzamiento, el tamizado horizontal, el tamizado por percusión, el tamizado supersónico y el tamizado por chorro circular de aire. Los tamices pueden usarse como tamices individuales de una abertura nominal fija o el polvo a granel puede procesarse a través de una serie de tamices de aberturas progresivamente más pequeñas para obtener la distribución deseada del tamaño de partícula. Los tamices pueden ser tamices de malla de alambre tejido con aberturas nominales que varían de 25 a 1000 µm.

El patrón de pulverización y la geometría de la columna resultante de la administración del polvo con un dispositivo de administración de polvo nasal son características importantes que rigen el área de superficie sobre la cual se deposita el polvo nasal dentro de la cavidad nasal. Las características adecuadas del patrón de pulverización incluyen un diámetro mínimo (D_{mín}) de 5 a 25 mm, un diámetro máximo (D_{máx}) de 10 a 60 mm y una relación de ovalidad de 0,5 a 6. Los patrones de pulverización específicos observados para las formulaciones de la invención se resumen en la siguiente Tabla

Patrón de pulverización					
D _{mín} (mm)		D _{máx} (mm)		Relación de ovalidad	
(mín/máx)	(media)	(mín/máx)	(media)	(mín/máx)	(media)
10,7-21,9	13,9	14,5-42,9	23,6	1,1-3,6	1,7

Las características de geometría de columna adecuadas incluyen un ángulo de pulverización que se encuentra dentro del intervalo de 20 a 75 ° y un ancho de columna que se encuentra dentro del intervalo de 10 a 50 mm. La siguiente tabla resume la información de geometría de columna para múltiples lotes de polvo de acuerdo con la invención.

Geometría de columna			
Ángulo de pulverización (°)		Ancho de columna (mm)	
(mín/máx)	(media)	(mín/máx)	(media)
28,31-65,2	44,8	15,2-38,4	25,0

Administración de y aplicadores para la composición de la invención

Si bien cualquier metodología para introducir el polvo en la nariz de un usuario puede utilizarse en el procedimiento

de la invención, la composición de polvo de la invención se proporciona adecuadamente en un aplicador nasal diseñado específicamente para mantener el polvo en un estado limpio, seco y utilizable hasta su uso y, luego, administrar el polvo a la mucosa nasal de un usuario. Dichos aplicadores son conocidos en la materia, y generalmente tienen un depósito para la formulación de polvo, y una formulación en polvo contenida dentro del depósito, y un mecanismo para expulsar la formulación en polvo del depósito a través de una boquilla que se puede recibir dentro de una fosa nasal.

El aplicador se selecciona para poder proporcionar suficiente formulación en polvo en una única insuflación/administración para proporcionar una dosis terapéutica. Se requieren depósitos y capacidad de administración más grandes para los polvos con porcentajes más bajos de glucagón en la formulación, mientras que los depósitos y la capacidad de administración más pequeños se pueden usar con formulaciones con porcentajes más altos.

Los dispositivos de administración adecuados específicos se desvelan en las Patentes de EE.UU. n.º 6.398.074 y 6.938.798. La Figura 10 está tomada de la Patente '074 para ilustrar un dispositivo adecuado. En la Figura 10, el depósito 810 contiene una dosis única de una formulación de acuerdo con la presente invención. El depósito 810 tiene una entrada 811 de aire y una salida 815 de producto. Un dispositivo 812 y/u 813 de retención de producto está dispuesto en la entrada 811 de aire para mantener el producto en el depósito 810 hasta la dispensación del producto. La salida 815 del producto está bloqueada, preferentemente, de forma sellada, por una bola 816 de cierre que se retira de su posición de bloqueo mediante el flujo de aire cuando se dispensa el producto.

Cuando un usuario acciona el dispositivo, ejerce una presión sobre el émbolo 825 de tal manera que el pistón 821 comprime el aire contenido en la cámara 822 del chorro de aire 820. Como la rejilla 812 es permeable al aire, la compresión del aire en la cámara 822 se transmite al depósito 810 y, en consecuencia, se aplica a la bola 816 de cierre que bloquea la salida 815 del producto. Las dimensiones de la bola 816 de cierre y su fijación en la salida 815 del producto del depósito son tales que la bola 816 se retira de su posición de bloqueo, cuando se crea una presión predeterminada mínima a través del depósito 810 en dicho chorro de aire 820. Por lo tanto, cuando se alcanza esta presión mínima, la bola se mueve repentinamente hacia el canal de salida 840 del dispositivo y el flujo de aire creado por el chorro de aire 820 expulsa toda la dosis contenida en el depósito 810. La compresión previa creada por esta bola 816 de cierre asegura que cuando se retira de su posición de bloqueo, la energía acumulada en la mano del usuario es tal que el pistón 821 integral con el émbolo 825 es impulsado dentro de la cámara 822 creando así un flujo de aire potente, es decir, un flujo de aire adecuado para pulverizar finamente la dosis del producto y, en particular, para eliminar los aglomerados del producto si es un producto en polvo.

Otro ejemplo de un dispositivo aplicador adecuado para su uso en combinación con la composición en polvo de la invención es el desvelado en la publicación de Patente de EE.UU. n.º 20110045088. El dispositivo que se muestra en la Patente de EE.UU. n.º 7.722.566 también podría usarse, particularmente como se muestra en las Figuras 1 y 7 de la misma, ya que no se requiere la administración en ambas fosas nasales usando el polvo de la invención.

Todavía se conocen ejemplos adicionales de dispositivos aplicadores para la administración nasal de una composición en polvo a partir del documento WO2014004400 y la Patente de EE.UU. n.º 5.702.362.

EXPERIMENTACIÓN

Ejemplo 1

El glucagón, la DPC y la α -CD, β -CD o HP- β -CD se disolvieron en una solución de HCl 0,01 N o 0,1 N. Las formulaciones también se prepararon con ácido acético 1 M o ácido acético 0,5 M. La relación en peso de glucagón:DPC:ciclodextrina varió de 5:10:75 a 10:20:70. En dos experimentos separados, se añadió citrato de sodio o ácido cítrico como aditivo. El polvo liofilizado se empaquetó en un dispositivo para su administración a la fosa nasal. El polvo se administró a perros Beagle por vía intranasal a una dosis de 500 μ g, 750 μ g o 1000 μ g. El polvo se administró a 3 o 6 perros por grupo. La concentración de glucosa en plasma se midió usando un glucómetro. Las concentraciones de glucosa en plasma antes de la administración (0 min) y 5, 10, 20, 30, 40 y 60 minutos después de la administración nasal se muestran en la Tabla 1. En la Tabla 1, Relación se refiere a la relación de glucagón:DPC:ciclodextrina, o a la relación de glucagón:DPC:ciclodextrina:aditivo.

Tabla 1. Concentraciones medias de glucosa en plasma (mmol/l) en el perro Beagle después de la administración intranasal de composiciones de glucagón:DPC:CD.

Relación	CD	Dosis por fosa nasal (µg)	Fosas nasales	Ácido	Aditivo	Concentración de glucosa en plasma (mmol/l)							
						0 min	5 min	10 min	20 min	30 min	40 min	60 min	
5:25:70	α-CD	500	1	HCl	Ninguno	3,7	3,4	6,1	6,3	6,3	3,6	2,4	3,4
5:25:70	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	3,7	3,7	4,4	4,7	4,7	6,9	5,0	3,8
5:25:70	α-CD	1000	1	HCl 0,1 N	Ninguno	3,7	3,9	4,8	7,9	5,8	3,5	3,5	3,2
5:25:70	α-CD	500	2	HCl 0,1 N	Ninguno	3,3	3,3	3,7	4,1	4,0	3,2	3,2	3,5
5:40:55	α-CD	500	1	HCl 0,1 N	Ninguno	3,7	3,6	3,8	3,8	3,5	4,2	4,2	4,2
5:40:55	α-CD	1000	1	HCl 0,1 N	Ninguno	3,6	3,6	4,3	6,7	5,1	3,8	3,8	3,2
5:25:70	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	3,7	3,5	4,2	4,3	4,3	4,1	4,1	4,0
10:30:60	HP-β-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	3,7	4,2	5,2	5,4	5,0	4,4	4,4	3,9
10:30:60	HP-β-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	3,4	4,2	5,2	5,1	4,9	4,0	4,0	3,7
10:70:10:10	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ácido cítrico	3,6	5,2	6,0	6,2	5,9	4,5	4,5	3,3
10:70:10:10	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Citrato de sodio	3,7	5,4	6,6	6,3	5,5	4,4	4,4	3,9
10:10:80	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	3,8	5,6	7,3	9,0	8,0	6,0	6,0	3,1
10:10:80	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	4,0	4,1	5,1	5,6	6,1	6,1	6,1	5,7
5:10:85	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	3,9	3,8	4,4	4,2	4,1	4,0	4,0	4,0
10:10:80	β-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	3,8	4,7	7,0	7,7	8,1	6,7	5,2	4,0
10:10:80	α-CD	600	1	HCl 0,01 N	Ninguno	4,0	4,3	5,7	5,6	5,5	4,6	4,6	4,0
10:10:80	β-CD	750	1	HCl 0,01 N	Ninguno	4,5	5,1	6,6	7,2	6,8	5,5	4,8	4,8
10:10:80	β-CD	600	1	HCl 0,01 N	Ninguno	4,0	4,3	5,4	4,9	4,9	3,6	3,6	3,7
10:10:80	β-CD	1000	1	HCl 0,01 N	Ninguno	4,4	7,4	8,7	8,8	8,1	5,9	4,6	4,6
10:10:80	β-CD	750	1	HCl 0,01 N	Ninguno	4,4	5,4	6,8	6,1	5,1	4,0	4,0	4,0
10:10:80	β-CD	500	1	HCl 0,01 N	Ninguno	4,4	5,4	7,3	6,6	6,1	4,9	4,3	4,3
10:10:80	β-CD	500	1	Ácido acético 1 M	Ninguno	4,40	5,08	6,00	5,80	5,17	4,65	4,53	4,53
10:10:80	β-CD	1000	1	Ácido acético 1 M	Ninguno	3,80	5,08	8,22	9,74	10,0	7,96	6,44	6,44
10:10:80	β-CD	2000	1	Ácido acético 1 M	Ninguno	4,23	6,50	10,2	12,3	12,7	11,2	8,85	8,85

5 Todas las composiciones (preparadas con diferentes concentraciones de ácido, diferentes ácidos, diferentes relaciones de los tres ingredientes, en presencia de ácido cítrico o citrato de sodio, diferentes dosis, administradas en una fosa nasal o en ambas fosas nasales) muestran un aumento en la concentración de glucosa en plasma durante hasta 10 a 30 minutos, seguido de una disminución a los 40 minutos, y seguido de una disminución adicional a los 60 minutos. Como ejemplo, en la Figura 1 se muestran los resultados de una composición 10:10:80 con β -CD y HCl 0,01 N administrado a una dosis de 1000 μ g en una fosa nasal.

Ejemplo de referencia 2

10 El glucagón, la DDPC y la α -CD, β -CD o hidroxipropil- β -CD se disolvieron en una solución de HCl 0,01 N o 0,1 N. La relación en peso de glucagón:DDPC:ciclodextrina varió de 5:10:75 a 10:20:70. En un estudio, también se añadió citrato de sodio. El polvo se empaquetó en un dispositivo para su administración a la fosa nasal. El polvo se administró a 15 perros Beagle por vía intranasal a una dosis de 500 μ g, 750 μ g o 1000 μ g. El polvo se administró a 3 o 6 perros por grupo. La concentración de glucosa en plasma se midió usando un glucómetro. Los resultados se muestran en la siguiente tabla. Las concentraciones de glucosa en plasma antes de la administración (0 min) y 5, 10, 20, 30, 40 y 60 minutos después de la administración nasal se muestran en la Tabla 2. En la Tabla 2, Relación se refiere a la relación de glucagón:DDPC:ciclodextrina, o a la relación de glucagón:DDPC:ciclodextrina:aditivo.

Tabla 2. Concentraciones medias de glucosa en plasma (mmol/l) en el perro Beagle después de la administración intranasal de composiciones de glucagón:DDPC:CD.

Relación	CD	Dosis por fosa nasal (ug)	Fosas nasales	Ácido	Aditivo	Concentración de glucosa en plasma (mmol/l)										
						0 min	5 min	10 min	20 min	30 min	40 min	60 min				
5:10:85	α-CD	500	1	HCl 0,1 N	Ninguno	5:10:85, α-CD, 500 µg, 1 fosa nasal	3,8	3,7	4,6	6,0	6,3	4,3	3,4			
5:10:85	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	5:10:85, α-CD, 750 µg, 1 fosa nasal	3,6	3,8	7,8	7,6	8,3	4,7	3,3			
5:10:85	α-CD	1000	1	HCl 0,1 N	Ninguno	5:10:85, α-CD, 1000 µg, 1 fosa nasal	3,8	4,0	4,7	7,4	7,1	4,3	3,8			
5:10:85	α-CD	500	2	HCl 0,1 N	Ninguno	5:10:85, α-CD, 500 µg por fosa nasal, 2 fosas nasales	3,4	3,1	3,4	5,3	5,0	3,2	3,2			
5:51:44	α-CD	500	1	HCl 0,1 N	Ninguno	5:51:44, α-CD, 500 µg, 1 fosa nasal	33	3,2	4,0	4,6	4,3	3,6	3,9			
5:51:44	α-CD	500	2	HCl 0,1 N	Ninguno	5:51:44, α-CD, 500 µg por fosa nasal, 2 fosas nasales	3,4	2,8	4,0	4,8	3,8	3,6	3,7			
5:10:85	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	5:10:85, α-CD, 750 µg, 1 fosa nasal	3,7	5,1	6,4	7,5	7,9	7,3	6,3			
10:41:49	HP-β-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	10:41:49, HP-β-CD, 750 µg, 1 fosa nasal	3,7	3,5	4,1	4,0	4,0	3,8	3,9			
10:41:49	HP-β-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	10:41:49, HP-β-CD, 750 µg, 1 fosa nasal	3,7	4,6	5,6	5,5	4,9	4,1	3,7			
10:25:55:10	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Citrato de sodio	10:25:55:10, α-CD, citrato de sodio, 750 µg, 1 fosa nasal	3,6	4,8	6,3	6,3	5,5	4,6	4,0			
10:20:70	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	10:20:70, α-CD, 750 µg, 1 fosa nasal	3,5	3,9	4,4	4,3	4,4	4,0	3,9			
10:10:80	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	10:10:80, α-CD, 750 µg, 1 fosa nasal	3,5	5,3	6,7	7,8	6,7	5,3	3,7			
10:10:80	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	10:10:80, α-CD, 750 µg, 1 fosa nasal	3,8	4,9	5,5	6,9	5,6	4,4	4,0			
5:10:85	α-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	5:10:85, α-CD, 750 µg, 1 fosa nasal	4,0	4,3	5,2	5,6	5,6	5,6	5,2			
10:10:80	β-CD	750	1	HCl 0,1 N	Ninguno	10:10:80, β-CD, 750 µg, 1 fosa nasal	3,6	4,7	6,8	6,5	6,1	4,6	4,0			
10:10:80	β-CD	700	1	HCl 0,1 N	Ninguno	10:10:80, β-CD, 700 µg, 1 fosa nasal	4,0	5,5	7,1	6,9	7,0	5,2	4,3			
10:10:80	α-CD	750	1	HCl 0,01 N	Ninguno	10:10:80, α-CD, 750 µg, 1 fosa nasal, HCl 0,01 N	4,3	4,7	6,0	6,4	6,5	5,1	4,5			
10:10:80	β-CD	1000	1	HCl 0,01 N	Ninguno	10:10:80, β-CD, 1000 µg, 1 fosa nasal, HCl 0,01 N	4,2	6,4	8,7	8,5	7,5	4,6	3,6			
10:10:80	β-CD	750	1	HCl 0,01 N	Ninguno	10:10:80, β-CD, 750 µg, 1 fosa nasal, HCl 0,01 N	4,5	6,1	6,4	6,4	5,8	4,4	3,9			
10:10:80	β-CD	500	1	HCl 0,01 N	Ninguno	10:10:80, β-CD, 500 µg, 1 fosa nasal, HCl 0,01 N	4,4	5,8	6,8	5,4	4,6	4,0	4,1			

5 Todas las composiciones (preparadas con diferentes concentraciones de ácido, diferentes ciclodextrinas, diferentes relaciones, diferentes dosis, administradas en una fosa nasal o en ambas fosas nasales) muestran un aumento en la concentración de glucosa en plasma durante hasta 10 a 30 minutos, seguido de una disminución a los 40 minutos y luego una disminución a los 60 minutos. Como ejemplo, en la Figura 2 se muestran los resultados de una composición 10:10:80 con β -CD administrada a una dosis de 1000 μ g administrada en una fosa nasal.

Ejemplo de referencia 3

10 El glucagón, la LLPC y la β -CD se disolvieron en una solución de HCl 0,01 N o 0,1 N. La relación en peso de glucagón:LLPC: β -CD fue 10:10:80. El polvo se empaquetó en un dispositivo para su administración a una fosa nasal. El polvo se administró a perros Beagle por vía intranasal a una dosis de 750 μ g o 1000 μ g. El polvo se administró a 6 perros por grupo. La concentración de glucosa en plasma se midió usando una tira reactiva de glucosa. Las concentraciones de glucosa en plasma antes de la administración (0 min) y 5, 10, 20, 30, 40 y 60 minutos después de la administración nasal se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Concentraciones medias de glucosa en plasma (mmol/l) en el perro Beagle después de la administración intranasal de composiciones de glucagón:LLPC:CD.

Dosis en μ g	Ácido	Concentración de glucosa en plasma (mmol/l)						
		0 min	5 min	10 min	20 min	30 min	40 min	60 min
750	HCl 0,1 N	3,8	4,8	6,6	6,9	6,1	4,4	4,0
750	HCl 0,1 N	4,2	4,5	5,8	5,7	5,7	5,2	4,6
1000	HCl 0,01 N	4,5	6,6	7,6	7,3	7,4	5,4	4,2

15 Todas las composiciones (diferentes dosis, administradas a una de fosa nasal, muestran un aumento en la concentración de glucosa en plasma de hasta 10 a 20 minutos, seguido de una disminución a los 30 o 40 minutos, y luego seguido de una disminución a los 40 o 60 minutos. Como ejemplo, en la Figura 3 se muestran los resultados de la composición 10:10:80 con β -CD administrada a una dosis de 1000 en una fosa nasal.

Ejemplo de referencia 4

20 El glucagón, la D8PC y la β -CD se disolvieron en una solución de HCl 0,01 N o 0,1 N. La relación en peso de glucagón:D8PC: β -CD fue 10:10:80. El polvo se empaquetó en un dispositivo para su administración a la fosa nasal. El polvo se administró a perros Beagle por vía intranasal. El polvo se administró a 6 perros por grupo. La concentración de glucosa en plasma se midió usando una tira reactiva de glucosa. Las concentraciones de glucosa en plasma antes de la administración (0 min) y 5, 10, 20, 30, 40 y 60 minutos después de la administración nasal se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Concentraciones medias de glucosa en plasma (mmol/l) en el perro Beagle después de la administración intranasal de composiciones de glucagón:D8PC:CD.

Ácido	Concentración de glucosa en plasma (mmol/l)						
	0 min	5 min	10 min	20 min	30 min	40 min	60 min
HCl 0,1 N	4,0	5,4	7,4	7,7	7,4	6,0	4,8
HCl 0,01 N	3,5	4,0	4,8	4,5	4,3	4,0	3,9
HCl 0,01 N	4,1	4,7	6,3	5,7	5,0	3,9	3,9
HCl 0,01 N	3,7	4,3	5,4	5,4	5,3	4,7	4,4

30 Todas las composiciones (preparadas con diferentes concentraciones del ácido administradas a una de fosa nasal) muestran un aumento en la concentración de glucosa en plasma de hasta 10 a 20 minutos, seguido de una disminución a los 30 o 40 minutos, y luego seguido de una disminución a los 40 o 60 minutos. Como ejemplo, en la Figura 4 se muestran los resultados de la composición 10:10:80 con β -CD administrada a una dosis de 750 μ g en una fosa nasal.

Ejemplo de referencia 5

35 El glucagón, la DLPG y la α -CD se disolvieron en una solución de HCl 0,1 N. La relación en peso de glucagón:DLPG: α -CD fue 5:25:70 o 5:54:41. Por separado, el glucagón, la DLPG y la β -CD se disolvieron en una solución de HCl 0,1 N en una relación en peso de 10:10:80. Las soluciones resultantes se liofilizaron para producir un polvo. El polvo se empaquetó en un dispositivo para su administración a la fosa nasal. El polvo se administró a una de las fosas nasales o a las dos fosas nasales de perros Beagle. El polvo se administró a 3 o 6 perros. La concentración de glucosa en plasma se midió usando una tira reactiva de glucosa. Los resultados se muestran en la siguiente tabla. La relación en peso de glucagón:DLPG: α -CD (α , β -CD), dosis de glucagón por fosa nasal, si el polvo se administró a una o ambas fosas nasales se muestra en la tabla. Las concentraciones de glucosa en plasma antes de la administración (0 min) y 5, 10, 20, 30, 40 y 60 minutos después de la administración nasal se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Concentraciones medias de glucosa en plasma (mmol/l) en el perro Beagle después de la administración intranasal de composiciones de glucagón:DLPG:CD.

Relación	CD	Concentración de glucosa en plasma (mmol/l)						
----------	----	---	--	--	--	--	--	--

		Dosis por fosa nasal en µg	Fosas nasales	0 min	5 min	10 min	20 min	30 min	40 min	60 min
5:25:70	α-CD	500	1	3,9	3,9	4,1	4,0	4,6	4,4	4,1
5:25:70	α-CD	750	1	3,8	3,5	5,3	6,6	7,2	4,6	3,6
5:25:70	α-CD	1000	1	3,4	4,0	4,4	5,7	4,4	3,7	4,3
5:25:70	α-CD	500	2	3,8	3,1	3,1	3,2	4,3	4,1	4,0
5:54:41	α-CD	500	1	3,4	3,0	3,2	4,2	3,2	4,3	4,0
10:10:80	β-CD	750	1	4,2	4,7	6,1	6,0	5,5	4,6	4,0

Todas las composiciones (preparadas con diferentes ciclodextrinas, diferentes relaciones, diferentes dosis, administradas en una fosa nasal o en ambas fosas nasales) muestran un aumento en la concentración de glucosa en plasma durante hasta 10 a 30 minutos, seguido de una disminución a los 40 minutos y luego una disminución a los 60 minutos. Como ejemplo, los resultados de la composición 5:25:70 con α-CD administrada a una dosis de 750 µg en una fosa nasal, que dio como resultado la concentración más alta de glucosa en plasma, se muestran en la Figura 5.

Ejemplo 6

Se usó difracción de rayos X en polvo para determinar la estructura de las composiciones de glucagón-DPC-β-ciclodextrina y glucagón-DDPC-β-ciclodextrina. Se exhibe un valor máximo en ángulos bajos (6,6 ° 2θ para DPC y 7,3 ° 2θ para DDPC) indicando una mesofase (Figura 6). Estos valores máximos están ausentes para el glucagón porque es un polvo amorfo. También están ausentes en la β-ciclodextrina que exhibe una forma cristalina característica. Además están ausentes en el tensioactivo, DPC. Estos valores máximos están presentes en mezclas de DDPC (o DPC) y β-ciclodextrina, en ausencia de glucagón. Las composiciones de la presente invención se caracterizan por una mesofase detectable a través de estos valores máximos de ángulo de difracción bajo.

Ejemplo 7

El perfil de distribución ponderado por volumen se utiliza para calcular D₁₀, D₅₀ y D₉₀ que se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Diámetro de 10 % de las partículas (D₁₀), 50 % de las partículas (D₅₀) y 90 % de las partículas (D₉₀).

Tensioactivo	Ácido	D ₁₀ (µm)	D ₅₀ (µm)	D ₉₀ (µm)
DDPC	HCl 0,1 N	6,063	11,77	21,86
DPC	HCl 0,1 N	6,63	66,51	426
DPC con ultrasonido	HCl 0,1 N	3,6	10,68	21,77
D8PC	HCl 0,1 N	7,926	17,97	35,34
LLPC	HCl 0,1 N	8,031	15,31	28,89
DPC	Ácido acético 1 M	6,867	92,480	537,471

El análisis del tamaño de partícula muestra que una minoría de las partículas en las seis formulaciones en polvo diferentes tienen un diámetro eficaz que varía de 3,6 a 8,031 µm. Los resultados de D₁₀ muestran que más del 90 % de las partículas en el polvo administrado a la fosa nasal no se pueden inhalar.

Ejemplo 8

Se preparó una formulación en polvo usando los procedimientos descritos en Procedimiento de preparación. La composición era 10:10:80 de glucagón:DPC:β-ciclodextrina preparada usando ácido acético 1 M. Diez miligramos del polvo contenían 1 mg de glucagón. Se envasaron diez miligramos de la formulación en polvo en cada uno de los diez dispositivos. Se recogió el polvo administrado tras la activación del dispositivo. Los pesos del polvo administrado de los diez dispositivos se muestran en la Tabla 7, como Dosis administrada (mg). La Uniformidad de la dosis administrada (%) de los diez dispositivos, que también se muestra en la Tabla 7, se calculó multiplicando por 100 la relación de la cantidad de glucagón en cada uno de los diez polvos administrados a la cantidad de glucagón en 10 miligramos del polvo antes de que se rellenara en cada uno de los diez dispositivos.

Tabla 7. Dosis administrada y uniformidad de la dosis administrada.

Número de dispositivo	Uniformidad de la dosis administrada (%)	Dosis administrada, mg
1	97,5	9,3
2	97,0	9,2
3	98,9	9,7
4	102,7	9,8
5	100,3	9,7

(continuación)

Número de dispositivo	Uniformidad de la dosis administrada (%)	Dosis administrada, mg
6	92,3	9,0
7	100,2	9,6
8	96,9	9,2
9	94,8	9,2
10	96,8	9,2

Ejemplo 9

Se realizó un estudio de fase III cruzado, aleatorizado, bidireccional y de centros múltiples en el que se inscribieron pacientes con diabetes tipo 1 (T1D, n = 75) para evaluar la eficacia y la seguridad de una dosis única de glucagón administrado por vía intranasal (el polvo que es el sujeto de la presente invención) en comparación con el glucagón administrado por inyección IM después de una hipoglucemia inducida por insulina. El criterio de valoración principal en este estudio fue la relación de pacientes que lograron un aumento en los niveles de glucosa en sangre a ≥ 70 mg/dl dentro de los 30 minutos de tratamiento con glucagón o un aumento de 20 mg/ml en la glucosa en sangre dentro de los 30 minutos de tratamiento con glucagón. El protocolo utilizó insulina para reducir los niveles de glucosa en sangre al intervalo de hipoglucemia (concentración mínima registrada diana de < 50 mg/dl).

El análisis estadístico de la respuesta glucémica al tratamiento con el polvo nasal mostró que el polvo nasal no era inferior al glucagón inyectado en el tratamiento de la hipoglucemia inducida por insulina. La curva de respuesta a la glucosa, presentada en la Figura 7, muestra que los niveles de glucosa aumentaron sustancialmente en los grupos tratados tanto nasal como inyectado y que los niveles de glucosa en sangre aumentaron dentro del intervalo normal en la mayoría de los sujetos en ambos grupos aproximadamente 15 minutos después de la dosificación.

Ejemplo 10 - amg103

AMG 103 fue un estudio en niños con diabetes tipo 1, de 4 a < 17 años. Los IRB pediátricos no permiten la inducción de hipoglucemia grave en esta población, pero se utilizó insulina si fue necesario para normalizar la glucosa en sangre a una diana de < 80 mg/dl (4,4 mmol/l) antes de la dosificación con glucagón.

Los niños visitaron las instalaciones del estudio dos veces. En la primera visita, 12 niños de 12 a < 17 años de edad se asignaron al azar para glucagón mediante inyección IM (tasa de dosis de acuerdo con la etiqueta del fabricante) o para una formulación de glucagón en polvo que es el tema de la presente invención (10:10:80 en peso). En la segunda visita, los sujetos recibieron el tratamiento alternativo. Para los niños en los grupos de edad de 4 a < 8 años de edad y de 8 a < 12 años de edad, había 18 niños por grupo. Dentro de cada uno de estos grupos de edad, los niños fueron aleatorizados 2:1 para recibir dos dosis de glucagón intranasal o una sola inyección de glucagón IM. Para los niños que recibieron el glucagón IN, se les asignó al azar para recibir 2 o 3 mg en la primera visita y el nivel de dosis alternativo en la segunda visita. Los participantes del estudio y el sitio del estudio se cegaron a nivel de dosis.

Los resultados de los niños de 12 a < 17 años de edad se proporcionan como un ejemplo de lo que se observó en niños a los que se les administró polvo de glucagón nasal. La Figura 8A proporciona la curva PK de glucagón, mientras que la Figura 8B proporciona el perfil de glucosa. Los datos generados en este estudio indican que el glucagón en polvo nasal dio como resultado una respuesta de glucosa que no fue diferente a la observada después de una inyección de glucagón.

Ejemplo 11 - efecto de la congestión nasal

El polvo de la presente invención que consiste en glucagón:DPC y beta ciclodextrinas en relación 10:10:80 en peso, se probó en sujetos con resfriado común con y sin administración simultánea de descongestionante nasal en un estudio para investigar la seguridad y la PK/PD de una dosis de 3 mg de glucagón IN en sujetos masculinos y femeninos. Este fue un estudio de diseño paralelo de centro único, dosis única, abierto, medidas repetidas y paralelo. Los treinta y seis (36) sujetos recibieron una dosis única de 3 mg de glucagón por vía intranasal, en la mañana después de un ayuno nocturno de 10 horas. La cohorte 1 (18 sujetos) se programó para dos períodos. Durante el Período 1, los sujetos tuvieron congestión nasal y/o secreción nasal asociada con un resfriado común y durante el Período 2, los sujetos se recuperaron del resfriado común y no presentaron síntomas durante al menos 2 días. En la Cohorte 2 (Sujetos n.º 019 a 036), los sujetos se programaron solo para el Período 1. Después de presentar congestión nasal y/o secreción nasal asociada con un resfriado común, estos sujetos se trataron previamente con un descongestionante nasal antes de recibir una dosis IN única de glucagón.

Las mediciones del flujo de aire inspiratorio nasal máximo proporcionaron una medición objetiva de la congestión nasal y confirmaron la congestión nasal asociada con el resfriado común, así como el efecto terapéutico previsto de la oximetazolina.

El fármaco del estudio fue bien tolerado y no hubo eventos adversos graves o muertes durante este estudio.

Las respuestas de glucagón y glucosa después de la administración del polvo se presentan en las Figuras 9A y 9B.

Las concentraciones de glucagón en plasma (Figura 9A) aumentaron sustancialmente por encima del valor basal con concentraciones máximas medias ($C_{máx}$) de 1198,4, 868,0 y 801,5 pg/ml para "AMG504-1 + Resfriado común", "Resfriado común + Descongestionante" y "Sin síntomas de resfriado", respectivamente. El tiempo medio hasta las concentraciones máximas ($t_{máx}$) fue de 20 minutos después de la dosis para todos los grupos de tratamiento. El ABC_{0-t} estimada para 'AMG504-1 + resfriado común' fue mayor que los otros dos grupos de tratamiento (1198,4 frente a 1038,0 y 797,5).

Los niveles de glucosa en sangre (Figura 9B) en los tres grupos comenzaron a aumentar a los 5 minutos después de la dosificación, lo que indica que la congestión nasal, con o sin administración simultánea de un descongestionante nasal, no tuvo un efecto sobre el inicio de la respuesta glucémica. En general, el perfil de glucosa después de la administración de glucagón intranasal fue comparable independientemente de la presencia de resfriado común o la administración de un descongestionante en sujetos con resfriado común.

Los resultados de este estudio indican que la PK o PD del polvo administrado por vía intranasal no se ve significativamente afectada por la congestión nasal asociada con el resfriado común, con o sin la administración simultánea de un descongestionante nasal. Esto es muy importante porque las personas con diabetes que toman insulina corren el riesgo de experimentar hipoglucemia grave en cualquier momento, incluso cuando sufren de alergias o un resfriado común. Como tal, un glucagón intranasal destinado al tratamiento de la hipoglucemia grave también debe ser eficaz en presencia de congestión nasal.

Ejemplo 12

La biocompatibilidad, seguridad y tolerabilidad de las composiciones de la presente invención se evaluaron en una serie de estudios realizados en ratas, perros y conejos. Se evaluó la toxicidad subcrónica y aguda. La Tabla 8 muestra los hallazgos de estos estudios. Los estudios muestran que las composiciones de la presente invención son bien toleradas sin efectos adversos.

Tabla 8. Estudios de toxicidad subcrónica y aguda en ratas, perros y conejos.

Tipo de estudio	Especie	Artículos de prueba y dosis	Resultados clave
Toxicología subcrónica de 28 días	Perro	Solución salina, placebo en polvo, AMG504-1 a 2 y 4 mg/perro/día durante 28 días	Aparte de la inhalación transitoria (es decir, < 30 segundos) y la salivación inmediatamente después de la dosificación, no hay signos clínicos adversos. No hay hallazgos adversos de necropsia macroscópica ni efectos relacionados con el tratamiento sobre el peso corporal, el consumo de alimentos, la química clínica, la hematología, el ECG o el peso de los órganos. Atrofia/degeneración totalmente reversible mínima a moderada del epitelio olfativo. No hay hallazgos microscópicos relacionados con el artículo de prueba en el examen histológico de todos los tejidos.
Toxicología subcrónica de 28 días	Rata	Solución salina, placebo líquido, ingredientes AMG504-1 en solución a 0,1 y 0,2 mg/rata/día durante 28 días	No hay signos clínicos adversos o hallazgos macroscópicos de necropsia. No hay efectos relacionados con el tratamiento sobre el peso corporal, el consumo de alimentos, la química clínica, la hematología, el ECG o el peso de los órganos. Erosión/ulceración completamente reversible mínima a moderada del epitelio olfativo en el grupo de dosis alta. No hay hallazgos microscópicos relacionados con el artículo de prueba en el examen histológico de todos los tejidos.
Toxicología aguda	Rata	Control de placebo con aire, AMG504-1 a 0,5 mg por vía intratraqueal	Sin hallazgos adversos clínicos, macroscópicos o microscópicos
Toxicología aguda	Conejo	30 mg de fármaco administrado directamente en el ojo	Bien tolerado, con una irritación ocular mínima limitada a un ligero eritema y edema localizado en la conjuntiva y la membrana palpebral.

Referencias

- 25 C. Boesch, L.R. Brown y K. Wuethrich. Physicochemical characterization of glucagon-containing lipid micelles. *Biochim. Biophys. Acta* 603: 298-312, 1980.
 L.R. Brown, C. Boesch y K. Wuthrich. Location and orientation relative to the micelle surface for glucagon in mixed micelles with dodecylphosphocholine: EPR and NMR studies. *Biochim. Biophys. Acta* 642: 296, 1981
- 30 S. Carstens y M. Sprehn. Prehospital treatment of severe hypoglycaemia: A comparison of intramuscular glucagon and intravenous glucose. *Prehospital and Disaster Medicine* 13: 44-50, 1998
 Chabenne y col., *MOLECULAR METABOLISM* 3 (2014) 293-300.
 P.E. Cryer. Hypoglycaemia: The limiting factor in the glycaemic management of type I and type II diabetes. *Diabetologia* 45: 937-948, 2002.

- P.E. Cryer. Hypoglycemia in diabetes. American Diabetes Association. 2009.
- R. Curran. A milestone change in practice. A call for widespread application of intranasal medication delivery in the prehospital environment. www.emsworld.com. 2007
- I.J. Deary. Symptoms of hypoglycaemia and effects on mental performance and emotions. En: Hypoglycaemia in Clinical Diabetes. Segunda edición. Eds. B.M. Frier y M. Fisher. 2007.
- H. Dodziuk. Cyclodextrins and their complexes. Wiley-VCH Verlag, Berlín, 2006.
- K. Endo, S. Amikawa, A. Matsumoto, N. Sahashi y S. Onoue. Erythritol-based dry powder of glucagon for pulmonary administration. *Int. J. Pharm.* 290: 63-71, 2005.
- R. M. Epand y J.M. Sturtevant. A calorimetric study of peptide-phospholipid interactions: The glucagon-dimyristoylphosphatidylcholine complex. *Biochemistry* 20: 4603-4606, 1981.
- R.M. Epand y J.M. Sturtevant. Studies on the interaction of glucagon with phospholipids. *Biophys. J.* 37: 163-164, 1982.
- J. Filipovic-Grcic y A. Hafner. Nasal powder drug delivery. Capítulo 5,7, p. 651-681, En: *Pharmaceutical Manufacturing Handbook: Production and Processes*, Editado por S.C. Gad, Wiley-Interscience, Nueva York, 2008, pág. 1384.
- L. Freychet, N. Desplanque, P. Zirinis, S.W. Rizkalla, A. Basdevant, G. Tchobroutsky y G. Slama. Effect of intranasal glucagon on blood glucose levels in healthy subjects and hypoglycaemic patients with insulin-dependent diabetes. *The Lancet*. págs. 1364-1366, 18 de junio de 1988
- Glucagon for injection (rDNA origin). Package Insert. Eli Lilly & Co. 2005.
- G. Harris, A. Diment, M. Sulway y M. Wilkinson. Glucagon administration - underevaluated and undertaught. *Practical Diabetes Int.* 18: 22-25, 2001.
- M. A. Howell y H.R. Guly. A comparison of glucagon and glucose in prehospital hypoglycaemia. *J. Accid. Emerg. Med.* 14: 30-32 (1997).
- A. Hvidberg, R. Djurup y J. Hilsted. Glucose recovery after intranasal glucagon during hypoglycaemia in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 46: 15-17, 1994.
- IDF Diabetes Atlas, International Diabetes Foundation, cuarta edición, 2009.
- ISMP Canada Safety Bulletin. Administration of product-specific diluent without medication. *Institute for Safe Medication Practices Canada*. 10(7): 1-3, 2010.
- K. K. Jain. Drug Delivery Systems. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 437. págs. 8-9, Humana Press, Totowa, NJ, 2008.
- S. Jorgensen, A.R. Sorensen, L.L. Kimer y N. Mygind. A powdery formulation of glucagon for nasal delivery - a phase 1 study. *Diabetes* 40 [Suppl A]:2190, 1991
- N. C. Kaarsholm. Stabilized aqueous glucagon solutions comprising detergents. Patentes números WO9947160, EP19990906095, 1999.
- N. C. Kaarsholm. Stabilized aqueous peptide solutions. Patente de EE.UU. n.º 6.384.016, 1999 a.
- D. Lichtenberg. Liposomes as a model for solubilization and reconstitution of membranes. Capítulo 13. págs. 199-218. En: *Handbook of nonmedical applications of liposomes. Models for biological phenomena*. Vol II, Ed. Y. Barelholz y D.D. Lasic, CRC Press, Boca Raton FL. págs. 379, 1996
- Marsh, D. *Handbook of lipid bilayers*. CRC Press, Boca Raton, FL, pág. 387, 1990.
- L. Matilainen, K.L. Larsen, R. Wimmer, P. Keski-Rahkonen, S. Auriola, T. Jarvinen y P. Jarho. The effect of cyclodextrins on chemical and physical stability of glucagon and characterization of glucagon/gamma-CD inclusion complexes. *J. Pharm. Sci.* 97: 2720-2729, 2008.
- L. Matilainen, S. L. Maunu, J. Pajander, S. Auriola. I. Laaskelainen, K.L. Larsen, T. Jarvinen y P. Jarho. The stability and dissolution properties of solid glucagon/gamma-cyclodextrin powder. *Eur. J. Pharm. Sci.* 36: 412-420, 2009.
- S. Onoue, K. Yamamoto, Y. Kawabata, M. Hirose, T. Mizumoto y S. Yamada. Novel dry powder inhaler formulation of glucagon with addition of citric acid for enhanced pulmonary delivery. *Int. J. Pharm.* 382: 144-150, 2009.
- R.P. Oomen y H. Kaplan. Binding of glucagon to lipid bilayers. *Biochem. Cell Biol.* 68: 284-291, 1990.
- J.E. Sondergaard Pederson. The nature of amyloid-like glucagon fibrils. *J. Diab. Science Tech.* 4: 1357-1367. 2010.
- A.E. Pontiroli, M. Alberetto y G. Pozza. *British Medical Journal*. 287: 462-463, 1983.
- A.E. Pontiroli, M. Alberetto, A. Calderara, E. Pajetta y G. Pozza. Nasal administration of glucagon and human calcitonin to healthy subjects: a comparison of powders and spray solutions and of different enhancing agents. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 37: 427-430, 1989.
- A.M. Rosenfalck, I. Bendtson, S. Jorgensen y C. Binder. Nasal glucagon in the treatment of hypoglycaemia in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 17: 43-50, 1992.
- F.M. Sakr. Nasal administration of glucagon combined with dimethyl-β-cyclodextrin: comparison of pharmacokinetics and pharmacodynamics of spray and powder formulations. *Int. J. Pharmaceutics* 132: 189-194, 1996.
- Sibley y col. *Prehosp. Emer. Care*. Vol. 17: 98-102, 2013.
- E. Stenninger y J. Aman. Intranasal glucagon treatment relieves hypoglycaemia in children with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 36: 931-935, 1993.
- D. Teshima, A. Yamauchi, K. Makino, Y. Kataoka, Y. Arita, H. Nawata y R. Oishi. Nasal glucagon delivery using microcrystalline cellulose in healthy volunteers. *Int. J. Pharm.* 233: 61-66, 2002.
- D. P. Tieleman, D. van der Spoel y H.J.C. Berendsen. Molecular dynamics simulations of dodecyl phosphocholine micelles at three different aggregate sizes: micellar structure and lipid chain relaxation. *J. Phys. Chem. B* 104:6380-6388, 2000
- O. Yanai, D. Pilpel, I. Harman, E. Elitzur-Leiberman y M. Philip. IDDM patients' opinions on the use of Glucagon Emergency Kit in severe episodes of hypoglycaemia. *Practical Diabetes Int.* 14: 40-42, 1997.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Eli Lilly and Company

<120> Formulaci3n en polvo nasal para el tratamiento de la hipoglucemia

<130> X20946

5

<150> 62/117031

<151> 17/02/2015

<160> 1

<170> PatentIn versi3n 3.5

10

<210> 1

<211> 29

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25

15

REIVINDICACIONES

1. Una composición en polvo que comprende glucagón (SEQ ID NO: 1), β -ciclodextrina y una dodecilsfosfocolina, en la que al menos una porción del polvo está presente en una fase, **caracterizada por** un mesopico de XRPD como se determina por difracción de rayos X en polvo.
- 5 2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el glucagón está presente en una cantidad del 5 al 15 por ciento en peso.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende además un aditivo seleccionado de ácidos orgánicos de bajo peso molecular o sales y ésteres solubles en agua farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 10 4. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el aditivo es ácido cítrico o citrato de sodio.
5. La composición de acuerdo con la reivindicación 3 o la reivindicación 4, en la que la cantidad de aditivo es de hasta el 10 por ciento en peso.
6. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la cantidad de β -ciclodextrina está entre el 44 y el 90 por ciento en peso.
- 15 7. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la cantidad de dodecilsfosfocolina está entre el 5 y el 51 por ciento en peso.
8. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que el contenido de agua de la composición es inferior al 5 por ciento en peso del peso total de la composición.
- 20 9. Un aplicador nasal para una formulación en polvo, incluyendo dicho aplicador un depósito para la formulación en polvo y una formulación en polvo contenida dentro del depósito, en donde la formulación en polvo es una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
10. Un procedimiento para preparar una composición en polvo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de
 - a. formar una primera mezcla del glucagón y la dodecilsfosfocolina en un vehículo acuoso, en la que la dodecilsfosfocolina está presente en una concentración mayor que o igual a la concentración micelar crítica;
 - b. añadir la β -ciclodextrina a la primera mezcla para formar una segunda mezcla;
 - c. secar la segunda mezcla para formar una formulación sólida; y
 - d. procesar la formulación sólida para producir un polvo uniforme, incluyendo dicho polvo uniforme al menos una porción del polvo en una fase caracterizada por un mesopico de XRPD.
- 25 11. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el secado de la segunda mezcla se lleva a cabo mediante liofilización o secado por pulverización de la segunda mezcla.
12. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en el tratamiento de la hipoglucemia.
- 30 13. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la composición se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz como un polvo a la mucosa nasal del paciente a tratar.
- 35 14. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde la composición se administra a una sola fosa nasal del paciente.

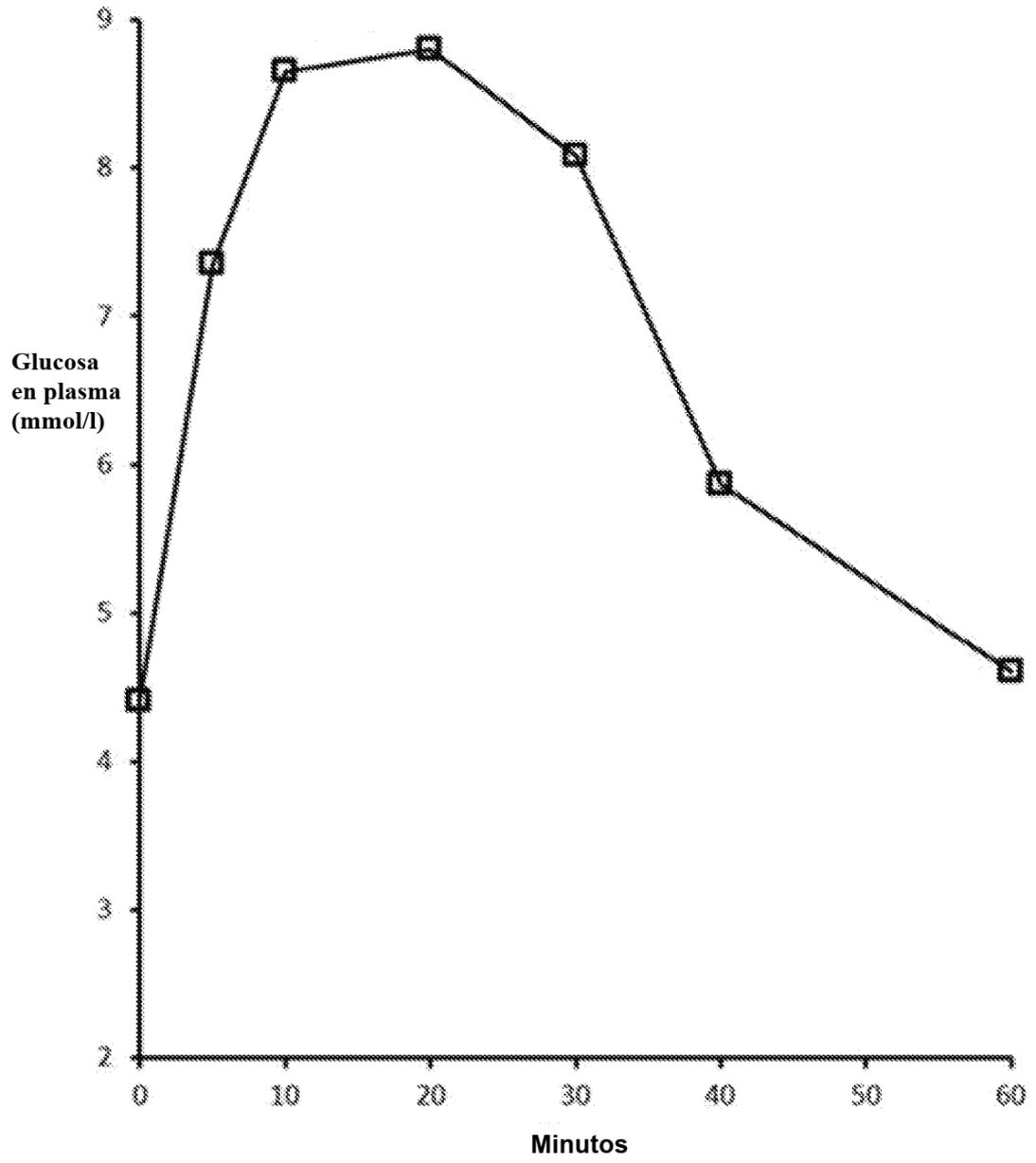


Figura 1

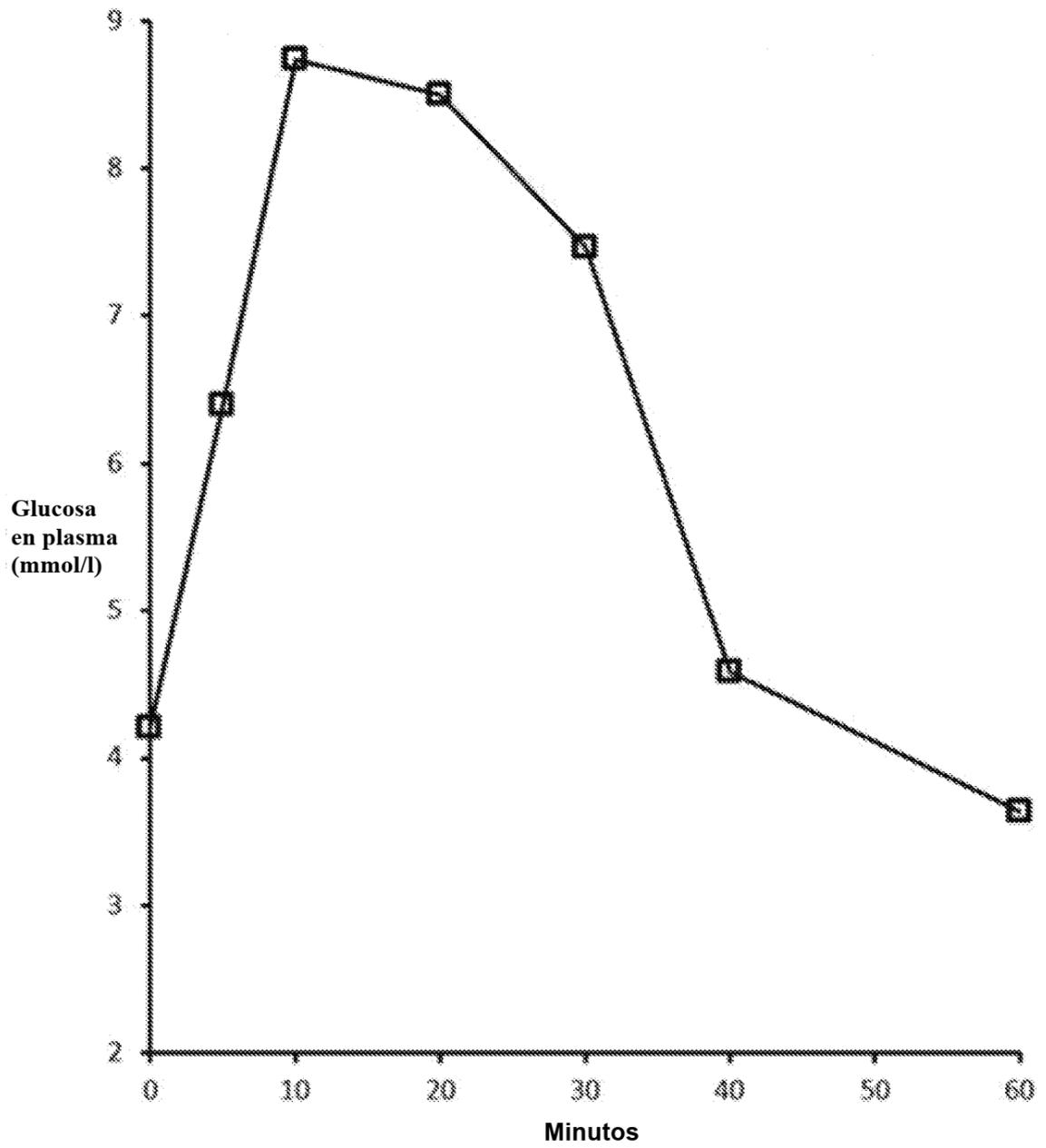


Figura 2

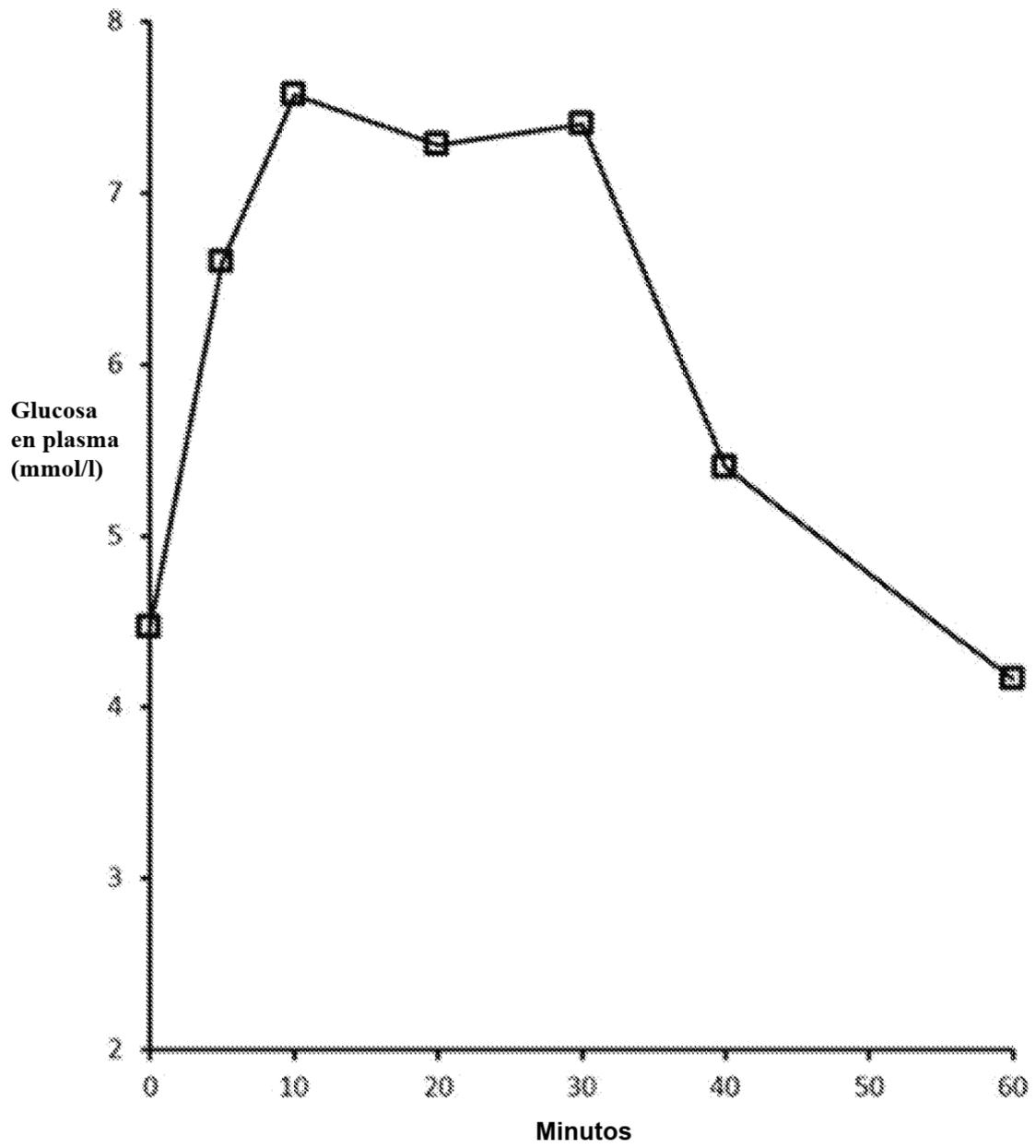


Figura 3

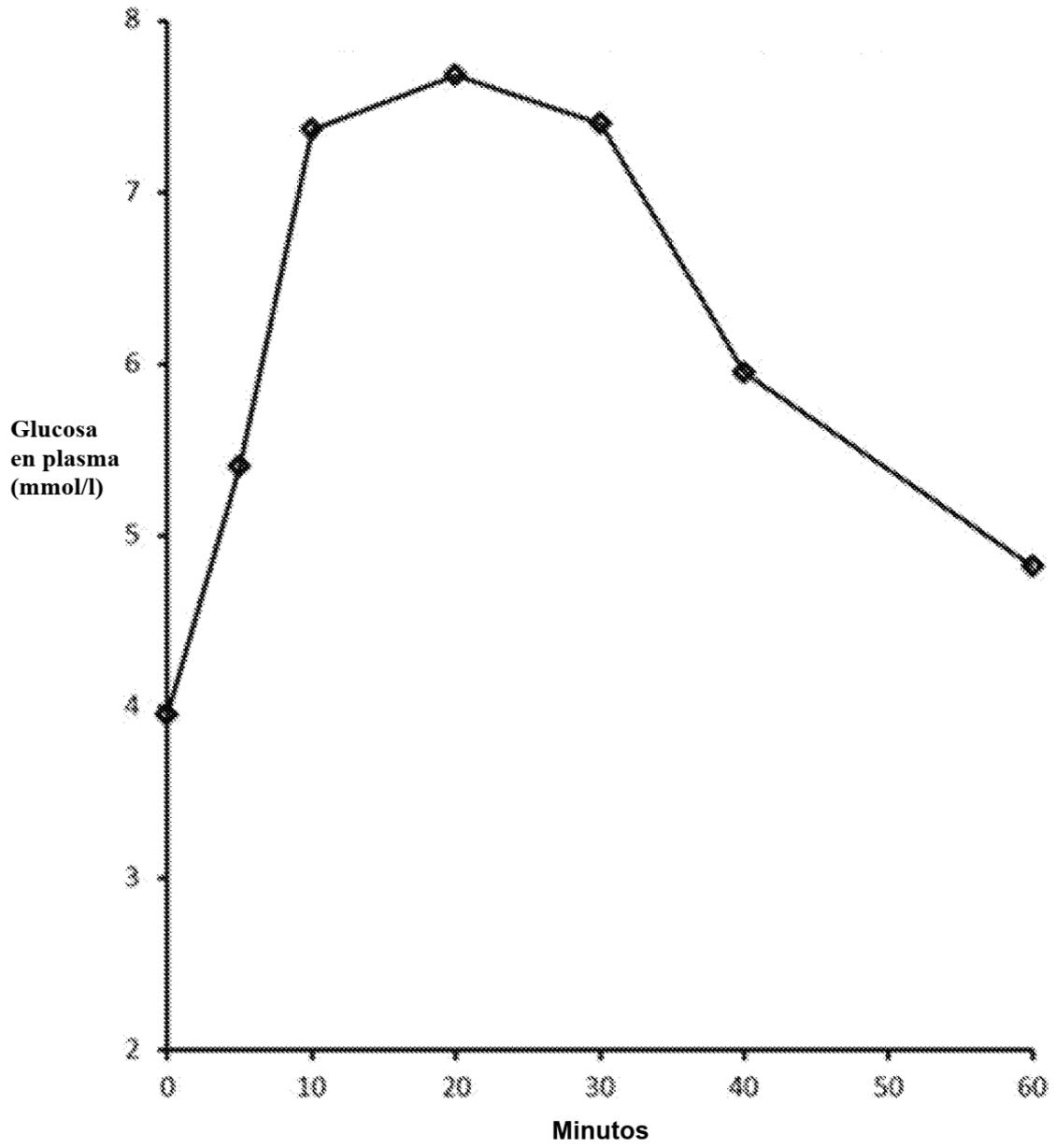


Figura 4

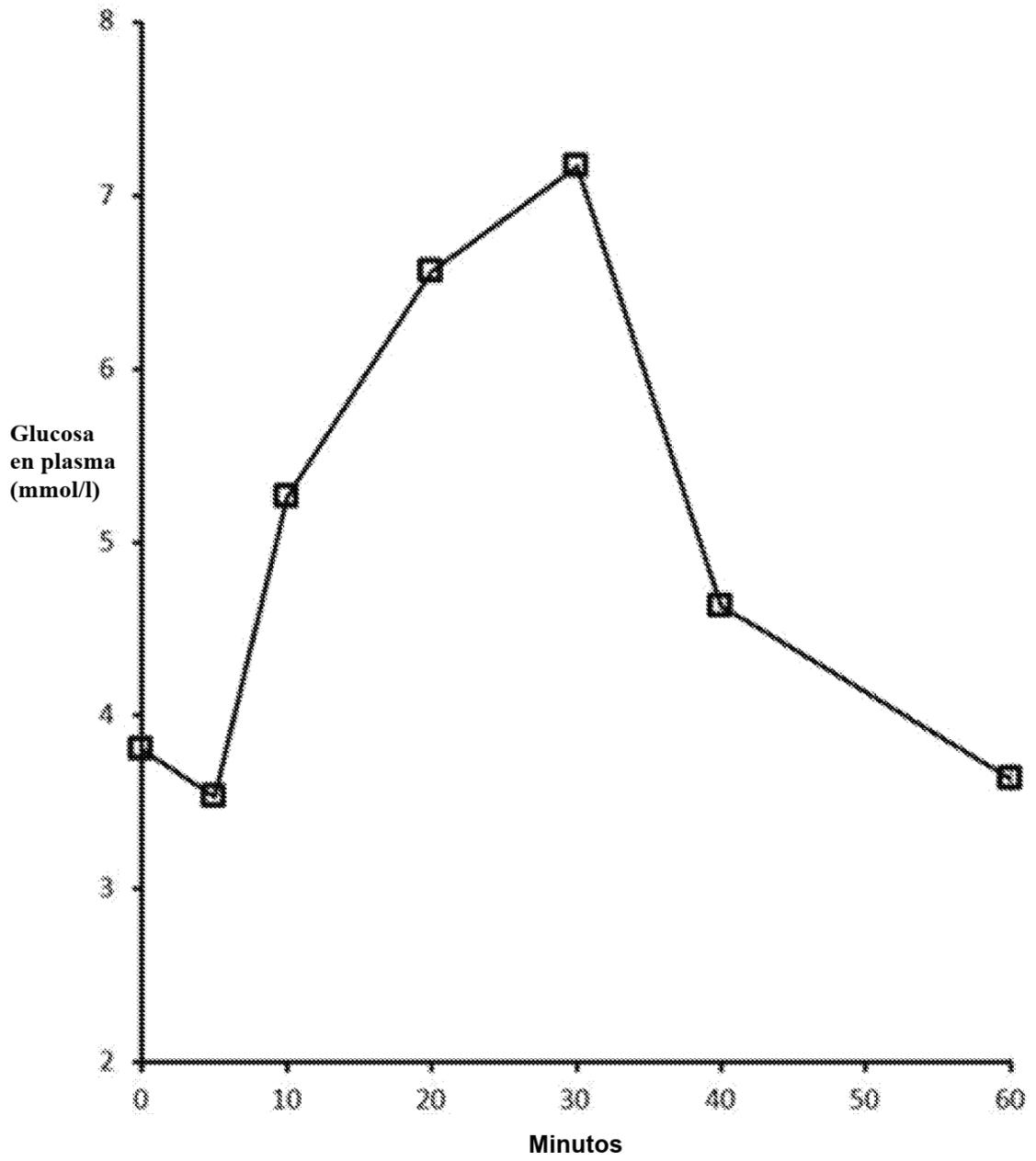


Figura 5

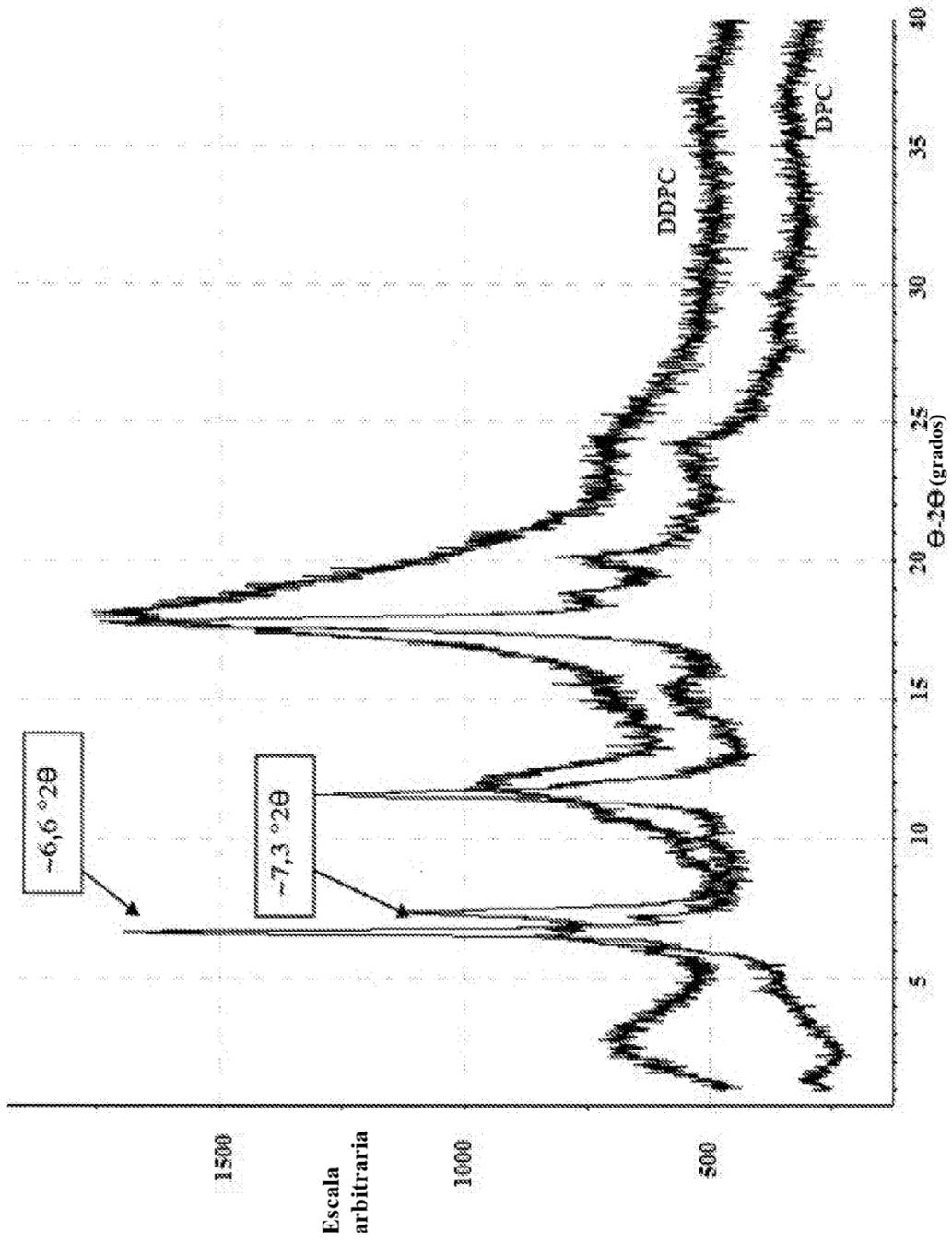


Figura 6

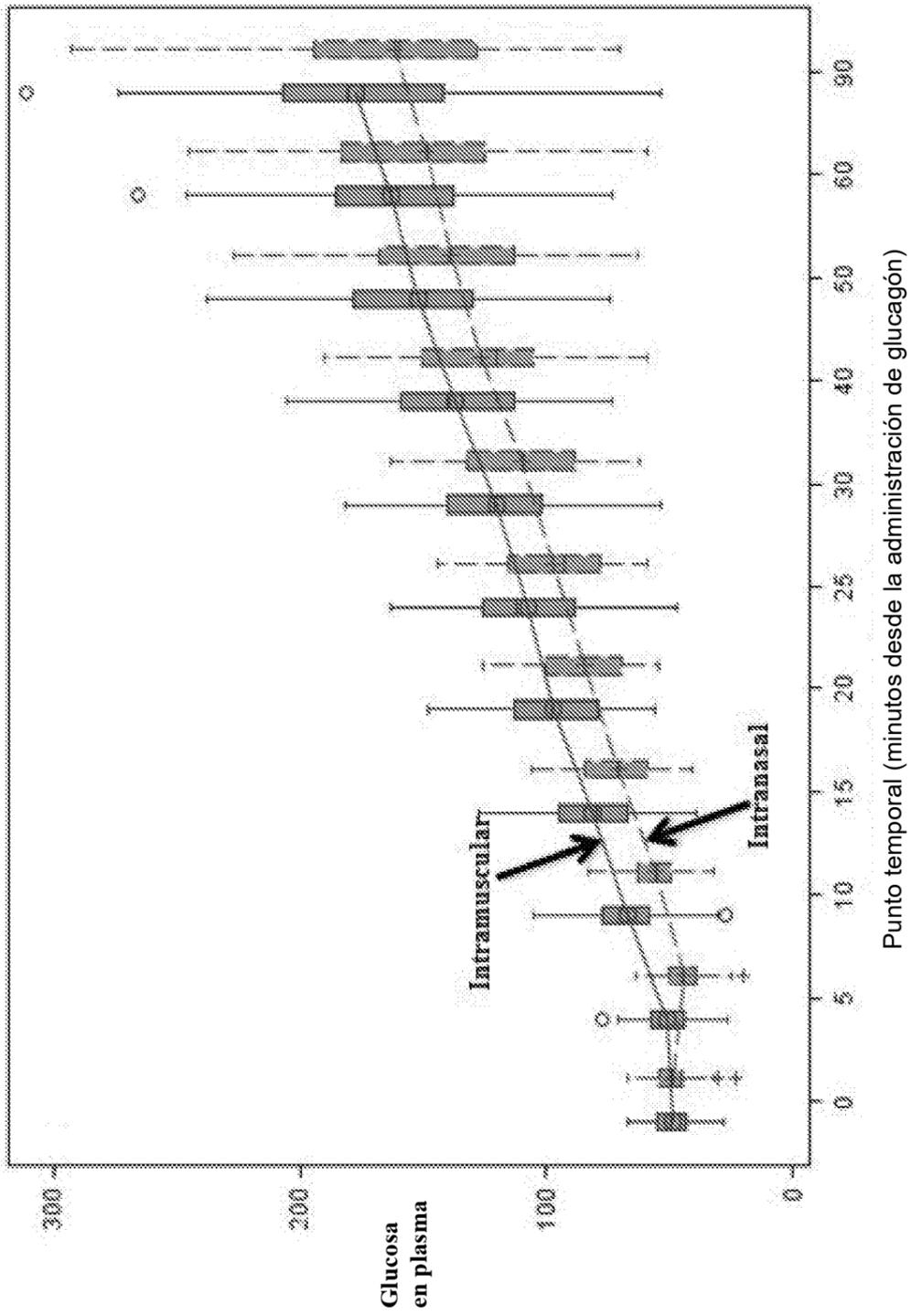


Figura 7

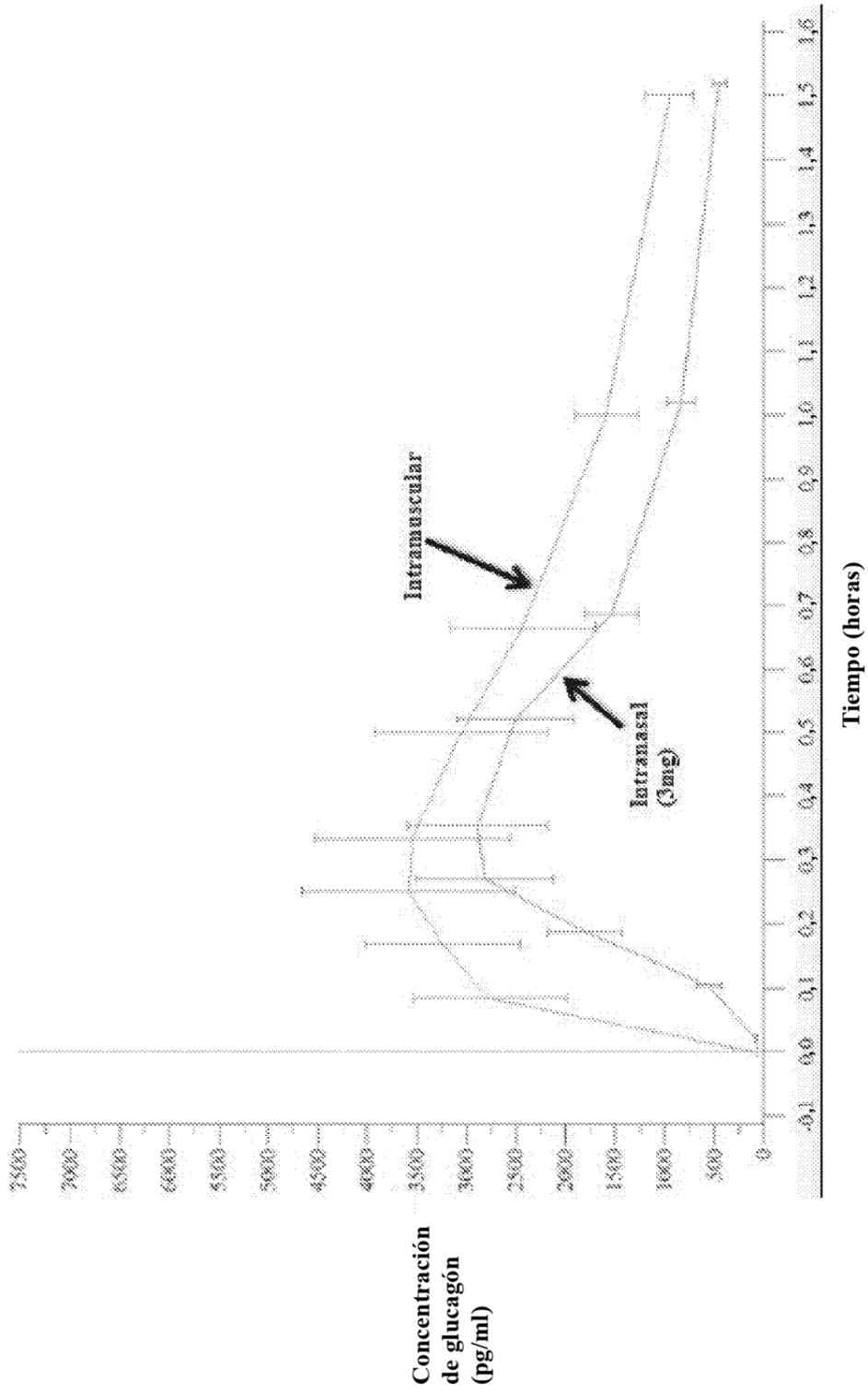


Figura 8A

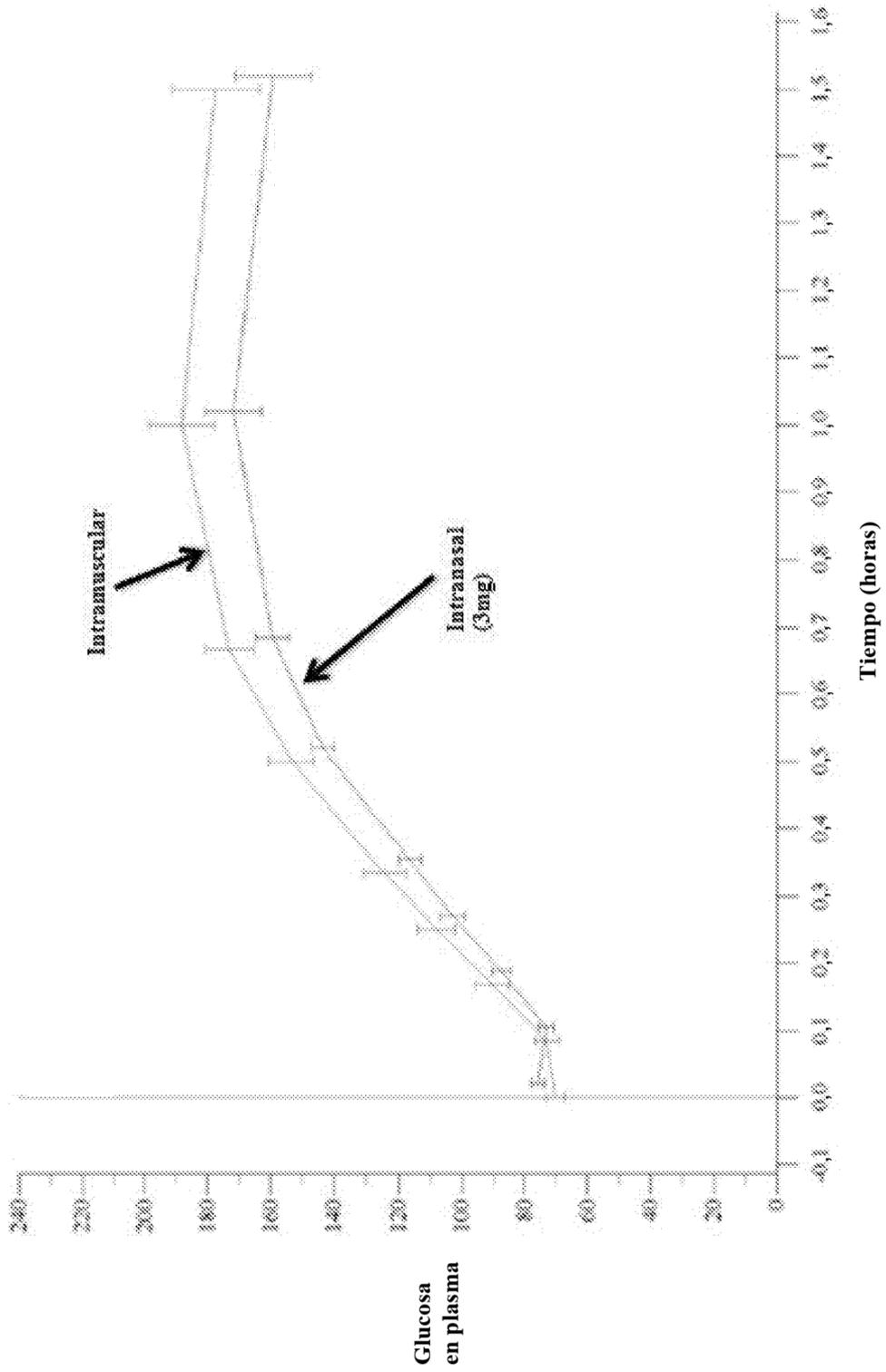


Figura 8B

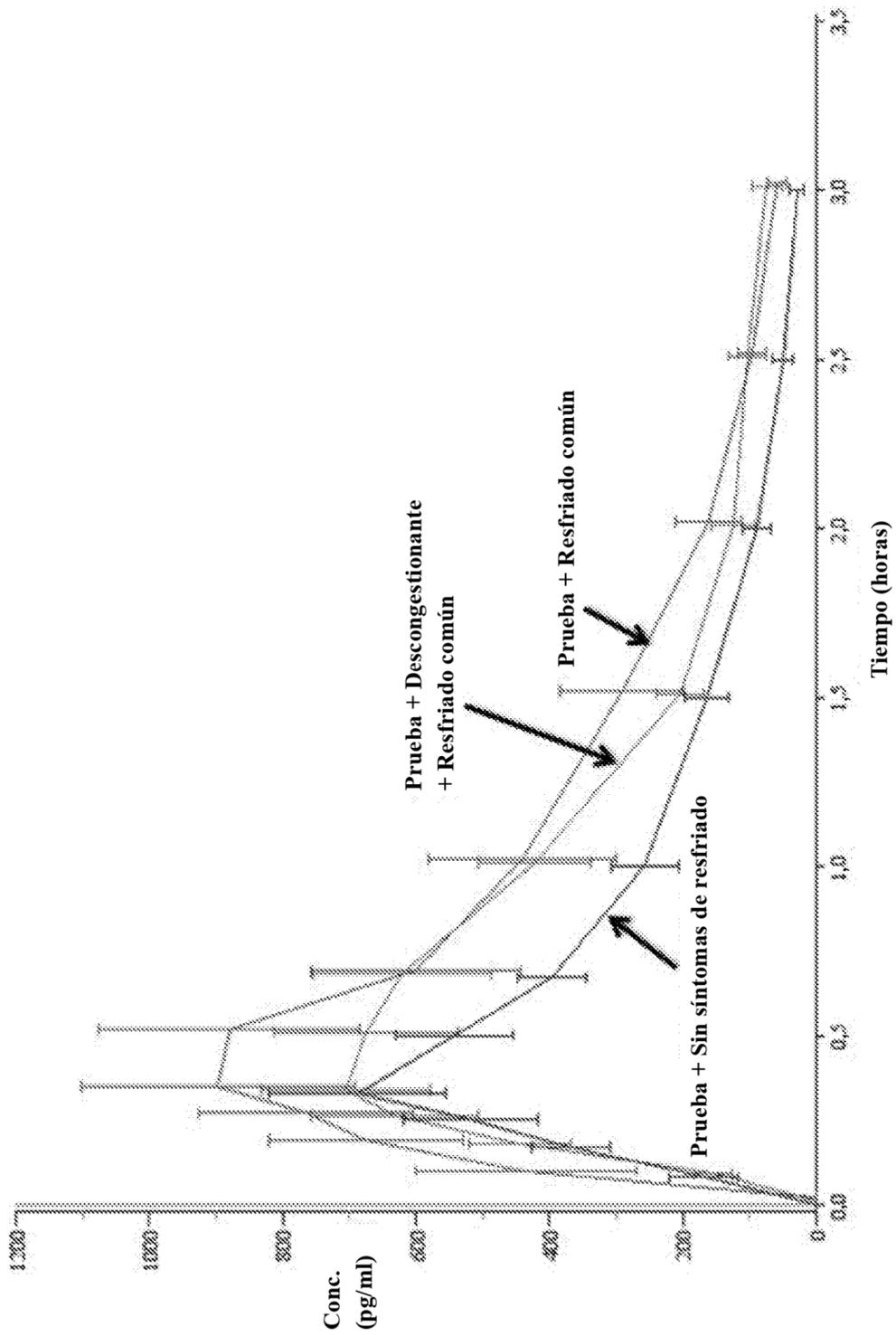


Figura 9A

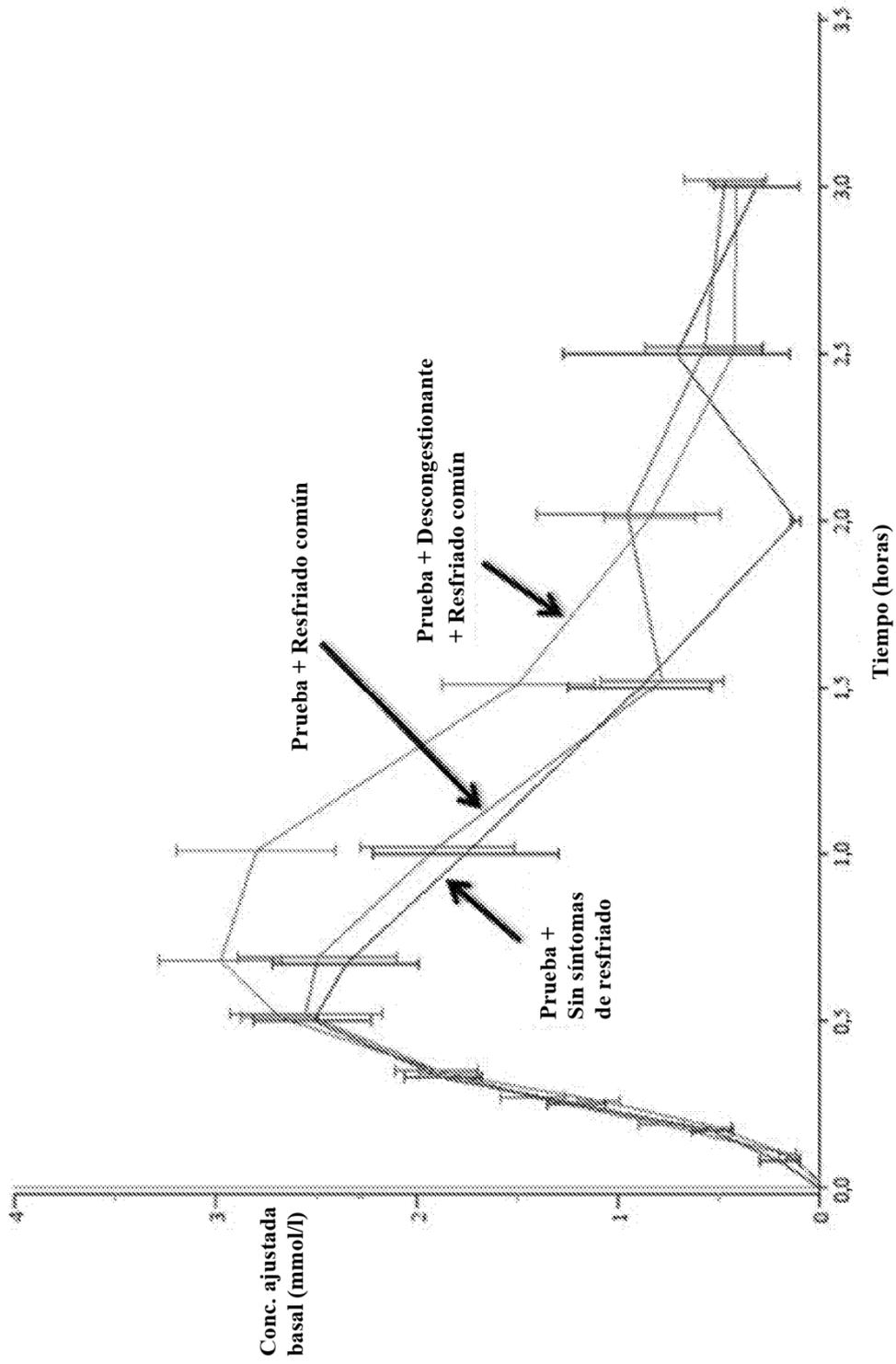


Figura 9B

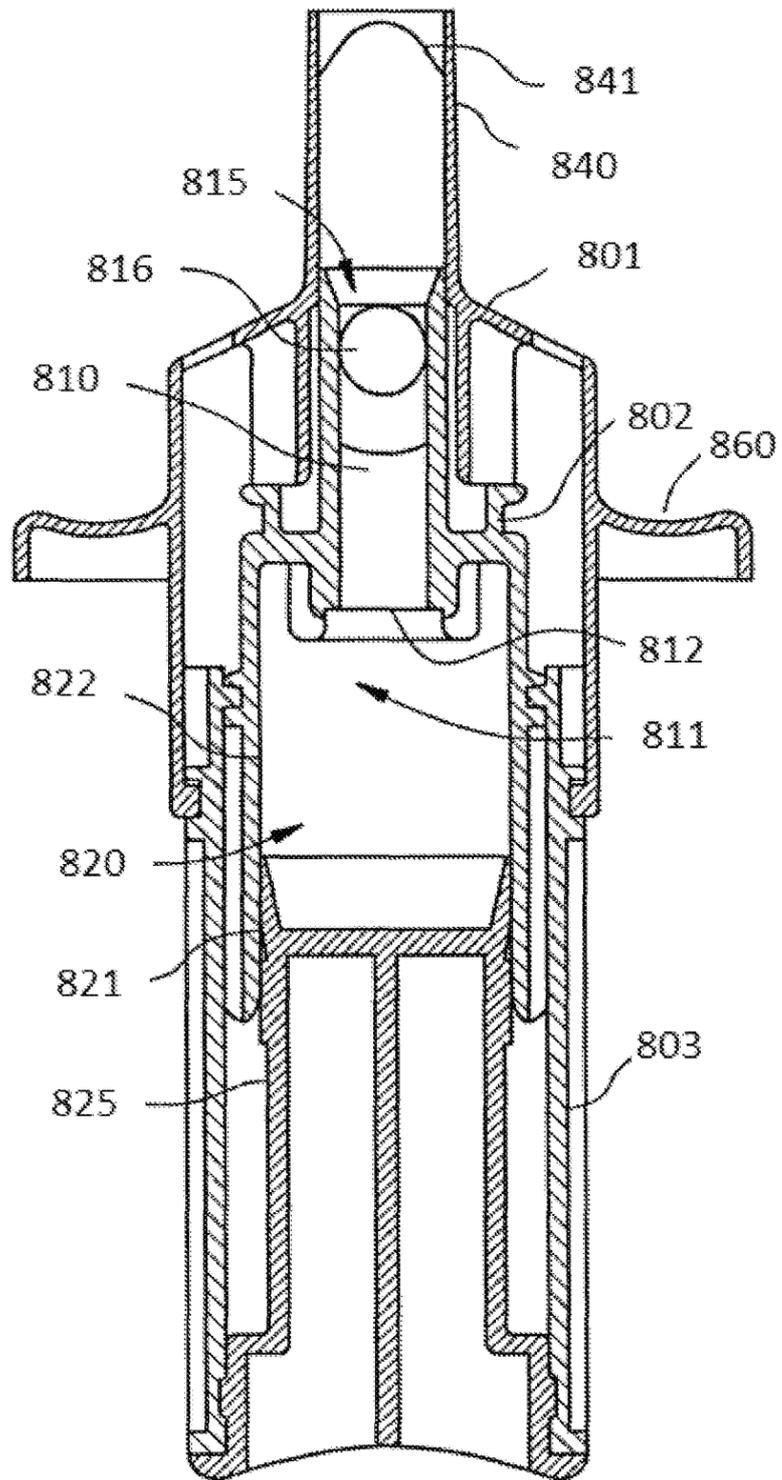


Figura 10