



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 362 269**

51 Int. Cl.:
A61K 38/28 (2006.01)
C07K 14/62 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02709541 .3**
96 Fecha de presentación : **14.02.2002**
97 Número de publicación de la solicitud: **1409006**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.04.2004**

54 Título: **Mezclas monodispersadas y procedimientos de tratar la diabetes.**

30 Prioridad: **15.02.2001 US 269198 P**
11.01.2002 US 347713 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
30.06.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
30.06.2011

73 Titular/es: **Biocon Limited**
20th K.M. Hosur Road, Electronics City P.O
Bangalore 560 100 Karnataka, IN

72 Inventor/es: **Ekwuribe, Nnochiri, N.;**
Price, Christopher, H.;
Still, James, Gordon;
Filbey, Jennifer, Ann;
Radhakrishnan, Balasingam;
Odenbaugh, Amy, L. y
Ansari, Aslam, M.

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 362 269 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

Mezclas monodispersadas y procedimientos de tratar la diabetes

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a una mezcla sustancialmente monodispersada de conjugados, en la que cada uno comprende un conjugado de polipéptido de insulina-oligómero y a procedimientos de tratar la diabetes mellitus.

Antecedentes de la invención

10 Actualmente hay 15,7 millones de personas, o el 5,9% de la población de Estados Unidos, que sufren diabetes mellitus. Cada día se diagnostica diabetes a aproximadamente 2.200 personas y aproximadamente 798.00 serán diagnosticadas este año. La diabetes es la séptima causa principal de muerte (sexta causa principal de muerte por enfermedad) en Estados Unidos.

15 La diabetes mellitus, más conocida como diabetes, es una enfermedad en la que el cuerpo no produce ni/o usa adecuadamente la insulina, una hormona que ayuda al cuerpo a convertir azúcares y otros nutrientes en energía. En un individuo no diabético, la insulina se produce en el páncreas, en los islotes de Langerhans, en respuesta a un incremento de la glucosa en los intestinos y/o la sangre. A continuación, la insulina actúa junto con el hígado para controlar el metabolismo de la glucosa en el cuerpo. Aunque normalmente se piensa que la diabetes es una enfermedad de azúcar en sangre, la diabetes puede dar lugar a numerosas complicaciones mortales. Por ejemplo, la diabetes puede conducir a varias enfermedades microvasculares, tales como retinopatía, nefropatía y neuropatía. En Estados Unidos, la diabetes es la principal causa de nuevos casos de ceguera en personas de edades comprendidas entre los 20 y los 74 años, es la principal causa de nefropatía terminal y es la causa más frecuente de amputaciones de las extremidades inferiores. Los individuos diabéticos también tienen una probabilidad mayor de desarrollar enfermedades macrovasculares potencialmente mortales, tales como cardiopatías e ictus.

20 Existen varios tipos de diabetes. La diabetes mellitus dependiente de insulina (DMDI), normalmente denominada diabetes de tipo 1, es una enfermedad autoinmunitaria que afecta a los islotes de Langerhans, destruyendo la capacidad del cuerpo para producir insulina. La diabetes de tipo 1 puede afectar hasta a 1 millón de personas en Estados Unidos. La diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNDI), normalmente denominada diabetes de tipo 2, es un trastorno metabólico resultado de la incapacidad del cuerpo para producir suficiente insulina o usar adecuadamente la insulina producida. Aproximadamente el 90 por ciento de todos los individuos diabéticos en Estados Unidos sufren diabetes de tipo 2, que normalmente se asocia con obesidad y un estilo de vida sedentario.

25 En general, el objetivo del tratamiento de la diabetes es controlar los niveles de glucosa en sangre y mantenerlos dentro de unos límites que imiten a los del individuo no diabético, es decir reproducir la homeostasis fisiológica natural de la glucosa. Hasta la fecha este objetivo no se alcanzado del todo eficazmente.

30 Normalmente, la diabetes se trata vigilando los niveles de glucosa en el cuerpo a través de muestras de sangre y/o de orina e intentando controlar los niveles de glucosa en el cuerpo usando una combinación de dieta e inyecciones parenterales de insulina. Las inyecciones parenterales, tales como inyecciones subcutáneas e intramusculares, liberan insulina en el sistema periférico. En estudios tales como el estudio Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) de ha demostrado que un estrecho control de los niveles de glucosa en sangre dentro de unos límites normales puede reducir o eliminar las complicaciones microvasculares asociadas con la diabetes. Como se ha observado en el DCCT, se puede conseguir un estrecho control de los niveles de glucosa en sangre en algunos individuos usando tres o más inyecciones diarias de insulina o mediante tratamiento con una bomba de insulina (infusión subcutánea continua de insulina). Si se siguen estrechamente, dichos regímenes ofrecen el potencial de un cierto control de la enfermedad. No obstante, en el DCCT se observó un mayor riesgo de hipoglucemia cuando se intentó un estrecho control de los niveles de glucosa en sangre mediante administración periférica. Adicionalmente, la administración periférica de insulina puede dar lugar a hiperinsulinemia periférica, que puede incrementar el riesgo de varias complicaciones médicas. Además, muchos pacientes pueden incumplir de forma rutinaria estos regímenes debido a la falta de comodidad y/o a la vergüenza asociada con la administración subcutánea de insulina.

35 En un intento de superar la incomodidad y las molestias de la administración subcutánea de insulina se han propuesto varias alternativas no invasivas a la insulina inyectable. Por ejemplo, las patentes de EE.UU. números 5.320.094 de Laube y col., 5.364.838 de Rubsamen y 5.997.848 de Patton y col. proponen la administración intrapulmonar de insulina usando dispositivos inhaladores. La utilidad de estos procedimientos puede estar limitada por el requisito de dirigir la operación del dispositivo de liberación, el potencial de irritación pulmonar con el uso prolongado y la liberación alterada a los pacientes con trastornos pulmonares. También se ha propuesto la administración de insulina en la mucosa bucal. Aunque estos procedimientos de administración pueden haberse denominado "administración oral", son eficaces formas no inyectables de administración periférica con sus problemas y dificultades relacionados.

55 La administración de insulina a través de la mucosa nasal mediante un dispositivo en aerosol también se ha propuesto. Estos procedimientos dieron lugar a niveles inaceptables de variabilidad de la absorción de insulina dentro del mismo paciente y entre dosis, así como irritación de la mucosa nasal. Como ocurre con los

procedimientos intrapulmonar y de la mucosa bucal descritos en lo que antecede, la administración de insulina a través de la mucosa nasal es una forma no inyectable de administración periférica.

Aunque estas formas no inyectables de administración periférica pueden evitar la incomodidad de las formas inyectables, siguen presentando los mismos riesgos de hiperinsulinemia periférica asociados con la inyección periférica de insulina. Además, y quizá lo más importante, no liberan insulina en el hígado de un modo eficaz. Como se ha descrito con anterioridad y con más detalle en Goodman & Gilman's, *The Pharmacological Basis of Therapeutics* 1487-1507 (9ª ed. 1996), la insulina actúa junto con el hígado para controlar el metabolismo de la glucosa en el cuerpo. Para conseguir un tratamiento más eficaz de la diabetes mellitus, se deberán proporcionar procedimientos que simulen la liberación natural de la insulina en el hígado.

Se han propuesto varios procedimientos que pueden intentar simular la liberación natural de insulina en el hígado. Por ejemplo, la patente de EE.UU. nº 4.579.730 de Kidron y col. propone una composición farmacéutica con recubierta entérica para la administración oral de insulina. Aunque esta patente afirma que las formulaciones farmacéuticas propuestas tienen el mismo efecto que la insulina secretada de forma natural sobre los niveles de glucosa en sangre, la insulina no se absorbe rápidamente desde la luz intestinal hacia la corriente sanguínea. Por ejemplo, la patente informa en la columna 4, líneas 15-16, que sólo el 5-10% de la insulina se absorbe durante 60 minutos. Adicionalmente, esta formulación parece tener un efecto limitado sobre los niveles de glucosa en sangre dentro de la primera hora tras la administración. (Véase la columna 4, Tabla 1).

Como otro ejemplo, la patente de EE.UU. nº 4.963.526 de Ecanow propone una forma de dosificación oral de insulina en base a un sistema coacervado acuoso líquido de dos fases que incorpora la insulina en una fase coacervada del sistema. La insulina administrada usando esta formulación no parece tener un efecto rápido sobre los niveles de glucosa en sangre. Por ejemplo, en la columna 9, línea 52 a la columna 10, línea 12, la patente informa la medición de los niveles de glucosa en sangre tres horas después de la administración y la observación de los niveles de glucosa en sangre de 66,3% y 47,1% de niveles en sangre iniciales en función de la dosificación dada.

Como otro ejemplo más, la patente de EE.UU. nº 4.863.896 de Geho y col. propone procedimientos de tratar la diabetes que utilizan una combinación de insulina administrada periféricamente y vesículas con insulina encapsulada dirigidas a los hepatocitos (HDVI). El hígado sólo captará las HDVI mientras la insulina libre administrada por separado suministre las necesidades del sistema periférico. La patente indica que las HDVI pueden administrarse por vía oral; no obstante, no se proporcionan intervalos de dosificación. La coadministración de HDVI e insulina periférica es necesaria porque, al contrario que la insulina producida de forma natural, ninguna HDVI atravesará el hígado hacia el sistema periférico. (Véase la columna 2, líneas 3-14).

Como otro ejemplo más, la patente de EE.UU. nº 5.704.910 de Humes propone un dispositivo implantable para liberar una molécula preseleccionada, por ejemplo una hormona tal como insulina, en la circulación sistémica de un mamífero. La patente contempla anclar un dispositivo productor de insulina en la vena porta antes del hígado. Confiar en tal dispositivo para controlar la enfermedad potencialmente mortal de la diabetes mellitus puede no ser práctico. Además, no está claro qué dosis de insulina administraría dicho dispositivo y precisamente cómo se regularía la dosis requerida.

A la luz de lo anterior, en la técnica existe la necesidad de procedimientos de tratar la diabetes mellitus que simulan mejor la liberación natural de la insulina en el hígado, lo que tiene como resultado la mejora de la homeostasis de la glucosa en formas de administración del producto que sean cómodos y fáciles de usar por los pacientes.

Resumen de la invención

Las realizaciones de la presente invención proporcionan composiciones para usar en el tratamiento de la diabetes mellitus que reproducen de forma eficaz la homeostasis fisiológica natural de la glucosa de los no diabéticos. Al contrario que los procedimientos de tratamiento convencionales descritos con anterioridad, las realizaciones de la presente invención proporcionan una absorción rápida y eficaz de la insulina en el torrente sanguíneo portal. Esta administración de insulina en el torrente sanguíneo portal tiene como resultado la administración de una cantidad eficaz de insulina en el hígado; no obstante, al contrario que las HDVI usadas en el procedimiento convencional descrito con anterioridad, algo de la insulina proporcionada al hígado es libre de atravesar el hígado hacia el sistema periférico. Por tanto, las realizaciones de la presente invención permiten a los individuos diabéticos con hígados sanos metabolizar la glucosa de un modo que imite más estrechamente el metabolismo natural de la glucosa en individuos no diabéticos que cualquiera de los procedimientos convencionales descritos con anterioridad. Las realizaciones de la presente invención pueden tener como resultado descensos rápidos aunque controlados de los niveles de glucosa en sangre tras la administración y proporcionan un control eficaz de los niveles de glucosa posprandiales. Como resultado, las realizaciones de la presente invención pueden permitir a los individuos diabéticos controlar los niveles de glucosa y eliminar o reducir la aparición de muchas complicaciones asociadas con la diabetes mellitus. Además de hacer que el hígado realice la homeostasis de la glucosa, las realizaciones de la presente invención pueden también desempeñar parcial o completamente el papel del hígado en la regulación del metabolismo de los lípidos y los aminoácidos.

De acuerdo con una primera realización, la presente invención proporciona una mezcla sustancialmente monodispersada de conjugados, en la que cada uno comprende un conjugado de polipéptido de insulina-oligómero que comprende la estructura:



5 en la que:

X es un resto éster, un resto tioéster, un resto éter, un resto carbamato, un resto tiocarbamato, un resto carbonato, un resto tiocarbonato, un resto amida, un resto urea o un enlace covalente;

m está entre un límite inferior de 1 y un límite superior de 30;

n está entre un límite inferior de 1 y un límite superior de 50; y

10 R es un resto alquilo, un resto de azúcar, colesterol, adamantano, un resto alcohol o un resto de ácido graso.

De acuerdo con una segunda realización, la presente invención proporciona una mezcla monodispersada de conjugados, en la que cada uno comprende un conjugado de polipéptido de insulina-oligómero que comprende la estructura:



15 en la que:

X es un resto éster, un resto tioéster, un resto éter, un resto carbamato, un resto tiocarbamato, un resto carbonato, un resto tiocarbonato, un resto amida, un resto urea o un enlace covalente;

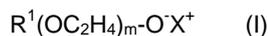
m está entre un límite inferior de 1 y un límite superior de 30;

n está entre un límite inferior de 1 y un límite superior de 50; y

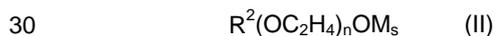
20 R es un resto alquilo, un resto de azúcar, colesterol, adamantano, un resto alcohol o un resto de ácido graso.

De acuerdo con otra realización más, la presente invención proporciona el uso de dichas mezclas para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes.

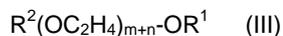
En otra realización más, la presente invención proporciona un procedimiento de sintetizar unas mezclas sustancialmente monodispersadas de polímeros, que comprenden restos de polietilenglicol, comprendiendo dicho procedimiento: hacer reaccionar una mezcla sustancialmente monodispersada de compuestos que tienen la estructura de Fórmula I:



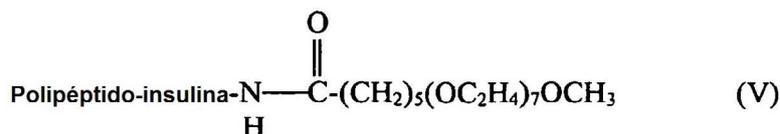
en la que R¹ es H o un resto lipófilo; m es de 1 a 25; y X⁺ es un ion positivo con una mezcla sustancialmente monodispersada de compuestos que tienen la estructura de Fórmula II:



en la que R² es H o un resto lipófilo; M_s es un resto mesilato; y n es de 1 a 25, en condiciones suficientes para proporcionar una mezcla sustancialmente monodispersada de polímeros que comprende restos de polietilenglicol y que tienen la estructura de Fórmula III:



35 En otra realización más, la invención proporciona el uso de una mezcla sustancialmente monodispersada de un conjugado de polipéptido de insulina-oligómero, que comprende la estructura de Fórmula V:



para la preparación de un medicamento administrable por vía oral para los tratamientos de la diabetes mellitus.

40 Realizaciones de la presente invención proporcionan una rápida y cómoda administración de insulina a la vena porta y, por tanto, al hígado. Utilizando la presente invención, los individuos diabéticos pueden tratar de forma eficaz las variaciones de glucosa en sangre y las complicaciones asociadas con la diabetes mellitus.

Breve descripción de las figuras

La **Figura 1a** muestra los niveles de insulina en perros pancreatomizados que reciben dosis crecientes de HIM2 administrado por vía oral de acuerdo con las realizaciones de la presente invención;

5 La **Figura 1b** muestra los niveles de glucosa en perros pancreatomizados que reciben dosis crecientes de HIM2 administrado por vía oral de acuerdo con las realizaciones de la presente invención;

La **Figura 2** muestra los niveles de insulina en suero (+/- SEM) en voluntarios normales tras la administración oral de HIMX a un volumen de dosis de 4 ml en comparación con la administración oral de placebo (Figura de comparación);

10 La **Figura 3a** muestra los niveles de insulina en suero (+/- SEM) en voluntarios normales tras la administración oral de HIMX a un volumen de dosis de 20 ml en comparación con la administración oral de placebo (Figura de comparación);

La **Figura 3b** muestra los niveles de glucosa en suero (+/- SEM) en voluntarios normales tras la administración oral de HIMX a un volumen de dosis de 4 ml en comparación con la administración oral de placebo (Figura de comparación);

15 La **Figura 4a** muestra las concentraciones de insulina periférica tras la administración oral de HIM2 en pacientes con diabetes de tipo 1 de acuerdo con las realizaciones de la presente invención en comparación con la administración subcutánea (SC) de 4 unidades de insulina;

La **Figura 4b** muestra las concentraciones de glucosa periférica tras la administración oral de HIM2 en pacientes con diabetes de tipo 1 de acuerdo con las realizaciones de la presente invención en comparación con la administración oral de placebo;

20 La **Figura 5** muestra efectos de dos dosis secuenciales de HIM2 administradas por vía oral de acuerdo con realizaciones de la presente invención sobre la glucosa y la insulina en un paciente con diabetes de tipo 1 en ayunas al que no se le ha suministrado otra insulina;

25 La **Figura 6** muestra efectos de dos dosis secuenciales de HIM2 administradas por vía oral de acuerdo con realizaciones de la presente invención sobre los niveles de glucosa en plasma en un paciente con diabetes de tipo 1 en ayunas;

La **Figura 7** muestra los efectos sobre la glucosa en plasma en pacientes con diabetes de tipo 1 tras la administración oral de HIM2 de acuerdo con las realizaciones de la presente invención;

30 La **Figura 8** muestra los efectos de glucosa en sangre en pacientes con diabetes de tipo 1 tras la administración oral de HIM2 de acuerdo con realizaciones de la presente invención cuando la administración oral de la misma dosis de HIM2 se repitió una semana después;

La **Figura 9** muestra los efectos sobre la glucosa en sangre en ayunas en pacientes con diabetes de tipo 1 tras la administración oral de HIM2 con coadministración de insulina basal (en bomba) de acuerdo con realizaciones de la presente invención;

35 La **Figura 10** muestra los efectos sobre la glucosa posprandial en un paciente con diabetes de tipo 1 tras la administración oral de HIM2 de acuerdo con realizaciones de la presente invención;

La **Figura 11** muestra los efectos sobre la glucosa posprandial en pacientes con diabetes de tipo 1 tras la administración oral de HIM2 de acuerdo con realizaciones de la presente invención;

40 La **Figura 12** muestra los efectos sobre la glucosa posprandial en pacientes con diabetes de tipo 1 tras la administración oral de HIM2 de acuerdo con realizaciones de la presente invención;

La **Figura 13** muestra los efectos sobre la glucosa posprandial en pacientes con diabetes de tipo 1 tras la administración oral de HIM2 de acuerdo con realizaciones de la presente invención;

45 La **Figura 14** muestra un esquema de reacción para proporcionar mezclas monodispersadas de polietilenglicol;

La **Figura 15** muestra un esquema de reacción para proporcionar mezclas monodispersadas de un oligómero que comprende un resto de polietilenglicol;

La **Figura 16** muestra los niveles de insulina en plasma en la vena porta (VP) y la vena cava (VC) tras la administración oral de HIM2 a 2,5 mg/kg de acuerdo con realizaciones de la presente invención;

50 La **Figura 17** muestra los niveles de glucosa en sangre y de insulina en plasma en la vena porta (VP) y la vena cava (VC) tras la administración oral de solución de dextrosa en ratones en ayunas con fines comparativos;

La **Figura 18** muestra los niveles de insulina en plasma en la vena porta (VP) y la vena cava (VC) tras la administración subcutánea de insulina recombinante humana a 25 µg/kg con fines comparativos;

55 La **Figura 19** muestra los niveles de glucosa en plasma en la vena porta (VP) y la vena cava (VC) tras la administración oral de HIM2 a 2,5 mg/kg (2 x DE₅₀) de acuerdo con realizaciones de la presente invención; y

La **Figura 20** muestra los niveles de glucosa en plasma en la vena porta (VP) y la vena cava (VC) tras la administración subcutánea de insulina recombinante humana a 25 µg/kg (2 x DE₅₀) con fines comparativos.

Descripción detallada de las formas de realización preferidas

60 En individuos no diabéticos, el páncreas suministra de forma continua niveles bajos (o basales) de insulina. El hígado suministra glucosa al resto del cuerpo cuando el cuerpo está en estado de ayunas. Normalmente esto se denomina producción de glucosa hepática. En respuesta a una comida, el páncreas libera niveles elevados de

insulina. Primero, la insulina interacciona con el hígado y de este modo le indica que detenga la producción de glucosa hepática y que comience a absorber la glucosa ingerida como parte de la comida. Algún bolo de administración de insulina por el páncreas atraviesa el hígado e interacciona con otras células del organismo, especialmente del músculo, indicándolas que absorban y usen glucosa. Por tanto, en individuos no diabéticos, el páncreas y el hígado funcionan en tándem para proporcionar la homeostasis de la glucosa.

Las realizaciones de la presente invención pueden restablecer la homeostasis de la glucosa de un individuo diabético que posea un hígado sano (es decir, un hígado capaz de realizar la captación y producción normal de la glucosa sino fuera por la ausencia de la hormona reguladora insulina). Activando al hígado para que regule los niveles de glucosa en sangre, los procedimientos de la presente invención pueden reducir o eliminar la hiperglucemia y/o la hipoglucemia asociadas con procedimientos convencionales de tratamiento de la diabetes mellitus. Las realizaciones de la presente invención pueden también reducir o eliminar algunas, si no todas, las complicaciones microvasculares (p. ej., nefropatía, retinopatía y/o neuropatía) y/o las complicaciones macrovasculares (p. ej., infarto de miocardio y/o ictus) normalmente asociadas con la diabetes mellitus. Además, las realizaciones de la presente invención pueden reducir o eliminar la hiperinsulinemia asociada con la administración periférica (p. ej., subcutánea, intrapulmonar, intranasal, en la mucosa bucal) de insulina. Además, las realizaciones de la presente invención pueden reducir o eliminar la hiperlipidemia asociada con la diabetes a través de la activación del hígado para mejorar su metabolismo de los ácidos grasos. La activación adecuada del hígado puede también restablecer otras vías metabólicas en los hepatocitos reguladas por genes y relacionadas con complicaciones asociadas con la diabetes mellitus.

Como se usa en el presente documento, la expresión "fármaco insulina" se refiere a cualquier molécula capaz de producir una o más respuestas biológicas asociadas con la insulina (p. ej., regulación de la homeostasis de la glucosa en tejidos diana tales como el hígado, los músculos y/o las grasas, estimulación de la utilización y almacenamiento por la célula de glucosa, aminoácidos y/o ácidos grasos e inhibición de procesos catabólicos tales como la degradación del glucógeno, las grasas y las proteínas), incluidos, entre otros polipéptidos de insulina tales como insulina, análogos de la insulina, fragmentos activos de la insulina y análogos activos de fragmentos de insulina, derivados de polipéptidos de insulina y moléculas agonistas de la insulina, mezclas de los mismos o composiciones farmacéuticas que contengan dichas moléculas o mezclas de dichas moléculas.

Como se usa en el presente documento, el término "insulina" quiere decir la insulina de una de las especies siguientes: ser humano, vacas, cerdos, ovejas, caballos, perros, pollos, patos o ballenas, proporcionadas de fuentes naturales, sintéticas o de ingeniería genética. En varias realizaciones de la presente invención, la insulina es, preferentemente, insulina humana.

Como se usa en el presente documento, la expresión "análogo de la insulina" quiere decir aquella en la que uno o más de los aminoácidos se han reemplazado al tiempo que conservan parte o toda la actividad de la insulina. El análogo se describe indicando los aminoácidos de sustitución con la posición del reemplazo como superíndice seguido de una descripción de la insulina. Por ejemplo, "Pro^{B29} insulina, humana" quiere decir que la lisina que normalmente se encuentra en la posición B29 de una molécula de insulina humana ha sido sustituida con prolina.

Los análogos de la insulina se pueden obtener mediante varias formas, como entenderán los expertos en la técnica. Por ejemplo, ciertos aminoácidos pueden sustituirse con otros aminoácidos en la estructura de la insulina sin una pérdida apreciable de la capacidad de unión interactiva con estructuras tales como, por ejemplo, regiones de unión a antígeno de anticuerpos o sitios de unión sobre las moléculas sustrato. Dado que la capacidad interactiva y la naturaleza de la insulina define su actividad funcional biológica, se pueden efectuar ciertas sustituciones en la secuencia de aminoácidos y, de cualquier modo, seguir siendo un polipéptido con propiedades similares.

Al realizar dichas sustituciones, se puede considerar el índice hidropático de los aminoácidos. En la técnica generalmente se entiende la importancia del índice hidropático de los aminoácidos a la hora de conferir la función biológica interactiva sobre un polipéptido. Se ha aceptado que el carácter hidropático relativo del aminoácido contribuye a la estructura secundaria del polipéptido resultante, que, a su vez, define la interacción de la proteína con otras moléculas, por ejemplo enzimas, sustratos, receptores, ADN, anticuerpos, antígenos y similares. A cada aminoácido se le ha asignado un índice hidropático sobre la base de su hidrofobicidad y características de carga del siguiente modo: isoleucina (+4,5); valina (+4,2); leucina (+3,8); fenilalanina (+2,8); cisteína/cistina (+2,5); metionina (+1,9); alanina (+1,8); glicina (-0,4); treonina (-0,7); serina (-0,8); triptófano (-0,9); tirosina (-1,3); prolina (-1,6); histidina (-3,2); glutamato (-3,5); glutamina (-3,5); aspartato (-3,5); asparagina (-3,5); lisina (-3,9); y arginina (-4,5). Como entenderán los expertos en la técnica, ciertos aminoácidos pueden estar sustituidos por otros aminoácidos que tienen un índice o puntuación hidropático similar y seguir siendo un polipéptido con actividad biológica similar, es decir seguir obteniendo un equivalente del polipéptido funcionalmente biológico. Al realizar dichos cambios, se prefiere la sustitución de aminoácidos cuyos índices hidropáticos están dentro de ± 2 de cada uno, particularmente preferidos son aquéllos que están dentro de ± 1 de cada uno y todavía más particularmente preferidos son aquéllos dentro de $\pm 0,5$ de cada uno.

También se entiende en la técnica que la sustitución de aminoácidos similares se puede realizar con eficacia en base a la hidrofiliidad. La patente de EE.UU. 4.554.101 proporciona que la mayor hidrofiliidad media local de una proteína, dirigida por la hidrofiliidad de sus aminoácidos adyacentes, se correlaciona con una propiedad biológica

de la proteína. Como se detalla en la patente de EE.UU. 4.554.101, los siguientes valores de hidrofiliicidad se han asignado a residuos de aminoácidos: arginina (+3,0); lisina ($-3,0$); aspartato (+3,0 \pm 1); glutamato (+3,0 \pm 1); serina (+0,3); asparagina (+0,2); glutamina (+0,2); glicina (0); treonina (-0,4); prolina (-0,5 \pm 1); alanina (-0,5); histidina (-0,5); cisteína (-1,0); metionina (-1,3); valina (-1,5); leucina (-1,8); isoleucina (-1,8); tirosina (-2,3); fenilalanina (-2,5); triptófano (-3,4). Como entienden los expertos en la técnica, un aminoácido puede sustituirse con otro que tenga un valor de hidrofiliicidad similar y al mismo tiempo obtener un polipéptido biológicamente equivalente y, en particular, inmunológicamente equivalente. Al realizar dichos cambios, se prefiere la sustitución de aminoácidos cuyos valores de hidrofiliicidad están dentro de ± 2 de cada uno, particularmente preferidos son aquéllos que están dentro de ± 1 de cada uno y todavía más particularmente preferidos son aquéllos dentro de $\pm 0,5$ de cada uno.

Por tanto, como se ha indicado con anterioridad, las sustituciones de aminoácidos generalmente se basan en la similitud relativa de los sustituyentes de la cadena lateral del aminoácido, por ejemplo su hidrofobicidad, hidrofiliicidad, carga, tamaño y similares. Ejemplos de sustituciones (es decir, aminoácidos que se pueden intercambiar sin alterar de forma significativa la actividad biológica del polipéptido) que tienen en cuenta varias de las características anteriores son bien conocidas para los expertos en la técnica e incluyen, por ejemplo: arginina y lisina; glutamato y aspartato; serina y treonina; glutamina y asparagina; y valina, leucina e isoleucina.

Como entenderán los expertos en la técnica, los análogos de la insulina se pueden preparar mediante varias técnicas de síntesis peptídica reconocidas, incluidas, entre otras, procedimientos clásicos (solución), procedimientos en fase sólida, procedimientos semisintéticos y procedimientos de ADN recombinante.

Ejemplos de análogos de insulina humana incluyen, entre otros, insulina Gly^{A21}, humana; insulina Gly^{A21} Gln^{B3}, humana; insulina Ala^{A21}, humana; insulina Ala^{A21} Gln^{B3}, humana; insulina Gln^{B3}, humana; insulina Gln^{B30}, humana; insulina Gly^{A21} Glu^{B30}, humana; insulina Gly^{A21} Gln^{B3} Glu^{B30}, humana; insulina Gln^{B3} Glu^{B30}, humana; insulina Asp^{B28}, humana; insulina Lys^{B28}, humana; insulina Leu^{B28}, humana; insulina Val^{B28}, humana; insulina Ala^{B28}, humana; insulina Asp^{B28} Pro^{B29}, humana; insulina Lys^{B28} Pro^{B29}, humana; insulina Leu^{B28} Pro^{B29}, humana; insulina Val^{B28} Pro^{B29}, humana; insulina Ala^{B28} Pro^{B29}, humana.

Como se usa en el presente documento, la expresión "fragmento de insulina activo" quiere decir un segmento de la secuencia de aminoácidos en la insulina que conserva parte o toda la actividad de la insulina. Los fragmentos de insulina se citan indicando la(s) posición(ones) en una secuencia de aminoácidos, seguido de una descripción del aminoácido. Por ejemplo, un fragmento de "insulina B25-B30 humana" sería la secuencia de seis aminoácidos correspondiente a las posiciones B25, B26, B27, B28, B29 y B30 en la secuencia de aminoácidos de la insulina humana.

Como se usa en el presente documento, la expresión "análogo de fragmento de insulina activo" quiere decir un segmento de la secuencia de aminoácidos que se encuentra en la molécula de insulina en el que uno o más de los aminoácidos del segmento han sido sustituidos al tiempo que conserva parte o toda la actividad de la insulina.

Como se usa en el presente documento, "derivado polipeptídico de la insulina" se refiere a un polipéptido de insulina, tal como insulina, un análogo de la insulina, un fragmento activo de la insulina o un análogo del fragmento activo de la insulina, que se ha conjugado con uno o más restos, tales como restos de acilo (p. ej., ácidos grasos) y/u oligómeros, que mejoran la lipofiliicidad y/o hidrofiliicidad del polipéptido de insulina de modo que el conjugado del polipéptido de insulina es más lipófilo y/o más hidrófilo que el correspondiente polipéptido de insulina sin conjugar. La hidrofiliicidad de un derivado polipeptídico de la insulina se puede comparar con la hidrofiliicidad del polipéptido de insulina sin conjugar por varios medios, como entenderán los expertos en la técnica. Por ejemplo, se puede añadir una cantidad dada de dicho derivado polipeptídico de la insulina a agua, y mezclar y filtrar la solución resultante. El filtrado se puede analizar usando procedimientos de HPLC conocidos para determinar la cantidad de conjugado presente en el filtrado y, por tanto, la cantidad de conjugado disuelto en el agua. Alternativamente, el papel de filtro se puede pesar antes y después de la filtración para determinar el peso del conjugado no disuelto en agua. Este peso se puede usar para determinar la concentración de conjugado en el agua. El mismo procedimiento se puede repetir usando el polipéptido de insulina no conjugado y se pueden comparar las dos concentraciones. La molécula que produce la mayor concentración en agua se considera la molécula más hidrófila. La lipofiliicidad de un derivado polipeptídico de la insulina se puede comparar con la lipofiliicidad del polipéptido de insulina sin conjugar por varios medios, como entenderán los expertos en la técnica. Por ejemplo, se puede analizar una cantidad dada de dicho derivado polipeptídico mediante HPLC de fase inversa tal como entenderán los expertos en la técnica. El polipéptido de insulina no conjugado se puede analizar usando el mismo procedimiento de HPLC de fase inversa y se pueden comparar los tiempos de elución del derivado polipeptídico de la insulina y el polipéptido de insulina no conjugado. La molécula con el mayor tiempo de elución se considera la molécula más lipófila.

Como se usa en el presente documento, la expresión "conjugado oligómero-polipéptido de insulina equilibrado anfífilicamente" se refiere a un conjugado que es tanto más lipófilo que el polipéptido de insulina no conjugado como más hidrófilo que el polipéptido de insulina no conjugado. Un experto en la técnica entenderá cómo determinar si un conjugado oligómero-polipéptido de insulina es anfífilicamente equilibrado. Por ejemplo, se puede añadir a agua una cantidad dada del conjugado de oligómero-polipéptido de insulina, y mezclar y filtrar la solución resultante. El filtrado se puede analizar usando procedimientos de HPLC conocidos para determinar la cantidad de conjugado presente en el filtrado y, por tanto, la cantidad de conjugado disuelto en el agua. Alternativamente, el papel de filtro se puede

- 5 pesar antes y después de la filtración para determinar el peso del conjugado no disuelto en agua. Este peso se puede usar para determinar la concentración de conjugado en el agua. La concentración del conjugado de oligómero-polipéptido de insulina en el agua debería ser mayor que la concentración en agua del polipéptido de insulina no conjugado determinada utilizando el mismo procedimiento. Una cantidad dada del conjugado de polipéptido de insulina-oligómero puede analizarse después mediante HPLC de fase inversa, como entenderán los expertos en la técnica. El tiempo de elución del conjugado polipéptido de insulina-oligómero debería ser mayor que el tiempo de elución del polipéptido de insulina no conjugado.
- 10 Como se usa en el presente documento, la expresión "administración portal" quiere decir administración de toda, o sustancialmente toda, una dosis dada a la vena porta. La administración portal se puede conseguir mediante varias vías de administración, incluidas, entre otras, administración oral, administración subcutánea en la cavidad peritoneal, administración rectal e infusión directa en la vena porta.
- 15 Como se usa en el presente documento, la expresión "administración periférica" quiere decir administración de toda, o sustancialmente toda, una dosis dada al sistema periférico. La administración periférica se puede conseguir mediante varias vías de administración, incluidas, entre otras, intrapulmonar, intranasal, mediante la mucosa bucal e inyecciones parenterales (p. ej., inyecciones subcutáneas e intramusculares).
- 20 Como se usa en el presente documento, el término "polialquilenglicol" se refiere a polímeros de polialquilenglicol lineales o ramificados, tales como polietilenglicol, polipropilenglicol y polibutilenglicol, e incluye el monoalquiléter del polialquilenglicol. La expresión "subunidad de polialquilenglicol" se refiere a una única unidad de polialquilenglicol. Por ejemplo, una subunidad de polietilenglicol sería $-O-CH_2-CH_2-O-$.
- 25 Como se usa en el presente documento, el término "lipofílico" quiere decir la capacidad para disolverse en lípidos y/o la capacidad para penetrar, interaccionar y/o atravesar membranas biológicas y la expresión "resto lipofílico" o "lipófilo" quiere decir un resto que es lipofílico y/o que, cuando se une a otra entidad química, aumenta la lipofilicidad de dicha entidad química. Ejemplos de restos lipofílicos incluyen, entre otros, alquilos, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, colesterilo, adamantilo y similares.
- Como se usa en el presente documento, la expresión "alquilo inferior" se refiere a restos alquilo sustituidos o insustituidos que tienen de uno a cinco átomos de carbono.
- Como se usa en el presente documento, la expresión "alquilo superior" se refiere a restos alquilo sustituidos o insustituidos que tienen seis o más átomos de carbono.
- Como se usa en el presente documento, frases tales como "entre X e Y" debería interpretarse que incluyen X e Y.
- 30 Como se usa en el presente documento, frases tales como "entre X e Y" quieren decir "entre aproximadamente X y aproximadamente Y" y frases tales como "de aproximadamente X a Y" quieren decir "de aproximadamente X a aproximadamente Y".
- 35 Como se usa en el presente documento, las expresiones "resto éster", "resto tioéster", "resto carbamato", "resto éter", "resto tiocarbamato", "resto carbonato", "restos tiocarbonatos", "resto urea" y "resto amida" se usan para hacer referencia al resto citado, en cualquiera de sus diversas orientaciones posibles. El resto puede incluir uno o dos restos de alquileo inferior además del resto citado. Por ejemplo, la expresión "resto éster" se refiere a un resto $-O-C(O)-$, un resto $-C(O)-O-$ o a cualquiera de estos restos que tienen un resto alquileo inferior en uno o los dos extremos del resto.
- 40 Las composiciones de la presente invención se pueden usar en un procedimiento de tratar la diabetes mellitus en un paciente que necesite dicho tratamiento, que incluye administrar por vía oral una cantidad eficaz de un fármaco de insulina al paciente con el fin de tratar la diabetes mellitus en el paciente, en el que la cantidad eficaz del fármaco de insulina se administra de modo que proporciona una concentración del fármaco de insulina en la sangre de la vena porta entre aproximadamente 10, 200 o 4000 y 600, 800 o 1000 $\mu U/ml$ en aproximadamente 60 minutos desde la administración, más preferentemente en aproximadamente 15 o 30 minutos desde la administración. Los procedimientos pueden proporcionar concentraciones del fármaco de insulina en el torrente sanguíneo que son de hasta 100 veces los niveles basales de insulina presentes habitualmente.
- 45
- 50 La cantidad eficaz del fármaco de insulina es, preferentemente, entre aproximadamente 0,05, 0,1 o 0,2 y 2,5 o 10 mg por kilogramo de peso corporal del paciente. Más preferentemente, la cantidad eficaz del fármaco de insulina es entre aproximadamente 0,3 y 1 mg por kilogramo de peso corporal del paciente. Cuando la dosificación del fármaco de insulina es demasiado baja, no se consigue la activación deseable del hígado. Cuando la dosificación es demasiado alta, una cantidad excesiva del fármaco de insulina puede atravesar el hígado en el sistema periférico, potencialmente dando lugar a un estado de hipoglucemia.
- 55 La administración oral de una cantidad eficaz de un fármaco de insulina proporciona, preferentemente, disminuciones rápidas de las concentraciones de glucosa en sangre periférica en ayunas. Preferentemente, las concentraciones de glucosa en sangre periférica disminuyen en aproximadamente 10, 15 o 25 por ciento en aproximadamente 5, 15 o 30 minutos tras la administración.

- Preferentemente, realizaciones de la presente invención proporcionan una liberación rápida del fármaco de insulina al sistema periférico. La administración oral de una cantidad eficaz del fármaco de insulina proporciona una concentración máxima de insulina en sangre periférica, preferentemente en aproximadamente 60 minutos tras la administración, más preferentemente en aproximadamente 30 minutos tras la administración, y todavía más preferentemente en aproximadamente 15 minutos tras la administración. La consecución rápida de una concentración máxima de glucosa contrarresta un aumento de la glucosa posprandial que simula el patrón pancreático natural de administración de insulina a la hora de comer. Preferentemente, el fármaco de insulina administrado se aclara del torrente sanguíneo en aproximadamente 3 o 4 horas y, más preferentemente, se aclara del torrente sanguíneo en aproximadamente 2 horas.
- 5 La administración oral de una cantidad eficaz del fármaco de insulina estabiliza la concentración de glucosa periférica. Por ejemplo, la concentración de glucosa en sangre periférica puede mantenerse en +/- aproximadamente 5, 10, 20 o 50 por ciento de una concentración media de glucosa periférica. La concentración media de glucosa periférica puede determinarse en un periodo de tiempo de aproximadamente 30, 60, 90 o 240 minutos comenzando en aproximadamente 15, 30 o 60 minutos desde la administración.
- 10 Los procedimientos de administración oral de insulina a un paciente que sufre diabetes mellitus reducen la producción de glucosa hepática del paciente. Preferentemente, la producción de glucosa hepática se reduce en al menos aproximadamente 25, 35, 50, 75, 90 o 95 por ciento cuando se compara con la producción de glucosa hepática del paciente sin administración y, más preferentemente, se reduce en aproximadamente un 100 por ciento cuando se compara con la producción de glucosa hepática del paciente sin administración. Esta reducción de la producción de glucosa hepática se produce, preferentemente, en aproximadamente 30, 60 o 90 minutos desde la administración. La producción de glucosa hepática se determina, preferentemente, midiendo los niveles de glucosa periférica en un periodo de tiempo en el que los niveles de insulina periférica son los niveles basales, o cercanos a ellos. Preferentemente, el periodo de tiempo es entre aproximadamente 1 y 4 horas, más preferentemente entre aproximadamente 1 y 2 horas, y, más preferentemente, aproximadamente 1,5 horas.
- 15 La administración oral de una cantidad eficaz de insulina controla un aumento de la glucosa que normalmente se asocia con la ingestión de una comida (es decir, el aumento posprandial de los niveles de glucosa). El aumento posprandial de los niveles de glucosa pueden controlarse parcial o completamente mediante procedimientos de la presente invención. Preferentemente, al menos aproximadamente un 25 por ciento de la glucosa posprandial se absorbe en el hígado, más preferentemente se absorbe al menos aproximadamente un 40 por ciento y, todavía más preferentemente, se absorbe al menos aproximadamente un 55 por ciento. Preferentemente, la absorción de glucosa posprandial se produce en aproximadamente 120 minutos desde la ingestión de la comida y, más preferentemente, se produce en aproximadamente 15 o 30 minutos desde la ingestión de la comida.
- 20 La administración oral del fármaco de insulina se puede producir a varios tiempos durante el día. Preferentemente, el fármaco de insulina se administra durante, o cerca de, la hora de la comida (p. ej., en el plazo de una hora). En algunas realizaciones, el fármaco de insulina se administra menos de aproximadamente una hora antes de ingerir una comida. Preferentemente, el fármaco de insulina se administra menos de aproximadamente 30 minutos antes de ingerir una comida y, más preferentemente, se administra menos de aproximadamente 20 minutos antes de ingerir una comida. En otras realizaciones, el fármaco de insulina se administra menos de una hora después de ingerir una comida y, preferentemente, se administra menos de aproximadamente 30 minutos después de ingerir una comida.
- 25 En otras realizaciones más, el fármaco de insulina se administra al mismo tiempo que una comida. El fármaco de insulina administrado al mismo tiempo que la ingestión de la comida puede ser menos preferido porque puede requerir dosis mayores y dar como resultado una variabilidad de una dosis a otra para un paciente dado.
- 30 La administración del fármaco de insulina se puede producir antes de una o más comidas al día. Adicionalmente, el fármaco de insulina se puede administrar varias veces además de a la hora de la comida, por ejemplo antes de dormir cuatro o más horas (p. ej., al acostarse por la noche) y/o después de despertarse de cuatro o más horas de sueño (p. ej., al levantarse por la mañana). La administración del fármaco de insulina de acuerdo con los procedimientos de la presente invención antes de dormir cuatro o más horas puede proporcionar una homeostasis eficaz de la glucosa durante todo o una parte del periodo de sueño, lo que impide o reduce la probabilidad del fenómeno del alba (Dawn Phenomenon), que suele producirse en individuos con diabetes mellitus de tipo 1 y que se caracteriza por la aparición de un episodio hipoglucémico durante un periodo de sueño.
- 35 De acuerdo con realizaciones de la presente invención, preferentemente se administra un fármaco de insulina a dosis y frecuencias adecuadas de modo que se consiga y/o mantenga la activación del hígado de modo que efectúe la homeostasis de la glucosa. Por ejemplo, el fármaco de insulina se puede administrar de forma ininterrumpida (es decir, se administra al menos una vez al día) o cíclicamente (es decir, se administra durante uno o más días consecutivos, seguido por uno o más días consecutivos sin administración). La administración ininterrumpida puede ser deseable cuando es necesario administrar una o más dosis al día con el fin de alcanzar y/o mantener la actividad del hígado para controlar/ayudar a controlar los niveles de glucosa en el torrente sanguíneo. Cuando se emplea la administración ininterrumpida, puede ser posible usar dosis de insulina menores.
- 40 La administración cíclica puede ser deseable cuando la actividad del hígado persista durante uno o más días tras la administración de insulina. Por ejemplo, el fármaco de insulina puede administrarse durante uno o más días, seguido
- 45
- 50
- 55
- 60

de un periodo de uno o más días durante los que no se administra el fármaco de insulina. La administración cíclica no tiene que seguir un patrón de administración uniforme. Por ejemplo, un régimen de administración cíclica puede emplear cuatro días de administración, seguidos de un día sin administración, seguido de dos días de administración, seguido de tres días sin administración. La administración cíclica puede usarse para tratar la diabetes mellitus de tipo 1 o de tipo 2; no obstante, la administración cíclica puede ser más beneficiosa en el tratamiento de la diabetes mellitus de tipo 2.

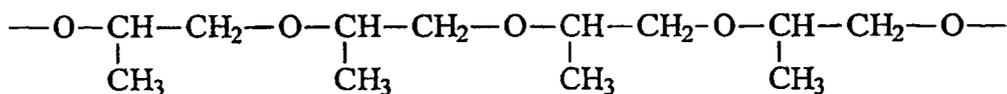
En otras realizaciones, los procedimientos de tratar la diabetes mellitus en un paciente que lo necesite comprenden administrar por vía oral al paciente una cantidad eficaz de un primer fármaco de insulina, tal como se ha descrito en las diversas realizaciones anteriores y administrar al sistema periférico del paciente una cantidad eficaz de un segundo fármaco de insulina. Preferentemente, la administración periférica se realiza mediante inyección parenteral. Más preferentemente, la administración periférica se realiza mediante inyección subcutánea continua de insulina (ISCI), como entenderán los expertos en la técnica. La dosis de la ISCI se selecciona, preferentemente, para proporcionar un nivel basal de insulina en el cuerpo. La dosis de ISCI puede ser entre aproximadamente 0,1 y 3 unidades (U) por hora y, preferentemente, entre aproximadamente 0,5 y 1,5 U/hora. Los fármacos de insulina primero y segundo pueden ser iguales o diferentes.

En otras realizaciones más, los procedimientos de tratar la diabetes mellitus en un paciente que lo necesite comprenden administrar por vía oral al paciente una cantidad eficaz de un primer fármaco de insulina, tal como se ha descrito en las diversas realizaciones anteriores y administrar de forma continua en la vena porta una cantidad basal de un segundo fármaco de insulina. Esta administración se puede conseguir mediante ISCI que se administra en la cavidad peritoneal. Se cree que estos procedimientos pueden imitar al bolo de insulina introducido en la vena porta mediante el páncreas de un individuo no diabético tras la ingestión de una comida, así como imitar el nivel basal de insulina proporcionada por el páncreas de forma continua en individuos no diabéticos. El primer fármaco de insulina y el segundo fármaco de insulina pueden ser iguales o diferentes.

El fármaco de insulina de las realizaciones descritas anteriormente es un derivado polipeptídico de insulina. El derivado polipeptídico de insulina es un polipéptido de insulina acilado o un conjugado polipéptido de insulina-oligómero. Los polipéptidos de insulina acilados son polipéptidos de insulina que se han derivado con uno o más restos que contienen acilo, tales como restos de ácidos grasos y/o restos de arilacilo. El resto de ácido graso puede ser un resto de ácido graso saturado o insaturado, lineal o ramificado, tales como, entre otros, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido tridecanoico, ácido mirístico, ácido pentadecanoico, ácido palmítico, ácido heptadecanoico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido eláidico, ácido linoleico, linoléico, araquídico y araquidónico, o un derivado de ácido graso tal como un derivado de ácido graso-arilo (p. ej., fenilacetilo) o un derivado de ácido graso-cicloalquilo (p. ej., ciclohexilacetilo o ciclohexilpropionilo). Restos de arilacilo incluyen, entre otros, benzoílo. El conjugado polipéptido de insulina-oligómero es un polipéptido de insulina conjugado con un oligómero, tal como un resto de polialquilenglicol o un resto que contiene polialquilenglicol. Los derivados polipeptídicos de insulina de acuerdo con las realizaciones de la presente invención se pueden sintetizar usando procedimientos que son conocidos para los expertos en la técnica.

De acuerdo con realizaciones de la presente invención, el conjugado polipéptido de insulina-oligómero es un conjugado polipéptido de insulina-oligómero anfífilicamente equilibrado. El conjugado polipéptido de insulina-oligómero anfífilicamente equilibrado comprende, preferentemente, un polipéptido de insulina acoplado a un oligómero que comprende un resto hidrófilo acoplado a un resto lipófilo. Preferentemente, el polipéptido de insulina es insulina o un análogo de insulina. Más preferentemente, el polipéptido de insulina es insulina humana o un análogo de insulina humana. Todavía más preferentemente, el polipéptido de insulina es insulina humana. El resto hidrófilo se puede acoplar al resto lipófilo mediante un enlace hidrolizable o no hidrolizable, o puede haber uno o más restos intermedios que acoplan el resto hidrófilo al resto lipófilo.

El resto hidrófilo del conjugado polipéptido de insulina-oligómero anfífilicamente equilibrado es un resto hidrófilo, tal como entienden los expertos en la técnica, que incluye, entre otros, polialquilenglicoles tales como polietilenglicol o polipropilenglicol, polioles polioxietilenados, copolímeros de los mismos y copolímeros de bloque de los mismos, con tal de que se mantenga la hidrofiliidad de los copolímeros de bloque. Preferentemente, el resto hidrófilo es un resto de polialquilenglicol. El resto de polialquilenglicol tiene al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 subunidades de polialquilenglicol. Preferentemente, el resto de polialquilenglicol tiene entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20 y un límite superior de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 o más subunidades de polialquilenglicol. El resto de polialquilenglicol tiene, más preferentemente, entre un límite inferior de 2, 3, 4, 5 o 6, y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 subunidades de polialquilenglicol. Incluso más preferentemente, el resto de polialquilenglicol tiene entre un límite inferior 3, 4, 5 o 6 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 subunidades de polialquilenglicol. Todavía más preferentemente, el resto de polialquilenglicol tiene entre un límite inferior 4, 5 o 6 y un límite superior de 6, 7 u 8 subunidades de polialquilenglicol. El resto de polialquilenglicol tiene, con mayor preferencia, 7 subunidades de polialquilenglicol. El resto de polialquilenglicol del oligómero es, preferentemente, un resto de polialquilenglicol de alquilo inferior, tal como un resto de polietilenglicol, un resto de polipropilenglicol o un resto de polibutilenglicol. Cuando el resto de polialquilenglicol es un resto de polipropilenglicol, el resto tiene, preferentemente, una estructura uniforme (es decir, no aleatoria). Un ejemplo de resto de polipropilenglicol que tiene una estructura uniforme es el siguiente:

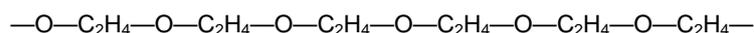


Esta estructura uniforme de de polipropilenglicol se puede describir como que tiene sólo un átomo de carbono sustituido con metilo adyacente a cada átomo de oxígeno en la cadena de polipropilenglicol. Dichos restos de polipropilenglicol uniformes pueden exhibir características tanto lipofílicas como hidrofílicas.

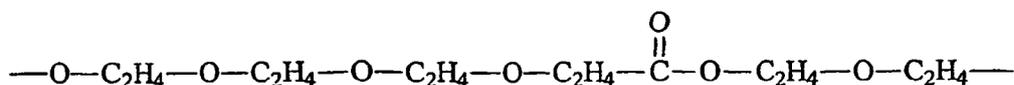
- 5 El resto lipófilo del conjugado anfifílico polipéptido de insulina-oligómero es un resto lipófilo tal como entienden los expertos en la técnica. El resto lipófilo tiene al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono. Preferentemente, el resto lipófilo tiene entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 átomos de carbono. El resto lipófilo tiene, más preferentemente, entre un límite inferior de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 átomos de carbono. Todavía más preferentemente, el resto lipófilo tiene entre un límite inferior 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 átomos de carbono. Todavía más preferentemente, el resto lipófilo tiene entre un límite inferior 3, 4, 5, 6 o 7 y un límite superior de 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de carbono. Con mayor preferencia, el resto lipófilo tiene 6 átomos de carbono. Preferentemente, el resto lipófilo se selecciona del grupo que consiste en restos de alquilo saturado o insaturado, lineal o ramificado, restos de ácido graso saturado o insaturado, lineal o ramificado, colesterol y adamantano. Ejemplos de restos de alquilo incluyen, entre otros, restos de alquilo saturado lineal, tales como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, octadecilo, nonadecilo y eicosilo; restos de alquilo saturado ramificado, tales como isopropilo, sec-butilo, terc-butilo, 2-metilbutilo, terc-pentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2-etilhexilo, 2-propilpentilo; y restos de alquilo insaturado derivados de los restos de alquilo saturado anteriores, que incluyen, entre otros, vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, etinilo, 1-propinilo y 2-propinilo. Ejemplos de restos de ácido graso incluyen, entre otros, restos de ácido graso insaturado, tales como, lauroleato, miristoleato, palmitoleato, oleato, elaidato, erucato, linoleato, linolenato, araquidonato, eicosapentaenoato, y docosahexaenoato; y restos de ácido graso saturado, tales como acetato, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, estearato, araquidato, behenato, lignocerato y cerotato.

La porción oligómero del conjugado polipéptido de insulina-oligómero anfifílicamente equilibrado puede comprender uno o más de otros restos tal como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, restos hidrófilos adicionales, restos espaciadores, restos ligadores y restos de terminación. Los diversos restos en el oligómero están acoplados covalentemente entre sí mediante enlaces hidrolizables o no hidrolizables.

- 30 La porción oligómero del conjugado polipéptido de insulina-oligómero anfifílicamente equilibrado puede comprender uno o más restos hidrófilos adicionales (es decir, restos además del resto hidrófilo), incluidos, entre otros, azúcares, polialquilenglicoles y copolímeros de poliamina/PEG. Los restos adyacentes de polialquilenglicol se considerarán el mismo resto si están unidos por enlaces éter. Por ejemplo, el resto



- 35 es un resto sencillo de polietilenglicol que tiene seis subunidades de polietilenglicol. Si este resto fuera el único resto hidrófilo en el oligómero, el oligómero no contendría un resto hidrófilo adicional. Los restos adyacentes de polietilenglicol se considerarán restos diferentes si están unidos por un enlace distinto a un enlace éter. Por ejemplo, el resto



- 40 es un resto de polietilenglicol que tiene cuatro subunidades de polietilenglicol y un resto hidrófilo adicional que tiene dos subunidades de polietilenglicol. Preferentemente, los oligómeros de acuerdo con realizaciones de la presente invención comprenden un resto de polialquilenglicol y ningún resto hidrófilo adicional.

- La porción oligómero del conjugado polipéptido de insulina-oligómero anfifílicamente equilibrado puede comprender uno o más restos espaciadores como entenderán los expertos en la técnica. Los restos espaciadores pueden usarse para, por ejemplo, separar un resto hidrófilo de un resto lipófilo, para separar un resto lipófilo o resto hidrófilo del polipéptido de insulina, para separar un primer resto hidrófilo o resto lipófilo de un segundo resto hidrófilo o resto lipófilo, o para separar un resto hidrófilo o resto lipófilo de un resto ligador. Preferentemente, los restos espaciadores se seleccionan del grupo que consiste en restos de azúcar, colesterol y glicerina. Los restos de azúcar pueden ser varios restos de azúcar como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, restos de monosacárido y restos de disacárido. Los restos de monosacárido preferidos tienen entre 4 y 6 átomos de carbono.

La porción oligómero del conjugado polipéptido de insulina-oligómero anfifílicamente equilibrado puede comprender uno o más restos ligadores que se usan para unir el oligómero con el polipéptido de insulina tal como entenderán los

expertos en la técnica. Los restos ligadores se seleccionan, preferentemente, del grupo que consiste en restos de alquilo y de ácido graso. El resto ligador de alquilo puede ser un resto de alquilo saturado o insaturado, lineal o ramificado como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, octadecilo, nonadecilo, eicosilo, isopropilo, sec-butilo, terc-butilo, 2-metilbutilo, terc-pentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2-etilhexilo, 2-propilpentilo, vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, etinilo, 1-propinilo y 2-propinilo. El resto ligador de alquilo puede tener entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 átomos de carbono y, preferentemente, tiene entre 1, 2, 3, 4 o 5 y 8, 9, 10, 11 o 12 átomos de carbono. El resto ligador de ácido graso puede ser un resto de ácido graso saturado o insaturado, lineal o ramificado, como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, lauroleato, miristoleato, palmitoleato, oleato, elaidato, erucato, linoleato, linolenato, araquidonato, eicosapentaenoato, docosahexaenoato; acetato, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, estearato, araquidato, behenato, lignocerato y cerotato. El resto ligador de ácido graso puede tener entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 átomos de carbono y, preferentemente, tiene entre 1, 2, 3, 4 o 5 y 8, 10, 12, 14 o 16 átomos de carbono.

La porción oligómero del conjugado polipéptido de insulina-oligómero anfílicamente equilibrado puede comprender uno o más restos de terminación en uno o más extremos del oligómero, que no están unidos al polipéptido de insulina. Preferentemente, el resto de terminación es un resto alquilo o alcoxi. Preferentemente, el resto alquilo o alcoxi tiene entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 átomos de carbono. Más preferentemente, el resto alquilo o alcoxi tiene entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 átomos de carbono. Todavía más preferentemente, el resto alquilo o alcoxi tiene entre un límite inferior 1, 2, 3, 4 o 5 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de carbono. Todavía más preferentemente, el resto alquilo o alcoxi tiene entre un límite inferior 1, 2, 3 o 4 y un límite superior de 5, 6 o 7 átomos de carbono. El resto de alquilo puede ser un resto de alquilo saturado o insaturado, lineal o ramificado como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, octadecilo, nonadecilo, eicosilo, isopropilo, sec-butilo, terc-butilo, 2-metilbutilo, terc-pentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2-etilhexilo, 2-propilpentilo, vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, etinilo, 1-propinilo y 2-propinilo. El resto de alcoxi puede ser varios restos de alcoxi, incluidos, entre otros, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, pentiloxi, hexiloxi, heptiloxi, octiloxi, noniloxi, deciloxi, undeciloxi, dodeciloxi, trideciloxi, tetradeciloxi, pentadeciloxi, hexadeciloxi, octadeciloxi, nonadeciloxi, eicosiloxi, isopropoxi, sec-butoxi, tert-butoxi, 2-metilbutoxi, terc-pentiloxi, 2-metil-pentiloxi, 3-metilpentiloxi, 2-etilhexiloxi, 2-propilpentiloxi, viniloxi, aliloxi, 1-buteniloxi, 2-buteniloxi, etiniloxi, 1-propiniloxi, y 2-propiniloxi. El resto de terminación es, más preferentemente, un resto de alquilo inferior, tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo o terc-pentilo, o un resto de alcoxi inferior, tal como metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, pentiloxi o terc-pentiloxi. Más preferentemente, el resto de terminación es metilo o metoxi. Aunque el resto de terminación es, preferentemente, un resto de alquilo o de alcoxi, debe entenderse que el resto de terminación puede ser varios restos como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, azúcares, colesterol, alcoholes y ácidos grasos.

De acuerdo con otras realizaciones de la presente invención, el fármaco de insulina administrado de acuerdo con los procedimientos de tratar la diabetes mellitus en un paciente que necesite tal tratamiento descrito con anterioridad es un conjugado de polipéptido de insulina-oligómero que comprende la estructura de Fórmula I:



en la que:

B es un resto de unión;

L es un resto ligador;

G, G' and G'' son restos espaciadores seleccionados de forma individual;

R es un resto lipófilo y R' es un resto de polialquilenglicol, o R' es el resto lipófilo y R es el resto de polialquilenglicol;

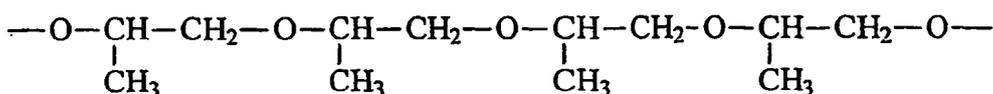
T es un resto de terminación; y

j, k, m y n son 0 o 1 de forma individual.

De acuerdo con estas realizaciones de la presente invención, el polipéptido de insulina es, preferentemente, insulina o un análogo de insulina. Más preferentemente, el polipéptido de insulina es insulina humana o un análogo de insulina humana, y, todavía más preferentemente, el polipéptido de insulina es insulina humana. El conjugado polipéptido de insulina-oligómero de Fórmula I es, preferentemente, un conjugado polipéptido de insulina-oligómero anfílicamente equilibrado.

De acuerdo con estas realizaciones de la presente invención, el resto de polialquilenglicol tiene al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 subunidades de polialquilenglicol. Preferentemente, el resto de polialquilenglicol tiene entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20 y un límite superior de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,

17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50 o más subunidades de polialquilenglicol. El resto de polialquilenglicol tiene, más preferentemente, entre un límite inferior de 2, 3, 4, 5 o 6, y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 subunidades de polialquilenglicol. Incluso más preferentemente, el resto de polialquilenglicol tiene entre un límite inferior 3, 4, 5 o 6 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 subunidades de polialquilenglicol. Todavía más preferentemente, el resto de polialquilenglicol tiene entre un límite inferior 4, 5 o 6 y un límite superior de 6, 7 u 8 subunidades de polialquilenglicol. El resto de polialquilenglicol tiene, con mayor preferencia, 7 subunidades de polialquilenglicol. El resto de polialquilenglicol del oligómero es, preferentemente, un resto de polialquilenglicol de alquilo inferior, tal como un resto de polietilenglicol, un resto de polipropilenglicol o un resto de polibutilenglicol. Cuando el resto de polialquilenglicol es un resto de polipropilenglicol, el resto tiene, preferentemente, una estructura uniforme (es decir, no aleatoria). Un ejemplo de resto de polipropilenglicol que tiene una estructura uniforme es el siguiente:



Esta estructura uniforme de de polipropilenglicol se puede describir como que tiene sólo un átomo de carbono sustituido con metilo adyacente a cada átomo de oxígeno en la cadena de polipropilenglicol. Dichos restos de polipropilenglicol uniformes pueden exhibir características tanto lipofílicas como hidrofílicas.

De acuerdo con esas realizaciones de la presente invención, el resto lipófilo es un resto lipófilo tal como entienden los expertos en la técnica. El resto lipófilo tiene al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono. Preferentemente, el resto lipófilo tiene un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 átomos de carbono. El resto lipófilo tiene, más preferentemente, entre un límite inferior de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22 átomos de carbono. El resto lipófilo tiene, incluso más preferentemente, entre un límite inferior de 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 átomos de carbono. Todavía más preferentemente, el resto lipófilo tiene entre un límite inferior 3, 4, 5, 6 o 7 y un límite superior de 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de carbono. Con mayor preferencia, el resto lipófilo tiene 6 átomos de carbono. Preferentemente, el resto lipófilo se selecciona del grupo que consiste en restos de alquilo saturado o insaturado, lineal o ramificado, restos de ácido graso saturado o insaturado, lineal o ramificado, colesterol y adamantano. Ejemplos de restos de alquilo incluyen, entre otros, restos de alquilo saturado lineal, tales como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, octadecilo, nonadecilo y eicosilo; restos de alquilo saturado ramificado, tales como isopropilo, sec-butilo, terc-butilo, 2-metilbutilo, terc-pentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2-etilhexilo, 2-propilpentilo; y restos de alquilo insaturado derivados de los restos de alquilo saturado anteriores, que incluyen, entre otros, vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, etinilo, 1-propinilo y 2-propinilo. Ejemplos de restos de ácido graso incluyen, entre otros, restos de ácido graso insaturado, tales como, lauroleato, miristoleato, palmitoleato, oleato, elaidato, erucato, linoleato, linolenato, araquidonato, eicosapentaenoato, i docosahexaenoato; y restos de ácido graso saturado, tales como acetato, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, estearato, araquidato, behenato, lignocerato y cerotato.

De acuerdo con esas realizaciones de la presente invención, los restos espaciadores G, G' y G", son restos espaciadores tal como entienden los expertos en la técnica. Los restos espaciadores se seleccionan, preferentemente, del grupo que consiste en restos de azúcar, colesterol y glicerina. Los restos de azúcar pueden ser varios restos de azúcar como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, restos de monosacárido y restos de disacárido. Los restos de monosacárido preferidos tienen entre 4 y 6 átomos de carbono. Preferentemente, los oligómeros de estas realizaciones no incluyen restos espaciadores (es decir, k, n y n son, preferentemente, 0).

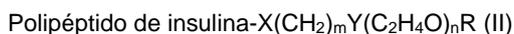
De acuerdo con estas realizaciones de la presente invención, el resto de unión, B, pueden ser varios restos de unión tal como entienden los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, un resto éster, un resto tioéster, un resto éter, un resto carbamato, un resto tiocarbamato, un resto carbonato, un resto tiocarbonato, un resto amida, un resto urea o un enlace covalente; Cuando el resto de unión es un resto carbamato o un resto amida, la porción de nitrógeno del resto se proporciona, preferentemente, mediante un resto amino del polipéptido de insulina, tal como el resto ϵ -amino en la posición Lys^{B29} de la insulina humana. El resto de unión es, preferentemente, un resto éster, un resto éter, un resto carbamato, un resto carbonato, un resto amida, o un enlace covalente. El resto de unión es, más preferentemente, un resto éster, un resto carbamato, un resto carbonato o un resto amida. El resto de unión es, todavía más preferentemente, un resto amida que tiene la porción de nitrógeno del resto amida proporcionada por un resto amino del polipéptido de insulina.

De acuerdo con esas realizaciones de la presente invención, el resto ligador, L, puede ser varios restos ligadores tal como entienden los expertos en la técnica. Los restos ligadores se seleccionan, preferentemente, del grupo que consiste en restos de alquilo y de ácido graso. El resto ligador de alquilo puede ser un resto de alquilo saturado o insaturado, lineal o ramificado como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, metilo, etilo,

propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, octadecilo, nonadecilo, eicosilo, isopropilo, sec-butilo, terc-butilo, 2-metilbutilo, terc-pentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2-etilhexilo, 2-propilpentilo, vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, etinilo, 1-propinilo y 2-propinilo. El resto ligador de alquilo puede tener entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 átomos de carbono y, preferentemente, tiene entre 1, 2, 3, 4 o 5 y 8, 9, 10, 11 o 12 átomos de carbono. El resto ligador de ácido graso puede ser un resto de ácido graso saturado o insaturado, lineal o ramificado, como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, lauroleato, miristoleato, palmitoleato, oleato, elaidato, erucato, linoleato, linolenato, araquidonato, eicosapentaenoato, docosahexaenoato; acetato, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, estearato, araquidato, behenato, lignocerato y cerotato. El resto ligador de ácido graso puede tener entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 átomos de carbono y, preferentemente, tiene entre 1, 2, 3, 4 o 5 y 8, 10, 12, 14 o 16 átomos de carbono.

De acuerdo con estas realizaciones de la presente invención, el resto de terminación, T, es, preferentemente, un resto de alquilo o de alcoxi. Preferentemente, el resto de alquilo o alcoxi tiene entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 átomos de carbono. Más preferentemente, el resto de alquilo o alcoxi tiene entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 átomos de carbono. Todavía más preferentemente, el resto alquilo o alcoxi tiene entre un límite inferior 1, 2, 3, 4 o 5 y un límite superior de 5, 6 o 7 átomos de carbono. El resto de alquilo puede ser varios restos de alquilo saturado o insaturado, lineal o ramificado como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, octadecilo, nonadecilo, eicosilo, isopropilo, sec-butilo, terc-butilo, 2-metilbutilo, terc-pentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2-etilhexilo, 2-propilpentilo, vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, etinilo, 1-propinilo y 2-propinilo. Ejemplos de restos de alcoxi pueden ser varios restos de alcoxi, incluidos, entre otros, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, pentiloxi, hexiloxi, heptiloxi, octiloxi, noniloxi, deciloxi, undeciloxi, dodeciloxi, trideciloxi, tetradeciloxi, pentadeciloxi, hexadeciloxi, octadeciloxi, nonadeciloxi, eicosiloxi, isopropoxi, sec-butoxi, tert-butoxi, 2-metilbutoxi, terc-pentiloxi, 2-metil-pentiloxi, 3-metilpentiloxi, 2-etilhexiloxi, 2-propilpentiloxi, viniloxi, aliloxi, 1-buteniloxi, 2-buteniloxi, etiniloxi, 1-propiniloxi, y 2-propiniloxi. El resto de terminación es, más preferentemente, un resto de alquilo inferior, tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo o terc-pentilo, o un resto de alcoxi inferior, tal como metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, pentiloxi o terc-pentiloxi. Más preferentemente, el resto de terminación es metilo o metoxi. Aunque el resto de terminación es, preferentemente, un resto de alquilo o de alcoxi, debe entenderse que el resto de terminación puede ser varios restos como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, restos de azúcares, colesterol, alcoholes y restos de ácido graso.

En otras realizaciones más, el fármaco de insulina administrado de acuerdo con los procedimientos de tratar la diabetes mellitus en un paciente que necesite tal tratamiento descrito con anterioridad es un conjugado de polipéptido de insulina-oligómero que comprende la estructura de Fórmula II:



en la que:

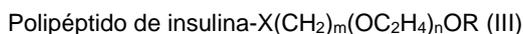
X es un resto éster, un resto tioéster, un resto éter, un resto carbamato, un resto tiocarbamato, un resto carbonato, un resto tiocarbonato, un resto amida, un resto urea o un enlace covalente; es, preferentemente un resto éster, un resto éter, un resto carbamato, un resto carbonato, un resto amida o un enlace covalente; es más preferentemente un resto éster, un resto carbamato, un resto carbonato o un resto amida; y es todavía más preferentemente un resto amida. Cuando X es un resto amida o un resto carbamato, un grupo amino del polipéptido de insulina es, preferentemente, la porción de nitrógeno del resto amida o carbamato;

Y es un resto éster, un resto tioéster, un resto éter, un resto carbamato, un resto tiocarbamato, un resto carbonato, un resto tiocarbonato, un resto amida, un resto urea o un enlace covalente; es, preferentemente un resto éster, un resto éter, un resto carbamato, un resto carbonato, un resto amida o un enlace covalente; es más preferentemente un resto éster, un éter, un resto carbamato, un resto carbonato o un resto amida; y es todavía más preferentemente un resto éter.

m está entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30, está más preferentemente entre un límite inferior de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22, está incluso más preferentemente entre un límite inferior de 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14, y está, todavía más preferentemente entre un límite inferior de 3, 4, 5, 6 o 7 y un límite superior de 6, 7, 8, 9 o 10;

n está entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, o

De acuerdo con la invención, el fármaco de insulina es un conjugado polipéptido de insulina-oligómero que comprende la estructura de Fórmula III:

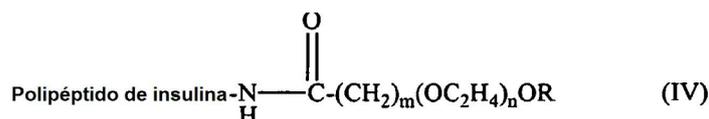


en la que:

- 5 X es un resto éster, un resto tioéster, un resto éter, un resto carbamato, un resto tiocarbamato, un resto carbonato, un resto tiocarbonato, un resto amida, un resto urea o un enlace covalente; es, preferentemente un resto éster, un resto éter, un resto carbamato, un resto carbonato, un resto amida o un enlace covalente; es más preferentemente un resto éster, un resto carbamato, un resto carbonato o un resto amida; y es todavía más preferentemente un resto amida. Cuando X es un resto amida o un resto carbamato, un grupo amino del
- 10 polipéptido de insulina es, preferentemente, la porción de nitrógeno del resto amida o carbamato; m está entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30, está más preferentemente entre un límite inferior de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22, está incluso más preferentemente entre un límite inferior de 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14, y está, todavía más preferentemente entre un límite inferior de 3, 4, 5, 6 o 7 y un límite superior de 6, 7, 8, 9 o 10;
- 15 n está entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50, está más preferentemente entre un límite inferior de 2, 3, 4, 5 o 6 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20, está incluso más preferentemente entre un límite inferior de 3, 4, 5 o 6 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 subunidades de polialquilenglicol, está todavía más preferentemente entre un límite inferior de 4, 5 o 6 y un límite superior de 6, 7 u 8 subunidades de polialquilenglicol, y es, más preferentemente, 7; y;
- 20 R es un resto alquilo, un resto de azúcar, colesterol, adamantano, un resto alcohol o un resto de ácido graso. El resto de alquilo puede ser un resto de alquilo saturado o insaturado, lineal o ramificado como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, octadecilo, nonadecilo, eicosilo, isopropilo, sec-butilo, terc-butilo, 2-metilbutilo, terc-pentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2-etilhexilo, 2-propilpentilo, vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, etinilo, 1-propinilo y 2-propinilo. El resto de alquilo es, más preferentemente, un resto de alquilo inferior tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo o terc-pentilo. El resto de alquilo es, todavía más preferentemente, un alquilo de C₁ a C₃. El resto de alquilo es, con mayor preferencia, metilo. El resto de ácido graso puede ser un resto de ácido graso saturado o insaturado, lineal o ramificado, como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, lauroleato, miristoleato, palmitoleato, oleato, elaidato, erucato, linoleato, linolenato, araquidonato, eicosapentaenoato, docosahexaenoato; acetato, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, estearato, araquidato, behenato, lignocerato y cerotato. El resto de azúcar puede ser varios restos de azúcar como entenderán los expertos en la técnica. Asimismo, el resto de alcohol puede ser varios restos de alcohol como entenderán los expertos en la técnica.

40 De acuerdo con estas realizaciones de la presente invención, el polipéptido de insulina es, preferentemente, insulina o un análogo de insulina. Más preferentemente, el polipéptido de insulina es insulina humana o un análogo de insulina humana, y, todavía más preferentemente, el polipéptido de insulina es insulina humana. El conjugado polipéptido de insulina-oligómero de Fórmula III es, preferentemente, un conjugado polipéptido de insulina-oligómero anfífilicamente equilibrado.

45 En otras realizaciones más, el fármaco de insulina es un conjugado polipéptido de insulina-oligómero que comprende la estructura de Fórmula IV:



en la que:

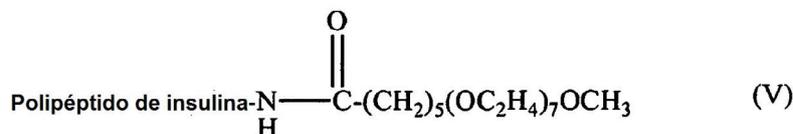
- 50 m está entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30, está más preferentemente entre un límite inferior de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o 22, está incluso más preferentemente entre un límite inferior de 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 y un límite superior de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14, y está, todavía más preferentemente entre un límite inferior de 3, 4, 5, 6 o 7 y un límite superior de 6, 7, 8, 9 o 10;
- n está entre un límite inferior de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 y un límite

superior de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50, está más preferentemente entre un límite inferior de 2, 3, 4, 5 o 6 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20, está incluso más preferentemente entre un límite inferior de 3, 4, 5 o 6 y un límite superior de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 subunidades de polialquilenglicol, está todavía más preferentemente entre un límite inferior de 4, 5 o 6 y un límite superior de 6, 7 u 8 subunidades de polialquilenglicol, y es, más preferentemente, 7; y

R es un resto alquilo, un resto de azúcar, colesterol, adamantano, un resto alcohol o un resto de ácido graso. El resto de alquilo puede ser un resto de alquilo saturado o insaturado, lineal o ramificado como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, octadecilo, nonadecilo, eicosilo, isopropilo, sec-butilo, terc-butilo, 2-metilbutilo, terc-pentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2-etilhexilo, 2-propilpentilo, vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, etinilo, 1-propinilo y 2-propinilo. El resto de alquilo es, más preferentemente, un resto de alquilo inferior tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo o terc-pentilo. El resto de alquilo es, todavía más preferentemente, un alquilo de C₁ a C₃. El resto de alquilo es, con mayor preferencia, metilo. El resto de ácido graso puede ser un resto de ácido graso saturado o insaturado, lineal o ramificado, como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, lauroleato, miristoleato, palmitoleato, oleato, elaidato, erucato, linoleato, linolenato, araquidonato, eicosapentaenoato, docosahexaenoato; acetato, caproato, caprilato, caprato, laurato, miristato, palmitato, estearato, araquidato, behenato, lignocerato y cerotato. El resto de azúcar puede ser varios restos de azúcar como entenderán los expertos en la técnica. Asimismo, el resto de alcohol puede ser varios restos de alcohol como entenderán los expertos en la técnica.

De acuerdo con estas realizaciones de la presente invención, el polipéptido de insulina es, preferentemente, insulina o un análogo de insulina. Más preferentemente, el polipéptido de insulina es insulina humana o un análogo de insulina humana, y, todavía más preferentemente, el polipéptido de insulina es insulina humana. El conjugado polipéptido de insulina-oligómero de Fórmula IV es, preferentemente, un conjugado polipéptido de insulina-oligómero anfífilicamente equilibrado.

En otra realización, el fármaco de insulina es un conjugado polipéptido de insulina-oligómero que comprende la estructura de Fórmula V:



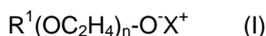
De acuerdo con estas realizaciones de la presente invención, el polipéptido de insulina es, preferentemente, insulina o un análogo de insulina. Más preferentemente, el polipéptido de insulina es insulina humana o un análogo de insulina humana, y, todavía más preferentemente, el polipéptido de insulina es insulina humana. Cuando el polipéptido de insulina en la estructura de Fórmula V es insulina humana y el oligómero está conjugado con la lisina B29 de la insulina humana, este conjugado insulina-oligómero se denomina en el presente documento HIM2. Es preferible usar una mezcla sustancialmente monodispersada o monodispersada de conjugados de insulina-oligómero. El conjugado polipéptido de insulina-oligómero de Fórmula V está anfífilicamente equilibrado cuando el polipéptido de insulina es insulina.

HIM2 se puede sintetizar mediante diversos procedimientos, como entenderán los expertos en la técnica. Preferentemente, HIM2 se sintetiza usando proinsulina como material de partida. Por ejemplo, HIM2 se ha sintetizado del siguiente modo: La proinsulina recombinante que tiene un péptido líder (PM 10.642 Dalton) se obtuvo de Biobras, of Belo Horizonte, Brasil. Una porción de $2,32 \times 10^{-3}$ mmol de la proinsulina se disolvió en 10 ml de DMSO. A la solución se añadieron 324 μl de trietilamina. La solución resultante se dejó agitar durante 5 minutos y después se añadió una solución de metilheptaetilenglicol activado (oligómero (PEG7)-hexilo) ($9,30 \times 10^{-3}$ mmol) en acetonitrilo. La evolución de la reacción de conjugación (acilación) se monitorizó mediante HPLC. Cuando la reacción parecía estar completa, se inactivó mediante la adición de 3,54 ml de solución acuosa al 5% de ácido trifluoroacético. A continuación, la mezcla de reacción se procesó e intercambió en tampón Tris-HCl 100 mM, a pH 7,6, para proporcionar una mezcla del producto. Una alícuota de la solución Tris-HCl de la mezcla de producto se analizó mediante HPLC para determinar la concentración del polipéptido. Se preparó una solución de tripsina (tratada con TPCK; de páncreas bovino) en tampón Tris-HCl 100 mM, a pH 7,6. Se preparó una solución de carboxipeptidasa B (de páncreas porcino) en tampón Tris-HCl 100 mM, a pH 7,6. Después, la mezcla de producto ($0,424 \mu\text{mol/ml}$) se dejó reaccionar con tripsina ($5,97 \times 10^{-4} \mu\text{mol/ml}$) y carboxipeptidasa B ($1,93 \times 10^{-4} \mu\text{mol/ml}$). Tras 30 minutos, la reacción se inactivó mediante la adición de 1,58 ml de 1% de ácido trifluoroacético en acetonitrilo. Los productos mayoritarios se identificaron mediante tiempo de retención en HPLC (respecto a los tiempos de retención de patrones de referencia conocidos) y análisis del espectro de masas. De este modo se obtuvieron insulina (10%) e insulina conjugada con Lys^{B29}-Hexil-PEG7-oligómero (84%).

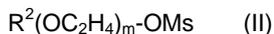
En las diversas realizaciones de los conjugados polipéptido de insulina-oligómero descritos con anterioridad, el oligómero está acoplado covalentemente al polipéptido de insulina. En algunas realizaciones, el oligómero se acopla al polipéptido de insulina usando un enlace hidrolizable (p. ej., un enlace éster o carbonato). Un acoplamiento hidrolizable puede proporcionar un conjugado de polipéptido de insulina-oligómero que actúa como profármaco. En otras realizaciones, el oligómero se acopla al polipéptido de insulina usando un enlace no hidrolizable (p. ej., un enlace carbamato, amida o éter).

Los conjugados de polipéptido de insulina-oligómero empleados en las diversas realizaciones descritas con anterioridad pueden sintetizarse mediante diversos procedimientos como entenderán los expertos en la técnica. Los oligómeros de acuerdo con realizaciones de la presente invención son sustancialmente monodispersadas y, preferentemente, son monodispersada.

Una mezcla monodispersada de los conjugados de polipéptido de insulina-polipéptido puede sintetizarse usando, por ejemplo, procedimientos descritos en la patente de EE.UU. N° 5.359.030 de Ekwuribe; la patente de EE.UU. n° 5.438.040 de Ekwuribe; la patente de EE.UU. n° 5.681.811 de Ekwuribe; o la patente de EE.UU. n° 6.309.633 de Ekwuribe y col. usando una mezcla de polietilenglicol (PEG) monodispersada como material de partida. Dichas mezclas monodispersadas de PEG se pueden proporcionar mediante, por ejemplo, procedimientos descritos en Yiyang Chen & Gregory L. Baker, Synthesis and Properties of ABA Amphiphiles, 64 J. Org. Chem. 6870-6873 (1999) y en Gérard Coudert y col., A Novel, Unequivocal Synthesis of Polyethylene Glycols, Synthetic Communications, 16(1): 19-26 (1986). Un procedimiento preferido de sintetizar mezclas monodispersadas de PEG que se va a usar para formar mezclas monodispersadas de conjugados de polipéptido de insulina-oligómero incluye hacer reaccionar una mezcla monodispersada de compuestos que tienen la estructura de la Fórmula I:

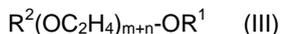


en la que R^1 es H o un resto lipófilo; n es de 1 a 25; y X^+ es un ion positivo con una mezcla monodispersada de compuestos que tienen la estructura de Fórmula II:



en la que R^2 es H o un resto lipófilo; y m es de 1 a 25,

en condiciones suficientes para proporcionar una mezcla monodispersada de polímeros que comprende restos de polietilenglicol y que tienen la estructura de Fórmula III:



En las Figuras 14 y 15 se proporcionan ejemplos de esquemas de reacción.

Los procedimientos descritos con anterioridad se pueden llevar a cabo usando una composición farmacéutica que comprende un fármaco de insulina como se ha descrito con anterioridad y un vehículo farmacéutico. El vehículo debe, por supuesto, ser aceptable en el sentido de ser compatible con cualquiera de los otros ingredientes de la composición farmacéutica y no debe ser perjudicial para el sujeto. El vehículo puede ser un sólido o un líquido, o ambos, y, preferentemente, se formula con el fármaco de insulina como una formulación monodosis, por ejemplo un comprimido, que puede contener de aproximadamente 0,01 o 0,5% a aproximadamente 95% en peso del fármaco de insulina. Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante cualquiera de las técnicas de farmacia bien conocidas, incluidas, entre otras, mezclar los componentes, incluyendo, opcionalmente, uno o más ingredientes auxiliares. Véase, por ejemplo, Remington, The Science And Practice of Pharmacy (9ª Ed. 1995).

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración oral pueden presentarse en forma de unidades pequeñas, tales como cápsulas, sobres, pastillas para chupar o comprimidos, en los que cada uno contiene una cantidad predeterminada de la mezcla de los conjugados de polipéptido de insulina-oligómero; en forma de polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o en forma de una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite. Dichas formulaciones se pueden preparar mediante cualquier procedimiento de farmacia adecuado que incluya la etapa de asociar el fármaco de insulina y un vehículo adecuado (que puede contener uno o más ingredientes auxiliares como se ha indicado con anterioridad).

Además de un fármaco de insulina, las composiciones farmacéuticas sólidas para administración oral de acuerdo con realizaciones de procedimientos de la presente invención pueden comprender otros varios ingredientes como entienden los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, uno o más de los ingredientes descritos en el National Formulary 19, páginas 2404-2406 (2000). Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas sólidas pueden incluir agentes lubricantes tales como, por ejemplo talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; agentes aglutinantes tales como almidones, goma arábiga, celulosa microcristalina, celulosa, metilcelulosa y jarabe; agentes antiapelmazantes tales como silicato de calcio; agentes de revestimiento tales como metacrilatos y goma shellac; agentes conservantes tales como metil- y propilhidroxibenzoatos; agentes edulcorantes o agentes aromatizantes. También se pueden usar polioles, tampones

5 y cargas inertes. Ejemplos de polioles incluyen, entre otros, manitol, sorbitol, xilitol, sacarosa, maltosa, glucosa, lactosa, dextrosa y similares. Tampones adecuados abarcan, entre otros, fosfato, citrato, tartrato, succinato y similares. Otras cargas inertes que se pueden usar abarcan las conocidas en la técnica y son útiles en la fabricación de varias formas de dosificación. Si se desea, las formulaciones sólidas pueden incluir otros componentes tales como agentes formadores de volumen y/o agentes de granulación y similares. Las composiciones farmacéuticas sólidas pueden proporcionarse mediante varios procedimientos como entenderán los expertos en la técnica.

10 Las unidades de dosificación sólida para administración oral se pueden preparar mediante varios procedimientos como entenderán los expertos en la técnica. Por ejemplo, el fármaco de insulina puede mezclarse con un vehículo sólido pulverulento tal como, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón, amilopectina, derivados de celulosa o gelatina, así como con un agente antifricción tal como, por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de calcio y ceras de polietilenglicol. La mezcla puede comprimirse después en comprimidos. Los comprimidos para uso oral se pueden preparar del siguiente modo, aunque se pueden emplear otras técnicas. Las sustancias sólidas se muelen o tamizan hasta un tamaño de partícula deseado y el agente de unión se homogeneiza y suspende en un disolvente adecuado. El ingrediente activo y los agentes auxiliares se mezclan con la solución del agente de unión. 15 La mezcla resultante rehúmedece para formar una suspensión uniforme. Normalmente, la humidificación hace que las partículas se agreguen ligeramente y la masa resultante se presiona a través de un tamiz de acero inoxidable que tiene un tamaño deseado. Las capas de la mezcla se secan después en unidades de secado controladas para un periodo de tiempo determinado para conseguir un tamaño de partícula y una consistencia deseados. Las gránulos de la mezcla desecada se filtran para eliminar cualquier polvo. A esta mezcla se añaden agentes de disgregación, antifricción y anti-adhesivos. 20

Por último, la mezcla se comprime en comprimidos usando una máquina con los troquelados y moldes adecuados para obtener el tamaño de comprimido deseado. El experto en la técnica puede seleccionar los parámetros de operación de la máquina.

25 Si se desean comprimidos recubiertos, los núcleos preparados anteriormente se pueden recubrir con una solución concentrada de azúcar, que puede contener goma arábiga, gelatina, talco, dióxido de titanio, o con una laca disuelta en disolvente orgánico volátil o una mezcla de disolventes. Adicionalmente, el recubrimiento se puede llevar a cabo en medios acuosos o no acuosos usando varios excipientes, incluidos, entre otros, metilcelulosa dispersa, etilcelulosa dispersa, metacrilatos dispersos o mezclas de los mismos. A este recubrimiento se pueden añadir varios colorantes con el fin de distinguir entre comprimidos con diferentes compuestos activos o con diferentes cantidades del compuesto activo presente. 30

Se pueden preparar cápsulas de gelatina blanda, en las que las cápsulas contienen una mezcla del principio activo y un líquido, tal como aceite vegetal. Las cápsulas de gelatina dura pueden contener gránulos del principio activo en combinación con un sólido, un vehículo pulverulento, tal como, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón de patata, almidón de maíz, amilopectina, derivados de celulosa o gelatina.

35 Las cápsulas en polvo seco se pueden fabricar mediante varios procedimientos entendidos por los expertos en la técnica. Una realización de una cápsula en polvo seco que puede administrarse por vía oral de acuerdo a realizaciones de la presente invención es la siguiente:

Componente	% (p/p)
HIM2	1,11
Colato sódico	13,29
Ácido cáprico	5,13
Ácido láurico	5,13
Tris(hidroximetil)aminometano	41,04
Fosfato sódico	30,97
Hidróxido sódico	1,03

40 Las composiciones farmacéuticas líquidas que se pueden administrar por vía oral de acuerdo con realizaciones de procedimientos de la presente invención pueden varias composiciones farmacéuticas líquidas que incluyen el fármaco de insulina como principio activo como entenderán los expertos en la técnica, incluidas, entre otros, soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos, y emulsiones de aceite en agua o de agua en aceite. Además del fármaco de insulina activa, la formulación farmacéutica líquida puede comprender varios ingredientes, incluidos, entre otros, potenciadores de la absorción, agentes tampón, alcoholes polihídricos, óxidos de polialquileño 45 y agentes aromatizantes. Los potenciadores de la absorción pueden ser varios potenciadores de la absorción como

5 entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, ácidos biliares tales como, entre otros, ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido litocólico y ácido taurocólico y/o las sales farmacéuticamente aceptables (p. ej., sales de metales térreos) de los mismos, y ácidos grasos tales como, entre otros, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido tridecanoico, ácido mirístico, ácido pentadecanoico, ácido palmítico, ácido heptadecanoico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido eaidico, ácido linoleico, ácido araquídico, ácido araquidónico y mezclas de los mismos.

Los agentes tampón pueden ser varios agentes tampón como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, tris(hidroximetil)aminometano, trietanolamina, fosfato sódico, ácido cítrico y mezclas de los mismos.

10 Los alcoholes polihídricos pueden ser varios alcoholes polihídricos como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, glicerol. Los polialquilenglicoles pueden ser varios polialquilenglicoles como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, polietilenglicol y polipropilenglicol.

Los agentes aromatizantes pueden ser varios agentes aromatizantes como entenderán los expertos en la técnica, incluidos, entre otros, aromas y edulcorantes naturales o artificiales.

15 Realizaciones de formulaciones farmacéuticas líquidas que pueden administrarse por vía oral de acuerdo con realizaciones de procedimientos de la presente invención incluyen las siguientes:

Componente	Conc.	unidad	% (p/v)
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido oleico	2	%	2,00
Tris(hidroximetil)aminometano	250	mM	3,03
Fosfato sódico	250	mM	3,00
Sucralosa	0,2	%	0,20
Aroma de fresa	0,4	%	0,4
Hidróxido sódico	ajustar pH a 7,8	-	-
Agua	c.s.	-	-
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido oleico	2	%	2,00
Tris(hidroximetil)aminometano	500	mM	6,05
Sucralosa	0,2	%	0,20
Aroma de fresa	0,4	%	0,4
Hidróxido sódico	ajustar pH a 7,8	-	-
agua	c.s.	-	-

Componente	Conc.	unidad	% (p/v)
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido oleico	2	%	2,00
Tris(hidroximetil)aminometano	250	mM	3,03
Trietanolamina	250	mM	3,73

ES 2 362 269 T3

Sucralosa	0,2	%	0,20
Aroma de fresa	0,4	%	0,4
Hidróxido sódico	ajustar pH a 7,8	-	-
Agua	c.s.	-	-

Componente	Conc.	unidad	% (p/v)
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido oleico	2	%	2,00
Ácido cítrico	500	mM	9,60
Trietanolamina	250	mM	3,73
Sucralosa	0,2	%	0,20
Aroma de fresa	0,4	%	0,4
Hidróxido sódico	ajustar pH a 7,8	-	-
Agua	c.s.	-	-

Componente	Conc.	unidad	% (p/v)
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido oleico	2	%	2,00
Ácido cítrico	500	mM	9,60
Tris(hidroximetil)aminometano	250	mM	3,03
Sucralosa	0,2	%	0,20
Aroma de fresa	0,4	%	0,4
Hidróxido sódico	ajustar pHh a 7,8	-	-
Agua	c.s.	-	-

Componente	Conc.	unidad	% (p/v)
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido oleico	2	%	2,00
Ácido cítrico	500	mM	9,60
Fosfato sódico	250	mM	3,00
Sucralosa	0,2	%	0,20
Aroma de fresa	0,4	%	0,4

ES 2 362 269 T3

Hidróxido sódico	ajustar pH a 7,8	-	-
Agua	c.s.	-	-

Componente	Conc.	unidad	% (p/v)
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido oleico	2	%	2,00
Ácido cítrico	350	mM	6,72
Tris(hidroximetil)aminometano	350	mM	4,24
Sucralosa	0,2	%	0,20
Aroma de fresa	0,4	%	0,4
Hidróxido sódico	ajustar pH a 7,8	-	-
Agua	c.s.	-	-

Componente	Conc.	unidad	% (p/v)
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido láurico	2	%	2,00
Ácido cítrico	350	mM	6,72
Trietanolamina	350	mM	4,24
Sucralosa	0,2	%	0,20
Aroma de fresa	0,4	%	0,4
Propilenglicol	20	%	20,00
Hidróxido sódico	ajustar pH a 7,8	-	-
Agua	c.s.	-	-

Componente	Conc.	unidad	% (p/v)
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido oleico	1	%	2,00
Ácido cáprico	0,5	%	0,50
Ácido láurico	0,5	%	0,50
Trietanolamina	350	mM	5,22
Tris(hidroximetil)aminometano	350	mM	4,24
Fosfato sódico	350	mM	4,20
Sucralosa	0,2	%	0,20

Aroma de fresa	0,4	%	0,4
Hidróxido sódico	ajustar pH a 7,8	-	-
Agua	c.s.	-	-
Componente	Conc.	unidad	% (p/v)
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido oleico	1	%	2,00
Ácido cáprico	0,5	%	0,5
Ácido láurico	0,5	%	0,5
Acido cítrico	350	mM	6,72
Tris(hidroximetil)aminometano	350	mM	4,24
Trietanolamina	350	mM	5,22
Sucralosa	0,2	%	0,20
Aroma de fresa	0,4	%	0,4
Hidróxido sódico	ajustar pH a 7,8	-	-
Agua	c.s.	-	-

Componente	Conc.	unidad	% (p/v)
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido oleico	1	%	2,00
Ácido cáprico	0,5	%	0,50
Ácido láurico	0,5	%	0,50
Ácido cítrico	175	mM	3,36
Trietanolamina	350	mM	5,22
Tris(hidroximetil)aminometano	350	mM	4,24
Fosfato sódico	175	mM	4,20
Sucralosa	0,2	%	0,20
Aroma de fresa	0,4	%	0,4
Hidróxido sódico	ajustar pH a 7,8	-	-
Agua	c.s.	-	-

5 Aunque las realizaciones descritas con anterioridad de formulaciones farmacéuticas comprenden HIM2 como principio activo, se entiende que el principio activo puede ser otros varios fármacos de insulina descritos en el presente documento. El ingrediente activo es preferentemente, un conjugado de polipéptido de insulina-oligómero como se ha descrito con anterioridad.

La presente invención se describirá a continuación con referencia a los ejemplos siguientes. Deberá apreciarse que

estos ejemplos son para fines de aspectos ilustrativos de la presente invención y no limitan el alcance de la invención como se ha definido en las reivindicaciones.

Ejemplos

Ejemplo 1

5 Numerosos estudios con perros en ayunas pancreatomizados y normales han mostrado que la insulina conjugada administrada por vía oral se absorbe rápidamente de un modo dependiente de la dosis y está asociada con los efectos hipoglucemiantes concomitantes dependientes de la dosis. Las Figura 1a y 1b demuestran estos efectos tras varias dosis orales de HIM2 en perros pancreatomizados. A la dosis de HIM2 más alta estudiada, 1,0 mg/kg, todos los perros requirieron rescate con glucosa por una marcada hipoglucemia sintomática.

10 **Ejemplo 2 (Ejemplo Comparativo)**

Se realizó un estudio de fase I en voluntarios sanos. En este estudio se utilizó una forma anterior, menos purificada (y, por tanto, menos activa) de insulina conjugada (mezcla de hexilo-insulina, HIMX). HIMX es aproximadamente cinco veces menos activa que la HIM2 más purificada; por tanto, una dosis de 2,4 mg/kg de HIMX es aproximadamente equivalente a una de 0,5 mg/kg de HIM2. Se administró HIMX en ayunas a cuatro niveles de dosis diferentes, tras lo cual se midieron las concentraciones de insulina y glucosa en sangre periférica. Como se muestra en la Figura 2, las concentraciones de insulina alcanzaron niveles máximos ($C_{m\acute{a}x}$) en el intervalo fisiológico a 10-15 minutos tras la dosis oral de HIMX (volumen de la dosis 4 ml) y eran dependientes de la dosis. Cuando se usó un volumen de dosis mayor (20 ml) para las mismas dosis, la $C_{m\acute{a}x}$ de insulina resultante a todas las dosis fue significativamente mayor, lo que demuestra una marcada influencia del volumen de la formulación sobre la absorción. La Figura 3b muestra los valores de glucosa en plasma observados después del volumen de dosis de 20 ml, lo que confirma los efectos hipoglucemiantes dependientes de la dosis de la insulina conjugada observados anteriormente en perros. No se observaron efectos adversos de HIMX en este estudio con voluntarios sanos.

Ejemplo 3

25 Los objetivos de este estudio en pacientes con diabetes de tipo 1 eran: 1) determinar la seguridad y la tolerancia de dosis crecientes de HIM2 administrada por vía oral; 2) estimar la cinética de HIM2 tras la dosis oral en comparación con las dosis subcutáneas con insulina regular y placebo; y 3) evaluar la farmacodinámica de HIM2 en comparación con la insulina subcutánea usando los niveles de glucosa en sangre como marcador del efecto del fármaco.

30 Éste fue un estudio aleatorizado, doble ciego, con tres dosis más control activo (insulina subcutánea), de doble simulación, controlado con placebo, de cinco periodos y de diseño de grupos cruzados. Después de un ayuno durante la noche, durante el cual la euglucemia se mantuvo mediante administración intravenosa de insulina, a continuación se suspendió la insulina y, después de un periodo de lavado de 2 horas, se administraron a los pacientes dosis únicas de placebo oral o HIM2 (0,15, 0,3 y 0,6 mg/kg) e insulina regular subcutánea (4 UI) o insulina placebo, de forma aleatorizada, tal como se muestra en la Tabla 1 que figura a continuación. Después, se midieron los niveles de glucosa e insulina en plasma en serie durante las siguientes cuatro horas.

35 Tabla 1

Periodo del estudio	Vía de administración y tratamiento					
	Oral				Subcutánea	
	Placebo	0,15 mg/kg HIM2	0,3 mg/kg HIM2	0,6 mg/kg HIM2	Placebo	Insulina recombinante humana (4 UI)
1	P1, P2		P3, P4, P5, P6, P7, P8		P3, P4, P5, P6, P7, P8	P1, P2
2	P3, P4		P1, P2	P5, P6, P7, P8	P1, P2, P5, P6, P7, P8	P3, P4
3	P5, P6	P7, P8		P1, P2, P3, P4	P1, P2, P3, P4, P7, P8	P5, P6
4	P7, P8	P1, P2, P3, P4, P5, P6			P1, P2, P3, P4, P5, P6	P7, P8
5	P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8				P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8	

- HIM2 fue bien tolerada y no se observaron signos de un incremento relacionado con la dosis de los acontecimientos adversos. Ningún paciente presentó síntomas de hipoglucemia. Tras la administración oral de HIM2, los niveles medios de insulina en plasma aumentaron de modo dependiente de la dosis y alcanzaron un máximo a los 15 minutos de la administración de la dosis, retornando a los niveles basales en 20 minutos (Figura 4a). Con la dosis de 0,6 mg/kg, los niveles de insulina aumentaron marcadamente en 7 de 8 (88%) pacientes. Por comparación, 4 UI de insulina regular administrada por vía subcutánea produjo un gran pico de insulina que no alcanzó una concentración máxima media ($C_{m\acute{a}x}$) HASTA 66 minutos después de la inyección. En este grupo de pacientes, HIM2 parecía prevenir o atenuar el significativo incremento de los niveles de glucosa en plasma que se observa en pacientes diabéticos cuando se retira toda terapia con insulina (Figura 4b). Adicionalmente, en estos pacientes se observó un efecto estabilizante de la glucosa dependiente de la dosis, lo que refleja una evidente disminución de la producción de glucosa hepática tras la administración de la dosis de HIM2 (Figura 4b). Los efectos de la glucosa duraron hasta 120 minutos, que fue significativamente mayor que la duración prevista a partir de la duración de los incrementos de los niveles de insulina en plasma.
- Las dosis únicas de HIM2 a 0,15, 0,3 y 0,6 mg/kg fueron bien toleradas por los pacientes con diabetes de tipo 1 y no se observaron signos de un incremento relacionado con la dosis de los acontecimientos adversos. Se produjeron incrementos relacionados con la dosis de los niveles de insulina en plasma, con una consecución rápida de valores de $C_{m\acute{a}x}$ en 15 minutos y un retorno a los valores basales en 90-120 minutos. El incremento previsto de los niveles de glucosa en plasma tras la retirada de cualquier otro tratamiento con insulina se atenuó o previno y los efectos sobre la glucosa persistieron durante un tiempo sustancialmente mayor que el previsto a partir de la duración de los incrementos de los niveles de insulina en plasma. Estos resultados indicaban que es probable que la HIM2 administrada por vía oral influya sobre los niveles de glucosa periférica mediante una combinación de disminución de la secreción de glucosa hepática y la actividad similar a la insulina periférica. Se ha sugerido un potencial papel de la HIM2 en el tratamiento de la diabetes mediante reproducción de la liberación porta-hepática fisiológica.

25 **Ejemplo 4**

- En un segundo estudio temprano de fase II se usó un esquema de escalado de 2 dosis secuenciales en pacientes con diabetes de tipo 1. Como en el primer estudio con pacientes con diabetes de tipo 1, los pacientes ayunaron durante una noche y se mantuvieron en un estado euglicémico mediante administración de insulina intravenosa. Por la mañana, tras la retirada de la insulina intravenosa y un periodo de lavado de 2 horas, los pacientes recibieron dosis de 0,6, 0,8 o 1,0 mg/kg de HIM2 en grupos de seis pacientes en cada nivel de dosis. Las determinaciones de los niveles de glucosa e insulina periféricas se obtuvieron a intervalos regulares tras la administración de la dosis. Se administró una segunda dosis de HIM2 2 horas después de la primera dosis, con el fin de evaluar los efectos de una dosis "de cebado" de HIM2 oral sobre la producción de glucosa hepática y las concentraciones de insulina periférica. Se descubrió que la formulación líquida usada en este estudio irritaba la orofaringe en los primeros seis sujetos que recibieron el fármaco. Por tanto, el estudio se interrumpió mientras se desarrollaba una formulación en cápsula como reemplazo. Al reiniciar el estudio se usó una formulación de dosificación semisólida en dos tamaños de cápsula.

Formulación en cápsula de 3 mg de HIM2:

Componente	Número MS	mg/cápsula	Porcentaje	Peso
HIM2 como proteína	236	3,00	1,6	4,35
Polietilenglicol 400	027	30,00	16,2	43,5
Agua USP	012	1,5	0,8	2,18
Labrasol	240	117,00	63,2	169,95
Syloid 244	238	33,00	17,8	47,85
Fosfato sódico monobásico	239	0,09	0,05	0,13
Fosfato sódico dibásico	237	0,41	0,23	0,59
Total		185	100	268,25
Tamaño: Cápsulas de gelatina de color verde "3"				

Formulación en cápsula de 15 mg de HIM2:

Componente	Número MS	mg/cápsula	Porcentaje	Peso
HIM2 como proteína	236	15,00	3,2	10,2
Polietilenglicol 400	027	75,0	16,0	51,00
Agua USP	012	3,8	0,8	2,58
Labrasol	240	292,0	62,1	198,56
Syloid 244	238	83,0	17,6	56,44
Fosfato sódico monobásico	239	0,2	0,04	0,14
Fosfato sódico dibásico	237	1,0	0,21	0,68
Total		470	100	319,60
Tamaño: Cápsulas de gelatina de color verde "O EL"				

Los resultados de este estudio demuestran que (a) la nueva formulación en cápsula es bien tolerada, (b) no se observaron efectos secundarios y (c) los efectos sobre la glucosa en sangre variaron desde estabilización hasta disminuciones moderadas con respecto a los valores basales de una a dos horas tras la administración (Figura 5). No se observó una diferencia significativa en la magnitud de las respuestas de glucosa en el intervalo de dosis usado, como se observa en la Figura 6, que muestra las respuestas medias a las dosis más bajas y más altas usadas en el estudio. Los pacientes no experimentaron hipoglucemia con ninguna dosis. Estos resultados sugieren que la HIM2 oral, a las dosis usadas, influye sobre los niveles de glucosa principalmente afectando a la secreción de glucosa hepática y sin efectos significativos sobre los niveles de insulina periférica.

Ejemplo 5

En dos estudios adicionales con pacientes con diabetes de tipo 1 usando la formulación en cápsula se ha investigado la influencia de los alimentos sobre la absorción y a actividad hipoglucemiante de HIM2, así como los efectos de HIM2 cuando se administra de forma concomitante con un régimen basal convencional (proporcionado mediante infusión subcutánea continua de insulina o ISCI). Los resultados preliminares del primer estudio indican que una comida convencional ingerida al mismo tiempo que la dosis de HIM2 puede atenuar la absorción de HIM2 y los efectos hipoglucemiantes. No obstante, si HIM2 se administra 30 minutos antes de la ingestión de una comida convencional, la absorción y los efectos sobre la glucosa se conservan sustancialmente. El segundo estudio evalúa la absorción y los efectos de la HIM2 cuando se administra a pacientes con diabetes de tipo 1 en ayunas que se mantienen con insulina basal mediante ISCI, seguido de ayuno o de una comida convencional. Los resultados preliminares en un número limitado de pacientes indican que la HIM2 no sólo reduce los niveles de glucosa en ayunas, sino que también atenúa o previene los incrementos posprandiales previstos en las concentraciones de glucosa en plasma (Figuras 7 y 8). Un primer estudio en pacientes con diabetes de tipo 2 ha demostrado efectos similares de HIM2 sobre los niveles de glucosa en sangre en ayunas en un número limitado de pacientes. En otros estudios se está investigando el potencial de HIM2 para atenuar la hiperglucemia posprandial en pacientes con diabetes de tipo 2. En un estudio con 12 pacientes con diabetes de tipo 2, se administra una única dosis oral (sin titular) seguida de una comida. En otro estudio con 24 pacientes con diabetes de tipo 2, se administran 3 dosis/día (sin titular) con las comidas durante 3 días. Asimismo, se administra una dosis tardía por la noche para comprobar los posibles efectos sobre la hiperglucemia.

Ejemplo 6

Ratones CF-1 macho (n= 5-10 por grupo) se mantuvieron en ayunas durante la noche y, después, se les administró HIM2 (1,25 o 2,5 mg/kg, por vía oral, en una formulación que se muestra en la tabla siguiente, 10 ml/kg) o insulina recombinante humana (12,5 o 25 µg/kg), sc abdominal, en tampón acetato al 1%, a pH 4,1)

Componente	Conc.	Unidad	% (p/v)
HIM2	2,5	mg/ml	0,25
Colato sódico	3	%	3,00
Ácido oleico	1	%	2,00
Ácido cáprico	0,5	%	0,5
Ácido láurico	0,5	%	0,5
Ácido cítrico	350	mM	6,72
Tris(hidroximetil)aminometano	350	mM	4,24
Trietanolamina	350	mM	5,22
Sucralosa	0,2	%	0,20
Aroma de fresa	0,4	%	0,4
Hidróxido sódico	Ajustar pH a 7,8	-	-
Agua	c.s.	-	-

Tras 15, 20 o 60 minutos se obtuvieron muestras de sangre en jeringuillas heparinizadas, con anestesia, de la vena porta (VP) y de la vena cava (VC) de cada animal. Se colocó una gota de sangre en un glucosímetro para la medición de los niveles de glucosa en sangre. La muestra restante se centrifugó para separar el plasma para la determinación de la insulina inmunorreactiva mediante ELISA (ALPCO).

Como se ilustra en la Figura 16, se observaron grandes incrementos de insulina (hasta 2789 $\mu\text{U/ml}$) en la VP a los 15 minutos de la administración oral de HIM2 y la concentración de insulina disminuyó hasta 221 $\mu\text{U/ml}$ a los 30 minutos de la administración. Este perfil se asemeja al de la secreción de insulina en primera fase en respuesta a una comida, como se ilustra en la Figura 17, que muestra los niveles de glucosa en sangre y de insulina en plasma en la vena porta y la vena cava tras la administración oral de solución de dextrosa en ratones en ayunas. Como se ilustra además en la Figura 16, los niveles máximos de insulina en la VC fueron de 31 a 36% de los de la VP.

En contraste, como se ilustra en la Figura 18, la administración subcutánea de insulina produjo concentraciones 2,4-2,6 veces mayores en la VC (es decir, periferia) (hasta 186 $\mu\text{U/ml}$, 15 minutos tras la administración) que en la VP. Asimismo, se produjo un retorno más lento a los valores basales (74 $\mu\text{U/ml}$), 30 minutos después de la administración).

A pesar de las marcadas diferencias en los niveles de insulina, la HIM2 no produjo disminuciones correspondientemente mayores en los niveles de glucosa en sangre, en comparación con las disminuciones en los niveles de glucosa en sangre producidas por la administración subcutánea de insulina en estos ratones no diabéticos. Por ejemplo, como se ilustra en la Figura 18, la administración oral de HIM2 produjo un descenso de los niveles de glucosa en sangre a aproximadamente 31 mg/ml en la VC en comparación con un descenso de los niveles de glucosa en sangre a aproximadamente 23 mg/ml en la VC ilustrado en la Figura 19 para la administración subcutánea de insulina. Estos resultados parecen indicar que la administración oral de HIM2 tiene menos tendencias a inducir hipoglucemia que la administración subcutánea de insulina.

En ratones no tratados, los niveles de glucemia en sangre fueron mayores en la VC que en la VP. Esta diferencia entre VP-VC se invirtió mediante la administración oral de HIM2, pero no se invirtió mediante la administración subcutánea de insulina. Estos resultados parecen indicar que la administración oral de HIM2 proporciona mayor supresión de secreción de glucosa hepática que la administración subcutánea de insulina.

REIVINDICACIONES

1. Una mezcla sustancialmente monodispersada de conjugados, en la que cada uno comprende un conjugado de polipéptido de insulina -oligómero que comprende la estructura:



5 en la que:

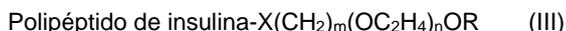
X es un resto éster, un resto tioéster, un resto éter, un resto carbamato, un resto tiocarbamato, un resto carbonato, un resto tiocarbonato, un resto amida, un resto urea o un enlace covalente;

m está entre un límite inferior de 1 y un límite superior de 30;

n está entre un límite inferior de 1 y un límite superior de 50; y

10 R es un resto alquilo, un resto de azúcar, colesterol, adamantano, un resto alcohol o un resto de ácido graso.

2. Una mezcla monodispersada de conjugados, en la que cada uno comprende un conjugado de polipéptido de insulina-oligómero que comprende la estructura:



15 en la que: X es un resto éster, un resto tioéster, un resto éter, un resto carbamato, un resto tiocarbamato, un resto carbonato, un resto tiocarbonato, un resto amida, un resto urea o un enlace covalente;

m está entre un límite bajo de 1 y un límite superior de 30;

n está entre un límite inferior de 1 y un límite superior de 50; y

R es un resto alquilo, un resto de azúcar, colesterol, adamantano, un resto alcohol o un resto de ácido graso.

3. La mezcla de la reivindicación 1 o 2, en la que R es un resto de alquilo.

20 4. La mezcla de la reivindicación 1 o 2, en la que R es un resto de ácido graso.

5. La mezcla de la reivindicación 1 o 2, en la que el polipéptido de insulina es insulina humana y el oligómero está unido covalentemente a Lys^{B29} de la insulina humana.

6. Una composición farmacéutica, que comprende la mezcla de cualquiera de las reivindicaciones 1-5 en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 7. El uso de la mezcla de cualquiera de las reivindicaciones 1-5 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes.

8. Un procedimiento de sintetizar una mezcla sustancialmente monodispersada de polímeros, que comprende restos de polietilenglicol, comprendiendo dicho procedimiento:

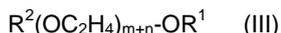
30 hacer reaccionar una mezcla sustancialmente monodispersada de compuestos que tienen la estructura de Fórmula I:



en la que R¹ es H o un resto lipófilo; m es de 1 a 25; y X⁺ es un ion positivo con una mezcla sustancialmente monodispersada de compuestos que tienen la estructura de Fórmula II:



35 en la que R² es H o un resto lipófilo; M_s es un resto mesilato; y n es de 1 a 25, en condiciones suficientes para proporcionar una mezcla sustancialmente monodispersada de polímeros que comprende restos de polietilenglicol y que tienen la estructura de Fórmula III:

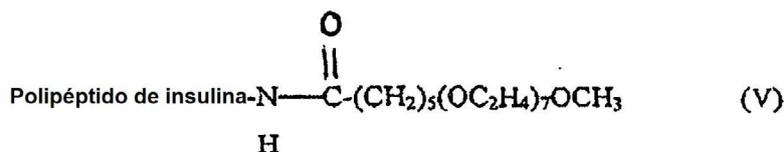


40 9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la mezcla del polímero de Fórmula III es una mezcla monodispersada.

10. Una mezcla monodispersada de polímeros que comprende restos de polietilenglicol, sintetizados dichos polímeros mediante el procedimiento de la reivindicación 8.

11. El procedimiento de la reivindicación 8, en el que R² es un resto lipófilo seleccionado de modo que los polímeros de Fórmula III sean sustancialmente insolubles en agua.

45 12. El uso de una mezcla sustancialmente monodispersada de un conjugado de polipéptido de insulina-oligómero, que comprende la estructura de Fórmula V:



para la preparación de un medicamento administrable por vía oral para los tratamientos de la diabetes mellitus.

13. El uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el polipéptido de insulina es insulina.
14. El uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que la insulina es insulina humana.
- 5 15. El uso de la reivindicación 13 o 14, en el que el oligómero está unido a la lisina en la posición B29 de la insulina.
16. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 12-15, en el que el conjugado de Fórmula V está anfifílicamente equilibrado.
17. El uso de la reivindicación 12, en el que el polipéptido de insulina es un análogo de insulina seleccionado del grupo que consiste en insulina Gly^{A21}, humana; insulina Gly^{A21} Gln^{B3}, humana; insulina Ala^{A21}, humana; insulina Ala^{A21} Gln^{B3}, humana; insulina Gln^{B3}, humana; insulina Gln^{B30}, humana; insulina Gly^{A21} Glu^{B30}, humana; insulina Gly^{A21} Gln^{B3} Glu^{B30}, humana; insulina Gln^{B3} Glu^{B30}, humana; insulina Asp^{B28}, humana; insulina Lys^{B28}, humana; insulina Leu^{B28}, humana; insulina Val^{B28}, humana; insulina Ala^{B28}, humana; insulina Asp^{B28} Pro^{B29}, humana; insulina Lys^{B28} Pro^{B29}, humana; insulina Leu^{B28} Pro^{B29}, humana; insulina Val^{B28} Pro^{B29}, humana; insulina Ala^{B28} Pro^{B29}, humana.
- 10
18. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 12-17, en el que el conjugado de Fórmula V está presente como una mezcla monodispersada.
- 15
19. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 12-19 en el que la cantidad de conjugados en el medicamento es tal que proporciona una concentración del polipéptido de insulina en la sangre de la vena porta de entre 10 y 1000 μU/ml en aproximadamente 60 minutos tras la administración.
- 20
20. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 12-18, en el que la cantidad de conjugados en el medicamento es tal que estabiliza la concentración de glucosa periférica en el sujeto tratado hasta aproximadamente +/- 50 por ciento de una concentración media de glucosa medida durante aproximadamente una hora comenzando aproximadamente 30 minutos después de la administración.

25

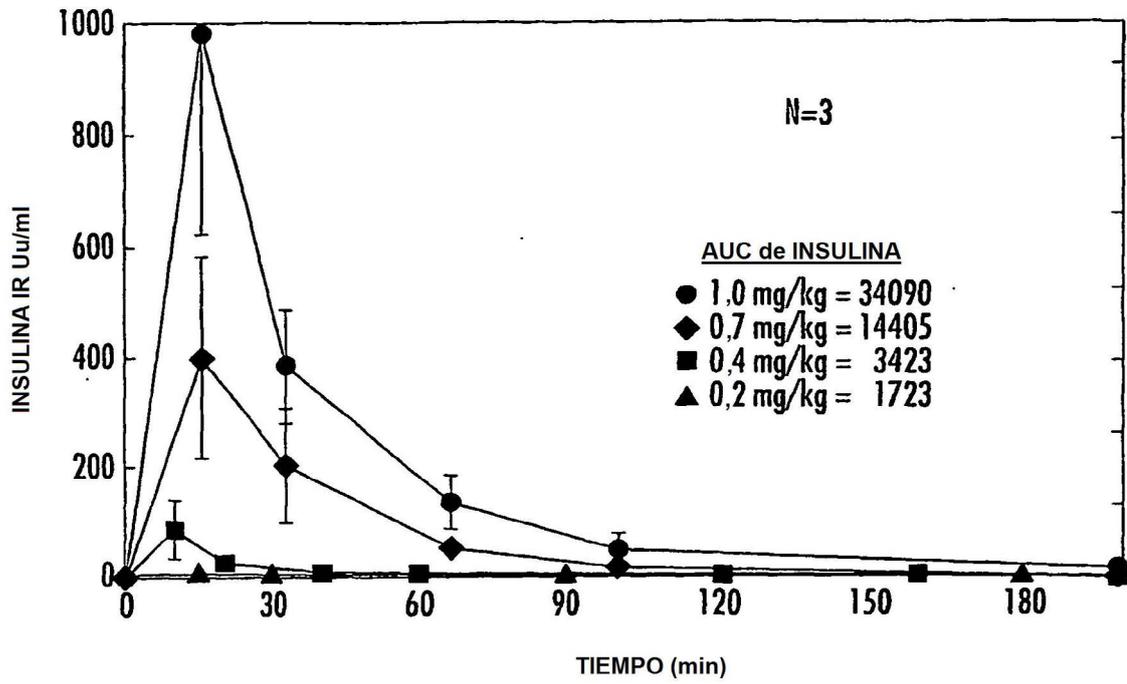


FIG. 1a.

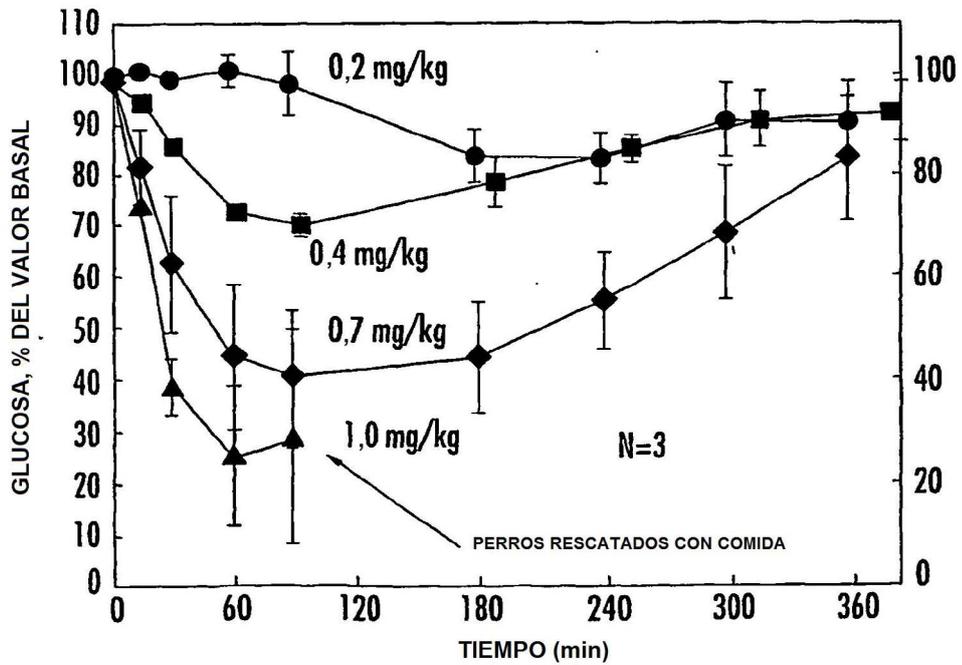


FIG. 1b.

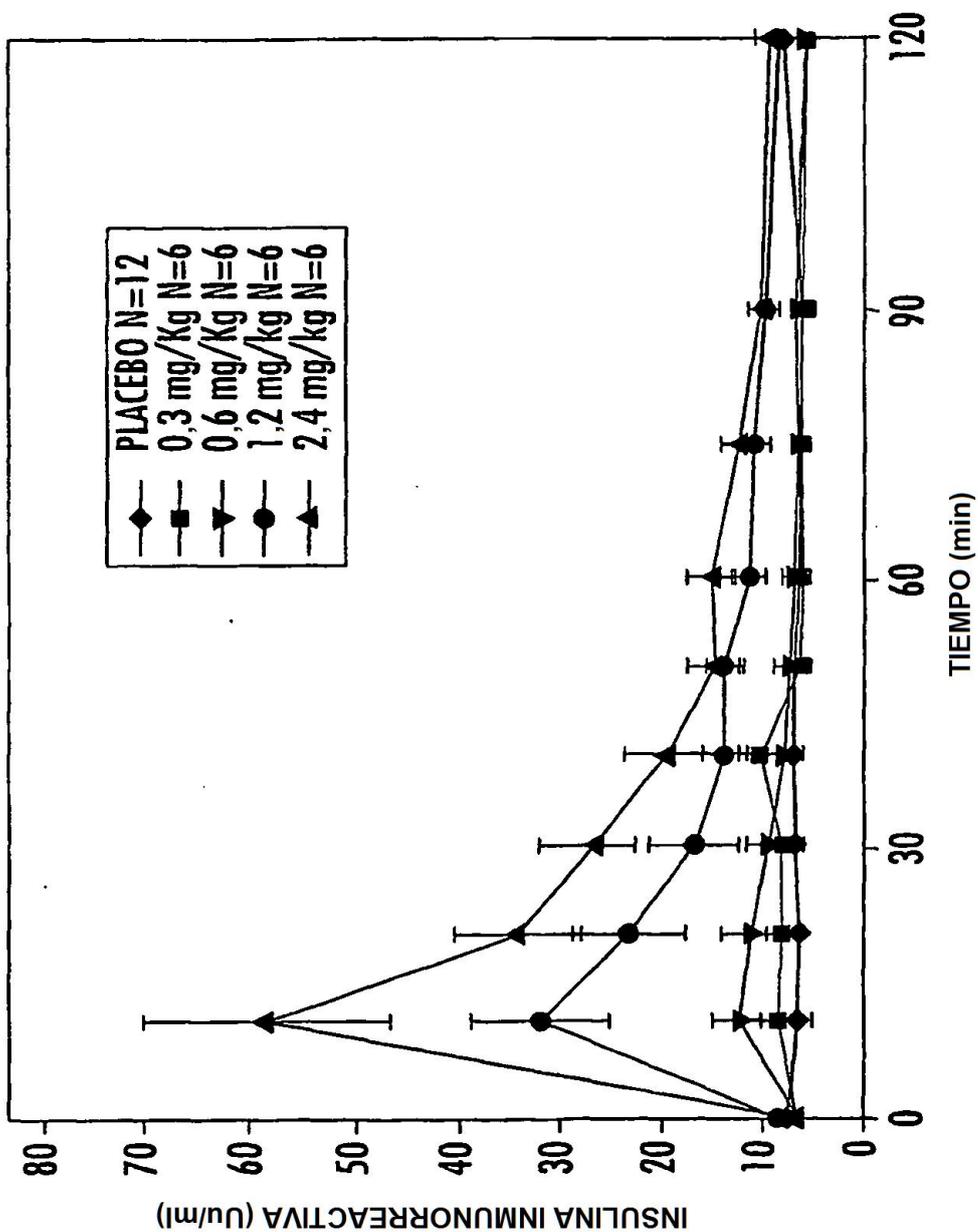


FIG. 2.

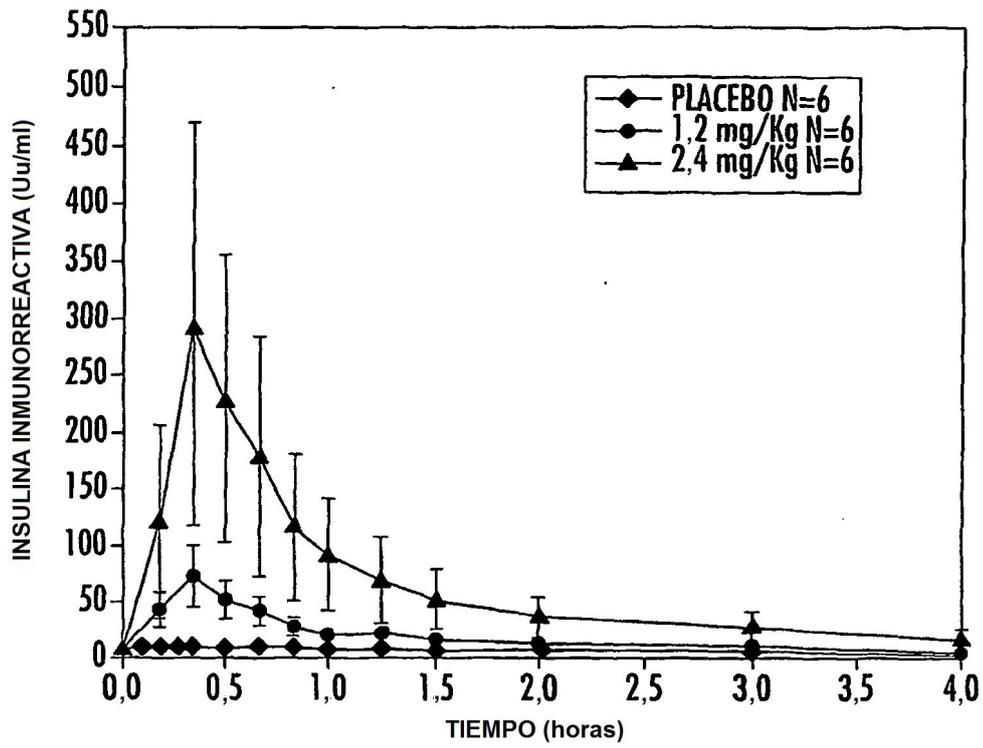


FIG. 3a.

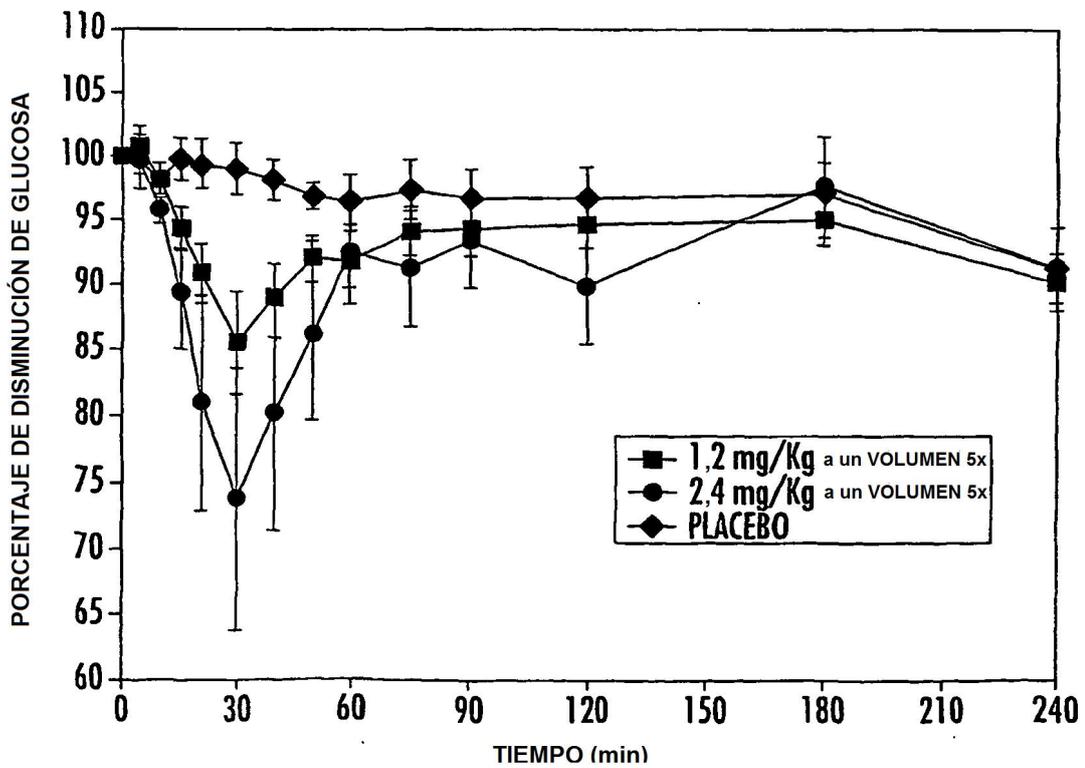


FIG. 3b.

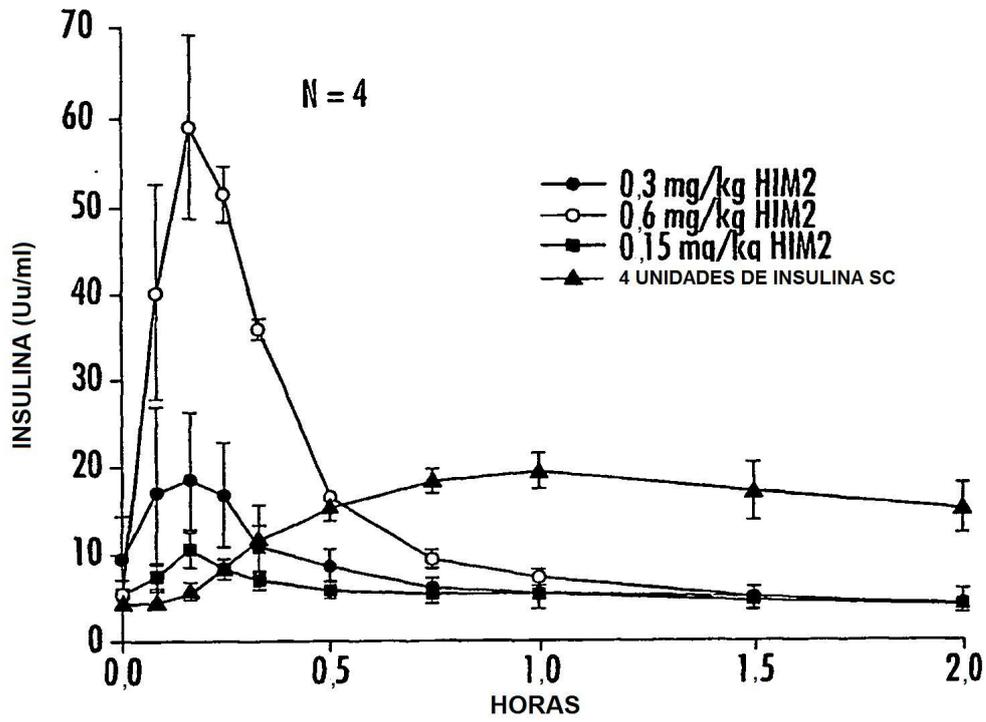


FIG. 4a.

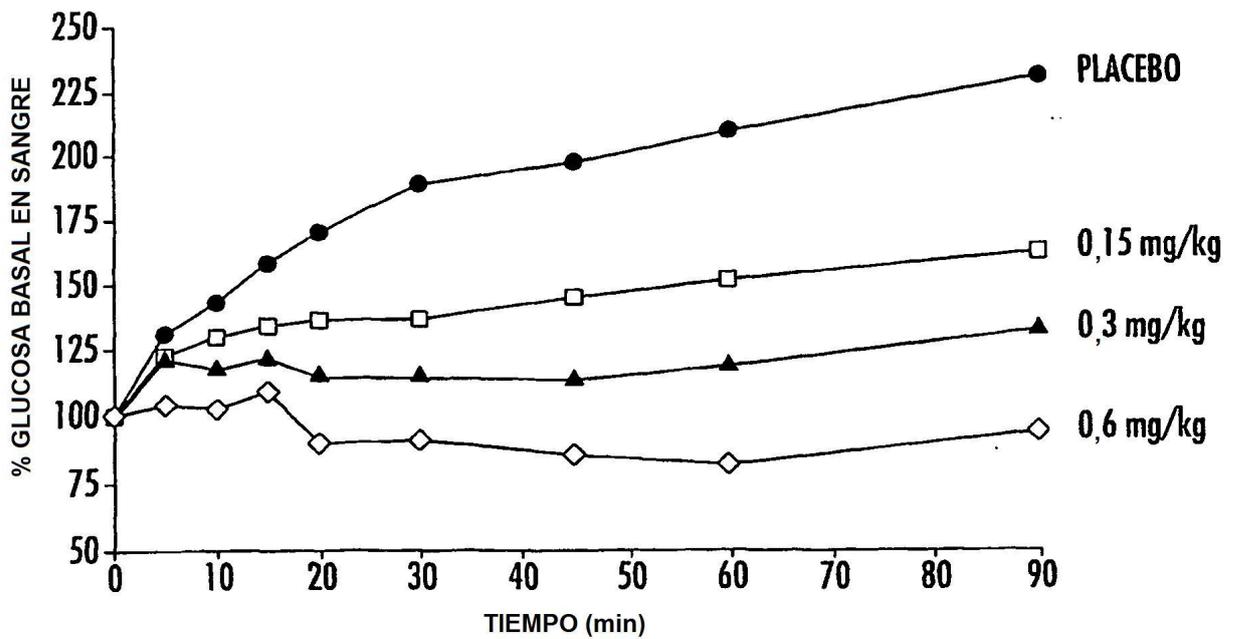


FIG. 4b.

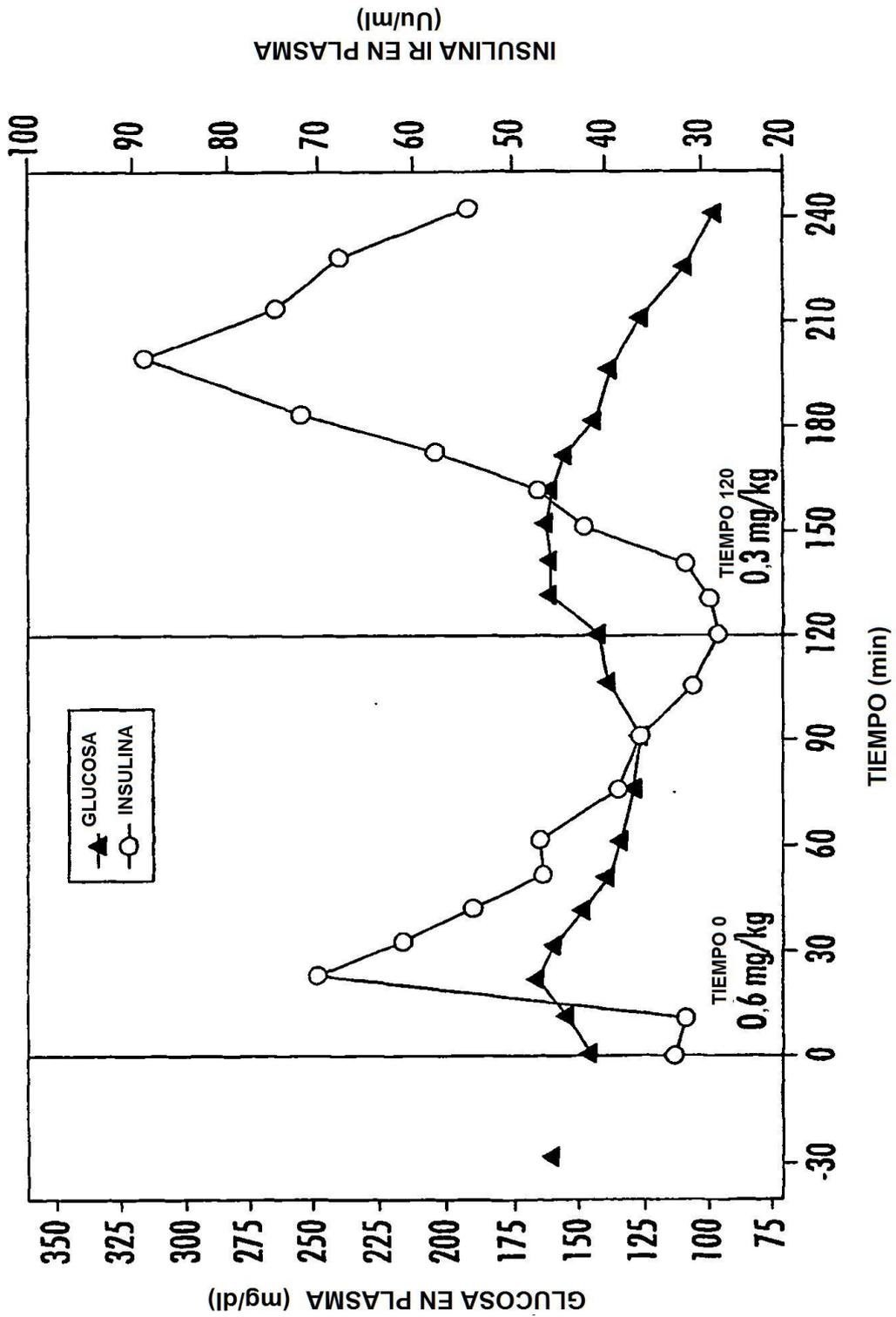


FIG. 5.

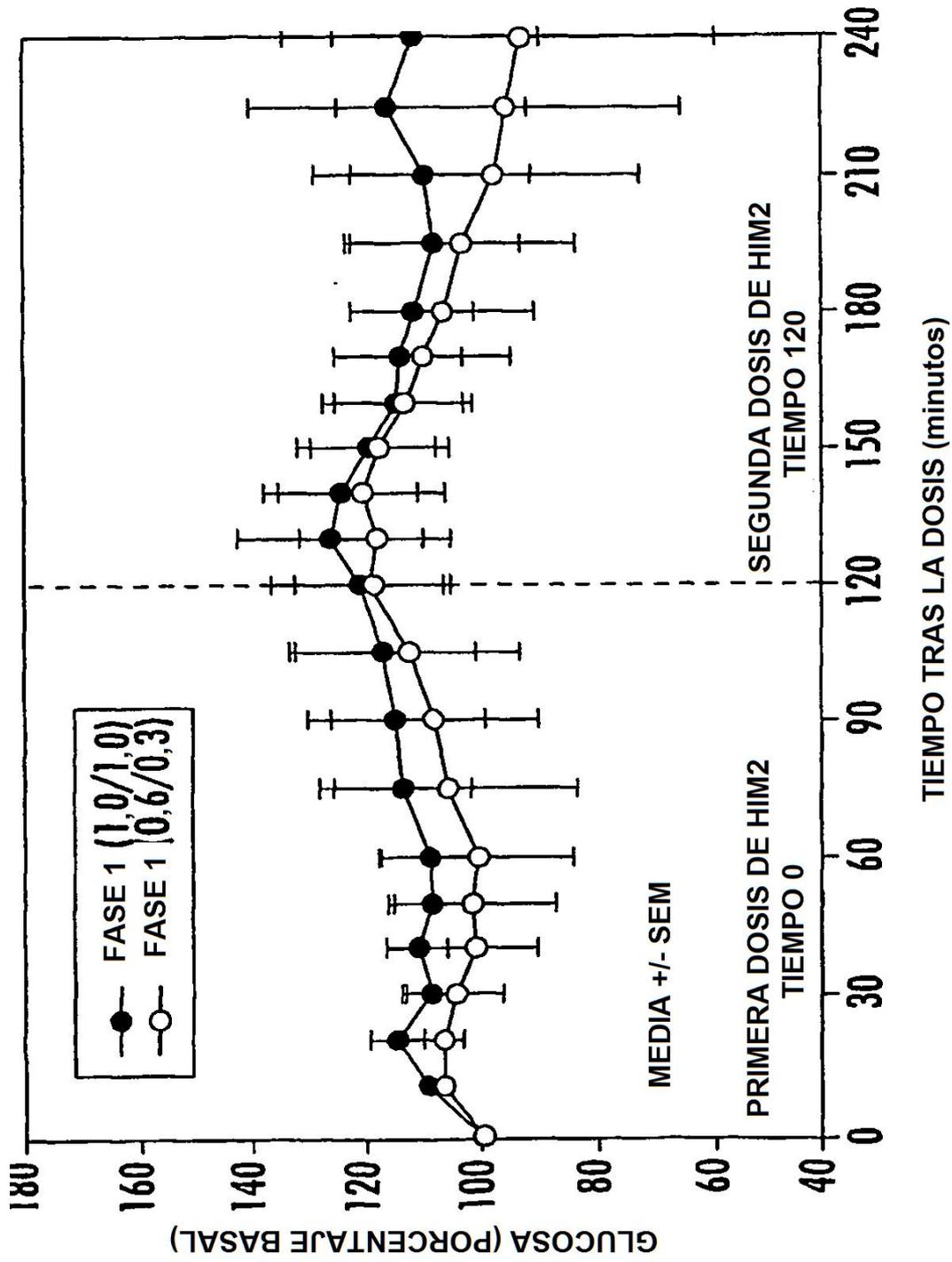


FIG. 6.

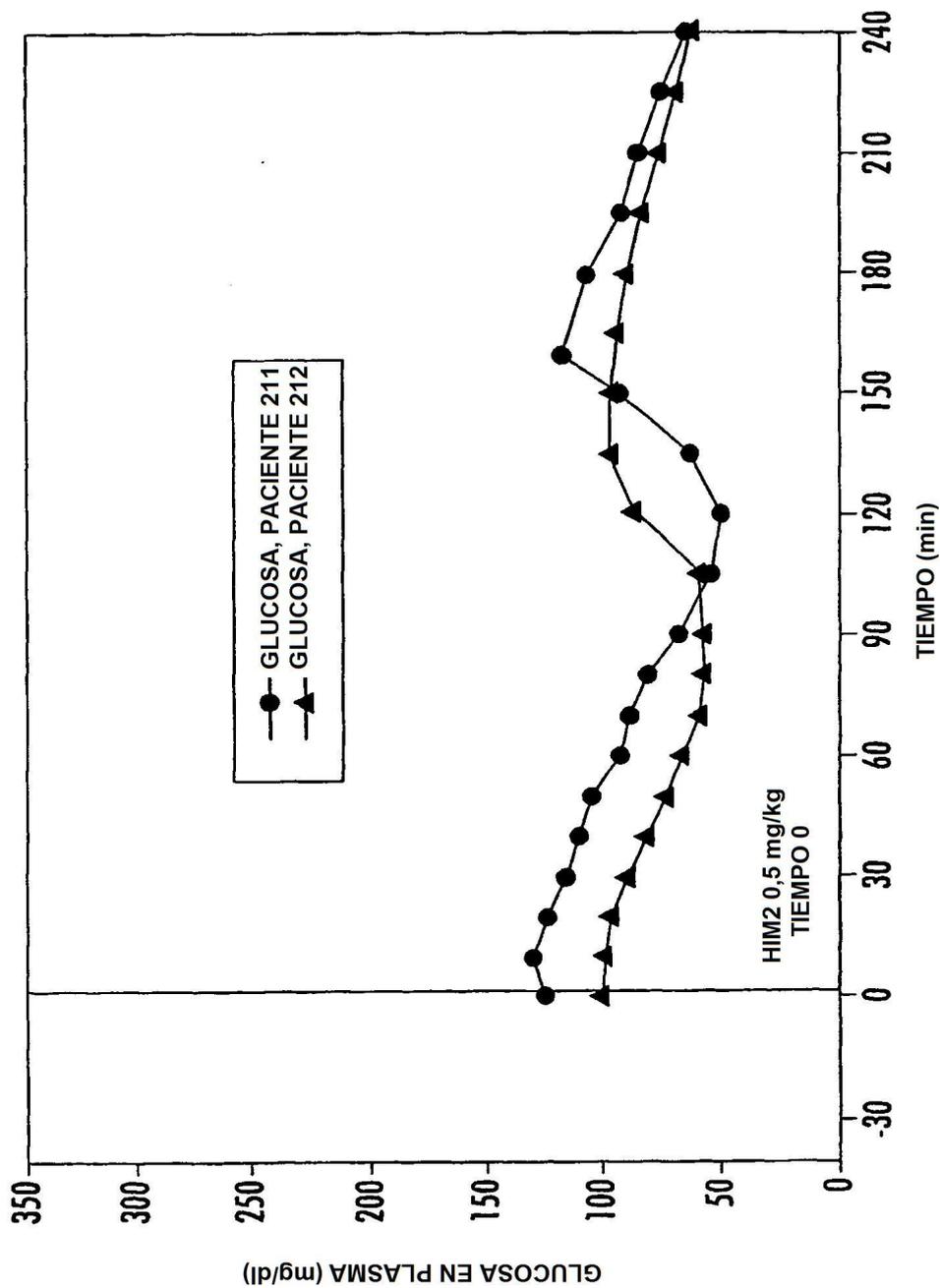


FIG. 7.

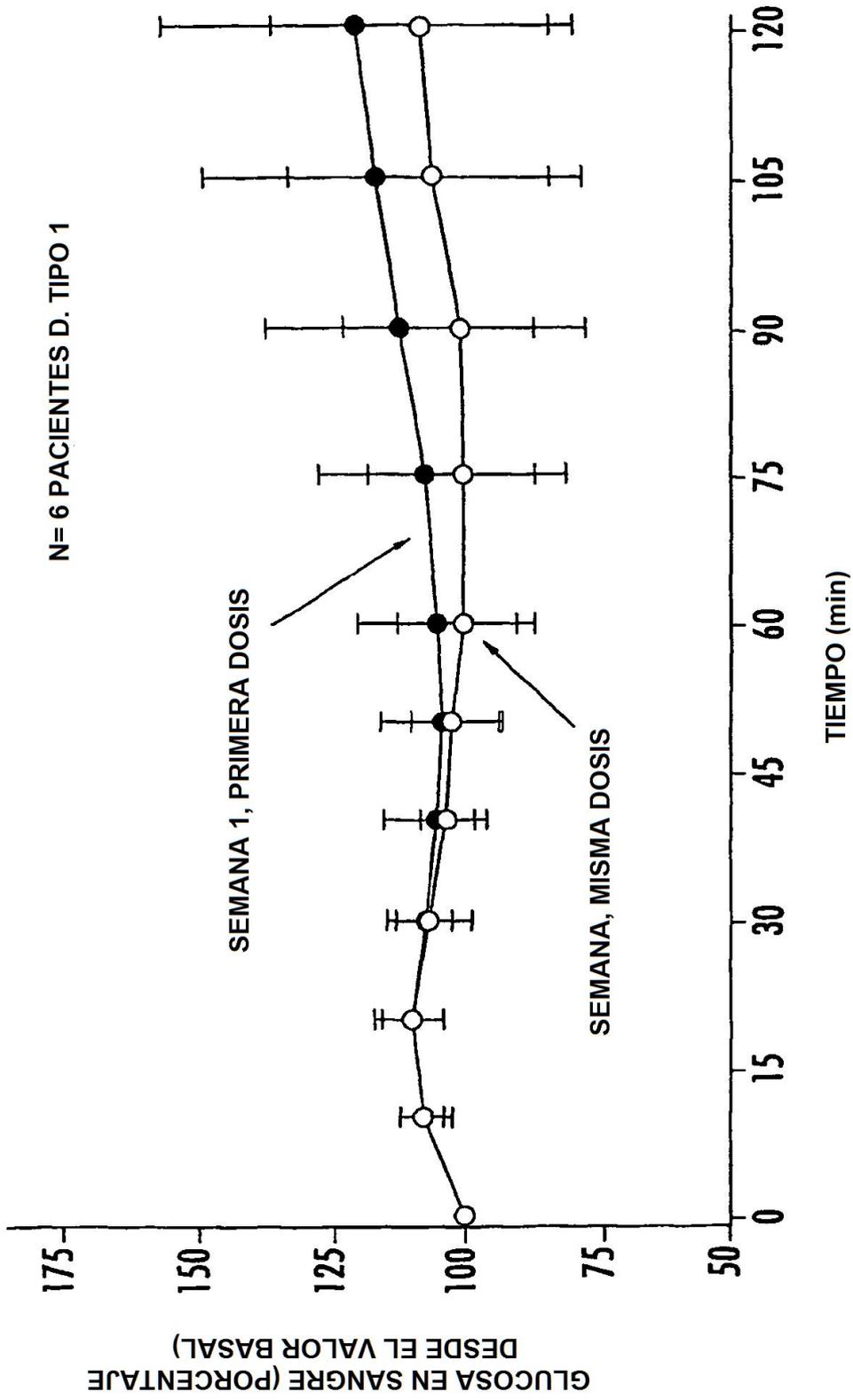


FIG. 8.

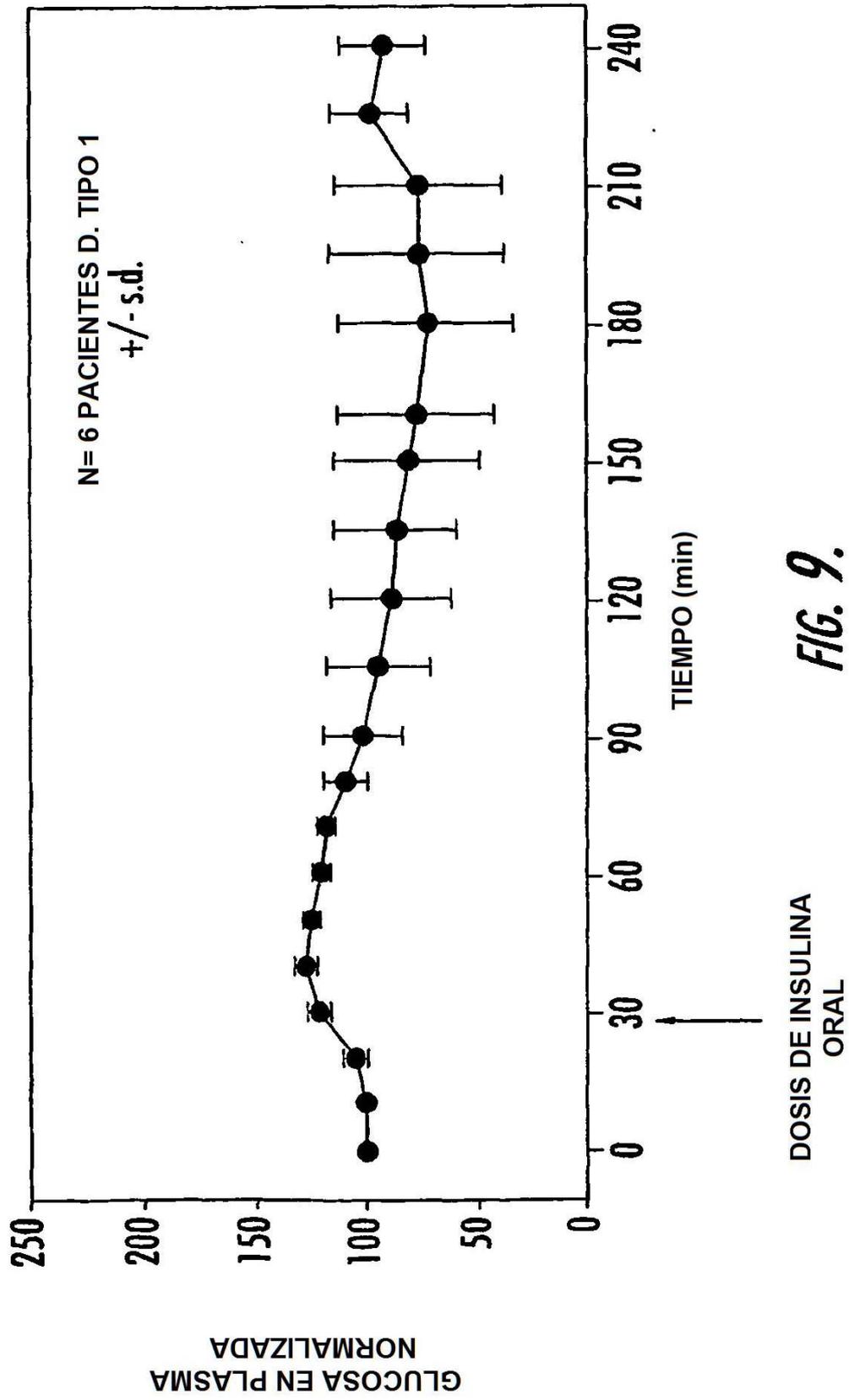


FIG. 9.

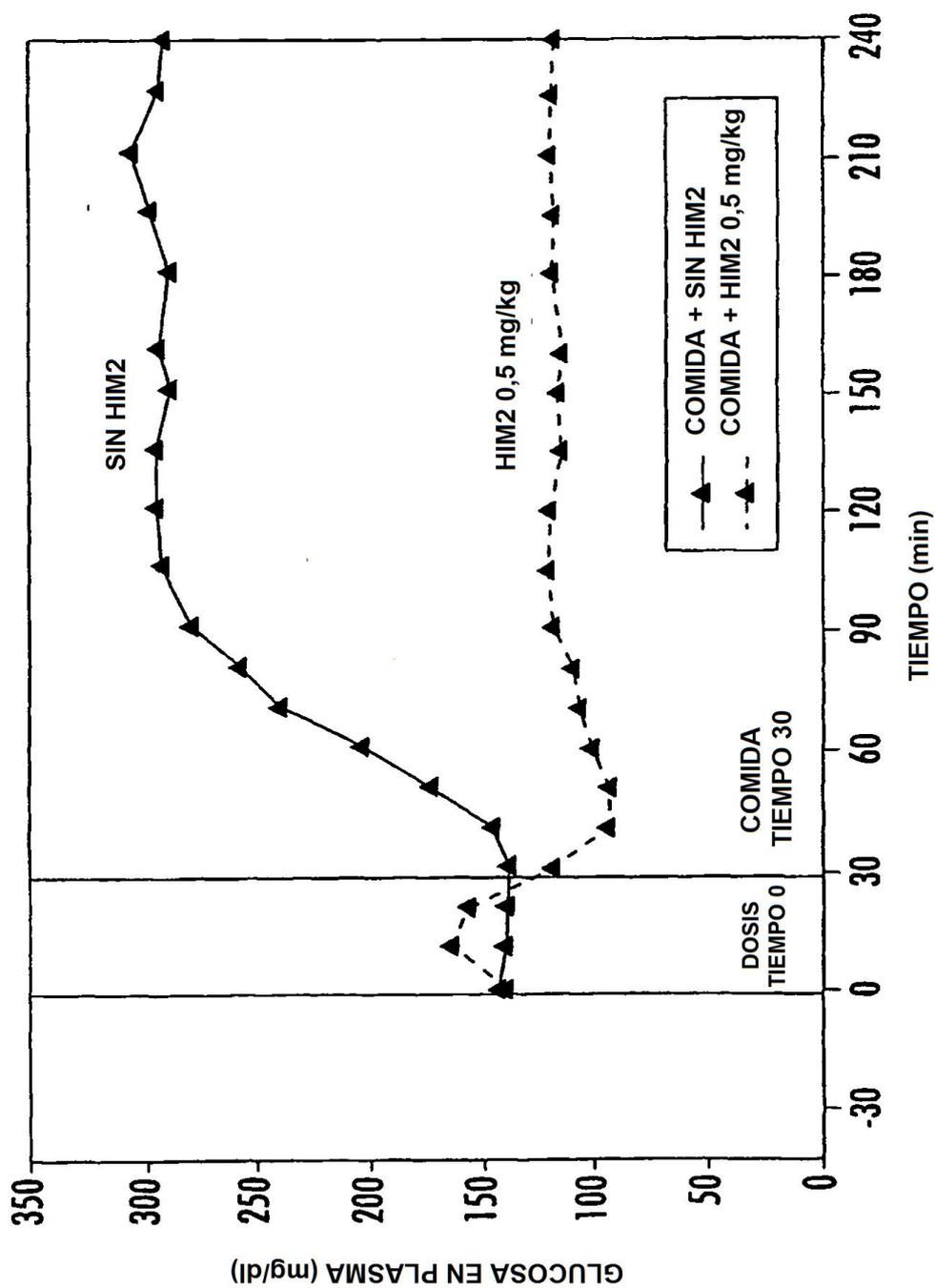


FIG. 10.

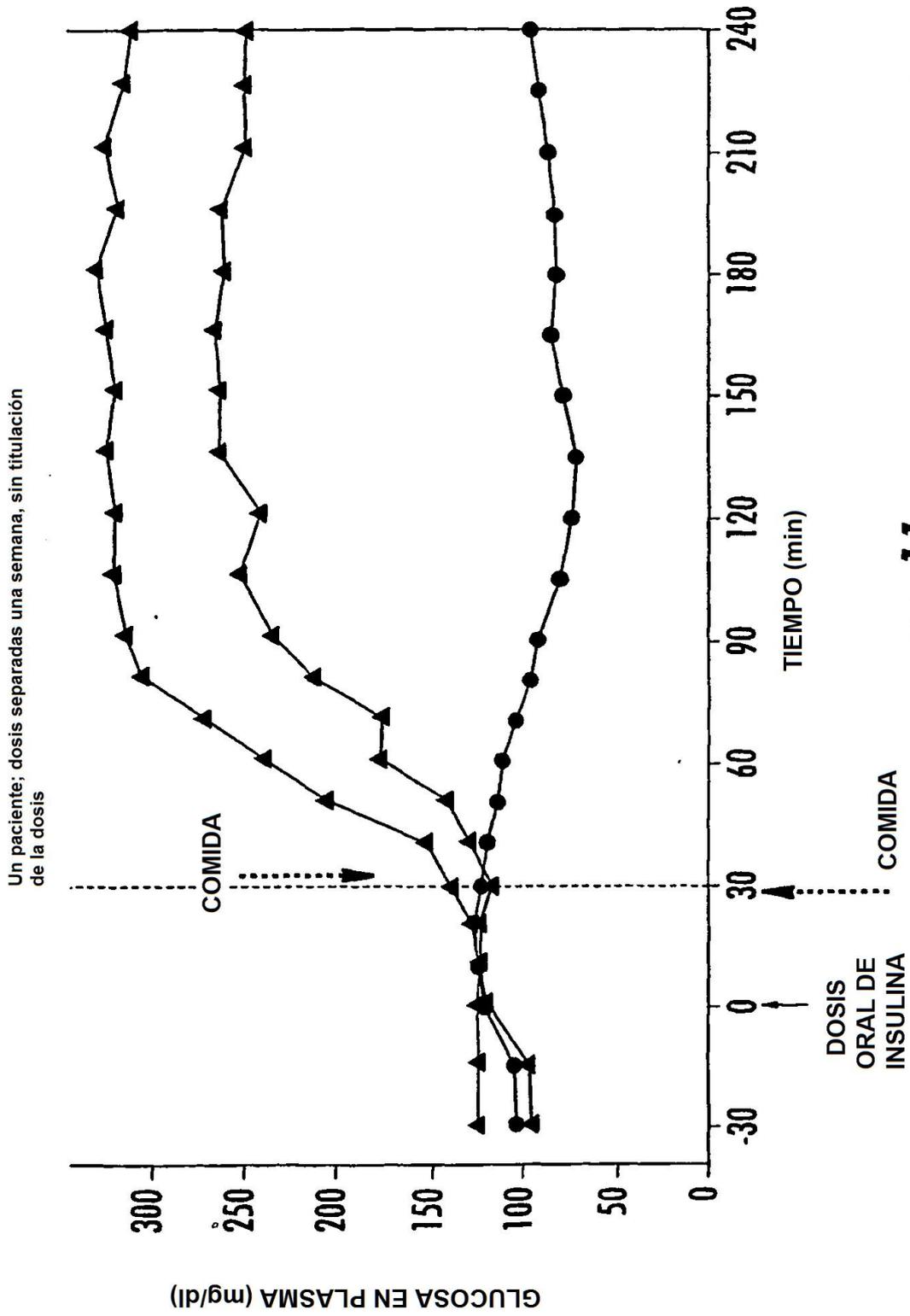


FIG. 11.

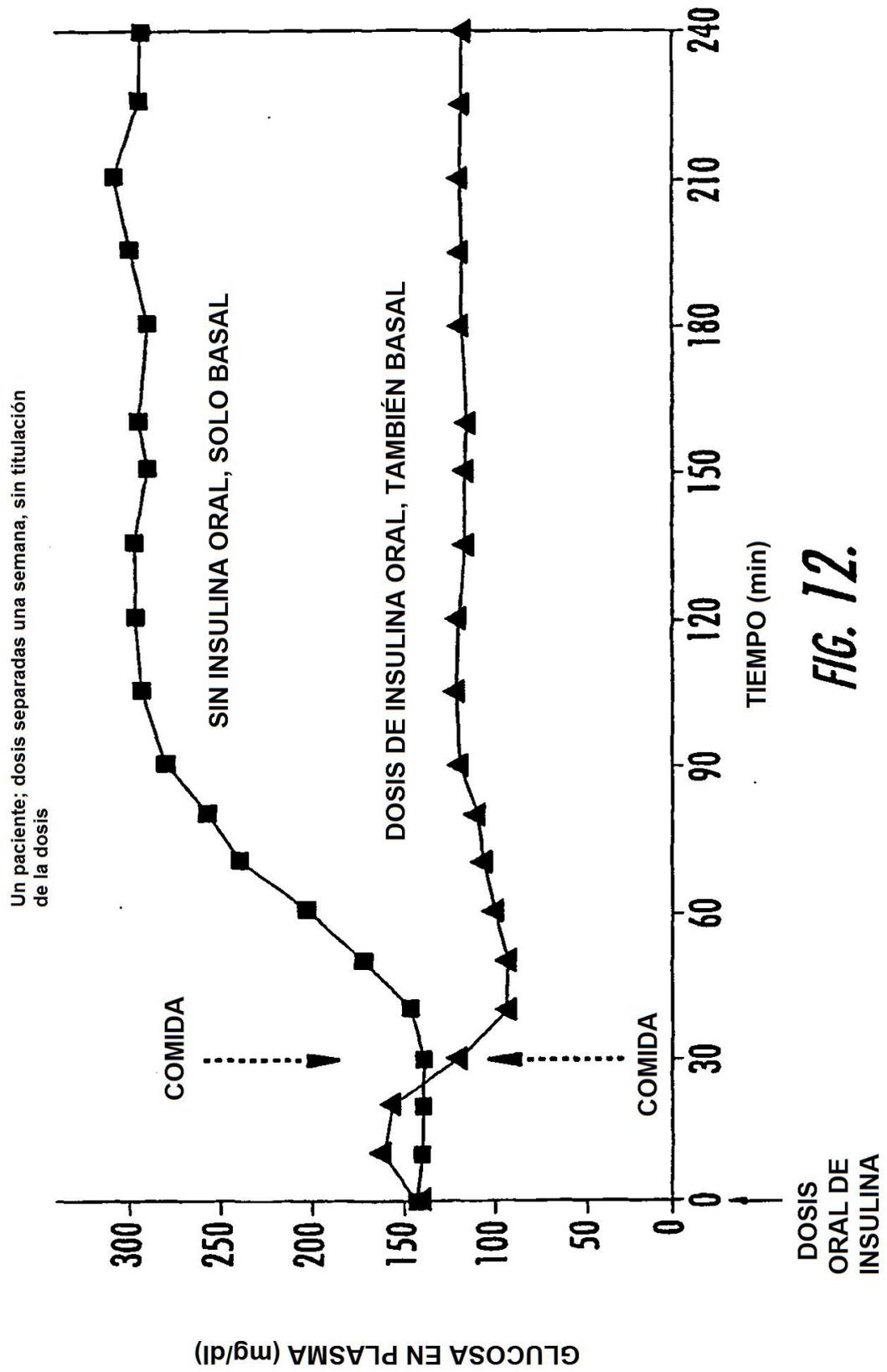


FIG. 12.

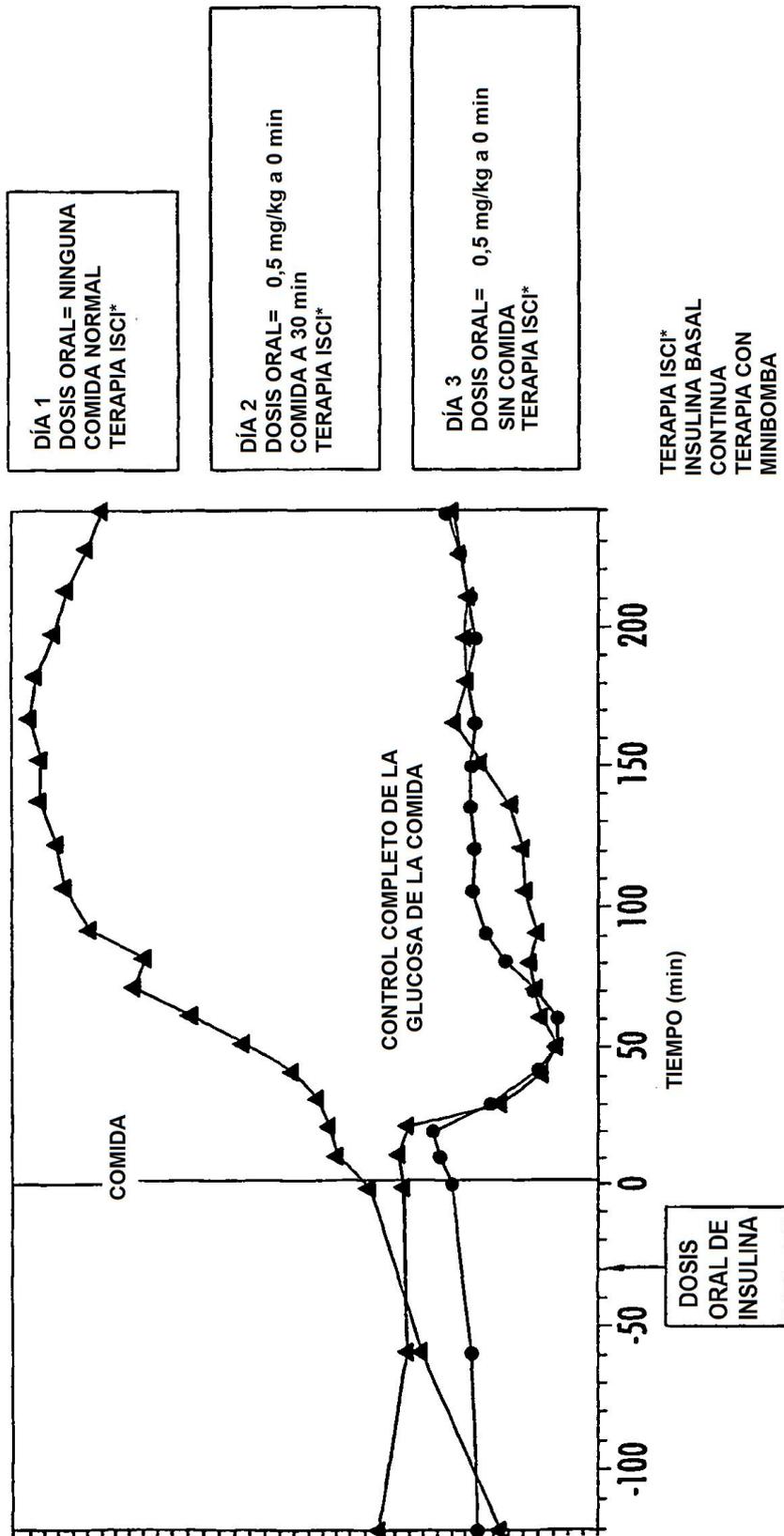


FIG. 13.

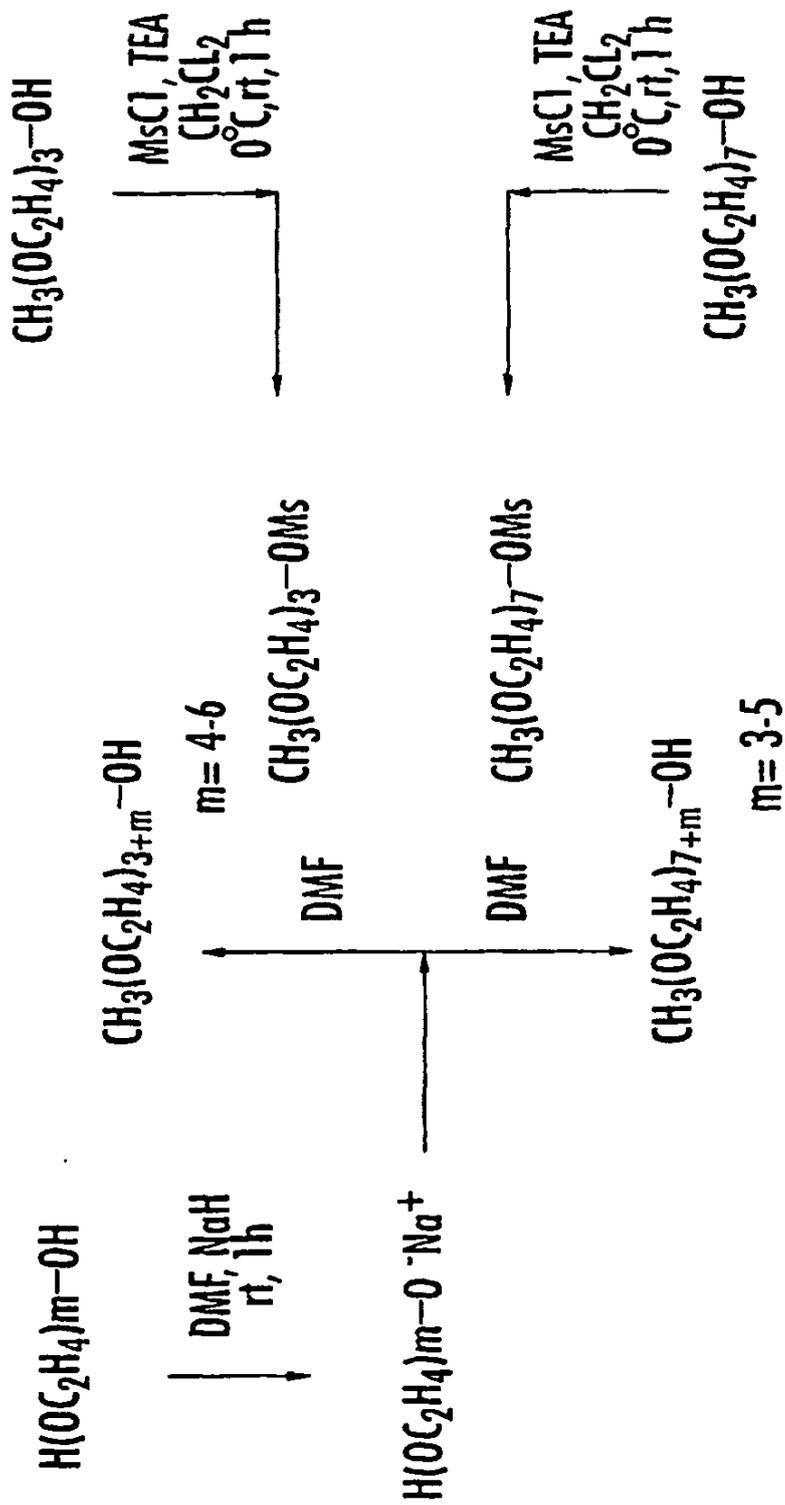


FIG. 14.

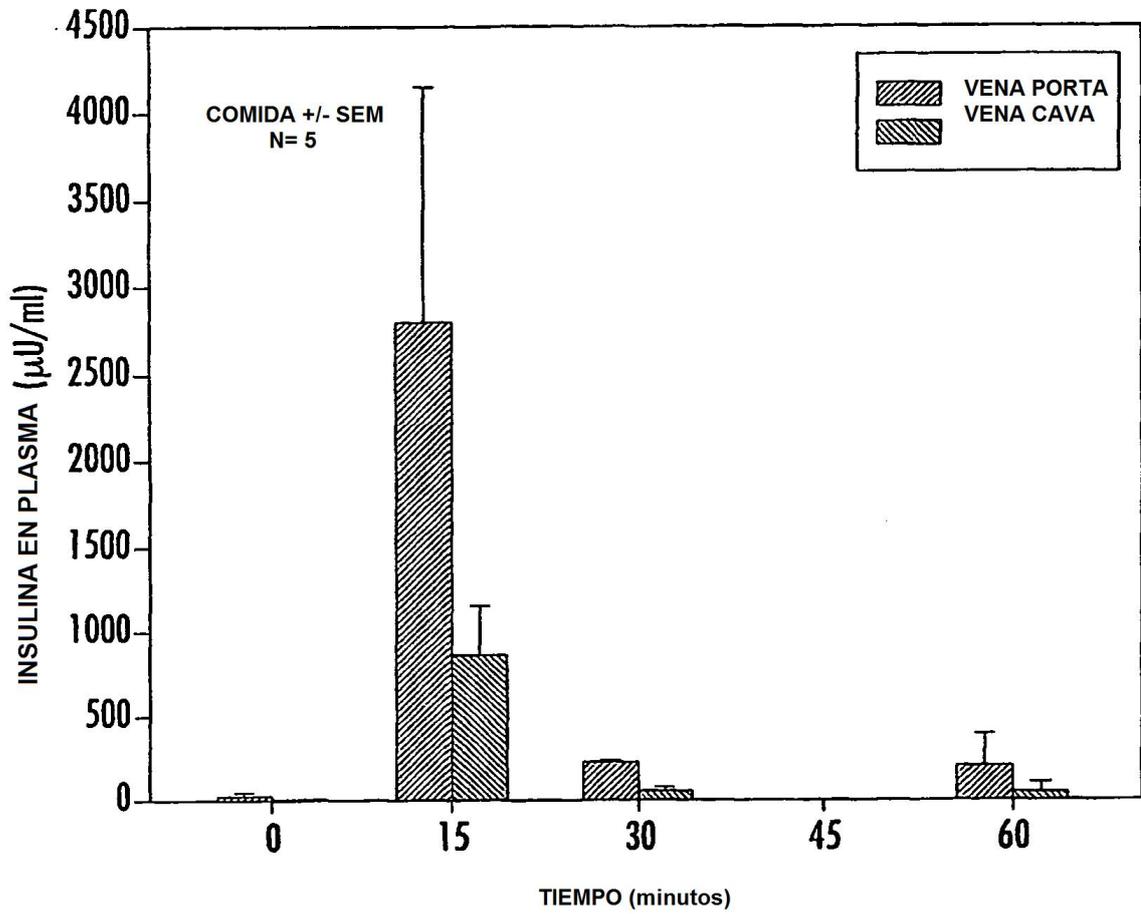


FIG. 16.

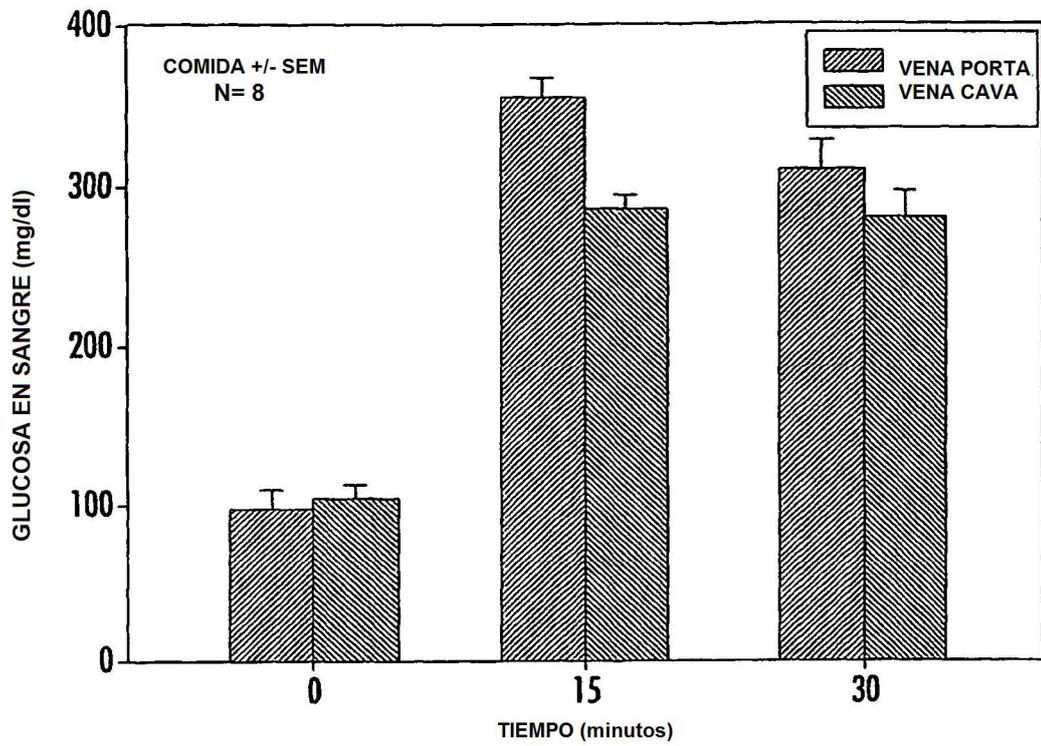


FIG. 17a.

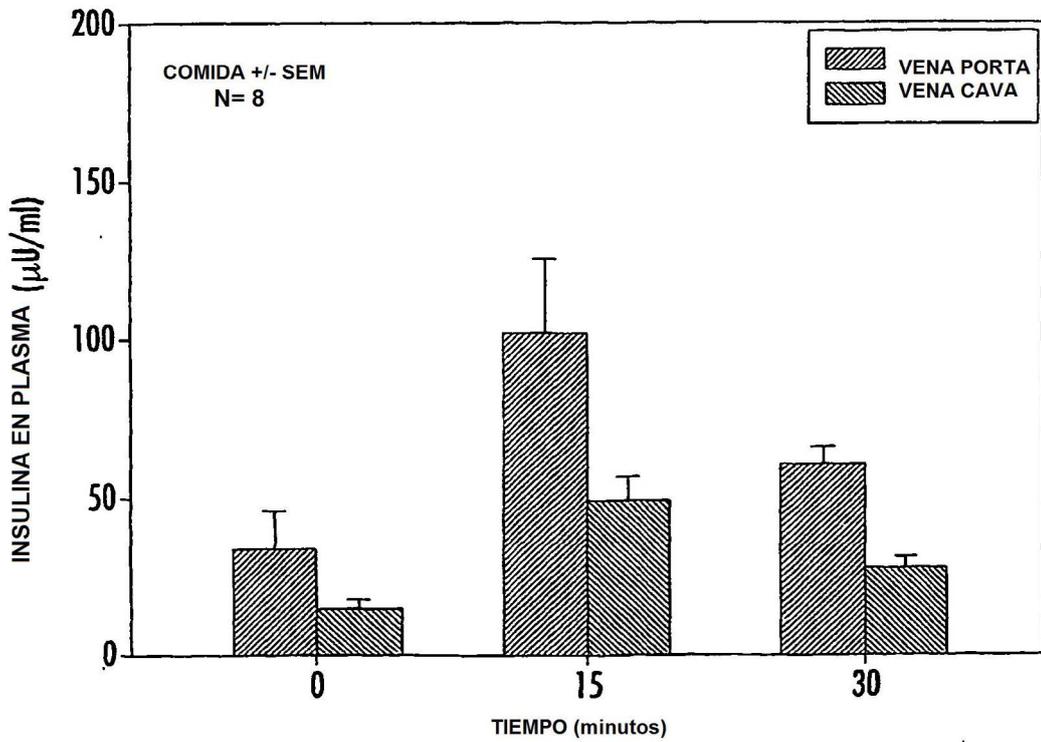


FIG. 17b.

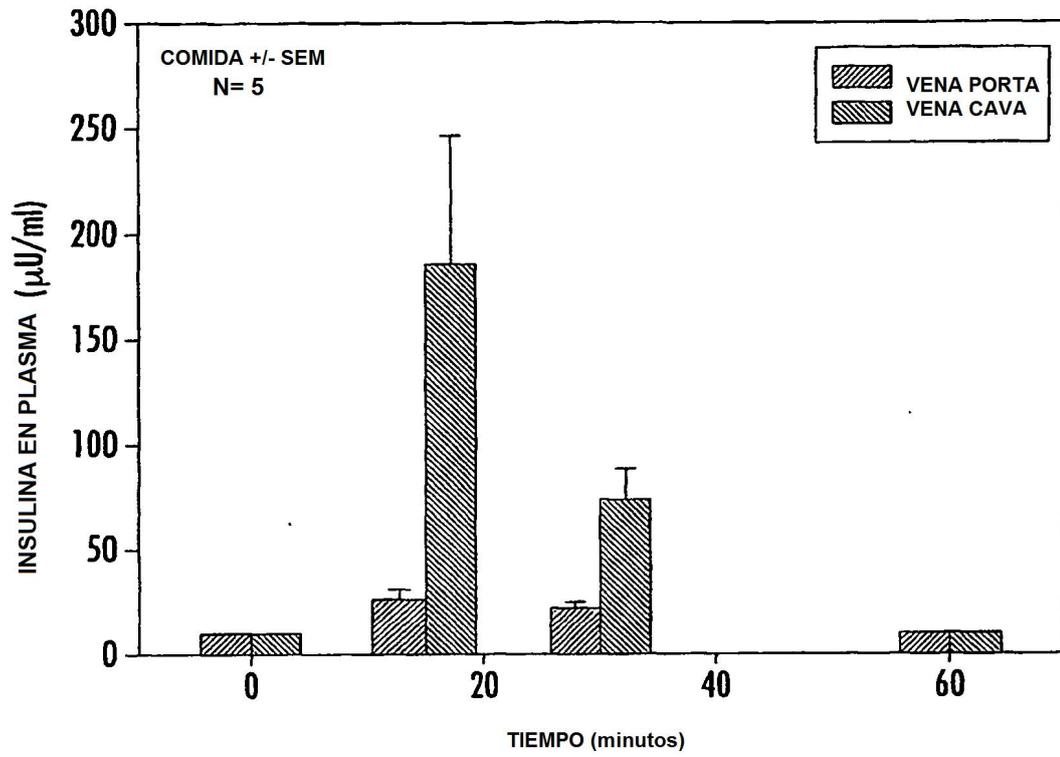


FIG. 18.

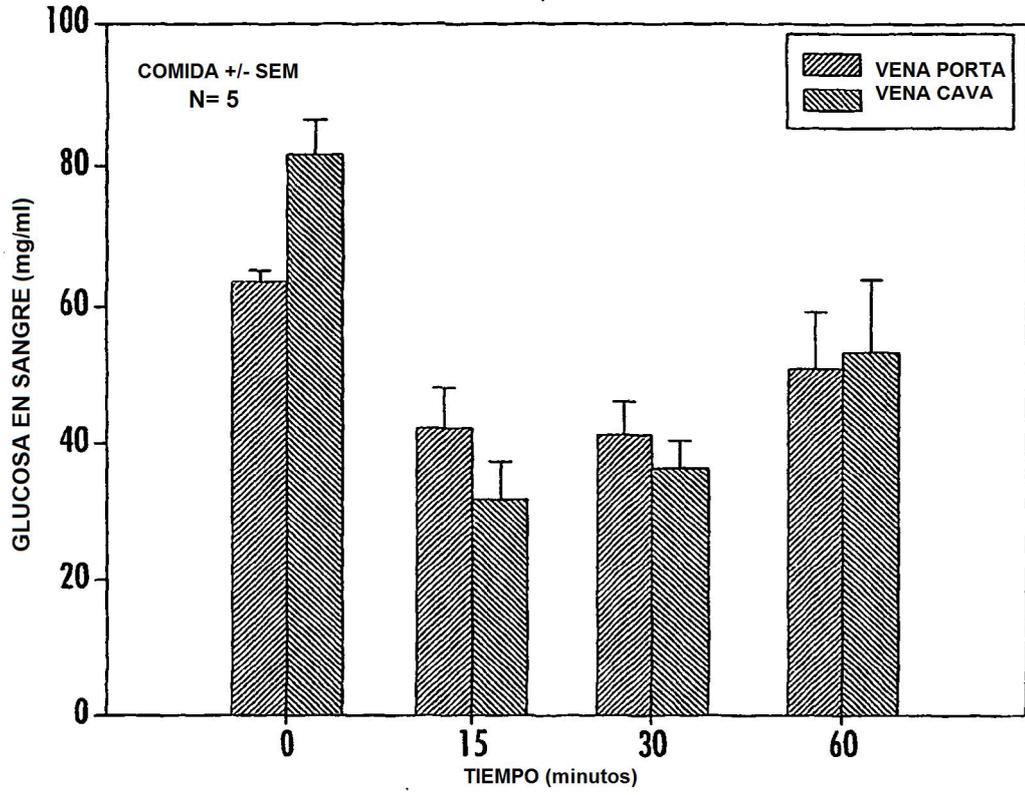


FIG. 19.

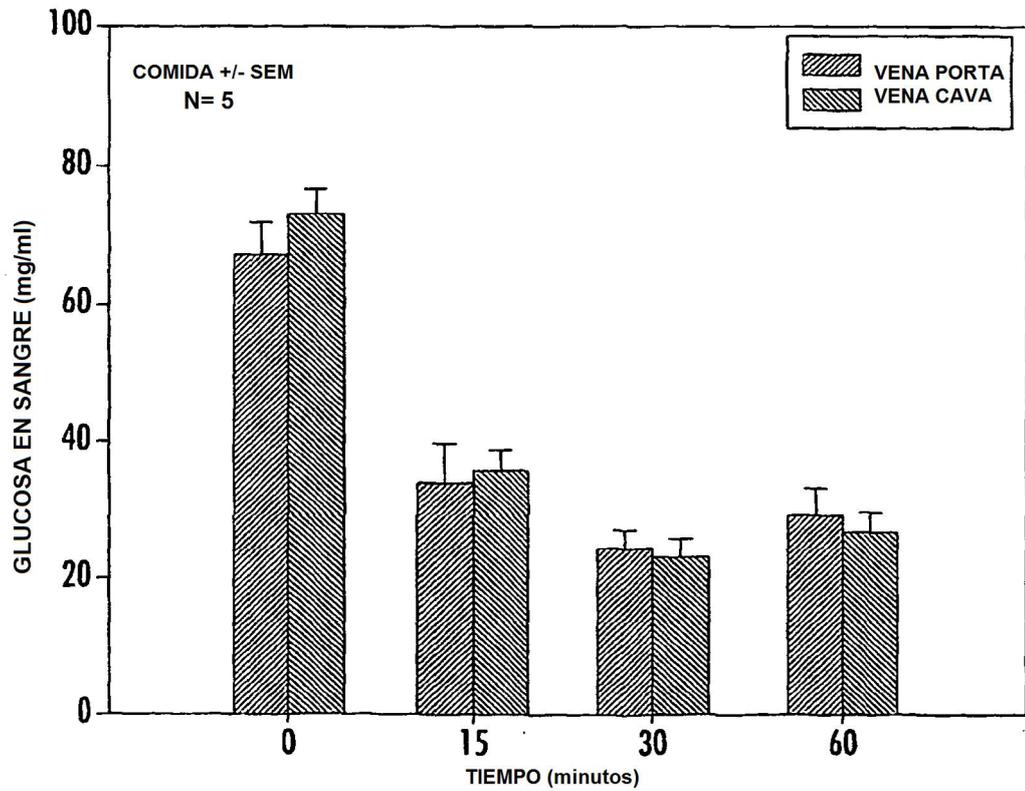


FIG. 20.