

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT

1 Título de la Invención(200 caracteres o espacios máximos)

FORMULACION ESTABLE DE INSULINA GLULISINA

2 Datos del Solicitante

Nombre: SANOFI-AVENTIS
DEUTSCHLAND
GMBH

**Dirección
Electrónica:** sic@castellanosyco.co

Dirección: Brüningstrasse 50, 65929
Frankfurt am Main,
ALEMANIA

**Domicilio/País de
constitución:** ALEMANIA - HESSEN -
FRANKFURT AM MAIN

Identificación:

☐ CEDULA DE
CIUDADANIA

☐ CEDULA DE
EXTRANJERIA

☒ EMPRESA
EXTRANJERA

☐ NIT

☐ PASAPORTE

Número: 1040974-

3 Solicitantes

Apellidos - Nombres o Razón Social

Tipo

Identificación

1. SANOFI-AVENTIS
DEUTSCHLAND GMBH

EE

1040974

4 Datos del Inventor

Nombre:	PETRA LOOS	Dirección Electrónica:	sic@castellanosyco.co	
Dirección:	c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, ALEMANIA	Domicilio/País de constitución:	ALEMANIA - HESSEN - FRANKFURT AM MAIN	
Identificación: ☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT ☒ No Aplica				
Número:		-		
5	Inventor(es)			
Apellidos - Nombres		Domicilio		
1.	LOOS PETRA	ALEMANIA		
2.	GEHRMANN THOMAS	ALEMANIA		
3.	BERCHTOLD HARALD	ALEMANIA		
4.	WERNER ULRICH	ALEMANIA		
5.	GANZ MATTHIAS	ALEMANIA		
6	Datos Inventor(es)			
País de Residencia		Departamento/Estado	Ciudad	Dirección
1.	ALEMANIA	HESSEN	FRANKFURT AM MAIN	c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, ALEMANIA

2.	ALEMANIA	HESSEN	FRANKFURT AM MAIN	c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, ALEMANIA
3.	ALEMANIA	HESSEN	FRANKFURT AM MAIN	c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, ALEMANIA
4.	ALEMANIA	HESSEN	FRANKFURT AM MAIN	c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, ALEMANIA
5.	ALEMANIA	HESSEN	FRANKFURT AM MAIN	c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, 65926 Frankfurt am Main, ALEMANIA
7	Datos del Representante Legal / Apoderado			
Nombre:		MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO	Dirección Electrónica:	sic@castellanosyco.co
Dirección:		CALLE 94A 7A 09	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.
Identificación: ☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT ☐ PASAPORTE				
Número:		39779654-		
Presentación de Poder				
Año de Radicación				
Número de Radicación				
8	Datos Solicitud: PCT / WO			
Número Solicitud:		PCT/EP2014/072915	Fecha Solicitud:	24/10/2014
Número Publicacion:		WO2015/059302	Fecha Publicacion:	30/04/2015
9	Declaraciones de prioridad			☒ SI ☐ NO

1.	(33) País de origen EUROP PATENT ORGANIZATION(EPO)	Codigo del país EP	(31) No. Solicitud 13306475.8	(32) Fecha 25/10/2013
10	Reivindicaciones			
	Número reivindicaciones:	31	Pago Reivindicaciones:	Si
11	Reducción de tasas.			
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i> ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
☐ Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Universidades públicas o privadas ☐ Entidades sin ánimo de lucro Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos				
12	Documentos Anexos			
☒ Reivindicaciones ☒ Descripción ☒ Dibujos y/o Figuras ☒ Resumen ☐ Certificado Depósito Material Biológico ☐ Uso de Conocimiento tradicional ☐ Listado de secuencias ☐ Artes finales 12 x 12 cm ☒ Poderes, si fuere el caso ☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad ☒ Otros Anexos				

FORMULACIÓN ESTABLE DE INSULINA GLULISINA

DESCRIPCIÓN

La presente invención se refiere a una formulación farmacéutica acuosa que
5 comprende 200 – 1000 U/mL de insulina glulisina con estabilidad mejorada, y a su uso en
el tratamiento de diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2.

Aproximadamente 300 millones de personas sufren en todo el mundo de diabetes
mellitus tipo 1 y tipo 2. Para los diabéticos tipo 1, la sustitución de la falta de secreción de
insulina endocrina es el único tratamiento posible hoy en día. Las personas afectadas
10 dependen durante toda su vida de inyecciones de insulina, como regla general, un
número de veces al día. Al contrario que en la diabetes tipo 1, en la diabetes tipo 2 no
existe básicamente una deficiencia de insulina, sino que en un gran número de casos, en
especial en el estado avanzado, el tratamiento con insulina, opcionalmente en
combinación con un antidiabético oral, se considera la forma más favorable de
15 tratamiento.

En personas sanas, la liberación de insulina por el páncreas está estrictamente
relacionada con la concentración de glucosa en sangre. Niveles elevados de glucosa en
sangre, tales como los que se producen después de las comidas, son compensados
rápidamente por un aumento correspondiente en la secreción de insulina. En ayunas, los
20 niveles de insulina plasmáticos caen hasta un valor basal que es adecuado para
garantizar un suministro continuo de glucosa a órganos y tejidos sensibles a la insulina y
mantener baja la producción hepática de glucosa durante la noche. A menudo,
reemplazar la secreción de insulina endógena por exógena, en la mayoría de los casos
por una administración subcutánea de insulina, no consigue la calidad de la regulación
25 fisiológica de la glucosa en sangre descrita anteriormente. Pueden producirse
desviaciones de los niveles de glucosa en sangre a valores superiores o inferiores, lo
cual, en sus formas más graves puede ser potencialmente mortal. Además, los niveles de
glucosa en sangre que son elevados durante años sin síntomas iniciales son un
considerable riesgo para la salud. El estudio DCCT a gran escala en los Estados Unidos
30 (El grupo de investigación del ensayo sobre el control y complicaciones de la diabetes
(1993) N. Engl. J. Med. 329, 977-986) demostró claramente que los niveles de glucosa en
sangre elevados de forma crónica son esencialmente responsables del desarrollo de
complicaciones tardías de la diabetes, tales como lesiones microvasculares y
macrovasculares que se manifiestan, en determinadas circunstancias, como retinopatía,
35 nefropatía o neuropatía y conducen a la pérdida de visión, a insuficiencia renal y a la

pérdida de extremidades. Además, la diabetes está acompañada por un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares. De esto se deriva que un tratamiento mejorado de la diabetes tenga básicamente como objetivo mantener la glucosa en sangre tan próxima como sea posible al intervalo fisiológico. Conforme al concepto de tratamiento con

5 insulina intensificado, esto se conseguiría mediante inyecciones diarias repetidas de preparaciones de insulina de acción rápida y de acción lenta. Las formulaciones de acción rápida se administran en las comidas con el fin de estabilizar el aumento postprandial en la glucosa en sangre. Las insulinas basales de acción lenta garantizarían el aporte básico de insulina, en particular, durante la noche, sin conducir a hipoglucemia.

10 La insulina es un polipéptido de 51 aminoácidos, que está dividido en 2 cadenas de aminoácidos: la cadena A que tiene 21 aminoácidos y la cadena B que tiene 30 aminoácidos. Las cadenas están conectadas entre sí por medio de dos puentes disulfuro. Las preparaciones de insulina se han empleado durante muchos años para el tratamiento de la diabetes. Aquí no solo se usan insulinas de origen natural, sino que recientemente

15 también se usan derivados y análogos de la insulina.

Las preparaciones de insulina procedentes de insulinas de origen natural comercializadas para la sustitución de la insulina se diferencian en el origen de la insulina (por ejemplo, bovina, porcina, insulina humana o insulina de otro mamífero o animal), y también en la composición, por lo que el perfil de acción (inicio de la acción y duración de

20 la acción) pueden verse influidos. Mediante la combinación de diversas preparaciones de insulina, se pueden conseguir perfiles de acción muy diferentes y se pueden establecer valores de azúcar en sangre que sean lo más fisiológicos posibles. Se comercializan desde hace tiempo preparaciones de insulinas de origen natural, así como preparaciones de derivados de insulina o de análogos de insulina que muestran una cinética modificada.

25 La tecnología de ADN recombinante hace posible hoy en día la preparación de tales insulinas modificadas. Estas incluyen “análogos de insulina monoméricos” tales como insulina lispro, insulina aspart, y HMR 1964 (Lys(B3), Glu(B29) insulina humana, insulina glulisina), los cuales tienen todas una acción de inicio rápido, así como la insulina glargina, que tiene una acción de duración prolongada.

30 Además de la duración de la acción, la estabilidad de la preparación es muy importante para los pacientes. Son necesarias formulaciones de insulina estabilizadas que tengan una mayor estabilidad física a largo plazo, en particular para preparaciones que estén expuestas a un estrés mecánico particular o a temperaturas relativamente altas. Estas incluyen, por ejemplo, insulinas en sistemas de administración tales como

35 plumas, sistemas de inhalación, sistemas de inyección sin aguja o bombas de insulina.

Las bombas de insulina se llevan puestas o implantadas en el cuerpo del paciente. En ambos casos, la preparación está expuesta al calor del cuerpo y al movimiento y al funcionamiento de liberación de la bomba y, por tanto, a un estrés termomecánico muy elevado. Puesto que también las plumas de insulina (plumas desechables y reutilizables) se llevan normalmente en el cuerpo, aplica lo mismo para ellas. Las preparaciones anteriores tienen solo una estabilidad limitada bajo estas condiciones.

La insulina está presente en general en solución neutra en concentración farmacéutica en forma de hexámeros estabilizados que contienen cinc, que están compuestos de 3 unidades dimericas idénticas (Brange et al., Diabetes Care 13:923-954 (1990)). Sin embargo, el perfil de acción de una preparación de insulina puede mejorarse reduciendo el estado oligomérico de la insulina que esta contiene. Mediante la modificación de la secuencia de aminoácidos, se puede reducir la autoasociación de la insulina. Así, el análogo de insulina lispro, por ejemplo, existe principalmente como un monómero y, de ese modo, es absorbido más rápidamente y muestra una acción de más corta duración (HPT Ammon and C. Werning; Antidiabetika [Antidiabéticos]; 2ª Ed.; Wiss. Verl.-Ges. Stuttgart; 2000; pág. 94.f). Sin embargo, los análogos de insulina de acción rápida que existen frecuentemente en la forma monomérica o dimérica son menos estables y más propensos a agregarse bajo estrés térmico y mecánico que la insulina hexamérica. Esto se puede apreciar por la turbidez y precipitados de agregados insolubles. (Bakaysa et al, patente de Estados Unidos número 5.474.978). Estos productos de transformación de mayor peso molecular (dímeros, trímeros, polímeros) y agregados disminuyen no solo la dosis de insulina administrada sino que también pueden inducir irritación o reacciones inmunitarias en los pacientes. Por otro lado, tales agregados insolubles pueden afectar y bloquear las cánulas y conductos de las bombas o agujas de las plumas. Puesto que el cinc conduce a una estabilización adicional de la insulina mediante la formación de hexámeros que contienen cinc, las preparaciones de insulina y análogos de insulina exentas de cinc o con bajo contenido en cinc son particularmente susceptibles a la inestabilidad. En particular, los análogos de insulina monoméricos que tienen una acción de rápido inicio son propensos a agregarse y a volverse físicamente inestables de forma muy rápida, debido a que la formación de agregados insolubles transcurre a través de monómeros de insulina.

Con el fin de garantizar la calidad de una preparación de insulina, es necesario evitar la formación de agregados. Existen varias técnicas para estabilizar formulaciones de insulina. Así, en la solicitud de patente internacional WO98/56406, se han descrito formulaciones estabilizadas por tampón de Tris o arginina. La patente de Estados Unidos

número 5,866,538 describe una preparación de insulina que contiene glicerol y cloruro de sodio en concentraciones de 5 a 100 nM y que deberá tener una mayor estabilidad. La patente de Estados Unidos número 5.948.751 describe preparaciones de insulina que tienen una mayor estabilidad física, que se consigue mediante la adición de manitol o azúcares similares. Igualmente, la adición de cinc en exceso a una solución de insulina que contiene cinc puede aumentar la estabilidad (J. Brange et al., *Diabetic Medicine*, 3: 532-536, 1986). La influencia del pH y diversos excipientes sobre la estabilidad de las preparaciones de insulina también se ha descrito con detalle (J. Brange & L. Langkjaer, *Acta Pharm. Nordica* 4: 149-158).

Con frecuencia, estos procedimientos de estabilización no son adecuados para mayores demandas (mejorar la capacidad para almacenarse a temperatura ambiente o a temperatura corporal y bajo estrés mecánico) o para análogos de insulina “monoméricos” o insulinas de acción rápida, que son particularmente susceptibles al estrés físico. Por otro lado, todas las preparaciones de insulina comerciales contienen cinc, que se añade para estabilizar la preparación. Así, Bakaysa et al. en la patente de Estados Unidos número 5.474.978 describen formulaciones estabilizadas de complejos de insulina que consisten en 6 monómeros de análogo de insulina, 2 átomos de cinc y al menos 3 moléculas de un conservante fenólico. Estas formulaciones pueden contener adicionalmente un tampón fisiológicamente aceptable y un conservante. Si se desea, sin embargo, preparar preparaciones de insulina exentas de cinc o con bajo contenido en cinc, los procedimientos de estabilización citados no son adecuados para una preparación comercializable. Por ejemplo, no fue posible desarrollar una preparación exenta de cinc de insulina lispro a causa de su inadecuada estabilidad física (Bakaysa et al., *Protein Science* (1996), 5:2521-2531). No se describen en el estado anterior de la técnica formulaciones de insulina con bajo contenido en cinc o exentas de cinc que tengan una adecuada estabilidad, en particular estabilidad física.

Se pueden estabilizar formulaciones exentas de cinc de insulina glulisina mediante tensioactivos. El documento WO 02/076495 describe una formulación de insulina glulisina U100 (100 UI/mL) que contiene polisorbato 20, polisorbato 80 o poloxámero 171.

El problema de la presente invención puede apreciarse en la provisión de una formulación farmacéutica de insulina glulisina que supera al menos en parte los problemas de estabilidad antes descritos, en la que se puedan evitar los componentes potencialmente no ventajosos. En particular, el problema de la presente invención puede apreciarse en la provisión de una formulación farmacéutica de insulina glulisina que tiene una estabilidad mejorada a temperatura elevada (tal como la temperatura corporal).

En la presente invención, se encontró de forma sorprendente que se aumenta la estabilidad física a largo plazo de una formulación que contiene 200 - 1000 U/mL de insulina glulisina, en particular a temperaturas elevadas.

Gracias a la estabilidad física mejorada a temperaturas elevadas, las formulaciones descritas en el presente documento son adecuadas para su administración por dispositivos implantados en el paciente o expuestos de otro modo a la temperatura corporal. Por ejemplo, la formulación de la presente invención es adecuada para su uso en bombas de insulina implantadas en el cuerpo del paciente o en bombas parche que se llevan cerca del cuerpo. Además, la formulación es adecuada para su uso en dispositivos de inyección, tales como plumas, jeringuillas, inyectoros, o para cualquier uso en el que sea necesaria una estabilidad física mejorada a temperatura elevada, por ejemplo, si estos dispositivos se llevan cerca del cuerpo.

Si, por ejemplo, se administra una formulación de insulina glulisina U300 que comprende trometamol, glicerol y fenol, en lugar de una formulación U100, el volumen a administrar se puede reducir. El volumen reducido, junto con la estabilidad mejorada, mejoran la administración por una bomba de insulina o un parche bomba, puesto que la bomba se puede usar durante un tiempo más prolongado sin cambiar el depósito, y/o se puede reducir el tamaño de la bomba.

En un modelo animal, de forma sorprendente no se detectó diferencia en la farmacocinética y farmacodinámica en formulaciones de insulina glulisina U100 y U300.

En la presente invención, insulina glulisina es insulina humana Lys(B3), Glu(B29). La insulina glulisina tiene un peso molecular de 5823 Daltons. Una solución 0,6 mM de insulina glulisina contiene 3.4938 mg/mL de insulina glulisina (100 unidades/mL, U100). Una formulación de insulina glulisina U300 contiene 300 U/mL de insulina glulisina (10,4814 mg/mL o 10,48 mg/mL).

Tal como se usa en el presente documento, el término “**estabilidad**” se refiere a la estabilidad química y/o física de los ingredientes farmacéuticos activos, en particular, de análogos y/o derivados de insulina. El propósito de las pruebas de estabilidad es proporcionar evidencia sobre cómo varía la calidad del ingrediente farmacéutico activo o la forma de dosificación con el tiempo bajo la influencia de una diversidad de factores ambientales tales como la temperatura, la humedad y la luz, y establecer una vida útil de almacenamiento para el ingrediente farmacéutico activo o la forma de dosificación y las condiciones de almacenamiento recomendadas. Los estudios de estabilidad deben incluir la prueba de los atributos del ingrediente farmacéutico activo que son susceptibles de cambiar durante el almacenamiento y son propensos a influir en la calidad, seguridad y/o

eficacia. La prueba debe abarcar, según sea lo apropiado, los atributos físicos, químicos, biológicos y microbiológicos, contenido de conservante (por ejemplo, antioxidante, conservante antimicrobiano), y pruebas de funcionalidad (por ejemplo, para un sistema de administración de dosis). Los procedimientos analíticos se deben validar totalmente y se debe indicar la estabilidad. En general, los cambios significativos para un ingrediente farmacéutico activo y/o una forma de dosificación con respecto a la estabilidad se definen como:

- un cambio de un 5% en el ensayo desde su valor inicial; o fallo en el cumplimiento de los criterios de aceptación de la potencia cuando se usan procedimientos biológicos o inmunológicos;
 - cualquier producto de degradación que exceda su criterio de aceptación;
 - fallo en el cumplimiento de los criterios de apariencia, atributos físicos y prueba de funcionalidad (por ejemplo, color, fase, separación, capacidad de resuspensión, aglomeración, dureza, administración de dosis por actuación); sin embargo, bajo condiciones aceleradas pueden esperarse algunos cambios en los atributos físicos (por ejemplo, reblandecimiento de supositorios, fusión de cremas);
- y, según sea apropiado para la forma de dosificación:
- fallo en el cumplimiento del criterio de aceptación para el pH; o
 - fallo en el cumplimiento de los criterios de aceptación para la disolución de 12 unidades de dosificación.

Los cambios significativos se pueden evaluar frente a criterios de aceptación establecidos antes de iniciar la evaluación de la estabilidad.

- Los criterios de aceptación derivarán de las monografías (por ejemplo, monografías de la Farmacopea Europea, de la Farmacopea de los Estados Unidos, de la Farmacopea Británica y otras) y de los lotes analíticos del ingrediente farmacéutico activo y el producto medicinal usados en los estudios preclínicos y clínicos. Se propondrán y justificarán límites aceptables, teniendo en cuenta los niveles observados en el material usado en los estudios preclínicos y clínicos. Las características del producto pueden ser apariencia visual, pureza, color y claridad de las soluciones/suspensiones, material en partículas visible en las soluciones y pH. Por ejemplo, los criterios de aceptación adecuados para formulaciones de insulina glulisina durante la vida útil de almacenamiento están asociados con los puntos de la prueba. La apariencia de la solución (visual), ensayo de insulina glulisina (HPLC), impurezas relacionadas (HPLC),

proteínas de alto peso molecular (HPSEC), material particulado (partículas visibles), material particulado (partículas subvisibles), ensayo de m-cresol y fenol, cinc (AAS).

Los criterios de aceptación y/o puntos de la prueba mostrados antes se basan en los límites de aceptación de las monografías y/o derivan de la amplia experiencia en el desarrollo de formulaciones de insulina.

Tal como se usa en el presente documento, el término “**tratamiento**” se refiere a cualquier tratamiento de un mamífero, por ejemplo, un trastorno patológico o enfermedad en humanos, e incluye: (1) inhibición del trastorno patológico o enfermedad, es decir, detención de su desarrollo, (2) alivio del trastorno patológico o enfermedad, es decir, hacer que remita el trastorno patológico, o (3) interrupción de los síntomas de la enfermedad.

Tal como se usa en el presente documento, la unidad de medida “**U**” y/o “**unidades internacionales**” se refieren a la actividad reductora de la glucosa en sangre de la insulina y se define (de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) como sigue: 1 U corresponde a la cantidad de insulina altamente purificada (tal como se define por la OMS) que es suficiente para reducir el nivel de glucosa en sangre de un conejo (que tiene un peso corporal de 2 – 2,5 kg) hasta 50 mg / 100 mL en 1 hora y hasta 40 mg / 100 mL en 2 horas. Para la insulina humana, 1 U corresponde a aproximadamente 35 µg (Lill, Pharmazie in unserer Zeit, Nº. 1, páginas 56-61, 2001). Para insulina glulisina, 100 U corresponden a 3,49 mg (información del producto de los cartuchos Apidra®).

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa que comprende 200 – 1000 U/mL de insulina glulisina, de forma más específica tales formulaciones que comprenden insulina glulisina en una concentración de 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 o 1000 U/mL. Otra modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa que comprende 200 - 500 U/mL de insulina glulisina, de forma más específica 270 – 330 U/mL de insulina glulisina, de forma más preferida 300 U/mL de insulina glulisina.

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes que está esencialmente exenta de cinc o contiene 20 µg/mL de cinc o menos.

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes que comprende al menos una sustancia seleccionada de sustancias tampón, conservantes y agentes de tonicidad, en la que, preferiblemente, la sustancia tampón es trometamol.

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes que comprende 3 a 10 mg/mL de trometamol.

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes, en la que el conservante es fenol y / o m-cresol.

5 Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes que comprende 1,5 a 3,5 mg/mL de m-cresol y/o 0,5 a 3,0 mg/mL de fenol.

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes, en la que el agente de tonicidad es glicerol.

10 Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes, que comprende 5 a 26 mg/mL de glicerol.

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes, que está esencialmente exenta de fosfato.

15 Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes que comprende un aminoácido seleccionado del grupo que comprende arginina y metionina, en particular en una concentración de 1 a 30 mg/mL.

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes que comprende un tensioactivo no iónico, en la que el tensioactivo no iónico se selecciona preferiblemente de un grupo que comprende polisorbato 20, polisorbato 80 y poloxámero 171.

20 Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes, en la que el tensioactivo no iónico está presente en una concentración de 1 a 200 µg/mL, preferiblemente 10 a 20 µg/mL, y de forma más preferida 10 µg/mL.

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes, en la que el pH varía de 3,5 a 9,5, preferiblemente de 6 a 8,5 y, de forma más preferible de 7 a 7,8.

Otra modalidad de la invención es un dispositivo médico que comprende la formulación que se ha descrito antes. Dicho dispositivo médico puede ser una bomba de insulina o una pluma para inyección.

30 La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones anteriores que está esencialmente exenta de cloruro. Sin embargo, en una formulación esencialmente exenta de cloruro de la invención puede haber una baja cantidad de cloruro que se añade a la formulación únicamente con el fin de ajustar el pH.

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes, para inyección.

35

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes, para administración por una bomba de insulina.

Una modalidad de la invención es una formulación farmacéutica acuosa como se ha descrito antes, para su uso en el tratamiento de diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2.

Una modalidad de la invención es un procedimiento de tratamiento de diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2, que comprende la administración de la formulación que se ha descrito antes a un paciente que padece diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2, preferiblemente en el que la formulación se administra por inyección o por una bomba de insulina.

Una modalidad de la invención es el uso de una formulación como la que se ha descrito antes para la preparación de un medicamento para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2.

Como se ha citado antes, la formulación farmacéutica acuosa de la presente invención puede contener un tensioactivo. Tensioactivos farmacéuticamente aceptables adecuados se describen en el documento WO 02/076495, cuya descripción se incluye en la presente memoria como referencia. En particular, el tensioactivo se selecciona de polisorbato 20, polisorbato 80 y poloxámero 171. El tensioactivo, en particular polisorbato 20, puede estar presente en una cantidad de 1 a 200 µg/mL, preferiblemente 10 a 20 µg/mL, y de forma más preferida 10 µg/mL.

La sustancia tampón se puede seleccionar de sustancias tampón farmacéuticamente aceptables, tales como fosfato o trometamol. Fosfato dihidratado puede estar presente en una cantidad de 1 a 5 mg/mL. Una sustancia tampón preferida es trometamol (Tris, tris(hidroximetil)-aminometano), que puede estar presente en la formulación en una concentración de 3 a 10 mg/mL, preferiblemente 6 mg/mL.

Se prefiere que la formulación de la presente invención sea adecuada para administración parenteral. La formulación se puede inyectar o administrar por medio de una bomba de insulina o una pluma. La bomba de insulina puede ser una bomba parche. El experto en la técnica es conocedor de dispositivos adecuados.

La formulación farmacéutica acuosa de la presente invención es para su uso en el tratamiento de un paciente que padece diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2. En particular, el paciente es un ser humano.

Otro aspecto de la presente invención es un procedimiento de tratamiento de diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2, que comprende administración de una formulación farmacéutica acuosa de la presente invención a un paciente que padece

diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2. La formulación se administra preferiblemente por inyección, una bomba de insulina o una pluma. En particular, el paciente es un ser humano.

Otro aspecto más de la presente invención es el uso de una formulación farmacéutica acuosa de la presente invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2.

La invención se describe con más detalle por las siguientes figuras y ejemplos.

LEYENDAS

Figura 1: Suma de proteínas relacionadas para formulaciones U300 de acuerdo con la presente invención (_114, _172, _173, _174)

Figura 2: Proteínas de alto peso molecular para formulaciones U300 de acuerdo con la presente invención (_114, _172, _173, _174).

EJEMPLO 1

Se compararon formulaciones de insulina glulisina U300 almacenadas en diferentes condiciones en términos de proteínas de alto peso molecular (HMWP), el contenido de insulina glulisina, el aumento de proteínas relacionadas y la claridad visual.

Una formulación de insulina glulisina U300 contiene 300 U/mL de insulina glulisina (10,48 mg/mL).

El contenido de HMPW describe el grado de agregación de moléculas de insulina. Se pueden observar dímeros, trímeros y polímeros de insulina. Un aumento del HMPW indica una mayor proporción de moléculas de insulina que están agregadas.

Los resultados indican que los excipientes tienen un impacto sobre la estabilidad de una formulación de insulina glulisina U300 a temperatura elevada y bajo la influencia de la luz. En particular, la presencia de metionina o una pequeña cantidad de cinc puede estabilizar la formulación de insulina glulisina U300 a temperatura elevada y bajo la influencia de luz.

Se llevó a cabo una comparación sistemática de la influencia de excipientes sobre la estabilidad de formulaciones de insulina glulisina U100 y U300. Se prepararon dieciséis formulaciones U300 y U100, representando todas las permutaciones de

- agente de tonicidad glicerol o NaCl
- conservante m-cresol o fenol
- sustancia tampón trometamol o fosfato dihidratado
- tensioactivo polisorbato 20 o sin tensioactivo

Mediante esta técnica, se puede comparar la estabilidad de formulaciones que son diferentes únicamente en uno de estos cuatro componentes.

Se prepararon otras formulaciones para comparar el efecto de la presencia de cinc sobre la estabilidad.

Las formulaciones se almacenaron a 37 C durante 30 días y se valoraron la estabilidad física y química.

5

EJEMPLO 2

CONTROL DE LA FORMULACIÓN

(a) Procedimientos analíticos

Se llevan a cabo pruebas usando procedimientos analíticos de prueba de acuerdo con una farmacopea, cuando sea aplicable. El concepto de control de calidad se ha establecido teniendo en cuenta los requerimientos de Buenas Prácticas de Fabricación, (GMP) así como el actual estado del proceso de ICH.

10

Los procedimientos cromatográficos analíticos y los no incluidos en una farmacopea usados para el control de la formulación se resumen a continuación:

Descripción

15

Examinar visualmente una serie de recipientes para determinar la conformidad con los criterios de aceptación.

Identificación (HPLC)

20

La identidad del ingrediente activo se garantiza comparando el tiempo de retención de una muestra de formulación de fármaco con el tiempo de retención de un patrón de referencia usando un procedimiento de HPLC de fase inversa. El procedimiento también es usado para la determinación del ensayo del ingrediente activo, para la determinación de los compuestos relacionados e impurezas, y para cuantificar los conservantes m-cresol y fenol.

Ensayo (HPLC)

25

La prueba se lleva a cabo por cromatografía líquida de fase inversa (HPLC). El procedimiento también es usado para la determinación del ensayo del ingrediente activo, para la determinación de los compuestos relacionados e impurezas, y para cuantificar los conservantes m-cresol y fenol. Columna: Gel de sílice octadecilsililada (C18), tamaño de partículas 3 µm, tamaño de poro 200 Å (250 mm × 4,0 mm), termostatzada a +41 °C. Automuestreador: termostatzado a ≤+10 °C. Fase móvil A: Solución tampón pH 2,2 / acetonitrilo / agua (55:20:25 v/v). Fase móvil B: Solución tampón pH 2,2 / acetonitrilo (55:45 v/v). El gradiente se muestra en la Tabla 1.

30

35

Tabla 1: Gradiente de HPLC

Tiempo [min]	Fase móvil A [%]	Fase móvil B [%]
0	67,5	32,5
0 a 42	67,5	32,5
42 a 70	40	60
70 a 75	40	60
76 a 76	67,5	32,5
76 a 90	67,5	32,5

15 Caudal: 0,6 mL/min. Volumen de inyección: 12 µL. Detección: 205 nm (para el ingrediente activo) y 252 nm (para m-cresol y fenol). Tiempo de ejecución típico: 90 min.

Los ensayos del ingrediente activo, m-cresol y fenol se calculan por normalización externa. Las impurezas se calculan usando el procedimiento del porcentaje del área del pico.

20 **Compuestos relacionados e impurezas (HPLC)**

Se usan las mismas condiciones cromatográficas que para el “Ensayo (HPLC)” para la determinación de los compuestos relacionados e impurezas. Los compuestos relacionados y las impurezas se calculan usando el procedimiento del porcentaje del área del pico.

25 **Proteínas de alto peso molecular (HMWPs)**

Las proteínas de alto peso molecular se determinan usando cromatografía de exclusión molecular de alta presión (HPSEC). Columna: Shodex Protein KW 802,5 (gel de sílice, diol) 120-7-diol, intervalo de separación 2000 a 80000 Daltons (300 mm × 8 mm), termostatzada a temperatura ambiente. Automuestreador: Termostatzado a 30 ≤+10 °C. Fase móvil: Ácido acético/acetonitrilo/agua (200:300:400 v/v), ajustado a pH 3,0 con solución de amoníaco 25% (v/v). Elución isocrática. Caudal: 0,5 mL/min. Volumen de inyección: 100 µL. Detección: 276 nm. Tiempo de ejecución típico: 65 min. Las HMWP se calculan usando el procedimiento del porcentaje del área del pico.

Ensayo de conservante antimicrobiano

Se usan las mismas condiciones cromatográficas que para el “Ensayo (HPLC)” para la determinación del ensayo de m-cresol y de fenol. El m-cresol y fenol se calculan por un patrón externo.

5 **(c) Justificación de los criterios de aceptación**

Las pruebas y criterios de aceptación, tal como se han presentado antes, se seleccionaron en base a ICH Q6B y en monografías publicadas, resultados analíticos obtenidos, precisión de los procedimientos usados, farmacopeas y/o normas reguladoras, y son concordantes con los límites convencionales en esta etapa de desarrollo.

10 **Viabilidad de la formulación para formar soluciones concentradas**

Se incluyeron formulaciones de 100 a 900 Unidades/mL para investigar la viabilidad de soluciones concentradas de insulina glulisina. Se determinó que la máxima solubilidad en agua al pH de 7,3 deseado era de aproximadamente 1100 Unidades/mL. Se puede confirmar la estabilidad física y química de formulaciones desde 100 a 900
15 Unidades/mL.

Estabilidad de la formulación**(a) Estabilidad de la formulación**

Se iniciaron estudios de estabilidad para la formulación de acuerdo con el resumen del protocolo de estabilidad descrito en la siguiente tabla. La composición y
20 procedimiento de preparación de los lotes para la estabilidad es representativa del material. Se valoró el perfil de estabilidad para el almacenamiento a largo plazo, condiciones de prueba aceleradas y de estrés de acuerdo con las directrices ICH. Las muestras se envasaron y almacenaron en cartuchos de 3 mL con precinto de aluminio con reborde y disco de sellado laminado insertado. Hasta la fecha, se disponía de datos
25 de estabilidad a 12 meses a partir de los estudios de estabilidad de la formulación en curso.

30

35

Tabla 2: Condiciones de almacenamiento

	Condiciones de almacenamiento	Intervalos de muestreo	Envase
	<u>Largo plazo</u>		
5	+5 °C ± 3 °C	1, 3, 6, y 12 meses	cartuchos de 3 mL
	<u>Acelerado</u>		
	+25 °C ± 2 °C/60% ± 5% RH	1, 3, y 6 meses	cartuchos de 3 mL
	<u>Estrés</u>		
	+40 °C ± 5 °C/75% ± 5% RH	1 mes	cartuchos de 3 mL
	<u>Fotoestabilidad</u>		
10	Prueba de luz solar según las directrices de ICH*	1 día	cartuchos de 3 mL
	Luz interior**	14 días	cartuchos de 3 mL
15	* Iluminación general no inferior a 1,2 millones de lux hora y una energía ultravioleta cercana integrada no menor a 200 vatios hora /m². Se almacena una muestra control oscura en las mismas condiciones para eliminar cualquier efecto debido a los cambios de temperatura local ** Tubos fluorescentes convencionales Variolux, Heraeus, GE-Lightening, Tipo F40/33, irradiación aproximada 8 W/m², 2000 Lux. Se almacena una muestra control oscura en las mismas condiciones para eliminar cualquier efecto debido a los cambios de temperatura local		

20 Las siguientes pruebas se llevaron a cabo durante las pruebas de estabilidad: apariencia, ensayo, proteínas relacionadas, proteínas de alto peso molecular, pH, materia en forma de partículas (partículas visibles y subvisibles), ensayo de conservantes antimicrobianos (m-cresol y fenol), contenido de cinc. Las investigaciones de las propiedades físicas después de 6 meses de almacenamiento en condiciones de almacenamiento a largo plazo de +5 °C y las propiedades químicas después de 12 meses de almacenamiento en las condiciones de almacenamiento a largo plazo de +5 °C confirman la estabilidad de la formulación cuando se almacenó en las condiciones de almacenamiento recomendadas. Únicamente se pudieron observar cambios muy ligeros de las impurezas relacionadas.

30 Cuando se almacenaron en condiciones aceleradas (6 meses a +25 °C/60% de HR) las proteínas relacionadas y las proteínas de alto peso molecular aumentaron ligeramente. Cuando se almacenaron en condiciones aceleradas (1 mes a +40 °C/75% de HR) las proteínas relacionadas y las proteínas de alto peso molecular aumentaron. El contenido de ingrediente activo, m-cresol y fenol permaneció básicamente inmutable en 35 las condiciones aceleradas.

Debido a los presentes resultados de los estudios de estabilidad de la formulación, se puede confirmar la estabilidad química y física de la formulación.

Las Tablas 3 y 4 muestran los resultados de estabilidad a largo plazo, en condiciones aceleradas y con estrés, en las que los números de lote “_114”, “_172”, “_173” y “_174” hacen referencia a una formulación de acuerdo con la presente invención.

Tabla 3: Comparación de la estabilidad química de formulaciones U300 de acuerdo con la invención (_114, _172, _173, _174) frente a otras formulaciones U300

Formu- lación	Condiciones de almacena- miento	Duración del almacena- miento	Composición											Contenido Insulina glulisina [mg/mL]	Conte- nido m- Cresol [mg/mL]	Contenido Fenol [mg/mL]	Suma de proteínas relaciona- das [%]	HMWP [%]
			Insulina glulisina [mg/mL]	Cloruro de sodio [mg/mL]	Glicerol [mg/mL]	m-Cresol [mg/mL]	Fenol [mg/mL]	Trometamol [mg/mL]	Fosfato dihidratado [mg/mL]	Polisorbato 20 [mg/mL]	Cinc [mg/mL]	Arginina [mg/mL]	Metionina [mg/mL]					
0F197	+5°C	12 meses	3,49	5	--	3,15	--	6	--	0,01	--	--	--	3,52	3,14	--	0,65	0,29
	+25°C/HR60%	6 meses	3,49	5	--	3,15	--	6	--	0,01	--	--	--	3,67	3,07	--	2,55	1,57
	+40°C/HR75%	1 mes	3,49	5	--	3,15	--	6	--	0,01	--	--	--	3,41	3,06	--	3,15	4,21
_114	+5°C	12 meses	10,48	--	9,5	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	9	10,39	2,09	1,48	0,76	0,20
	+25°C/HR60%	6 meses	10,48	--	9,5	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	9	10,47	2,08	1,47	1,94	1,20
	+40°C/HR75%	1 mes	10,48	--	9,5	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	9	10,12	2,03	1,48	3,24	3,81
_172	+5°C	12 meses	10,48	--	13,2	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	3	10,64	2,03	1,46	0,52	0,19
	+25°C/HR60%	6 meses	10,48	--	13,2	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	3	10,20	1,99	1,44	2,13	1,02
	+40°C/HR75%	1 mes	10,48	--	13,2	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	3	9,95	2,13	1,53	3,00	4,23
_173	+5°C	12 meses	10,48	--	11,3	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	6	10,56	2,03	1,46	0,49	0,18
	+25°C/HR60%	6 meses	10,48	--	11,3	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	6	10,18	2,04	1,46	2,16	1,00
	+40°C/HR75%	1 mes	10,48	--	11,3	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	6	9,75	2,00	1,43	3,14	4,40
_174	+5°C	12 meses	10,48	--	10,1	3,15	--	6	--	0,01	--	--	9	10,74	3,01	--	0,56	0,19
	+25°C/HR60%	6 meses	10,48	--	10,1	3,15	--	6	--	0,01	--	--	9	10,06	3,04	--	2,24	1,11
	+40°C/HR75%	1 mes	10,48	--	10,1	3,15	--	6	--	0,01	--	--	9	9,59	3,00	--	3,15	4,00
_105	+5°C	12 meses	10,48	5	--	3,15	--	6	--	0,01	--	--	--	15,58	3,12	--	0,50	0,30
	+25°C/HR60%	6 meses	10,48	5	--	3,15	--	6	--	0,01	--	--	--	9,88	3,05	--	2,28	2,12
	+40°C/HR75%	1 mes	10,48	5	--	3,15	--	6	--	0,01	--	--	--	10,12	3,02	--	3,28	5,61

Formu- lación	Condiciones de almacena- miento	Duración del almacena- miento	Composición												Contenido Insulina glulisina [mg/mL]	Conte- nido m- Cresol [mg/mL]	Contenido Fenol [mg/mL]	Suma de proteínas relaciona- das [%]	HMWP [%]
			Insulina glulisina [mg/mL]	Cloruro de sodio [mg/mL]	Glicerol [mg/mL]	m-Cresol [mg/mL]	Fenol [mg/mL]	Trimetamol [mg/mL]	Fosfato dihidratado [mg/mL]	Polisorbato 20 [mg/mL]	Cinc [mg/mL]	Arginina [mg/mL]	Metionina [mg/mL]						
_106	+5°C	12 meses	10,48	0,58	16	1,72	1,5	--	1,25	--	0,0196	--	--	15,54	1,70	1,47	0,61	0,22	
	+25°C/HR60%	6 meses	10,48	0,58	16	1,72	1,5	--	1,25	--	0,0196	--	--	9,64	1,63	1,42	1,83	1,60	
	+40°C/HR75%	1 mes	10,48	0,58	16	1,72	1,5	--	1,25	--	0,0196	--	--	9,65	1,64	1,45	3,85	5,08	
_107,1	+5°C	12 meses	10,48	0,58	16	1,72	1,5	--	1,25	--	--	--	--	10,47	1,70	1,47	0,83	0,43	
	+25°C/HR60%	6 meses	10,48	0,58	16	1,72	1,5	--	1,25	--	--	--	--	9,78	1,68	1,46	1,98	2,26	
	+40°C/HR75%	1 mes	10,48	0,58	16	1,72	1,5	--	1,25	--	--	--	--	9,80	1,66	1,48	3,98	5,59	
_109	+5°C	12 meses	10,48	--	10,2	2,1	1,5	6	--	0,01	0,0196	9	--	10,56	2,09	1,48	0,78	0,25	
	+25°C/HR60%	6 meses	10,48	--	10,2	2,1	1,5	6	--	0,01	0,0196	9	--	9,67	2,04	1,45	2,04	1,49	
	+40°C/HR75%	1 mes	10,48	--	10,2	2,1	1,5	6	--	0,01	0,0196	9	--	9,92	2,05	1,49	3,41	5,93	
_111	+5°C	12 meses	10,48	--	10,0	2,4	1,5	6	--	0,01	--	9	--	10,49	2,40	1,48	0,93	0,30	
	+25°C/HR60%	6 meses	10,48	--	10,0	2,4	1,5	6	--	0,01	--	9	--	9,90	2,36	1,46	2,28	2,16	
	+40°C/HR75%	1 mes	10,48	--	10,0	2,4	1,5	6	--	0,01	--	9	--	9,82	2,37	1,50	3,13	7,62	
_112	+5°C	12 meses	10,48	--	10,6	2,4	0,9	6	--	0,01	--	9	--	10,37	2,38	0,89	0,97	0,31	
	+25°C/HR60%	6 meses	10,48	--	10,6	2,4	0,9	6	--	0,01	--	9	--	10,03	2,37	0,89	2,07	2,04	
	+40°C/HR75%	1 mes	10,48	--	10,6	2,4	0,9	6	--	0,01	--	9	--	10,03	2,31	0,89	3,22	5,71	
_113	+5°C	12 meses	10,48	--	10,3	2,1	1,5	6	--	0,01	--	9	--	10,44	2,10	1,49	1,00	0,27	
	+25°C/HR60%	6 meses	10,48	--	10,3	2,1	1,5	6	--	0,01	--	9	--	10,17	2,09	1,48	2,18	1,99	
	+40°C/HR75%	1 mes	10,48	--	10,3	2,1	1,5	6	--	0,01	--	9	--	9,88	2,07	1,50	3,07	7,52	

Tabla 4: Comparación de la estabilidad física de formulaciones U300 de acuerdo con la invención (_114, _172, _173, _174) frente a otras formulaciones U300

Formulación	Condiciones de almacenamiento	Duración del almacenamiento	Composición											Después de 6 meses de almacenamiento a largo plazo a +5°C se agitó a +37°C con 120 rpm			
			Insulina glulisina [mg/mL]	Cloruro de sodio [mg/mL]	Glicerol [mg/mL]	m-Cresol [mg/mL]	Fenol [mg/mL]	Trometamol [mg/mL]	Fosfato dihidratado [mg/mL]	Polisorbato 20 [mg/mL]	Cinc [mg/mL]	Arginina [mg/mL]	Metionina [mg/mL]	T0	T3	T7	T10
_114	+5°C	6 meses	10,48	--	9,5	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	9	Transparente, 1,15 FNU	Transparente, 1,30 FNU	Transparente, 1,28 FNU	Transparente, 1,20 FNU
_172	+5°C	6 meses	10,48	--	13,2	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	3	Transparente, 1,10 FNU	Transparente, 1,13 FNU	Transparente, 1,15 FNU	Transparente, 1,19 FNU
_173	+5°C	6 meses	10,48	--	11,3	2,1	1,5	6	--	0,01	--	--	6	Transparente, 1,11 FNU	Transparente, 1,13 FNU	Transparente, 1,14 FNU	Transparente, 1,17 FNU
_174	+5°C	6 meses	10,48	--	10,1	3,15	--	6	--	0,01	--	--	9	Transparente, 1,10 FNU	Transparente, 1,16 FNU	Transparente, 1,18 FNU	Transparente, 1,20 FNU
_105	+5°C	6 meses	10,48	5	--	3,15	--	6	--	0,01	--	--	--	Transparente, 1,95 FNU	Transparente, 1,62 FNU	Transparente, 1,97 FNU	Transparente, 1,64 FNU
_106	+5°C	6 meses	10,48	0,58	16	1,72	1,5	--	1,25	--	0,0196	--	--	Transparente, 1,11 FNU	Ligeramente turbio, 19,84 FNU	Turbio, 64,90 FNU	Turbio, 99,17 FNU
_107,1	+5°C	6 meses	10,48	0,58	16	1,72	1,5	--	1,25	--	--	--	--	Transparente, 1,06 FNU	Ligeramente turbio, 6,43 FNU	Turbio, 28,17 FNU	Turbio, 51,51 FNU
_109	+5°C	6 meses	10,48	--	10,2	2,1	1,5	6	--	0,01	0,0196	9	--	Transparente, 1,30 FNU	Transparente, 1,28 FNU	Transparente, 1,32 FNU	Transparente, 1,31 FNU
_111	+5°C	6 meses	10,48	--	10,0	2,4	1,5	6	--	0,01	--	9	--	Transparente, 1,41 FNU	Transparente, 1,44 FNU	Transparente, 1,47 FNU	Transparente, 1,44 FNU
_112	+5°C	6 meses	10,48	--	10,6	2,4	0,9	6	--	0,01	--	9	--	Transparente, 1,34 FNU	Transparente, 1,35 FNU	Transparente, 1,35 FNU	Transparente, 1,36 FNU
_113	+5°C	6 meses	10,48	--	10,3	2,1	1,5	6	--	0,01	--	9	--	Transparente, 1,37 FNU	Transparente, 1,43 FNU	Transparente, 1,58 FNU	Transparente, 1,38 FNU

EJEMPLO 3**FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA DE FORMULACIONES U300 Y U100 DE INSULINA GLULISINA**

Se indujo diabetes mellitus a cerdos enanos castrados macho del Yucatán con un peso aproximado de 30 kg mediante tratamiento con aloxano aproximadamente tres semanas antes del experimento. El cerdo enano tratado con aloxano es un modelo para la diabetes mellitus tipo 1 en seres humanos.

Un primer grupo de cerdos enanos tratados con aloxano (n=4) recibió 0,3 U/kg de insulina glulisina U100 (100 U/mL) por vía subcutánea. La composición U100 corresponde a la formulación comercial de “Apidra”. Un segundo grupo (n=4) recibió 0,3 U/kg de insulina glulisina U300 (300 U/mL) por vía subcutánea.

Se determinó la concentración plasmática de insulina glulisina mediante un ensayo específico de CL-EM/EM (nivel de detección de 0,1 ng/mL). No se detectó diferencia en la concentración plasmática de insulina glulisina en los cerdos enanos tratados con U100 y U300.

Tras el tratamiento con insulina glulisina U100 o U300, la concentración de glucosa en el plasma disminuyó rápidamente. No se detectó diferencia en el efecto sobre la glucosa plasmática entre el grupo U100 y U300. En todos los animales de ambos grupos de tratamiento, la concentración de glucosa plasmática estuvo por debajo del umbral de detección dentro de las 3 horas siguiente al tratamiento.

Este experimento demuestra que la formulación U300 de insulina glulisina es adecuada para el tratamiento de la diabetes mellitus.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica acuosa, que comprende 200 – 1000 U/mL de insulina glulisina.
- 5 2. Una formulación farmacéutica acuosa, que comprende insulina glulisina en una concentración de 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 o 1000 U/mL.
3. La formulación acuosa de la reivindicación 1, que comprende 200 - 500 U/mL de insulina glulisina.
- 10 4. La formulación farmacéutica acuosa de la reivindicación 3, que comprende 270 – 330 U/mL de insulina glulisina.
5. La formulación farmacéutica acuosa de la reivindicación 4, que comprende 300 U/mL de insulina glulisina.
6. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones
15 anteriores, que está esencialmente exenta de cinc o contiene 20 µg/mL de cinc o menos.
7. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende al menos una sustancia seleccionada de sustancias tampón, conservantes y agentes de tonicidad.
8. La formulación farmacéutica acuosa de la reivindicación 7, en la que la
20 sustancia tampón es trometamol.
9. La formulación farmacéutica acuosa de la reivindicación 8, que comprende de 3 a 10 mg/mL de trometamol.
10. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en la que el conservante es fenol y / o m-cresol.
- 25 11. La formulación farmacéutica acuosa de la reivindicación 10, que comprende de 1,5 a 3,5 mg/mL de m-cresol y / o de 0,5 a 3,0 mg/mL de fenol.
12. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en la que el agente de tonicidad es glicerol.
13. La formulación farmacéutica acuosa de la reivindicación 12, que comprende de
30 5 a 26 mg/mL de glicerol.
14. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones anteriores que está esencialmente exenta de fosfato.
15. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones

anteriores, que comprende un aminoácido seleccionado de un grupo que comprende arginina y metionina.

16. La formulación farmacéutica acuosa de la reivindicación 15, que comprende el aminoácido en una concentración de 1 a 30 mg/mL.

5 17. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende un tensoactivo no iónico.

18. La formulación farmacéutica acuosa de la reivindicación 17, en la que el tensoactivo no iónico se selecciona de un grupo que comprende polisorbato 20, polisorbato 80 y poloxámero 171.

10 19. La formulación farmacéutica acuosa de la reivindicación 18, en la que el tensoactivo no iónico está presente en una concentración de 1 a 200 µg/mL.

20. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el pH varía de 3,5 a 9,5.

15 21. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el pH varía de 6 a 8,5.

22. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el pH varía de 7 a 7,8.

23. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones anteriores que está esencialmente exenta de cloruro.

20 24. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, para inyección.

25. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, para administración por una bomba de insulina.

25 26. La formulación farmacéutica acuosa de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso en el tratamiento de diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2.

27. Un procedimiento de tratamiento de diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2, que comprende la administración de la formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 a un paciente que padece diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2.

30 28. El procedimiento de la reivindicación 27, en el que la formulación es administrada por inyección.

29. El procedimiento de la reivindicación 27, en el que la formulación es administrada por una bomba de insulina.

30. Uso de una formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 1 o diabetes mellitus tipo 2.

31. Dispositivo médico que comprende una formulación según cualquiera de las
5 reivindicaciones 1 a 26.

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

LÖWRICK, Oliver
c/o Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
Patent Department
Industriepark Höchst, Geb. K 801
65926 Frankfurt am Main
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 27 April 2016 (27.04.2016)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference DE2013/211	
International application No. PCT/EP2014/072915	International filing date (day/month/year) 24 October 2014 (24.10.2014)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☐ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address SANOFI 54 rue La Boétie F-75008 Paris France	State of Nationality FR	State of Residence FR
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address patentsgermany.fra@sanofi.com	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☒ the person	☐ the name	☐ the address
☐ the nationality		
☐ the residence		
Name and Address SANOFI-AVENTIS DEUTSCHLAND GMBH Brüningstraße 50 65929 Frankfurt am Main Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No. +49 69 305 18737	
	Facsimile No. +49 69 357175	
	E-mail address patentsgermany.fra@sanofi.com ☐ Notifications by e-mail authorized	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority	
☒ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned	
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned	
	☐ other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Gagliardi Ghislaine e-mail pt05.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 05
Facsimile No. +41 22 338 89 75	

COLOMBIA

PODER

El (los) Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

Domiciliados en Brüningstrasse 50, 65929 Frankfurt am Main, Alemania

Nombran por el presente a **XIMENA CASTELLANOS A. y/o MARGARITA CASTELLANOS A.** abogadas con oficinas en la Calle 94A No. 7A-09, Bogotá-Colombia para y para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial e intelectual y con este fin autorizamos a dichos apoderados para que nos representen ante cualesquiera autoridades o personas de los órdenes administrativo, contencioso -administrativo y judicial en todo lo relacionado con los siguientes actos y gestiones:

- Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos industriales; registro de marcas de fabrica, de servicio, colectivas o defensivas y de denominaciones de origen, depósito de nombres y enseñas comerciales; su renovación, prórroga, inscripción de traspaso y cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria y el registro de licencias de uso de esos derechos;
- Para la obtención de protección de variedades vegetales
- Para la obtención de registros sanitarios;
- Para la obtención de registros de derechos de autor.
- Acciones de oposición, observación, cancelación, nulidad, medidas cautelares y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso - administrativos que promovamos o se nos promuevan.

Pudiendo en todos los actos y gestiones arriba mencionados sustituir éste mandato entre los apoderados, transigir, desistir, recibir, cancelar, renunciar, aceptar notificaciones y nombrar apoderados judiciales y extra-judiciales.

Finalmente, este poder ratifica la validez de todos los actos y solicitudes que, a nombre de la poderdante hubieren realizado los apoderados en relación con las facultades anteriormente enumeradas, antes de la suscripción del presente poder

Dado y firmado hoy 15 de Enero de 2014

en Frankfurt am Main, Alemania

por Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

POWER OF ATTORNEY

I (we) the undersigned Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

Of Brüningstraße 50, 65929 Frankfurt am Main, Germany

hereby grant(s) Power of Attorney to **XIMENA CASTELLANOS A. and /or MARGARITA CASTELLANOS a.** attorneys residing at Calle 94A No. 7A-09, Bogotá- Colombia, to

and to obtain the protection of my (our) Intellectual Property, for which purpose we authorize the said attorneys to represent us before any authorities, or persons, specially those, administrative, contentious and judicial, in all matters concerning the following:

- Obtainment of patents, models and designs, registration of trademarks, service, collective and defensive marks, and of designations of origin; the deposit of trade names and ensigns; its renewal, extension, recordal of assignments, change of name or domicile, voluntary cancellation, and the registration of licenses of use of the above rights;
- For the obtainment of plant variety protection
- For the obtainment of Sanitary registrations;
- For the obtainment of copyright registrations
- Actions of opposition, cancellation, nullity, infringement, granting of licenses; and in general the civil, criminal and administrative suits related to those rights; actions and suits instituted by us or against us;

In all the above matters they may substitute this power of attorney within the appointed attorneys, compromise, cancel, receive, withdraw, renounce, accept notifications and appoint attorneys in fact in or out of court.

Finally, this power of attorney ratifies the validity of all acts and applications made by the representatives in the name of the signatory of this power of attorney, with regard to the faculties above given, before the execution of the present power of attorney.

Given and signed this 15. JAN. 2014

In Frankfurt am Main, Germany

Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

by

Dr. Michael Bankmann
(Prokurist)

Dieter Breuer
(Authorized Signatory)

CASTELLANOS & Co.
INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM

CALLE 94 A No. 7 A - 09 / P.O. BOX 6349
PHONE (57 1) 756 07 70 / FAX (57 1) 755 01 58
BOGOTÁ D.C. COLOMBIA
castellanos@castellanosyco.co

RESUMEN

Una formulación farmacéutica acuosa que comprende 200 – 1000 U/mL de insulina glulisina.

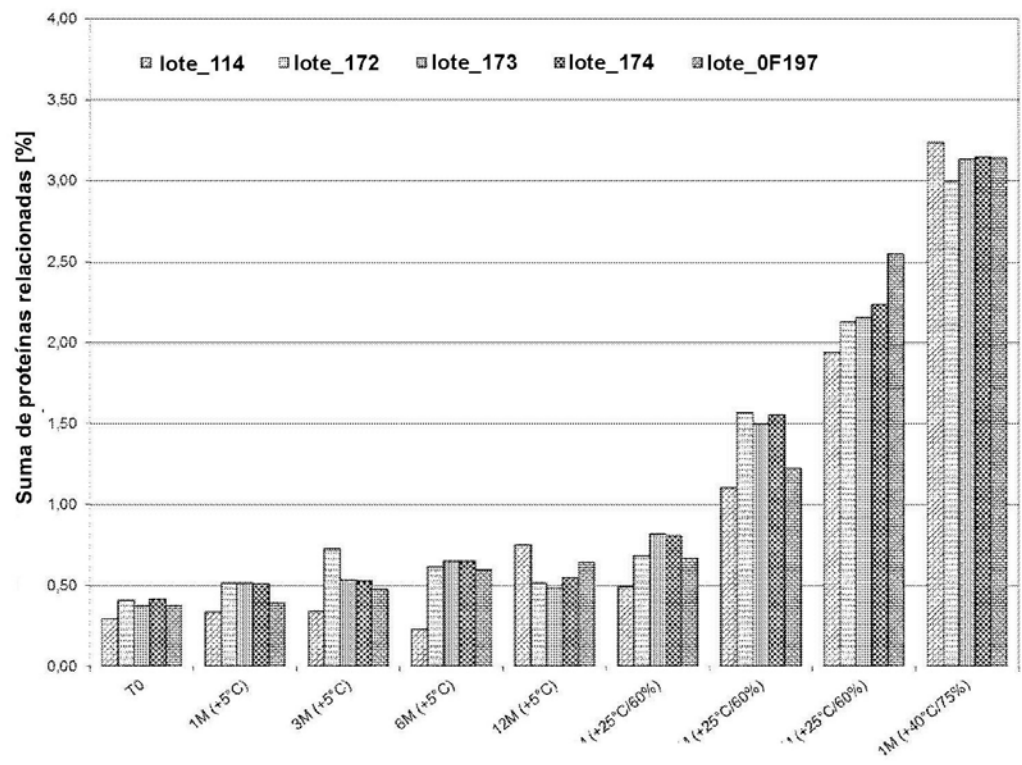


Figura 1

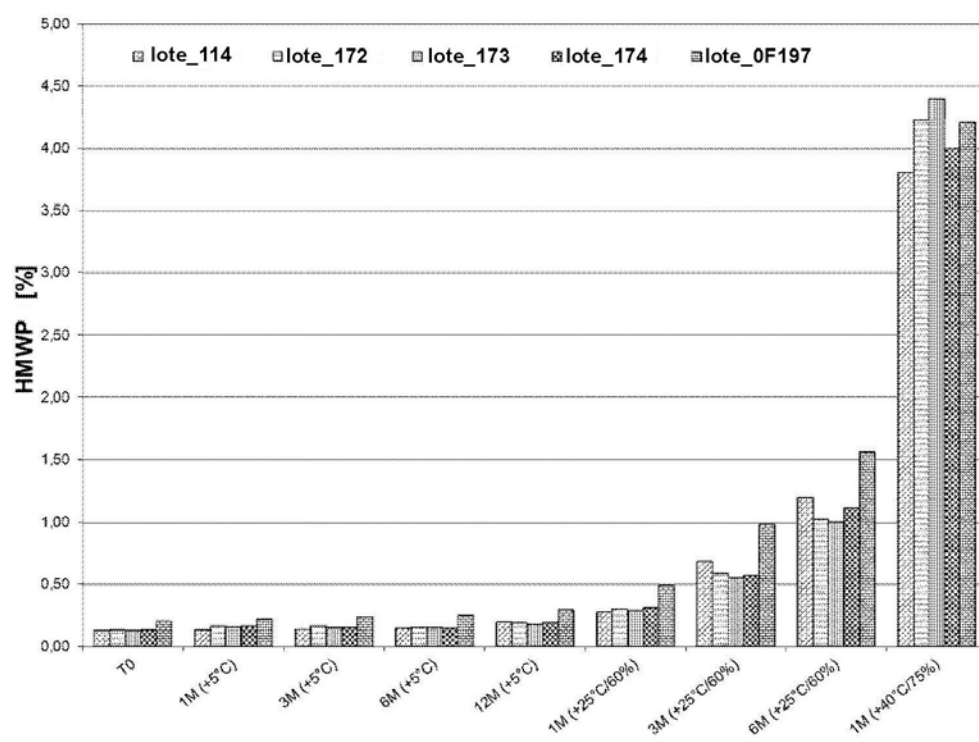


Figura 2