

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 529 100**

51 Int. Cl.:

A61K 38/22 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 5/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.01.2010 E 10700456 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.11.2014 EP 2379100**

54 Título: **Tratamiento de la hiperglucemia con GLP-1**

30 Prioridad:

08.01.2009 US 143358 P

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

16.02.2015

73 Titular/es:

MANKIND CORPORATION (100.0%)
28903 North Avenue Paine
Valencia, CA 91355, US

72 Inventor/es:

COSTELLO, DONALD;
RICHARDSON, PETER;
BAUGHMAN, ROBERT, A. y
MARINO, MARK, T.

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 529 100 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

Tratamiento de la hiperglucemia con GLP-1

5 Campo técnico

10 En el presente documento, se desvela un método de tratamiento de la hiperglucemia y/o la diabetes con una terapia molecular del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1). En particular, el método comprende la administración de una molécula de GLP-1 en la circulación pulmonar por inhalación oral usando un sistema de administración de fármaco en polvo seco.

Antecedentes

15 Los sistemas de administración de fármacos para el tratamiento de la enfermedad que introducen principios activos en la circulación son numerosos, e incluyen la administración oral, transdérmica, subcutánea e intravenosa. Si bien dichos sistemas se han usado desde hace mucho tiempo y pueden administrar suficiente fármaco para el tratamiento de muchas enfermedades, hay numerosos retos asociados con dichos mecanismos de administración de fármacos. En particular, la administración de cantidades eficaces de proteínas y péptidos para tratar una enfermedad diana ha dado problemas. Muchos factores están implicados en la introducción de la cantidad adecuada del agente activo, por ejemplo, la preparación de la formulación de administración de fármaco adecuada para que la formulación contenga una cantidad de agente activo que pueda alcanzar su/s sitio/s de la acción diana en una cantidad eficaz.

25 El agente activo debe ser estable en la formulación de administración de fármaco, y la formulación debería permitir la absorción del agente activo en la circulación y que permaneciera activo de manera que pudiera alcanzar el/los sitio/s de acción a niveles terapéuticos eficaces. Por lo tanto, en las técnicas farmacológicas, los sistemas de administración de fármacos que pueden administrar un agente activo estable son de suma importancia.

30 La fabricación de formulaciones de administración de fármacos terapéuticamente adecuadas para el tratamiento de la enfermedad depende de las características del principio o del agente activo que se vaya a administrar al paciente. Dichas características pueden incluir de una manera no limitante la solubilidad, el pH, la estabilidad, la toxicidad, la velocidad de liberación y la facilidad de eliminación del organismo por procesos fisiológicos normales. Por ejemplo, en la administración oral, si el agente es sensible al ácido, se han desarrollado recubrimientos entéricos usando materiales farmacéuticamente aceptables que pueden impedir que el agente activo se libere en el pH bajo (ácido) del estómago. Por lo tanto, se usan polímeros que no sean solubles a pH ácido para formular y administrar una dosis que contenga agentes sensibles a los ácidos al intestino delgado donde el pH es neutro. A pH neutro, el recubrimiento polimérico se puede disolver para liberar el agente activo que se absorbe luego en la circulación sistémica entérica. Los agentes activos administrados por vía oral entran en la circulación sistémica y atraviesan el hígado. En ciertos casos, parte de la dosis se metaboliza y/o desactiva en el hígado antes de llegar a los tejidos diana. En algunos casos, los metabolitos pueden ser tóxicos para el paciente o pueden producir efectos secundarios no deseados.

45 De igual manera, la administración subcutánea e intravenosa de agentes farmacéuticamente activos no está privada de la degradación y la inactivación. Con la administración intravenosa de fármacos, los fármacos o principios activos también pueden ser metabolizados, por ejemplo, en el hígado, antes de alcanzar el tejido diana. Con la administración subcutánea de ciertos agentes activos, incluyendo diversas proteínas y péptidos, existe además la degradación y la desactivación por las enzimas tisulares periféricas y vasculares en el sitio de administración del fármaco y durante el trayecto a través del torrente sanguíneo venoso. Con el fin de administrar una dosis que produzca una cantidad aceptable para el tratamiento de la enfermedad con la administración subcutánea e intravenosa de un agente activo, las pautas de dosificación siempre tendrán que explicar la inactivación del agente activo por el tejido venoso periférico y vascular y, en última instancia, el hígado.

55 El documento US 2008/0260838 desvela que una composición que comprende partículas de péptido de tipo glucagón 1 (GLP-1) en combinación con dicetopiperazina (DKP) es estable tanto *in vitro* como *in vivo*, y tiene utilidad como formulación farmacéutica para tratar enfermedades tales como diabetes, cánceres y obesidad, pero no se limita a dichas enfermedades ni afecciones, siendo particularmente útil como formulación farmacéutica para la administración pulmonar. El documento US 2002/0161001 describe inhibidores terapéuticamente activos y selectivos de la enzima DPP-IV, composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos y el uso de dichos compuestos para la fabricación de medicamentos para el tratamiento de enfermedades que están asociadas con proteínas que son sometidas a la inactivación por DPP-IV, tales como la diabetes de tipo 2 y la obesidad, así como métodos para el tratamiento de enfermedades que están asociadas con proteínas que son sometidas a la inactivación por DPP-IV, tales como la diabetes de tipo 2 y la obesidad.

Sumario

- En el presente documento, se desvelan una formulación y un método para prevenir o reducir los efectos adversos, tales como sudoración profusa, náuseas y vómitos, que normalmente están asociados con la administración subcutánea e intravenosa de la terapia de péptido similar al glucagón 1 (GLP-1). En particular, el método comprende la administración de una molécula de GLP-1 en la circulación pulmonar, tal como por inhalación en los capilares alveolares pulmonares, usando un sistema de administración de fármaco en polvo seco.
- En un primer aspecto, se proporciona una formulación de polvo seco inhalable para el tratamiento de la hiperglucemia, en el que la formulación se administra a un sujeto humano que tiene una concentración de glucosa en sangre en ayunas superior a 9 mmol/l, y la formulación comprende micropartículas de entre 0,5 µm y 100 µm de diámetro que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de GLP-1 y una dicetopiperazina. Preferentemente, la administración no produce al menos un efecto secundario seleccionado del grupo que consiste en náuseas, vómitos y sudoración profusa.
- El sujeto que se va a tratar de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención puede padecer, por ejemplo, diabetes mellitus de tipo 2. La formulación de polvo seco para su uso de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención puede ser, por ejemplo, una formulación de polvo seco inhalable que comprende de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 5 mg, o de 0,5 mg a aproximadamente 3 mg de GLP-1 en la formulación. La formulación de polvo seco se puede administrar como una dosis única, o más de una dosis, que se pueden administrar en intervalos dependiendo de la necesidad del paciente. En otra realización más, la formulación de polvo seco inhalable comprende además un inhibidor de DPP-IV.
- En una realización del primer aspecto de la presente invención, la formulación de polvo seco inhalable se puede usar para reducir los niveles de glucosa en un paciente humano diabético de tipo 2 que padece hiperglucemia y que tiene una concentración de glucosa en sangre en ayunas superior a 9 mmol/l, mediante un método que comprende la etapa de administrar al paciente en necesidad de tratamiento una formulación de polvo seco inhalable para la administración pulmonar que comprende micropartículas de entre 0,5 µm y 100 µm de diámetro que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de GLP-1 y una dicetopiperazina o sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
- La formulación de polvo seco inhalable del primer aspecto de la presente invención comprende una dicetopiperazina. La dicetopiperazina puede ser, por ejemplo, 2,5-diceto-3,6-di(4-X-aminobutil)piperazina, en la que X está seleccionado del grupo que consiste en succinilo, glutarilo, maleílo y fumarilo; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.
- La molécula de GLP-1 presente en la formulación de polvo seco inhalable del primer aspecto de la presente invención se puede seleccionar, por ejemplo, del grupo que consiste en un GLP-1 nativo, un metabolito de GLP-1, un derivado de GLP-1, un GLP-1 de acción prolongada, un mimético de GLP-1, una exendina o un análogo del mismo, o combinaciones de los mismos, y la molécula de GLP-1 tiene al menos actividad biológica del GLP-1 nativo. En otra realización, la actividad biológica es actividad insulínica.
- El sujeto que se va a tratar de acuerdo con el primer aspecto de la invención puede recibir además una cantidad terapéutica de una molécula de insulina. Por ejemplo, la molécula de insulina se puede administrar por separado, en forma de formulación de polvo seco inhalable. En otra realización, la formulación de polvo seco inhalable del primer aspecto de la presente invención comprende la molécula de GLP-1 formulada en combinación con la molécula de insulina. La insulina puede ser, por ejemplo, una insulina de acción rápida o una insulina de acción prolongada.
- El sujeto que se va a tratar de acuerdo con el primer aspecto de la invención, en otra realización, puede recibir además una formulación que comprenda un análogo de GLP-1 de acción prolongada.
- En otra realización, la formulación de polvo seco inhalable carece de la inhibición de la evacuación gástrica.
- En el presente documento, también se describe un kit para el tratamiento de la diabetes y/o hiperglucemia, que comprende: a) un cartucho de medicamento operativamente configurado para encajar en un inhalador de polvo seco y que contiene una formulación de polvo seco que comprende una molécula de GLP-1, y una dicetopiperazina de fórmula: 2,5-diceto-3,6-di(4-X-aminobutil)piperazina; en la que X se selecciona del grupo que consiste en succinilo, glutarilo, maleílo y fumarilo, o sal de los mismos; y b) un dispositivo de inhalación operativamente configurado para recibir/sujetar y acoplar de manera segura el cartucho.
- En el presente documento, también se describe un kit para el tratamiento de la hiperglucemia en un paciente diabético de tipo 2, que comprende un sistema de administración de fármaco pulmonar, que comprende: a) un cartucho de medicamento operativamente configurado para encajar en un inhalador de polvo seco, y capaz de contener y administrar una formulación seca en polvo que comprende una molécula de GLP-1, y una dicetopiperazina de fórmula: 2,5-diceto-3,6-di(4-X-aminobutil)piperazina; en la que X se selecciona del grupo que consiste en succinilo, glutarilo, maleílo y fumarilo, o sal de los mismos; y b) un dispositivo de inhalación

operativamente configurado para adaptar y acoplar de forma segura el cartucho y administrar la formulación de polvo seco al paciente en uso.

5 En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la administración de la formulación inhalable a un sujeto puede proporcionar el efecto de reducir los niveles de glucosa en sangre del sujeto de aproximadamente 0,1 mmol/l a aproximadamente 3 mmol/l durante un período de aproximadamente cuatro horas tras la administración de la formulación inhalable al paciente. En otras realizaciones, la formulación inhalable se administra al paciente diabético de tipo 2 prandialmente, preprandialmente, postprandialmente o en un estado de ayunas. En otra
10 realización, la formulación inhalable comprende de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg, o de aproximadamente 0,02 mg a aproximadamente 3 mg de GLP-1 en la formulación.

En otra realización más del primer aspecto de la presente invención, el tratamiento de la hiperglucemia comprende administrar la formulación de polvo seco inhalable a un sujeto que tiene una concentración de glucosa en sangre en ayunas más elevada, por ejemplo, superior a 10 mmol/l o superior a 11 mmol/l. En una realización, el tratamiento de la hiperglucemia comprende administrar a un sujeto una o más dosis de la formulación de polvo seco inhalable, en la que el sujeto tiene diabetes mellitus de tipo 2 y una concentración de glucosa en sangre superior a 9 mmol/l y los intervalos de GLP-1 de 0,5 mg a aproximadamente 3 mg en la formulación. En una realización del presente documento, la molécula de GLP-1 que se va a administrar en la formulación de polvo seco inhalable es GLP-1 nativo o amida de GLP-1 (7-36), o una forma recombinante de GLP-1, forma sintética o un análogo del mismo. En otra
15 realización, la formulación de polvo seco comprende un GLP-1 nativo o amida de GLP-1 (7-36) y fumaril-dicetopiperazina.

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, el tratamiento de la hiperglucemia comprende administrar la formulación de polvo seco inhalable a un sujeto que tiene una concentración de glucosa en sangre en ayunas anómala, a un nivel más elevado, una formulación para inhalación. La molécula de GLP-1 puede comprender aproximadamente del 10 % al aproximadamente 30 % de la formulación y se puede administrar por inhalación pulmonar usando un inhalador de polvo seco. Se puede proporcionar una dosis eficaz en un cartucho y se puede administrar en una cantidad que varía de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 5 mg, o de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 3 mg de GLP-1 en la formulación. La administración de la formulación de polvo seco inhalable al sujeto puede, por ejemplo, reducir la concentración de glucosa en sangre en ayunas de aproximadamente 0,5 mmol/l a aproximadamente 1,5 mmol/l en aproximadamente 30 a aproximadamente 45 minutos después de la administración pulmonar.
25

En una realización del primer aspecto de la presente invención, la formulación de polvo seco inhalable es para su uso en el tratamiento de la hiperglucemia en un paciente diagnosticado con diabetes de tipo 2 que comprende la administración al paciente por inhalación oral de una cantidad eficaz de la formulación de polvo seco inhalable y la restauración de una respuesta de primera fase de la insulina o la secreción de insulina en fase temprana en el paciente; en el que el paciente tiene una concentración de glucosa en sangre superior a 9 mmol/l, superior a 10 mmol/l o superior a 11 mmol/l.
30

En otra realización del primer aspecto de la presente invención, la formulación de polvo seco inhalable se puede usar para inducir una liberación de insulina pulsátil en un sujeto que tiene diabetes de tipo 2. El uso comprende administrar a un sujeto diagnosticado con diabetes de tipo 2 y que presenta un nivel de glucosa en sangre superior a 9 mmol/l, superior a 10 mmol/l o superior a 11 mmol/l, la formulación de polvo seco inhalable, en la que la molécula de GLP-1 de la formulación de polvo seco se administra al paciente en una o más dosis, dosis que son eficaces para inducir la secreción de insulina de los islotes de células B pancreáticas del sujeto tras la administración de la formulación. En realizaciones en las que la formulación de polvo seco se administra en más de una dosis, los intervalos entre dosis dependen del paciente y pueden variar de prandialmente en el punto temporal 0 con la primera dosis hasta aproximadamente 8 horas postprandialmente. En una realización, por ejemplo, el método comprende administrar a un paciente una primera dosis de la formulación de polvo seco prandialmente y otra dosis de la formulación a 15, 30, 45 y/o 60 minutos postprandialmente. En esta y en otras realizaciones, la formulación de polvo seco inhalable se puede proporcionar al paciente usando un sistema de inhalación de polvo seco adaptado con un cartucho que contiene la formulación de polvo seco.
35

55 Breve descripción de las figuras

La FIG. 1 representa la concentración media de péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) activo en plasma en sujetos tratados con una formulación de polvo seco inhalable que contiene una dosis de GLP-1 de 1,5 mg medida en diversos momentos después de la inhalación.
60

La FIG. 2A representa la concentración media de insulina en plasma en sujetos tratados con una formulación de polvo seco inhalable que contiene una dosis de GLP-1 de 1,5 mg medida en diversos momentos después de la inhalación.

65 La FIG. 2B representa la concentración de GLP-1 en plasma en sujetos tratados con una formulación de polvo seco inhalable que contiene una dosis de GLP-1 de 1,5 mg medida en diferentes momentos después de la

inhalación en comparación con los sujetos tratados con una administración subcutánea de GLP-1.

La FIG. 2C representa la concentración de insulina en plasma en sujetos tratados con una formulación de polvo seco inhalable que contiene una dosis de GLP-1 de 1,5 mg medida en diversos momentos después de la inhalación en comparación con sujetos tratados con una dosis intravenosa de GLP-1 de 50 μ g y los sujetos tratados con una dosis subcutánea de GLP-1.

La FIG. 3 representa la concentración media del péptido C en plasma en los sujetos tratados con una formulación de polvo seco inhalable que contiene una dosis de GLP-1 de 1,5 mg medida en diversos momentos después de la inhalación.

La FIG. 4 representa la concentración media de glucosa en plasma en sujetos tratados con una formulación de polvo seco inhalable que contiene dosis de GLP-1 de 0,05 mg, 0,45 mg, 0,75 mg, 1,05 mg y 1,5 mg, medidas en diferentes momentos después de la inhalación.

La FIG. 5 representa las concentraciones medias de insulina en plasma en pacientes tratados con una formulación de polvo seco inhalable que contiene dosis de GLP-1 de 0,05 mg, 0,45 mg, 0,75 mg, 1,05 mg y 1,5 mg. Los datos muestran que la secreción de insulina en respuesta a la administración de GLP-1 pulmonar depende de la dosis.

La FIG. 6 representa las concentraciones medias de glucagón en plasma en pacientes tratados con una formulación de polvo seco inhalable que contiene dosis de GLP-1 de 0,05 mg, 0,45 mg, 0,75 mg, 1,05 mg y 1,5 mg.

La FIG. 7 representa las concentraciones medias de exendina en plasma en ratas macho diabéticas obesas Zucker (ZDF) que recibieron exendina-4/FDKP (fumaril-dicetopiperazina) en polvo por insuflación pulmonar frente a la administración subcutánea (SC) de exendina-4. Los cuadrados negros representan la respuesta tras la insuflación pulmonar del polvo de exendina-4/FDKP. Los cuadrados blancos representan la respuesta tras la administración subcutánea de exendina-4. Los datos se representan como media \pm D.E.

La FIG. 8 representa los cambios en la concentración de glucosa en sangre desde el inicio en ratas ZDF macho que recibieron bien control de aire, exendina-4/FDKP en polvo o GLP-1/FDKP en polvo por insuflación pulmonar frente a la administración subcutánea de exendina-4. El gráfico también muestra un experimento de combinación en el que las ratas recibieron por insuflación pulmonar un polvo de inhalación que comprende GLP-1/FDKP, seguido de un polvo de inhalación que comprendía exendina-4/FDKP. En el gráfico, los diamantes cerrados representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de exendina-4/FDKP en polvo. Los círculos cerrados representan la respuesta tras la administración de la exendina-4 subcutánea. Los triángulos representan la respuesta tras la administración de GLP-1/FDKP en polvo. Los cuadrados representan la respuesta tras la insuflación pulmonar solo de aire. Las estrellas representan la respuesta dada por 2 mg de GLP-1/FDKP administrados a las ratas por insuflación seguidos de 2 mg de exendina-4/FDKP en polvo administrado también por insuflación.

La FIG. 9A representa las concentraciones medias de oxintomodulina en plasma en ratas ZDF macho que recibieron oxintomodulina/FDKP en polvo por insuflación pulmonar frente a la oxintomodulina intravenosa (IV). Los cuadrados representan la respuesta tras la administración IV de oxintomodulina sola. Los triángulos hacia arriba representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de oxintomodulina al 5 %/FDKP en polvo (0,15 mg de oxintomodulina). Los círculos representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de oxintomodulina al 15 %/FDKP en polvo (0,45 mg de oxintomodulina). Los triángulos hacia abajo representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de oxintomodulina al 30 % /FDKP en polvo (0,9 mg de oxintomodulina). Los datos se representan como la media \pm DE.

La FIG. 9B muestra el consumo de alimentos acumulativo en ratas ZDF macho que recibieron oxintomodulina al 30 %/FDKP en polvo (0,9 mg de oxintomodulina) por insuflación pulmonar (1); oxintomodulina sola (1 mg de oxintomodulina) mediante inyección IV (2); o control de aire (3).

La FIG. 10A muestra las concentraciones medias de oxintomodulina en plasma en ratas ZDF macho que recibieron oxintomodulina/FDKP en polvo por insuflación pulmonar frente al control de aire. Los cuadrados representan la respuesta tras la administración del control de aire. Los círculos representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de oxintomodulina/FDKP en polvo (0,15 mg de oxintomodulina). Los triángulos hacia arriba representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de oxintomodulina/FDKP en polvo (0,45 mg de oxintomodulina). Los triángulos hacia abajo representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de oxintomodulina/FDKP en polvo (0,9 mg de oxintomodulina). Los datos se representan como la media \pm DE.

La FIG. 10B representa los datos de experimentos que muestran el consumo de alimentos acumulativo en ratas ZDF macho que recibieron oxintomodulina al 30 %/FDKP en polvo a dosis variables incluyendo 0,15 mg de oxintomodulina (1); 0,45 mg de oxintomodulina (2); o 0,9 mg de oxintomodulina (3) por insuflación pulmonar en

comparación con el control de aire (4). Los datos se representan como la media \pm DE. Un asterisco (*) denota significación estadística.

La FIG. 11 representa los valores de glucosa obtenidos a partir de seis pacientes diabéticos de tipo 2 en ayunas tras la administración de una sola dosis de una formulación de polvo seco inhalable que contiene GLP-1 en diversos puntos temporales.

La FIG. 12 representa los valores medios de glucosa para el grupo de seis pacientes diabéticos de tipo 2 en ayunas de la FIG. 11, en la que los valores de la glucosa se expresan como el cambio de los niveles de glucosa desde el punto temporal cero (dosificación) para la totalidad de los seis pacientes.

La FIG. 13 representa los datos obtenidos a partir de experimentos en los que se administró exendina-4 a ratas ZDF en una formulación que comprende una dicetopiperazina o una sal de un dicetopiperazina, en la que la exendina-4 se administró por diversas vías de administración (instilación de líquido (LIS), SC, insuflación pulmonar (INS)) en un ensayo de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (IPGTT). En un grupo, las ratas se trataron con exendina-4 en combinación con GLP-1 por insuflación pulmonar.

La FIG. 14 representa el consumo de alimentos acumulativo en ratas ZDF macho que recibieron el control de aire por insuflación pulmonar, proteína YY (3-36) (PYY) sola por inyección IV, PYY sola por instilación pulmonar, PYY al 10 %/FDKP en polvo (0,3 mg de PYY) por insuflación pulmonar; PYY al 20 %/FDKP en polvo (0,6 mg de PYY) por insuflación pulmonar. Para cada grupo, el consumo de alimentos se midió 30 minutos después de la dosificación, 1 hora después de la dosificación, 2 horas después de la dosificación y 4 horas después de la dosificación. Los datos se representan como la media \pm DE.

La FIG. 15 representa la concentración de glucosa en sangre en ratas ZDF hembra que recibieron PYY/FDKP en polvo por insuflación pulmonar frente a PYY administrada por vía intravenosa en diversos momentos después de la administración de la dosis.

La FIG. 16 representa las concentraciones de PYY en plasma en ratas ZDF hembra que recibieron PYY/FDKP en polvo por insuflación pulmonar frente a la PYY administrada por vía intravenosa. Los cuadrados representan la respuesta tras la administración intravenosa de PYY sola (0,6 mg). Los círculos representan la respuesta tras la instilación de líquido de PYY sola (1 mg). Los triángulos hacia abajo representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de PYY al 20 %/FDKP en polvo (0,6 mg de PYY). Los triángulos hacia arriba representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de PYY al 10 %/FDKP en polvo (0,3 mg de PYY). Los triángulos que señalan hacia la izquierda representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de aire solo. Los datos se representan como la media \pm DE.

La FIG. 17 representa la exposición relativa al fármaco y el efecto biológico relativo de las presentes formulaciones administradas por inhalación pulmonar y que contienen insulina, exendina, oxintomodulina o PYY en comparación con la administración subcutánea e intravenosa.

La FIG. 18 representa los niveles medios de GLP-1 en plasma en pacientes que recibieron diversas formulaciones de GLP-1 y de control inhaladas.

La FIG. 19 representa los niveles de insulina en plasma en pacientes que recibieron diversas formulaciones de GLP-1 y de control inhaladas.

La FIG. 20 representa la evacuación gástrica en respuesta a una formulación de GLP-1 inhalada en pacientes que recibieron diversas formulaciones de GLP-1 y de control inhaladas.

La FIG. 21 representa los niveles medios de glucosa en plasma de sujetos normales en ayunas y sujetos con diabetes mellitus de tipo 2 que recibieron formulaciones de GLP-1 inhaladas o placebo.

Definición de los términos y de las expresiones

Antes de exponer la invención, puede ser útil proporcionar el significado de ciertos términos y expresiones que se usarán de aquí en adelante.

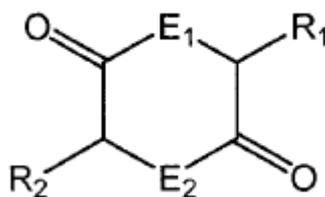
Agentes activos: como se usa en el presente documento "agente activo" se refiere a fármacos, sustancias farmacéuticas y agentes bioactivos. Los agentes activos pueden ser macromoléculas orgánicas, incluyendo ácidos nucleicos, compuestos orgánicos sintéticos, polipéptidos, péptidos, proteínas, polisacáridos y otros azúcares, ácidos grasos y lípidos. Los péptidos, las proteínas y los polipéptidos son todas cadenas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. En general, los péptidos se consideran inferiores a 30 restos de aminoácido, pero pueden incluir más. Las proteínas son polímeros que pueden contener más de 30 restos de aminoácidos. El término polipéptido, como se conoce en la técnica y como se usa en el presente documento, se puede referir a un péptido, una proteína, o cualquier otra cadena de aminoácidos de cualquier longitud que contenga múltiples enlaces peptídicos, aunque generalmente contiene al menos 10 aminoácidos. Los agentes activos pueden pertenecer a varias clases de

actividad biológica, tales como agentes vasoactivos, agentes neuroactivos, hormonas, anticoagulantes, agentes inmunomoduladores, agentes citotóxicos, antibióticos, agentes antivirales, antígenos y anticuerpos. Más particularmente, los agentes activos pueden incluir, de una manera no limitante, insulina y análogos de la misma, hormona de crecimiento, hormona paratiroidea (PTH), grelina, factor estimulante de colonias de macrófagos de granulocitos (GM-CSF), péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), rojo Texas, alquinos, ciclosporinas, clopidogrel y PPACK (clorometilcetona de D-fenilalanil-L-prolil-L-arginina), anticuerpos y fragmentos de los mismos, incluyendo, pero sin limitación, anticuerpos humanizados o quiméricos; F(ab), F(ab)₂ o anticuerpo monocatenario solo o fusionado con otros polipéptidos; anticuerpos monoclonales terapéuticos o de diagnóstico contra los antígenos del cáncer, citocinas, agentes infecciosos, mediadores inflamatorios, hormonas y antígenos de la superficie celular. En algunos casos, el término "fármaco" y la expresión "agente activo" se usan indistintamente.

Análogo: como se usa en el presente documento, un "análogo" incluye compuestos que tienen similitud estructural con otro compuesto. Por ejemplo, el compuesto antiviral aciclovir es un análogo nucleósido y es estructuralmente similar al nucleósido guanosina que se deriva de la base guanina. Por lo tanto, el aciclovir imita a la guanosina (es biológicamente análogo) e interfiere con la síntesis del ADN mediante la sustitución (o la competición con) los restos de guanosina del ácido nucleico viral y evita la traducción/transcripción. Por lo tanto, los compuestos que tienen similitud estructural con otro (un compuesto precursor) que imitan la actividad biológica o química del compuesto precursor son análogos. No hay un número mínimo ni máximo de sustituciones de grupos elementales o funcionales necesario para calificar un compuesto como un análogo, siempre que el análogo sea capaz de imitar, de alguna manera relevante, bien de forma idéntica a, de manera complementaria con o competitiva con las propiedades biológicas o químicas del compuesto precursor. Los análogos pueden y suelen ser derivados del compuesto precursor (véase "derivado" a continuación). Los análogos de los compuestos desvelados en el presente documento pueden tener una actividad similar, inferior o superior a la de sus compuestos precursores.

Derivado: como se usa en el presente documento, un "derivado" es un compuesto formado a partir de (o derivado de), bien de manera natural o sintética, un compuesto precursor. Un derivado puede ser un análogo (véase "análogo" anterior) y, por lo tanto, puede poseer actividad química o biológica similar. Sin embargo, a diferencia de un análogo, un derivado no tiene necesariamente que imitar la actividad biológica o química del compuesto precursor. No hay un número mínimo ni máximo de sustituciones de grupos elementales o funcionales requerido para calificar un compuesto como un derivado. Por ejemplo, aunque el compuesto antiviral ganclovir es un derivado de aciclovir, ganclovir tiene un espectro diferente de actividad antiviral y diferentes propiedades toxicológicas que el aciclovir. Los derivados de los compuestos desvelados en el presente documento pueden tener una actividad similar, inferior o superior, o incluso no similar, a la de sus compuestos precursores.

Dicetopiperazina: como se usa en el presente documento, "dicetopiperazina" o "DKP" incluye dicetopiperazinas y sales, derivados, análogos y modificaciones de los mismos pertenecientes al alcance de la Fórmula general 1, en la que los átomos E₁ y E₂ de las posiciones 1 y 4 del anillo son bien O o N y al menos una de las cadenas laterales R₁ y R₂ situadas en las posiciones 3 y 6, respectivamente, contiene un grupo de ácido carboxílico (carboxilato). Los compuestos de acuerdo con la fórmula 1 incluyen, sin limitación, dicetopiperazinas, dicetomorfolinás y dicetodioxanos y sus análogos de sustitución.



Fórmula 1

Las dicetopiperazinas, además de fabricar micropartículas aerodinámicamente adecuadas, también facilitan la administración de fármacos aumentando la velocidad de absorción en el sistema circulatorio. Las dicetopiperazinas se pueden formar en partículas que tienen incorporado un fármaco o partículas sobre las que se adsorbe un fármaco. La combinación de un fármaco y una dicetopiperazina puede conferir la mejora de la estabilidad del fármaco. Dichas partículas se pueden administrar por diversas vías de administración. Como polvos secos dichas partículas se pueden administrar por inhalación a zonas específicas del sistema respiratorio, dependiendo del tamaño de las partículas. Además, las partículas se pueden hacer lo suficientemente pequeñas como para su incorporación en una forma de dosificación en suspensión intravenosa. La administración oral también es posible con las partículas incorporadas en una suspensión, comprimidos o cápsulas. Las dicetopiperazinas también pueden facilitar la absorción de un fármaco asociado.

En una realización, la dicetopiperazina es 3,6-di(fumaril-4-aminobutil)-2,5-dicetopiperazina (fumaril-dicetopiperazina, FDKP). La FDKP puede comprender micropartículas en su forma de ácido o formas de sal que se pueden aplicar por aerosol o administrarse en una suspensión.

En otra realización, la DKP es un derivado de 3,6-di(4-aminobutil)-2,5-dicetopiperazina, que se puede formar por condensación (térmica) del aminoácido lisina. Los ejemplos de derivados incluyen 3,6-di(succinil-4-aminobutil), 3,6-di(maleil-4-aminobutil)-, 3,6-di(glutaril-4-aminobutil)-, 3,6-di(malonil-4-aminobutil)-, 3,6-di(oxalil-4-aminobutil)- y 3,6-di(fumaril-4-aminobutil)-2,5-dicetopiperazina. El uso de DKP para la administración de fármacos se conoce en la técnica (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. N^o 5.352.461, 5.503.852, 6.071.497 y 6.331.318", cada una de las cuales se incorpora en el presente documento por referencia para todo lo que enseña relativo a las dicetopiperazinas y a la administración de fármacos mediada por la dicetopiperazina). El uso de sales de DKP se describe en la solicitud de patente de EE.UU. relacionada N^o 11/210.710, presentada el 23 de agosto de 2005, que se incorpora por referencia para todo lo que se enseña en relación con las sales de dicetopiperazina. La administración pulmonar de fármacos usando micropartículas de DKP se desvela en la patente de EE.UU. N^o 6.428.771, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En las solicitudes de patente de EE.UU. relacionadas N^o 11/532.063 y 11/532.065, que se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad, se puede encontrar más información relacionada con la adsorción de agentes activos sobre partículas de DKP cristalina.

Sistema de administración de fármacos: en el presente documento, "sistema de administración de fármacos" se refiere a un sistema para la administración de uno o más agentes activos.

Polvo seco: como se usa en el presente documento, "polvo seco" se refiere a una composición de partículas finas que no está suspendida ni disuelta en un propulsor, vehículo u otro líquido. No se pretende dar a entender necesariamente la ausencia completa de todas las moléculas de agua.

Fase temprana: en el presente documento, "fase temprana" se refiere al aumento rápido de la concentración de insulina en sangre inducido en respuesta a una comida. Este aumento temprano en la insulina en respuesta a una comida a veces se denomina fase temprana. En fuentes más recientes, a veces se usa primera fase para referirse al aumento más rápido en la concentración de insulina en sangre del perfil cinético alcanzable con una inyección de bolo IV de glucosa en contraposición con la respuesta relacionada con la comida.

Enfermedad endocrina: el sistema endocrino es un sistema de señalización de información que libera hormonas de las glándulas para proporcionar mensajeros químicos específicos que regulan muchas y variadas funciones de un organismo, por ejemplo, el estado de ánimo, el crecimiento y el desarrollo, la función de los tejidos y el metabolismo, así como envían mensajes y actúan sobre ellos. Las enfermedades del sistema endocrino incluyen, pero sin limitación, diabetes mellitus, enfermedad de la tiroides y obesidad. La enfermedad endocrina se caracteriza por la liberación no regulada de hormonas (un adenoma pituitario productivo), una respuesta inadecuada a la señalización (hipotiroidismo), la falta o la destrucción de una glándula (diabetes mellitus de tipo 1, la reducción de la eritropoyesis en la insuficiencia renal crónica), la reducción de la capacidad de respuesta a la señalización (resistencia a la insulina de la diabetes mellitus de tipo 2) o el agrandamiento estructural en una zona crítica tal como el cuello (bocio multinodular tóxico). La hipofunción de las glándulas endocrinas se puede producir como resultado de la pérdida de la reserva, hiposecreción, agenesia, atrofia o destrucción activa. La hiperfunción se puede producir como resultado de la hipersecreción, pérdida de la supresión, cambio hiperplásico o neoplásico, o hiperestimulación. La expresión "trastorno endocrino" abarca trastornos metabólicos.

Exendina: como se usa en el presente documento, "exendina" se refiere a péptidos que son agonistas de los receptores de GLP-1, incluyendo las exendinas 1 a 4. También se engloban los fragmentos carboxilo terminal de la exendina tales como la exendina [9-39], una molécula carboxiamidada y los fragmentos de 3-39 a 9-39.

Excursión: como se usa en el presente documento, "excursión" se puede referir a las concentraciones de glucosa en sangre que se encuentran por encima o por debajo de una línea basal previa a la comida u otro punto de partida. Las excursiones se expresan en general como el área bajo la curva (AUC) de un gráfico de glucosa en sangre frente al tiempo. La AUC se puede expresar de varias formas. En algunos casos, habrá tanto una caída por debajo como una elevación por encima de la línea basal, creando una superficie positiva y negativa. Algunos cálculos restarán la AUC negativa de la positiva, mientras que otros sumarán sus valores absolutos. Las AUC positiva y negativa también se pueden considerar por separado. Se pueden usar también evaluaciones estadísticas más sofisticadas. En algunos casos, también puede referirse a las concentraciones de glucosa en sangre que se elevan o caen fuera de un intervalo normal. Normalmente, una concentración normal de glucosa en sangre es de entre 70 y 110 mg/dl de un individuo en ayunas, inferior a 120 mg/dl dos horas después de ingerir una comida e inferior a 180 mg/dl después de la comida. Aunque, en el presente documento, se ha descrito el término excursión en términos de la glucosa en sangre, en otros contextos, el término se puede aplicar de manera similar a otros analitos.

Péptido similar al glucagón de tipo 1: como se usan en el presente documento, la expresión "péptido similar al glucagón de tipo 1" y el término "GLP-1" se refieren a una proteína o un péptido que tiene la actividad de GLP-1 nativo, un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N^o 1. También se incluye la amida de GLP-1 (7-36) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N^o 2. GLP-1 se refiere a GLP-1 de cualquier fuente que tiene la secuencia de SEC ID N^o 1 incluyendo GLP-1 aislado, purificado y/o recombinante producido a partir de cualquier fuente o sintetizado químicamente, por ejemplo, usando síntesis en fase sólida. También se incluye en el presente documento sustituciones de aminoácidos conservadas de GLP-1 nativo. Por ejemplo, se pueden realizar

- cambios de aminoácidos conservadores que, aunque alteren la secuencia primaria de la proteína o del péptido, normalmente no alteren su función. Por lo general, las sustituciones de aminoácidos conservadoras incluyen sustituciones dentro de los siguientes grupos: glicina, alanina; valina, isoleucina, leucina; ácido aspártico, ácido glutámico; asparagina, glutamina; serina, treonina; lisina, arginina; y fenilalanina, tirosina. En ciertas realizaciones, la molécula de GLP-1 tiene un 80 % de homología con GLP-1 nativo; 85 % de homología; 90 % de homología; 92 % de homología; 95 % de homología; 96 % de homología; 97 % de homología; 98 % de homología; o 99 % de homología con GLP-1 nativo al tiempo que conserva al menos una actividad biológica de GLP-1 nativo.
- Moléculas de GLP-1: como se usa en el presente documento, la expresión "moléculas de GLP-1" se refiere a proteínas, péptidos, polipéptidos, análogos, miméticos, derivados, isoformas, fragmentos y similares de GLP-1, que conservan al menos una actividad biológica de GLP-1 nativo. En una realización, la al menos una actividad biológica de GLP-1 nativo es actividad insulínica. Dichas moléculas de GLP-1 pueden incluir polipéptidos de GLP-1 de origen natural (OH de GLP-1 (7-37), NH₂ de GLP-1 (7-36)) y metabolitos de GLP-1 tales como GLP-1 (9-37). Las moléculas de GLP-1 también incluyen GLP-1 nativo, análogos de GLP-1, derivados de GLP-1, GLP-1 protegidos por dipeptidil-peptidasa-IV (DPP-IV), miméticos de GLP-1, análogos peptídicos de GLP-1 y análogos de GLP-1 biosintéticos. Las moléculas de GLP-1 de acción prolongada se refieren a la liraglutida (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), la exenatida (exendina-4; BYETTA[®]) (Amylin Inc., San Diego, CA) y la exenatida-LAR (Eli Lilly, Indianápolis, IN) que son resistentes a la degradación y se denominan "miméticos de la incretina". Las moléculas de GLP-1 de acción corta se refieren a las presentes composiciones.
- Las modificaciones (que normalmente no alteran la secuencia primaria) incluyen la derivatización química *in vitro* o *in vivo* de polipéptidos, por ejemplo, acetilación o carboxilación. También se incluyen modificaciones de glucosilación, por ejemplo, las realizadas mediante la modificación de los patrones de glucosilación de un polipéptido durante su síntesis y procesamiento o en etapas de procesamiento adicionales; por ejemplo, mediante la exposición del polipéptido a enzimas que afectan a la glucosilación, por ejemplo, enzimas de glucosilación o desglucosilación de mamífero. También se engloban las secuencias que tienen restos de aminoácidos fosforilados, por ejemplo, fosfotirosina, fosfoserina o fosfotreonina.
- También se incluyen polipéptidos que se han modificado usando técnicas de biología molecular habituales con el fin de mejorar su resistencia a la degradación proteolítica o de optimizar las propiedades de solubilidad. Los análogos de dichos polipéptidos incluyen los que contienen restos distintos de los L-aminoácidos de origen natural, por ejemplo, D-aminoácidos o aminoácidos sintéticos de origen no natural. Los péptidos de la invención no se limitan a productos de ninguno de los procesos ilustrativos específicos enumerados en el presente documento.
- Además de polipéptidos sustancialmente de larga longitud, también se incluyen fragmentos biológicamente activos de los polipéptidos. Los fragmentos biológicamente activos son homólogos a al menos una parte del GLP-1 nativo y conservan al menos una actividad biológica de GLP-1 nativo.
- Velocidad de eliminación de la glucosa: como se usa en el presente documento, la "velocidad de eliminación de la glucosa" es la velocidad a la que desaparece la glucosa de la sangre. Se determina comúnmente por la cantidad de infusión de glucosa necesaria para mantener estable la glucosa en sangre, a menudo de aproximadamente 120 mg/dl durante el período de estudio. Esta velocidad de eliminación de la glucosa es igual a la velocidad de infusión de la glucosa, abreviada como GIR.
- Hiper glucemia: como se usa en el presente documento, "hiper glucemia" es una concentración de glucosa en sangre en ayunas superior a la normal, por lo general, de 126 mg/dl o superior. En algunos estudios, se han definido episodios hiperglucémicos a concentraciones de glucosa en sangre superiores a 280 mg/dl (15,6 mM).
- Hipoglucemia: como se usa en el presente documento, "hipoglucemia" es una concentración de glucosa en sangre inferior a la normal, por lo general, inferior a 63 mg/dl, 3,5 mM). La hipoglucemia clínicamente relevante se define como la concentración de glucosa en sangre inferior a 63 mg/dl o que causa síntomas en el paciente tales como hipotonía, rubor y debilidad que son síntomas reconocidos de la hipoglucemia y que desaparecen con una ingesta calórica adecuada. La hipoglucemia grave se define como un episodio hipoglucémico que requiere inyecciones de glucagón, infusiones de glucosa u otro tipo de ayuda.
- Cerca de: como se usa en el presente documento, "cerca de", cuando se usa en relación con una comida, se refiere a un período cercano en el tiempo al comienzo de una comida o un refrigerio.
- Metabolito: como se usa en el presente documento, un "metabolito" es cualquier producto intermedio o producto del metabolismo, e incluye tanto moléculas grandes como pequeñas. Como se usa en el presente documento y cuando procede, la definición se aplica a los metabolitos tanto primarios como secundarios. Un metabolito primario participa directamente en el crecimiento normal, el desarrollo y la reproducción de los organismos vivos. Un metabolito secundario no participa directamente en dichos procesos, pero normalmente tiene una importante función ecológica (por ejemplo, un antibiótico).
- Micropartículas: como se usa en el presente documento, el término "micropartículas" incluye partículas generalmente

de 0,5 a 100 micrómetros de diámetro y, en particular, aquellas inferiores a 10 micrómetros de diámetro. Diversas realizaciones supondrán intervalos de tamaños más específicos. Las micropartículas pueden ser conjuntos de placas cristalinas con superficies irregulares y huecos internos, como es típico de las realizadas por la precipitación controlada por el pH de los ácidos de DKP. En dichas realizaciones, los agentes activos pueden quedar atrapados por el proceso de precipitación o recubrir las superficies cristalinas de la micropartícula. Las micropartículas también pueden ser cubiertas esféricas o cubiertas esféricas colapsadas compuestas de sales de DKP con el agente activo dispersado por las mismas. Por lo general, dichas partículas se pueden obtener secando por pulverización una solución conjunta de DKP y el agente activo. La sal de DKP de dichas partículas puede ser amorfa. Las descripciones anteriores se han de entender como ilustrativas. Hay otras formas de micropartículas contempladas y abarcadas por el término.

Obesidad: como se usa en el presente documento, "obesidad" es una afección en la que se ha acumulado un exceso de grasa corporal hasta el punto que la salud puede verse afectada negativamente. Por lo general, la obesidad se suele evaluar por el IMC (índice de masa corporal) con un IMC superior a 30 kg/m².

Tejido periférico: como se usa en el presente documento, "tejido periférico" se refiere a cualquier tejido conjuntivo o intersticial que está asociado con un órgano o un vaso.

Periprandial: en el presente documento, "periprandial" se refiere a un período de tiempo que comienza poco tiempo antes y finaliza poco tiempo después de la ingestión de una comida o un refrigerio.

Postprandial: en el presente documento, "postprandial" se refiere a un período de tiempo posterior a la ingestión de una comida o un refrigerio. Como se usa en el presente documento, postprandial tardío se refiere a un período de tiempo de 3, 4 o más horas después de la ingestión de una comida o un refrigerio.

Potenciación: en general, la potenciación se refiere a una condición o acción que aumenta la eficacia o la actividad de cierto agente con respecto al nivel que el agente alcanzaría de otro modo. Del mismo modo, se puede referir directamente al aumento del efecto o de la actividad. Como se usa en el presente documento, "potenciación" se refiere, en particular, a la capacidad de las concentraciones elevadas de insulina en sangre para aumentar la eficacia de los niveles de insulina posteriores para, por ejemplo, aumentar la velocidad de eliminación de la glucosa.

Prandial: como se usa en el presente documento, "prandial" se refiere a una comida o un refrigerio.

Preprandial: como se usa en el presente documento, "preprandial" se refiere a un período de tiempo previo a la ingestión de una comida o un refrigerio.

Inhalación pulmonar: como se usa en el presente documento, "inhalación pulmonar" se usa para referirse a la administración de preparados farmacéuticos por inhalación para que lleguen a los pulmones y, en realizaciones particulares, a las regiones alveolares del pulmón. Por lo general, la inhalación se realiza a través de la boca, pero en realizaciones alternativas puede implicar la inhalación a través de la nariz.

Reducción de los efectos secundarios: como se usa en el presente documento, el término "reducción" cuando se usa con respecto a los efectos secundarios, se refiere a una disminución de la gravedad de uno o más efectos secundarios perceptible por el paciente o por un profesional sanitario que esté al cuidado del mismo, o la mejora de uno o más efectos secundarios, de modo que los efectos secundarios ya no debiliten al ni sean perceptibles por el paciente.

Efectos secundarios: en el presente documento, la expresión "efectos secundarios" se refiere a las consecuencias no intencionadas y no deseadas que se producen como consecuencia de la terapia con un agente activo. En un ejemplo no limitante, los efectos secundarios comunes de GLP-1 incluyen, pero sin limitación, náuseas, vómitos y sudoración profusa.

Cantidad terapéuticamente eficaz: como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" de una composición, cuando se administra a un paciente humano o no humano, para proporcionar un beneficio terapéutico tal como una mejoría de los síntomas, por ejemplo, una cantidad eficaz para estimular la secreción de insulina endógena. En determinadas circunstancias, un paciente que sufre un trastorno puede no presentar síntomas que muestren su afección. Así pues, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición también es una cantidad suficiente para prevenir la aparición de los síntomas de una enfermedad.

60 Descripción detallada

El péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) se ha estudiado como tratamiento para la hiperglucemia asociada con la diabetes mellitus de tipo 2 por diferentes vías de administración. GLP-1 como se desvela en la literatura es una hormona incretina de 30 o 31 aminoácidos, liberada de las células L endocrinas intestinales en respuesta al consumo de grasas, hidratos de carbono y proteínas. El GLP-1 se produce como resultado de la escisión proteolítica del proglucagón y la forma activa se identifica como amida de GLP-1 (7-36). La secreción de dicha hormona

peptídica se encuentra afectada en los individuos con diabetes mellitus de tipo 2, haciendo de dicha hormona peptídica un candidato principal para los posibles tratamientos de esta y otras enfermedades relacionadas.

5 En el estado no patógeno, el GLP-1 se secreta de las células L intestinales en respuesta a los nutrientes ingeridos por vía oral, en especial los azúcares. El GLP-1 tiene efectos en el tracto gastrointestinal (GI) y el cerebro incluyendo la estimulación de la liberación de insulina inducida por la comida desde el páncreas. El efecto de GLP-1 en el páncreas depende de la glucosa, por lo que el riesgo de la hipoglucemia inducida por GLP-1 es mínimo cuando la hormona se administra exógenamente. GLP-1 también promueve todas las etapas de la biosíntesis de la insulina y estimula directamente el crecimiento, la supervivencia y la diferenciación de las células β . La combinación de estos efectos genera el aumento de la masa de células β en los islotes pancreáticos. Además, la señalización del receptor de GLP-1 produce una reducción de la apoptosis de las células β , y contribuye además al aumento de la masa células β .

15 En el tracto gastrointestinal, GLP-1, como se informa en la literatura, inhibe la motilidad, aumenta la secreción de la insulina en respuesta a la glucosa y disminuye la secreción del glucagón. Dichos efectos se combinan para reducir las excursiones de glucosa postprandiales. Los experimentos en roedores a quienes se administraron GLP-1 por administración central (intracerebroventricular o icv) han demostrado que el GLP-1 inhibe la ingesta de alimentos, lo que sugiere que el GLP-1 liberado periféricamente puede entrar en la circulación sistémica y puede tener su efecto en el cerebro. Dicho efecto puede ser el resultado de que el GLP-1 en circulación accede a receptores de GLP-1 en el órgano subfornical cerebral y el área postrema. Se sabe que estas zonas del cerebro están implicadas en la regulación del apetito y la homeostasis energética. Curiosamente, la distensión gástrica activa las neuronas que contienen GLP-1 en el núcleo caudal del tracto solitario, lo que predice un papel para el GLP-1 expresado centralmente como un supresor del apetito. Dichas hipótesis están respaldadas por los estudios que emplean el antagonista del receptor GLP-1, la exendina (9-39), donde se observaron efectos opuestos. En los seres humanos, el GLP-1 administrado tuvo un efecto saciante, y cuando se administró por infusión subcutánea continua durante un tratamiento de 6 semanas, los pacientes con diabetes presentaron una reducción del apetito que condujo a reducciones significativas del peso corporal.

20 También se ha demostrado que GLP-1 aumenta la secreción de la insulina y normaliza la glucosa en sangre tanto en ayunas como postprandial cuando se administra como una infusión intravenosa continua a pacientes con diabetes de tipo 2. Además, se ha demostrado que la infusión de GLP-1 reduce los niveles de glucosa en pacientes previamente tratados con medicación oral de no insulina y en pacientes que requieren terapia de insulina cuando la terapia con sulfonilureas no ha funcionado. Sin embargo, los efectos de una sola inyección subcutánea de GLP-1 proporcionaron resultados decepcionantes, como se señala en la técnica y se trata en el presente documento a continuación. Aunque se han alcanzado altos niveles en plasma de GLP-1 inmunorreactivo, la secreción de insulina volvió rápidamente a los valores previos al tratamiento, y las concentraciones de glucosa en sangre no se normalizaron. Se requieren administraciones subcutáneas repetidas para alcanzar concentraciones de glucosa en sangre en ayunas comparables con las observadas con la administración intravenosa. La administración subcutánea continua de GLP-1 durante 6 semanas ha demostrado reducir las concentraciones de glucosa en ayunas y postprandial y disminuir los niveles de HbA1c. La eficacia de corta duración de las inyecciones subcutáneas únicas de GLP-1 está relacionada con su inestabilidad circulatoria. Se metaboliza GLP-1 en plasma *in vitro* mediante la dipeptidil peptidasa-IV (DPP-IV). El GLP-1 es degradado rápidamente por la DPP-IV mediante la eliminación de los aminoácidos 7 y 8 del extremo N. El producto de degradación, la amida de GLP-1 (9-36), no está activa. DPP-4 circula por los vasos sanguíneos y se une a la membrana en la vasculatura del tracto gastrointestinal y el riñón, y se ha identificado en los linfocitos pulmonares.

30 La utilidad de GLP-1 y de los análogos de GLP-1, como tratamiento para la hiperglucemia asociada con la diabetes mellitus de tipo 2 se ha estudiado durante más de 20 años. Clínicamente, el GLP-1 reduce la glucosa en sangre, las excursiones de glucosa postprandiales y la ingesta de alimentos. También aumenta la saciedad. En conjunto, dichas acciones definen el perfil único y altamente deseable de un agente antidiabético con el potencial de promover la pérdida de peso. A pesar de dichas ventajas, la utilidad de GLP-1 como tratamiento de la diabetes se ve obstaculizada debido a la necesidad de ser administrado por inyección, y GLP-1 tiene una semivida muy corta en circulación, ya que es inactivado rápidamente por la enzima dipeptidil peptidasa (DPP)-IV. Así pues, para alcanzar las concentraciones terapéuticamente eficaces de GLP-1, se requieren dosis más altas de GLP-1. Sin embargo, basándose en una amplia evaluación de la literatura, cuando las concentraciones de GLP-1 activo son superiores a 100 pmol/l en el plasma sanguíneo, normalmente se observa una combinación de efectos secundarios/efectos adversos que incluye la sudoración profusa, náuseas y vómitos.

50 Para abordar el desafío de la semivida limitada de los GLP-1, se han desarrollado o están actualmente en desarrollo varios análogos de GLP-1 de acción prolongada. Los análogos de GLP-1 de acción prolongada, que incluyen liraglutida (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), exenatida (exendina-4; BYETTA[®]) (Amylin Inc., San Diego, CA) y exenatida-LAR (Eli Lilly, Indianápolis, IN) que son resistentes a la degradación se denominan "miméticos de incretina", y se han examinado en ensayos clínicos. La exenatida es un tratamiento aprobado para la diabetes de tipo 2. Dichos productos son formulaciones para la administración subcutánea, y se sabe que dichas formulaciones tienen limitaciones significativas debido a la degradación en el tejido periférico, tejido vascular y/o el hígado. Por

ejemplo, la exenatida (Byetta[®]), un compuesto con una homología de aminoácidos del aproximadamente 50 % con el GLP-1, tiene una semivida en circulación más larga que el GLP-1. Dicho producto ha sido aprobado por la FDA de Estados Unidos (Food and Drug Administration) para el tratamiento de la hiperglucemia asociada con la diabetes mellitus de tipo 2. Aunque la semivida en circulación de la exenatida es más larga que la del GLP-1, todavía es necesario que los pacientes se inyecten el fármaco dos veces al día. El tratamiento con exenatida se complica todavía más por un bajo perfil de efectos secundarios, que incluye una incidencia significativa de náuseas, pancreatitis, insuficiencia renal. Además, mientras que dicho enfoque terapéutico de acción prolongada le puede convenir al paciente y facilitar el cumplimiento, los perfiles farmacocinéticos de los análogos de GLP-1 de acción prolongada administrados por inyección pueden ser radicalmente diferentes de los de las hormonas secretadas endógenamente. Este régimen puede ser eficaz, pero no imita la fisiología normal.

Aunque los enfoques/adelantos actuales para tratar la diabetes y/o la hiperglucemia usando análogos de GLP-1 de acción prolongada administrados por inyecciones subcutáneas han sido capaces de proporcionar un tratamiento aceptable para la diabetes, los tratamientos no imitan la fisiología natural del organismo. Por ejemplo, en individuos sanos, el GLP-1 endógeno solo se secreta después de una comida y solo en estallidos cortos, según sea necesario. Por el contrario, los análogos de GLP-1 de acción prolongada proporcionan la exposición al fármaco durante períodos de tiempo superiores a la fase postprandial. Por lo tanto, el tratamiento con GLP-1 ideal podría ser aquel en el que el fármaco se administra a la hora de comer con una exposición limitada al período postprandial. La vía de administración pulmonar del fármaco tiene el potencial de proporcionar dicho tratamiento, pero, según nuestro conocimiento, no se ha explorado previamente debido a la presencia de DPP-IV en los pulmones.

Un enfoque alternativo a la prolongación de la semivida en circulación de GLP-1 implica el desarrollo de inhibidores de la DPP-IV, porque la DPP-IV es la enzima responsable del metabolismo del GLP-1. Se ha observado que la inhibición de la DPP-IV aumenta la semivida del GLP-1 endógeno. Los inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV incluyen vildagliptina (GALVUS[®]) desarrollada por Novartis (Basilea, Suiza) y JANUVIA[®] (sitagliptina) desarrollada por Merck (Whitehouse Station, NJ).

En contraste con los individuos sanos, los métodos actuales para el tratamiento de pacientes con hiperglucemia y diabetes de tipo 2 usan análogos de GLP-1 de duración prolongada e inhibidores de DPP-IV que proporcionan la exposición al fármaco durante períodos de tiempo superiores a la fase postprandial. Por consiguiente, dichos métodos actuales no están exentos de efectos secundarios perjudiciales o negativos, tales como la sudoración profusa, náuseas y vómitos, que repercuten en la calidad de vida del paciente. Por lo tanto, los inventores han identificado la necesidad de desarrollar nuevos métodos de tratamiento de enfermedades usando un sistema de administración de fármacos que aumenta la respuesta farmacodinámica al fármaco a una exposición sistémica inferior, evitando al mismo tiempo efectos secundarios no deseados. Además, los inventores identificaron la necesidad de administrar fármacos directamente a la circulación arterial usando un método no invasivo.

En realizaciones del presente documento, se desvela un método para el tratamiento de la enfermedad, incluyendo la enfermedad endocrina, tal como la diabetes, la hiperglucemia y la obesidad. Los inventores han identificado la necesidad de administrar fármacos directamente a la circulación sistémica, en particular, a la circulación arterial de una manera no invasiva para que el fármaco llegue al/a los órgano/s de destino antes de regresar por el sistema venoso. Dicho enfoque puede generar paradójicamente una exposición de los órganos diana pico más elevada a los agentes activos de la que se produciría por una administración comparable a través de una vía intravenosa, subcutánea u otra vía parenteral. Se puede obtener una ventaja similar en comparación con la administración oral, pues, incluso con formulaciones que proporcionan protección contra la degradación en el tracto digestivo, tras la absorción, el agente activo entrará en la circulación venosa.

En una realización, el sistema de administración de fármacos se puede usar con cualquier tipo de agente activo que se metaboliza rápidamente y/o degrade por el contacto directo con las enzimas degradantes locales u otros mecanismos de degradación, por ejemplo, oxidación, fosforilación o cualquier modificación de la proteína o del péptido, en el tejido venoso periférico o vascular encontrado con otras vías de administración tales como la administración oral, intravenosa, transdérmica y subcutánea. En la presente realización, el método puede comprender la etapa de identificar y seleccionar un agente activo cuya actividad sea metabolizada o degradada por administración oral, subcutánea o intravenosa. Por ejemplo, debido a la labilidad, la inyección subcutánea de GLP-1 no ha dado lugar a niveles eficaces de GLP-1 en sangre. Esto contrasta con los péptidos tales como la insulina, que se pueden administrar eficazmente mediante dichos modos de administración.

En ciertas realizaciones, el método de tratamiento de una enfermedad o un trastorno comprende la etapa de seleccionar un vehículo adecuado para la inhalación y la administración de una sustancia activa a los alvéolos pulmonares. En dicha realización, el vehículo puede estar asociado con uno o más agentes activos para formar un complejo de fármaco/vehículo, que se pueda administrar como una composición que evite la degradación rápida del agente activo en el tejido venoso periférico y vascular del pulmón. En una realización, el vehículo es una dicetopiperazina.

El método descrito en el presente documento se puede utilizar para administrar muchos tipos de agentes activos, incluyendo productos biológicos. En realizaciones particulares, el método utiliza un sistema de administración de fármacos que administra eficazmente una cantidad terapéutica de un agente activo, incluyendo hormonas peptídicas, rápidamente en la circulación arterial. En una realización, el uno o más agentes activos incluyen, pero sin limitación, péptidos tales como el péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), proteínas, lipocinas, productos farmacéuticos de bajo peso molecular, ácidos nucleicos y similares, que sea/n sensible/s a la degradación o desactivación; la formulación del agente activo en una composición en polvo seco que comprende una dicetopiperazina y la administración del/de los agente/s activo/s en la circulación sistémica por inhalación pulmonar usando un cartucho y un inhalador de polvo seco. En una realización, el método comprende la selección de un péptido que es sensible a enzimas en el tejido vascular o periférico local de, por ejemplo, la dermis y los pulmones. El presente método permite al agente activo evitar o reducir el contacto con el tejido periférico, el metabolismo/la degradación venosa o hepática. En otra realización, para la administración sistémica, el agente activo no debería tener receptores específicos en los pulmones.

En realizaciones alternativas, el sistema de administración de fármacos también se puede usar para administrar péptidos terapéuticos o proteínas de origen natural, recombinante o sintético para el tratamiento de trastornos o enfermedades, incluyendo, pero sin limitación, adiponectina, colecistoquinina (CCK), secretina, gastrina, glucagón, motilina, somatostatina, péptido natriurético cerebral (BNP), péptido natriurético atrial (ANP), hormona paratiroidea, péptido relacionado con la hormona paratiroidea (PTHrP), IGF-1, factor de liberación de la hormona del crecimiento (GHRF), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), anticuerpos anti-IL-8, antagonistas de IL-8, incluyendo ABX-IL-8; antagonista de los receptores del precursor de la integrina β -4 (ITB4), encefalinas, nociceptina, nocistatina, orfanina FQ2, calcitonina, CGRP, angiotensina, sustancia P, neuroquinina A, polipéptido pancreático, neuropéptido Y, péptido inductor del sueño delta, prostaglandinas incluyendo PG-12, bloqueadores de los receptores LTB, incluyendo LY29311, BIIL 284, CP105696; péptido intestinal vasoactivo; triptanos tales como sumatriptán y lipoquinas tales como C16:1n7 o palmitoleato. En otra realización más, el agente activo es un fármaco de bajo peso molecular.

En una realización, el método de tratamiento se dirige al tratamiento de la diabetes, la hiperglucemia y/o la obesidad usando, por ejemplo, formulaciones que comprenden una molécula de GLP-1, oxintomodulina (OXN) o péptido YY (3-36) (PYY), bien solo o en combinación con otros, o en combinación con uno o más agentes activos.

En una realización ilustrativa, un método para tratar la obesidad, la diabetes y/o la hiperglucemia comprende administrar a un paciente en necesidad de tratamiento una composición o formulación de polvo seco que comprende una molécula de GLP-1, que estimula la rápida secreción de la insulina endógena desde las células β pancreáticas sin causar efectos secundarios no deseados, tales como sudoración profusa, náuseas y vómitos. En una realización, el método de tratamiento de la enfermedad se puede aplicar a un paciente, incluyendo un mamífero, que padezca obesidad, diabetes mellitus de tipo 2 y/o hiperglucemia a dosis que varían de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 3 mg de GLP-1 en la formulación en una sola dosis. El método de tratamiento de la hiperglucemia, la diabetes y/o la obesidad se puede diseñar de manera que el paciente pueda recibir al menos una dosis de una formulación de GLP-1 cerca de una comida o un aperitivo. En dicha realización, la dosis de GLP-1 se puede seleccionar dependiendo de las necesidades del paciente. En una realización, la administración pulmonar de GLP-1 puede comprender una dosis de GLP-1 superior a 3 mg, por ejemplo, en el tratamiento de pacientes con diabetes de tipo 2.

En realizaciones de la invención, la formulación de GLP-1 se administra por inhalación tal como por administración pulmonar. En dicha realización, la administración pulmonar se puede realizar proporcionando la molécula de GLP-1 en una formulación de polvo seco para inhalación. La formulación de polvo seco es una composición estable y puede comprender micropartículas que son adecuadas para la inhalación y que se disuelven rápidamente en el pulmón y administran rápidamente la molécula de GLP-1 a la circulación pulmonar. Los tamaños de partícula adecuados para la administración pulmonar pueden ser inferiores a 10 μ m de diámetro, y preferentemente inferiores a 5 μ m. Los ejemplos de tamaños de partícula que pueden alcanzar los alvéolos pulmonares varían de aproximadamente 0,5 μ m a aproximadamente 5,8 μ m de diámetro. Dichos tamaños se refieren en particular al diámetro aerodinámico, pero a menudo también corresponden al diámetro físico. Dichas partículas pueden alcanzar los capilares pulmonares, y pueden evitar el contacto amplio con el tejido periférico del pulmón. En dicha realización, el fármaco se puede administrar a la circulación arterial de una manera rápida y evitar la degradación del principio activo por las enzimas u otros mecanismos antes de llegar a su diana o sitio de acción del organismo. En una realización, las composiciones en polvo seco para inhalación pulmonar que comprenden una molécula de GLP-1 y FDKP pueden comprender micropartículas en las que aproximadamente del 35 % al aproximadamente 75 % de las micropartículas tienen un diámetro aerodinámico inferior a 5,8 μ m.

En una realización, la formulación de polvo seco para su uso con los métodos comprende partículas que comprenden una molécula de GLP-1 y una dicetopiperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. En dicha y en otras realizaciones, la composición en polvo seco de la presente invención comprende una o más moléculas de GLP-1 seleccionadas del grupo que consiste en GLP-1 nativo, un metabolito de GLP-1, un GLP-1 de acción prolongada, un derivado de GLP-1, un mimético de GLP-1, una exendina o un análogo del mismo. Los

análogos de GLP-1 incluyen, pero sin limitación, proteínas de fusión de GLP-1, tales como albúmina ligada a GLP-1.

5 En una realización ilustrativa, el método comprende la administración de la hormona peptídica GLP-1 a un paciente para el tratamiento de la hiperglucemia y/o la diabetes y la obesidad. El método comprende administrar a un paciente en necesidad de tratamiento una cantidad eficaz de una composición o formulación inhalable que comprende una formulación de polvo seco que comprende una molécula de GLP-1 que estimula la rápida secreción de insulina endógena desde las células β pancreáticas sin causar efectos secundarios no deseados, que incluyen sudoración profusa, náuseas y vómitos. En una realización, el método de tratamiento de la enfermedad se puede aplicar a un paciente, incluyendo un mamífero, que padece diabetes mellitus de tipo 2 y/o hiperglucemia a dosis que varían de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 5 mg, o de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 10 3 mg, o de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 2 mg de GLP-1 en la formulación de polvo seco dependiendo del paciente. En una realización, el paciente o sujeto que se va a tratar es un ser humano. La molécula de GLP-1 se puede administrar inmediatamente antes de una comida (preprandialmente), durante la comida (prandialmente) y/o aproximadamente 15, 30, 45 y/o 60 minutos después de una comida (postprandialmente). En una realización, se puede administrar una sola dosis de una molécula de GLP-1 inmediatamente antes de una comida y se puede administrar otra dosis después de una comida. En una realización particular, se pueden administrar de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 1,5 mg de GLP-1 inmediatamente antes de una comida, seguidos de 0,5 mg a aproximadamente 1,5 mg aproximadamente 30 minutos después de una comida. En dicha realización, la molécula de GLP-1 se puede formular con partículas de inhalación tales como dicetopiperazinas con o sin vehículos y excipientes farmacéuticos. En una realización, la administración pulmonar de la formulación de GLP-1 puede proporcionar concentraciones en plasma de GLP-1 superiores a 100 pmol/l sin inducir efectos secundarios adversos no deseados tales como sudoración profusa, náuseas y vómitos al paciente.

25 En otra realización, se proporciona un método para tratar un paciente incluyendo un ser humano con diabetes de tipo 2 e hiperglucemia, método que comprende la administración al paciente de una formulación de GLP-1 inhalable que comprende una molécula de GLP-1 a una concentración de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 3 mg de micropartículas de FDKP, en el que los niveles de glucosa en sangre del paciente se reducen a concentraciones en ayunas de glucosa en plasma de 85 a 70 mg/dl aproximadamente 20 min después de la dosificación sin inducir náuseas ni vómitos en el paciente. En una realización, la administración pulmonar de GLP-1 a una concentración superior a 0,5 mg en una formulación que comprende micropartículas de FDKP carece de la inhibición de la evacuación gástrica.

35 En una realización, la molécula de GLP-1 se puede administrar bien sola como el principio activo de la composición o con un inhibidor de la dipeptidil peptidasa (DPP-IV) tal como sitagliptina o vildagliptina, o con uno o más agentes activos diferentes. La DPP-IV es una serina proteasa expresada de forma ubicua que presenta actividad postprolina o alanina peptidasa, generando así péptidos biológicamente inactivos mediante la escisión en la región N-terminal detrás de X-prolina o X-alanina, en las que X se refiere a cualquier aminoácido. Debido a que tanto GLP-1 como GIP (péptido insulínotropo dependiente de la glucosa) tienen un resto de alanina en la posición 2, que son sustratos para la DPP-IV. Los inhibidores de la DPP-IV son fármacos administrados oralmente que mejoran el control glucémico mediante la prevención de la degradación rápida de las hormonas incretinas, lo que resulta en aumentos postprandiales de los niveles de GLP-1 y GIP intactos biológicamente activos.

45 En dicha realización, la acción de la molécula de GLP-1 se puede prolongar más o aumentar *in vivo* si se requiere, usando inhibidores de la DPP-IV. La combinación de la terapia de GLP-1 e inhibidor de DPP-IV para el tratamiento de la hiperglucemia y/o la diabetes permite la reducción de la cantidad de GLP-1 activo que puede ser necesaria para inducir una respuesta a la insulina apropiada de las células β en el paciente. En otra realización, la molécula de GLP-1 se puede combinar, por ejemplo, con otras moléculas distintas de un péptido, tales como, por ejemplo, metformina. En una realización, el inhibidor de DPP-IV u otras moléculas, incluyendo la metformina, se pueden administrar por inhalación en una formulación de polvo seco junto con la molécula de GLP-1 en una formulación conjunta o por separado en su propia formulación de polvo seco que se puede administrar al mismo tiempo o antes de la administración de GLP-1. En una realización, el inhibidor de DPP-IV u otras moléculas, incluyendo la metformina, se pueden administrar por otras vías de administración, incluyendo la vía oral. En una realización, el inhibidor de DPP-IV se puede administrar al paciente a dosis que varían de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg dependiendo de la necesidad del paciente. Se puede usar una concentración inferior de inhibidor de DPP-IV cuando se administra o formula conjuntamente con la molécula de GLP-1. En dicha realización, la eficacia de la terapia de GLP-1 se puede mejorar en intervalos de dosis reducidos en comparación con las formas de dosificación actuales.

60 En realizaciones descritas en el presente documento, la molécula de GLP-1 se puede administrar a la hora de comer (en un momento cercano a una comida o un refrigerio). En dicha realización, la exposición de GLP-1 se puede limitar al período postprandial, por lo que no causa los efectos de acción prolongada de las terapias actuales. En realizaciones en las que se administra conjuntamente el inhibidor de DPP-IV, el inhibidor de DPP-IV puede administrarse al paciente antes de la administración de GLP-1 a la hora de la comida. Las cantidades de inhibidor de DPP-IV que se administran pueden variar, por ejemplo, de aproximadamente 0,10 mg a aproximadamente 100 mg, dependiendo de la vía de administración seleccionada. En una realización adicional, se pueden administrar una o más dosis de la molécula de GLP-1 una vez iniciada la comida en vez de, o además de, una dosis administrada

cerca del comienzo de la comida o del refrigerio. Por ejemplo, se pueden administrar una o más dosis de 15 a 120 minutos después del comienzo de una comida, tal como a los 30, 45, 60 o 90 minutos.

5 En una realización, el sistema de administración de fármacos se puede utilizar en un método para el tratamiento de la obesidad, así como para controlar o reducir el consumo de alimentos en un animal tal como un mamífero. En dicha realización, los pacientes en necesidad de tratamiento o que padecen obesidad reciben una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición o formulación inhalable que comprende una molécula de GLP-1, una exendina, oxintomodulina, péptido YY (3-36), o combinaciones de los mismos, o análogos de los mismos, con o sin supresores del apetito adicionales conocidos en la técnica. En dicha realización, el método se dirige a reducir el
10 consumo de alimentos, inhibir la ingesta de alimentos en el paciente, reducir o suprimir el apetito y/o controlar el peso corporal.

15 En una realización, la formulación inhalable comprende una formulación de polvo seco que comprende el principio activo anteriormente mencionado con una dicetopiperazina, incluyendo 2,5-diceto-3,6-di(4-X-aminobutil)piperazina; en la que X se selecciona del grupo que consiste en succinilo, glutarilo, maleilo y fumarilo, o una sal de la dicetopiperazina. En dicha realización, la formulación inhalable puede comprender micropartículas para inhalación que comprenden el principio activo con las características aerodinámicas según lo descrito anteriormente. En una realización, la cantidad de principio activo puede ser determinada por un experto habitual en la materia, sin embargo, los presentes micropartículas se pueden cargar con diversas cantidades de principio activo según sea necesario por
20 el paciente. Por ejemplo, para la oxintomodulina, las micropartículas pueden comprender del aproximadamente 1 % (p/p) al aproximadamente 75 % (p/p) del principio activo en la formulación. En ciertas realizaciones, las formulaciones inhalables pueden comprender del aproximadamente 10 % (p/p) al aproximadamente 30 % (p/p) de la composición farmacéutica y también pueden comprender un vehículo farmacéuticamente aceptable, o excipiente, tal como un tensioactivo, tal como polisorbato 80. En dicha realización, la oxintomodulina se puede administrar al
25 paciente de una a cuatro veces al día o según necesite el paciente con dosis que varían de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 5 mg en la formulación. En realizaciones particulares, la dosis por administrar a un sujeto puede variar de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 3,0 mg de oxintomodulina. En una realización, la formulación inhalable puede comprender de aproximadamente 50 pmol a aproximadamente 700 pmol de oxintomodulina en la formulación.

30 En las realizaciones desveladas en el presente documento en las que se usa PYY como principio activo, se puede preparar una formulación de polvo seco para la administración pulmonar que comprende de aproximadamente 0,10 mg a aproximadamente 3,0 mg de PYY por dosis. En ciertas realizaciones, la formulación puede comprender un polvo seco que comprende PYY en una cantidad que varía del aproximadamente 1 % al aproximadamente 75 %
35 (p/p) del péptido en la formulación. En realizaciones particulares, la cantidad de PYY de la formulación puede ser del 5 %, 10 %, 15 % o 20 % (p/p) y comprender además una dicetopiperazina. En una realización, el PYY se administra en una formulación que comprende una dicetopiperazina, tal como FDKP o una sal de la misma, incluyendo sales de sodio. En ciertas realizaciones, se puede administrar PYY a un sujeto en formas de dosificación de manera que las concentraciones de PYY en plasma tras la administración sean de aproximadamente 4 pmol/l a aproximadamente
40 100 pmol/l o de aproximadamente 10 pmol/l a aproximadamente 50 pmol/l. En otra realización, la cantidad de PYY se puede administrar, por ejemplo, en cantidades que varían de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 30 mg, o de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 25 mg en la formulación. Otras cantidades de PYY se pueden determinar como se describe, por ejemplo, en Savage *et al.* Gut, febrero de 1987; 28 (2): 166-70; cuya divulgación se incorpora en el presente documento por referencia. La formulación de PYY y/o análogo, o de
45 oxintomodulina y/o análogo se pueden administrar preprandial, prandial, periprandial o postprandialmente a un sujeto, o según sea necesario y en función de la afección fisiológica del paciente.

50 En una realización, la formulación que comprende el principio activo se puede administrar al paciente en una formulación de polvo seco por inhalación usando un inhalador de polvo seco como el inhalador desvelado, por ejemplo, en la patente de EE.UU. Nº 7.305.986 y la solicitud de patente de EE.UU. con Nº de serie 10/655.153 (US 2004/0182387), cuyas divulgaciones se incorporan en el presente documento por referencia. También se puede administrar la inhalación repetida de la formulación de polvo seco que comprende el principio activo entre comidas y diariamente según sea necesario. En algunas realizaciones, la formulación se puede administrar una vez, dos veces,
55 tres veces o cuatro veces al día.

60 En otra realización adicional más, el método de tratamiento de la hiperglucemia y/o la diabetes comprende la administración de una composición en polvo seco inhalable que comprende una dicetopiperazina que tiene la fórmula 2,5-diceto-3,6-di(4-X-aminobutil)piperazina, en la que X se selecciona del grupo que consiste en succinilo, glutarilo, maleilo y fumarilo. En dicha realización, la composición en polvo seco puede comprender una sal de dicetopiperazina. En otra realización más de la presente invención, se proporciona una composición en polvo seco, en la que la dicetopiperazina es 2,5-diceto-3,6-di-(4-fumaril-aminobutil)piperazina, con o sin un vehículo farmacéuticamente aceptable o excipiente.

65 En ciertas realizaciones, el método de tratamiento puede comprender una formulación de polvo seco para inhalación que comprende una molécula de GLP-1, en la que la molécula de GLP-1 es GLP-1 nativo, o una molécula de GLP-1 amidada, en la que la molécula de GLP-1 amidada es amida de GLP-1 (7-36), o combinaciones de la misma. En una

realización, el GLP-1 puede ser un análogo tal como exenatida.

En una realización, un paciente recibe una formulación de GLP-1 inhalable en un intervalo de dosis en el que la cantidad de GLP-1 es de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 5 mg, o de aproximadamente 0,02 mg a aproximadamente 3 mg, o de aproximadamente 0,02 mg a aproximadamente 2,5 mg, o de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 2 mg de la formulación. En una realización, un paciente con diabetes de tipo 2 puede recibir una dosis de GLP-1 superior a 3 mg. En dicha realización, el GLP-1 se puede formular con partículas de inhalación tales como dicetopiperazinas con o sin vehículos farmacéuticos y excipientes. En una realización, la administración pulmonar de la formulación de GLP-1 puede proporcionar concentraciones en plasma de GLP-1 superiores a 100 pmol/l sin inducir efectos secundarios adversos no deseados, tales como la sudoración profusa, náuseas y vómitos, en el paciente.

En otra realización, la molécula de GLP-1 se puede administrar con insulina como terapia de combinación y administrarse prandialmente para el tratamiento de la hiperglucemia y/o la diabetes, por ejemplo, la diabetes mellitus de tipo 2. En dicha realización, la molécula de GLP-1 y la insulina se pueden formular conjuntamente en una formulación de polvo seco o administrarse por separado a un paciente en su propia formulación. En una realización, en la que la molécula de GLP-1 y la insulina se administran conjuntamente, ambos principios activos se pueden formular conjuntamente, por ejemplo, la molécula de GLP-1 y la insulina se pueden preparar en una formulación de polvo seco para inhalación usando una partícula de dicetopiperazina como se ha descrito anteriormente. Como alternativa, la molécula de GLP-1 y la insulina se pueden formular por separado, de manera que cada formulación sea para inhalación y comprenda una partícula de dicetopiperazina. En una realización, la molécula de GLP-1 y las formulaciones de insulina se pueden mezclar entre sí en su forma en polvo individual a la dosis apropiada antes de la administración. En dicha realización, la insulina puede ser insulina de acción corta, intermedia o prolongada, y puede administrarse prandialmente.

En una realización para el tratamiento de la diabetes de tipo 2 usando la administración conjunta de una molécula de GLP-1 e insulina, se puede administrar una formulación inhalable de la molécula de GLP-1 a un paciente prandial, simultánea o secuencialmente a una formulación inhalable de insulina tal como insulina/FDKP. En dicha realización, en un diabético de tipo 2, el GLP-1 puede estimular la secreción de insulina del páncreas del paciente, lo que puede retrasar la progresión de la enfermedad al preservar la función de las células β (tal como mediante la potenciación del crecimiento de las células β), mientras que la insulina administrada prandialmente se puede usar como reemplazo de la insulina que imita la respuesta normal del organismo hacia una comida. En ciertas realizaciones de la terapia de combinación, la formulación de insulina se puede administrar por otras vías de administración. En dicha realización, la terapia de combinación puede ser eficaz en la reducción de las necesidades de insulina en un paciente para mantener el estado euglucémico. En una realización, la terapia de combinación se puede aplicar a pacientes que padecen obesidad y/o diabetes de tipo 2 que han tenido diabetes durante menos de 10 años y que no están bien controlados con dieta ni ejercicio o secretores. En una realización, la población de pacientes que van a recibir terapia de combinación de GLP-1 e insulina se puede caracterizar por tener la función de las células β superior al aproximadamente 25 % de la de un individuo sano normal y/o la resistencia a la insulina inferior al aproximadamente 8 % y/o puede tener evacuación gástrica normal. En una realización, la terapia de combinación de molécula de GLP-1 inhalable e insulina puede comprender una insulina de acción rápida o una insulina de acción prolongada, tal como la insulina glulisina (APIDRA[®]), insulina lispro (HUMALOG[®]) o insulina aspart (NOVOLOG[®]), o una insulina de acción prolongada tal como la insulina detemir (LEVEMIR[®]) o la insulina glargina (LANTUS[®]), que se puede administrar mediante un polvo para inhalación que también comprende FDKP o por otras vías de administración.

En otra realización, una terapia de combinación para el tratamiento de la diabetes de tipo 2 puede comprender la administración a un paciente en necesidad de tratamiento de una cantidad eficaz de una formulación de insulina inhalable que comprende una insulina y una dicetopiperazina, en la que la insulina puede ser un péptido nativo de insulina, un péptido recombinante de insulina, y además administrar al paciente un análogo de insulina de acción prolongada que se puede proporcionar por inhalación en una formulación que comprende una dicetopiperazina o por otra vía de administración tal como por inyección subcutánea. El método puede comprender además la etapa de administrar al paciente una cantidad eficaz de un inhibidor de DPPIV. En una realización, el método puede comprender la administración a un paciente en necesidad de tratamiento de una formulación que comprende una molécula de insulina de acción rápida o de acción prolongada y una dicetopiperazina en combinación con la formulación que comprende un GLP-1 de acción prolongada, que se puede administrar por separado y/o secuencialmente. La terapia con GLP-1 para el tratamiento de la diabetes, en particular, la diabetes de tipo 2 puede ser ventajosa, ya que la administración de una molécula de GLP-1 sola en una formulación inhalable de polvo seco o en combinación con terapias de insulina o no de insulina puede reducir el riesgo de hipoglucemia.

En otra realización, se pueden administrar una molécula de GLP-1 de acción rápida y una formulación de dicetopiperazina en combinación con un GLP-1 de acción prolongada, tal como exendina, para el tratamiento de la diabetes, pudiéndose administrar ambos por inhalación pulmonar. En dicha realización, un paciente diabético que padece, por ejemplo, diabetes de tipo 2, puede recibir prandialmente una cantidad eficaz de una formulación inhalable que comprende una molécula de GLP-1 para estimular la secreción de insulina, mientras que de forma

secuencial o en algún momento después de la hora de la comida, tal como hasta aproximadamente 45 min después recibe una dosis de exendina-4. La administración de una molécula de GLP-1 inhalable puede prevenir la progresión de la enfermedad mediante la preservación de la función de las células β , mientras que la exendina-4 se puede administrar dos veces al día aproximadamente con 10 horas de diferencia, pudiendo proporcionar niveles basales de GLP-1 que pueden imitar la fisiología normal del sistema de incretina en un paciente. Tanto un GLP-1 de acción rápida como un GLP-1 de acción prolongada se pueden administrar en formulaciones separadas, inhalables. Como alternativa, el GLP-1 de acción prolongada se puede administrar mediante otros métodos de administración incluyendo, por ejemplo, la vía transdérmica, intravenosa o subcutánea. En una realización, la administración prandial de una combinación de GLP-1 de acción corta y de acción prolongada puede producir un aumento de la secreción de insulina, una mayor supresión del glucagón y un mayor retraso de la evacuación gástrica en comparación con el GLP-1 de acción prolongada administrado solo. La cantidad de GLP-1 de acción prolongada administrada puede variar dependiendo de la vía de administración. Por ejemplo, para la administración pulmonar, el GLP-1 de acción prolongada se puede administrar a dosis de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 1 mg por administración, inmediatamente antes de una comida o durante las comida, dependiendo de la forma de GLP-1 administrada al paciente.

En una realización, el presente método se puede aplicar para el tratamiento de la obesidad. Se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación de GLP-1 inhalable a un paciente en necesidad de tratamiento, en la que una formulación de GLP-1 en polvo seco inhalable comprende una molécula de GLP-1 y una dicetopiperazina como se ha descrito anteriormente. En dicha realización, la formulación de GLP-1 inhalable se puede administrar sola o en combinación con una o más hormonas endocrinas y/o agentes activos contra la obesidad para el tratamiento de la obesidad. Los ejemplos de hormonas endocrinas y/o agentes activos contra la obesidad incluyen, pero sin limitación, péptido YY, oxintomodulina, amilina, análogos de amilina, tales como el acetato de pramlintida, y similares. En una realización, los agentes contra la obesidad se pueden administrar en una formulación conjunta en una composición en polvo seco inhalable sola o en combinación con una molécula de GLP-1 o en una composición en polvo seco inhalable separada para inhalación. Como alternativa, en la combinación de una molécula de GLP-1 con uno o más agentes contra la obesidad o agentes que pueden causar la saciedad, la formulación de GLP-1 se puede administrar en una formulación de polvo seco y el agente contra la obesidad se puede administrar por vías alternativas de administración. En dicha realización, se puede administrar un inhibidor de DPP-IV para mejorar o estabilizar la administración de GLP-1 en la circulación arterial pulmonar. En otra realización, el inhibidor de DPP-IV se puede proporcionar en combinación con una formulación de insulina que comprenda una dicetopiperazina. En dicha realización, el inhibidor de DPP-IV se puede formular en una dicetopiperazina para inhalación o se puede administrar en otra formulación por otras vías de administración, tales como por inyección subcutánea o administración oral.

En una realización, se proporciona un kit para el tratamiento de la diabetes y/o la hiperglucemia que comprende un cartucho de medicamento para la inhalación que comprende una formulación de GLP-1 y un dispositivo de inhalación que está configurado para adaptar o enganchar de forma segura el cartucho. En dicha realización, el kit puede comprender además un inhibidor de DPP-IV formulado junto con una molécula de GLP-1, o en una formulación separada para la inhalación o la administración oral como se ha descrito anteriormente. En variaciones de dicha realización, el kit no incluye el dispositivo de inhalación, que puede proporcionarse por separado.

En una realización, la presente terapia de combinación que usa el sistema de administración de fármacos se puede aplicar para tratar trastornos o síndromes metabólicos. En dicha realización, la formulación de administración de fármacos puede comprender una formulación que comprende una dicetopiperazina y un agente activo, incluyendo una molécula de GLP-1 y/o un GLP-1 de acción prolongada solo o en combinación con uno o más agentes activos, tales como inhibidor de DPP-IV y exendina, dirigidos a tratar el síndrome metabólico. En dicha realización, al menos uno de los agentes activos que se debe suministrar al sujeto en necesidad de tratamiento y que puede presentar resistencia a la insulina se puede administrar por inhalación pulmonar.

En otra realización, la administración pulmonar de una formulación de polvo seco inhalable que comprende una molécula de GLP-1 y una dicetopiperazina se puede usar como una herramienta de diagnóstico para diagnosticar el nivel o grado de progresión de la diabetes de tipo 2 en un paciente aquejado de diabetes con el fin de identificar el régimen de tratamiento particularmente adecuado para el paciente que se va a tratar. En dicha realización, un método para diagnosticar el nivel de la progresión de la diabetes en un paciente identificado como diabético, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad predeterminada de una formulación de polvo seco inhalable que comprende una molécula de GLP-1 y una dicetopiperazina, y medir la producción o respuesta de insulina endógena. La administración de la formulación de polvo seco inhalable que comprende una molécula de GLP-1 se puede repetir con cantidades predeterminadas de la molécula de GLP-1 hasta se obtengan los niveles apropiados de una respuesta de insulina para ese paciente con el fin de determinar el régimen de tratamiento requerido por el paciente. En dicha realización, si una respuesta de la insulina del paciente es insuficiente, el paciente puede requerir terapias alternativas. Los pacientes que son sensibles o responden a la insulina se pueden tratar con una formulación de GLP-1 que comprende una dicetopiperazina como terapia. De esta manera, se puede administrar la cantidad específica de molécula de GLP-1 a un paciente con el fin de lograr una respuesta de insulina adecuada para evitar la hipoglucemia. En dicha y en otras realizaciones, el GLP-1 puede inducir una rápida liberación de insulina endógena que imita la fisiología normal de la liberación de insulina en un paciente.

En una realización, el presente sistema de administración de fármacos se puede aplicar para tratar trastornos o síndromes metabólicos. En dicha realización, la formulación de administración de fármacos puede comprender una formulación que comprende una dicetopiperazina y un agente activo, incluyendo una molécula de GLP-1 y/o un GLP-1 de acción prolongada solo o en combinación con uno o más agentes activos, tales como inhibidor de DPP-IV y exendina, dirigidos a tratar el síndrome metabólico. En dicha realización, al menos uno de los agentes activos que se deben suministrar al sujeto en necesidad de tratamiento y que puede presentar resistencia a la insulina se puede administrar por inhalación pulmonar.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos pretenden demostrar ciertas realizaciones de la invención. Los expertos en la materia deberían apreciar que las técnicas desveladas en los ejemplos aclaran las técnicas representativas que funcionan bien en la práctica de la presente invención. Sin embargo, los expertos en la materia deberían, a la luz de la presente divulgación, apreciar que se pueden realizar muchos cambios en las realizaciones específicas que se desvelan y seguir obteniéndose un resultado parecido o similar sin alejarse del espíritu ni alcance de la invención.

EJEMPLO 1

Administración de GLP-1 en un polvo seco inhalable a varones adultos sanos

Se ha demostrado que GLP-1 controla la glucosa en sangre elevada en los seres humanos cuando se administra mediante infusiones intravenosas (IV) o subcutáneas (SC) o mediante múltiples inyecciones subcutáneas. Debido a la semivida sumamente corta de la hormona, se requerirían una infusión subcutánea continua o múltiples inyecciones subcutáneas diarias para lograr la eficacia clínica. Ninguna de estas vías es práctica para el uso clínico prolongado. Los solicitantes han encontrado en experimentos con animales que cuando se administró GLP-1 por inhalación, se pudieron alcanzar los niveles terapéuticos. Los resultados de dichos estudios se pueden encontrar, por ejemplo, en la solicitud de patente de EE.UU. N° 11/735.957, cuya divulgación se incorpora por referencia en el presente documento.

En individuos sanos, varias de las acciones del GLP-1, incluyendo la reducción de la evacuación gástrica, el aumento de la saciedad y la supresión de la secreción inapropiada de glucagón parecen estar vinculadas al estallido de GLP-1 liberado cuando comienzan las comidas. Al complementar dicho aumento temprano de GLP-1 con una formulación de GLP-1 (amida de GLP-1 (7-36)) y 2,5-diceto-3,6-di(4-fumaril-aminobutil)piperazina (FDKP) en forma de un polvo para inhalación, se puede generar una respuesta farmacodinámica, incluyendo la producción de insulina endógena, y la reducción de los niveles de glucagón y glucosa, en animales diabéticos. Además, se puede imitar el aumento tardío de GLP-1 nativo ligado a un aumento de la secreción de insulina mediante la administración postprandial de GLP-1/FDKP en polvo para inhalación.

Se desarrolló un ensayo clínico de fase 1a de GLP-1/FDKP en polvo para inhalación para analizar la seguridad y la tolerabilidad de dosis seleccionadas de un nuevo producto terapéutico para el control glucémico inhalado por primera vez en seres humanos. GLP-1/FDKP en polvo para inhalación se administra usando el dispositivo de inhalación MEDTONE[®], previamente ensayado. Los experimentos se diseñaron para identificar la seguridad y la tolerabilidad de varias dosis de GLP-1/FDKP en polvo para inhalación por inhalación pulmonar. Las dosis se seleccionaron para uso humano basándose en los resultados del estudio de seguridad realizado en animales procedentes de estudios no clínicos realizados en ratas y primates usando GLP-1/FDKP administrado por inhalación como se describe en la solicitud de EE.UU. con n° de serie 11/735.957, que se incorpora en el presente documento por referencia.

Se admitieron veinte y seis sujetos en 5 cohortes para proporcionar hasta 4 sujetos evaluables en cada una de las cohortes 1 y 2, y hasta 6 sujetos evaluables en cada una de las cohortes de 3 a 5, quienes cumplieran con los criterios de elegibilidad y completaron el estudio. Cada sujeto recibió una vez GLP-1 en forma de GLP-1/FDKP en polvo para inhalación a los siguientes niveles de dosis: cohorte 1: 0,05 mg; cohorte 2: 0,45 mg; cohorte 3: 0,75 mg; cohorte 4: 1,05 mg y cohorte 5: 1,5 mg de GLP-1. Los abandonos no fueron reemplazados. Dichas dosificaciones se realizaron basándose en una masa corporal de 70 kg. Los expertos habituales en la materia pueden determinar niveles de dosificación adicionales basados en los estudios desvelados en el presente documento.

En dichos experimentos, se determinaron la seguridad y la tolerabilidad de dosis crecientes de GLP-1/FDKP en polvo para inhalación en sujetos varones adultos sanos. La tolerabilidad de las dosis crecientes del GLP-1/FDKP en polvo para inhalación se determinaron mediante el control de los efectos farmacológicos o adversos en variables, incluyendo los hechos adversos (EA) informados, signos vitales, exámenes físicos, pruebas clínicas de laboratorio y electrocardiogramas (ECG).

También se evaluaron parámetros de seguridad y farmacocinética pulmonares adicionales. Se estudió la seguridad pulmonar expresada por la incidencia de hechos pulmonares, y otros hechos adversos y cambios en la función pulmonar entre la Visita 1 (reconocimiento) y la Visita 3 (seguimiento). Se midieron los parámetros farmacocinéticos (PK) del GLP-1 en plasma y la fumaril-dicetopiperazina en suero (FDKP) tras la administración de GLP-1/FDKP en

polvo para inhalación como la AUC_{0-120 min} del GLP-1 en plasma y la AUC_{0-480 min} de la FDKP en suero. Los parámetros farmacocinéticos adicionales de GLP-1 en plasma incluyen el tiempo para alcanzar la concentración máxima de GLP-1 en plasma, T_{máx} de GLP-1 en plasma; la concentración máxima de GLP-1 en plasma, C_{máx} de GLP-1 en plasma y el tiempo medio total para alcanzar la concentración máxima de GLP-1 en plasma, T_{1/2} de GLP-1 en plasma. Los parámetros farmacocinéticos adicionales de FDKP en suero incluyen T_{máx} de FDKP en suero; C_{máx} de FDKP en suero y T_{1/2} de FDKP en suero. Los criterios de valoración de los ensayos clínicos se basan en una comparación de los siguientes parámetros farmacológicos y de seguridad determinados en la población de sujetos del ensayo. Los criterios de valoración principales fueron la incidencia y la gravedad de los EA informados, incluyendo tos y disnea, náuseas y/o vómitos, así como los cambios con respecto al reconocimiento de los signos vitales, pruebas de laboratorio clínico y exámenes físicos. Los criterios de valoración secundarios incluían la disposición farmacocinética del GLP-1 en plasma y de la FDKP en suero (AUC_{0-120 min} del GLP-1 en plasma y la AUC_{0-480 min} de la FDKP en suero), GLP-1 en plasma (T_{máx} de GLP-1 en plasma, C_{máx} de GLP-1 en plasma y T_{1/2} de GLP-1 en plasma); FDKP en suero (T_{máx} de FDKP en suero; C_{máx} de FDKP en suero); ensayos de la función pulmonar (PFT) y ECG.

El ensayo clínico consistió en 3 visitas clínicas: 1) Una visita de reconocimiento (Visita 1); 2) Una visita de tratamiento (visita 2); y 3) una visita de seguimiento (visita 3) 8-14 días después de la Visita 2. En la Visita 2, se administró una sola dosis de GLP-1/FDKP en polvo para inhalación.

Se evaluaron cinco dosis de GLP-1/FDKP en polvo para inhalación (0,05; 0,45; 0,75; 1,05 y 1,5 mg de GLP-1). Para dar cabida a todas las dosis, se mezcló la formulación de GLP-1/FDKP con FDKP en polvo para inhalación que contenía partículas sin agente activo. Se usaron cartuchos monodosis que contenían 10 mg de polvo seco que consistía en GLP-1/FDKP en polvo para inhalación (GLP-1/FDKP al 15 % (p/p)) como tal o mezclado con la cantidad apropiada de FDKP en polvo para inhalación para obtener la dosis deseada de GLP-1 (0,05 mg, 0,45 mg, 0,75 mg, 1,05 mg y 1,5 mg). Se evaluaron los 2 niveles de dosis más bajas en 2 cohortes de 4 sujetos cada una, y se evaluaron los 3 niveles de dosis más altas en 3 cohortes de 6 sujetos cada uno. Cada sujeto solo recibió 1 dosis a 1 de los 5 niveles de dosis evaluados. Además de la extracción de sangre para realizar las mediciones del GLP-1 (activo y total) y de la FDKP, se extrajeron muestras para la determinación del glucagón, de la glucosa, de la insulina y del péptido C. Los resultados de dichos experimentos se describen con referencia a las siguientes figuras y tablas.

La FIG. 1 representa la concentración de GLP-1 activo en plasma de la cohorte 5 después de la administración pulmonar de la dosis de 1,5 mg de GLP-1. Los datos mostraron que el pico de la concentración de GLP-1 se produjo antes del primer punto de muestreo a los 3 minutos, asemejándose estrechamente a la administración en bolo intravenoso (IV). Las concentraciones de GLP-1 en plasma en algunos sujetos fueron superiores a 500 pmol/l, el límite del ensayo. Las concentraciones pico de GLP-1 activo en plasma varían de aproximadamente 150 pmol/l a aproximadamente 500 pmol/l. La administración en bolo intravenoso de GLP-1 como se informa en la literatura (Vilsboll *et al.* 2000) genera proporciones de GLP-1 total:activo de 3,0-5,0 en comparación con una proporción de 1,5 en la cohorte 5 de dicho estudio. A concentraciones activas comparables de metabolitos los picos fueron de 8 a 9 veces superiores después de la administración intravenosa en comparación con la administración pulmonar, lo que sugiere que la administración pulmonar produce una administración rápida y una menor degradación de GLP-1.

Tabla 1

Parámetro ^a	Tratamiento				
	0,05 mg (n = 4)	0,45 mg (n = 4)	0,75 mg (n = 6)	1,05 mg (n = 6)	1,5 mg (n = 6)
GLP-1^a					
AUC _{0-120 min} (min*pmol/l)	ND	n = 1 355,33	n = 6 880,12 (195,656)	n = 4 1377,88 (634,054)	n = 4 AULQ
C _{máx} (pmol/l)	n = 4 2,828 (2,4507)	n = 4 24,630 (8,7291)	n = 6 81,172 (63,3601)	n = 6 147,613 (122,7014)	n = 6 310,700 (54,2431)
T _{máx} (min)	n = 4 3,00 (3,00, 3,00)	n = 4 3,00 (3,00; 4,02)	n = 6 3,00 (3,00; 6,00)	n = 6 3,00 (3,00; 4,98)	n = 6 3,00 (3,00; 3,00)
T _{1/2} (min)	n = 1 6,1507	n = 3 3,0018 (0,83511)	n = 6 5,5000 (2,96928)	n = 4 3,6489 (1,88281)	n = 6 3,9410 (1,79028)
FDKP					
AUC _{0-120 min} (min*pmol/l)				n = 6 22169,2 (4766,858)	n = 6 25594,7 (5923,689)
C _{máx} (pmol/l)				n = 6 184,21 (56,893)	n = 6 210,36 (53,832)
T _{máx} (min)				n = 6 4,50 (3,00, 25,02)	n = 6 6,00 (3,00, 19,98)
T _{1/2} (min)				n = 6 126,71 (11,578)	n = 6 123,82 (15,640)

^aTodos los parámetros son la media (DE), a excepción de $t_{m\acute{a}x}$, que es mediana (intervalo)
 AULQ = dos o más sujetos del grupo de dosis tuvieron concentraciones del analito en plasma que eran AULQ; NA
 = el perfil farmacocinético no cumplió con las especificaciones para dicho perfil debido al breve tiempo de muestreo
 (20 minutos); ND = parámetro que no se pudo calcular debido a la insuficiencia de datos en algunos sujetos.

En los individuos sanos, las concentraciones venosas postprandiales fisiológicas en plasma de GLP-1 normalmente varían de 10 a 20 pmol/l (Vilsboll *et al. J. Clin. Endocr. & Metabolism.* 88 (6):2706-13, junio de 2003). Dichos niveles se lograron con algunos sujetos de la cohorte 2, que recibieron 0,45 mg de GLP-1. Las dosis más altas de GLP-1 produjeron concentraciones de GLP-1 pico en plasma considerablemente más altas que las concentraciones venosas pico fisiológicas. Sin embargo, debido a que la semivida de GLP-1 es corta (de aproximadamente 1-2 min), las concentraciones de GLP-1 activo en plasma cayeron hasta el intervalo fisiológico a los 9 min después de la administración. Aunque las concentraciones pico son mucho más altas que las observadas fisiológicamente en la circulación venosa, hay pruebas de que las concentraciones locales de GLP-1 pueden ser mucho mayores que las observadas sistémicamente.

La Tabla 1 muestra el perfil farmacocinético de GLP-1 usando una formulación que comprende FDKP del presente estudio.

En la Tabla 1, también se representan los parámetros farmacocinéticos de FDKP para las cohortes 4 y 5. No se analizaron otras cohortes. Los datos también muestran que la concentración media de FDKP en plasma para los sujetos tratados con 1,05 mg y 1,5 mg de GLP-1 fueron de aproximadamente 184 y 211 pmol/l, respectivamente. Las concentraciones máximas de FDKP en plasma se alcanzaron aproximadamente 4,5 y 6 min después de la administración de la dosis respectiva con una semivida de aproximadamente 2 h (127 y 123 min).

La FIG. 2A representa las concentraciones medias de insulina en los sujetos tratados con una formulación de polvo seco inhalable de GLP-1 a una dosis de 1,5 mg. Los datos muestran que la dosis de 1,5 mg de GLP-1 indujo la liberación de insulina endógena por parte de las células β , pues se detectaron concentraciones de insulina en todos los sujetos, y se alcanzaron concentraciones pico medias de insulina de aproximadamente 380 pmol/l 6 minutos después de la dosificación o antes. La liberación de insulina fue rápida, pero no sostenida, ya que la concentración de insulina en plasma cayó rápidamente tras la respuesta inicial a GLP-1. La FIG. 2B representa la concentración de GLP-1 en plasma de los sujetos tratados con la dosis de 1,5 mg de GLP administrada por inhalación pulmonar en comparación con la administración subcutánea de una dosis de GLP-1. Los datos ilustran que la administración pulmonar de GLP-1 se produce relativamente rápido y que la concentración pico en plasma de GLP-1 se alcanza más rápido que con la administración subcutánea. Además, la inhalación pulmonar de GLP-1 conduce a concentraciones de GLP-1 en plasma que restablecen los niveles basales mucho más rápido que con la administración subcutánea. Así pues, la exposición del paciente a GLP-1 proporcionado por inhalación pulmonar usando el presente sistema de administración de fármacos es más corta en el tiempo que mediante la administración subcutánea y la exposición total al GLP-1 medida por la AUC es menor para la insulina inhalada. La FIG. 2C ilustra que la administración pulmonar de una formulación de polvo seco de GLP-1 induce una respuesta de la insulina que es similar a la respuesta obtenida después de la administración intravenosa de GLP-1, pero diferente en el tiempo máximo y la cantidad de insulina endógena producida que con la administración subcutánea de GLP-1, lo que indica que la administración pulmonar de GLP-1 usando la presente formulación es más eficaz en la inducción de una respuesta de insulina.

La FIG 3 representa las concentraciones de péptido C en plasma en los sujetos tratados con una formulación de polvo seco inhalable que contiene una dosis de GLP-1 de 1,5 mg medida en diversos momentos tras la inhalación. Los datos demuestran que el péptido C se libera tras la inhalación de GLP-1, lo que confirma la liberación de insulina endógena.

En los individuos sanos, los niveles de glucosa en sangre en ayunas varían de aproximadamente 3,9 mmol/l a aproximadamente 5,5 mmol/l o de aproximadamente 70 mg/dl a aproximadamente 99 mg/dl (recomendaciones de la asociación estadounidense contra la diabetes). La FIG. 4 representa las concentraciones de glucosa en plasma en ayunas en los sujetos tratados con la formulación de GLP-1 que contiene GLP-1. Las concentraciones medias de glucosa en plasma en ayunas (FPG) fueron de aproximadamente 4,7 mmol/l para los sujetos tratados con 1,5 mg de GLP-1. La liberación de insulina mediada por GLP-1 depende de la glucosa. Históricamente, la hipoglucemia no se observa en sujetos euglucémicos. En el presente experimento, los datos muestran claramente que las concentraciones de glucosa en estos sujetos sanos euglucémicos se redujeron después de la administración pulmonar de GLP-1. A la dosis de 1,5 mg de GLP-1, dos de los seis sujetos resultaron tener concentraciones de glucosa reducidas por GLP-1 inferiores a 3,5 mmol/l, el valor de laboratorio que define la hipoglucemia. La glucosa en plasma disminuyó más de 1,5 mol/l en dos de los seis sujetos que recibieron la dosis de 1,5 mg de GLP-1. Por otra parte, las reducciones de la glucosa en plasma se correlacionaron con la dosis de GLP-1. La reducción más baja de la concentración de glucosa se observó con la dosis de 0,05 mg, y la mayor reducción, a la dosis de 1,5 mg. Las tres dosis intermedias de GLP-1 produjeron disminuciones aproximadamente iguales en la glucosa en plasma. Los datos indican que la dependencia de la glucosa en GLP-1 fue superada basándose en las concentraciones de GLP-1 por encima del intervalo fisiológico. Se ha informado que los intervalos fisiológicos de la amida de GLP-1 (7-36) en individuos normales son de 5 a 10 pmol/l durante el ayunas, aumentando rápidamente después de comer

hasta 15 a 50 pmol/l (Drucker, D. y Nauck, M. The Lancet 368: 1696-1705, 2006).

La FIG. 5 representa además que las concentraciones de insulina en plasma tras la administración pulmonar de GLP-1 son dependientes de la dosis. En la mayoría de los sujetos, la liberación de insulina no se mantuvo, ya que la concentración de insulina en plasma cayó rápidamente tras la respuesta inicial a la administración de GLP-1. En la mayoría de los sujetos, la respuesta pico de la insulina en plasma varió de 200 a 400 pmol/l, presentando un sujeto niveles pico de insulina en plasma que superaron los 700 pmol/l. Por lo tanto, los datos indican que la respuesta de la insulina depende de la dosis de GLP-1.

La FIG. 6 representa las concentraciones de glucagón en plasma tras la administración pulmonar de GLP-1 a los diferentes grupos de dosificación. Los niveles de glucagón basales variaron de 13,2 pmol/l a 18,2 pmol/l en los diferentes grupos de dosis. El cambio máximo del glucagón en plasma se observó 12 min después de la dosificación. La mayor reducción del glucagón en plasma fue de aproximadamente 2,5 pmol/l y se observó en el grupo de dosis de 1,5 mg. La supresión máxima de la secreción de glucagón posiblemente se subestimó, porque los mínimos no siempre se produjeron a los 12 min.

Las Tablas 2 y 3 presentan los hechos adversos o síntomas de efectos secundarios registrados en la población de pacientes del estudio. La lista de hechos adversos informados en la literatura para el GLP-1 administrado por inyección no es muy amplia; y los informados se han descrito como leves o moderados, y tolerables. Los hechos adversos primarios informados han sido la sudoración profusa, náuseas y vómitos cuando las concentraciones de GLP-1 activo superan los 100 pmol/l. Como se muestra en las Tablas 1 y 3, y en la FIG. 1, la administración pulmonar a dosis de 1,05 mg y 1,5 mg generó concentraciones de GLP-1 activo que superaron en gran medida los 100 pmol/l sin producir los efectos secundarios observados normalmente con el GLP-1 parenteral (por vía subcutánea, intravenosa [bien en bolo o infusión]). Ninguno de los sujetos del presente estudio informó sobre síntomas de náuseas, sudoración profusa y vómitos. Los sujetos de la cohorte 5 alcanzaron una $C_{m\acute{a}x}$ comparable a la observada con los datos de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ IV en bolo (informados por Vilsboll *et al.* 2000), donde la mayoría de los sujetos informó de hechos adversos significativos.

Tabla 2. Hechos adversos

Hecho adverso	0,05 mg (n = 4)	0,45 mg (n = 4)	0,75 mg (n = 6)	1,05 mg (n = 6)	1,5 mg (n = 6)
Tos	3	1	3	5	5
Disfonía	2	-	2	3	3
Tos productiva	-	-	1	-	-
Irritación de garganta	-	-	-	1	-
Dolor de cabeza	1	1	-	1	1
Mareos	-	-	-	-	2
Disgeusia	-	-	1	-	-
Fatiga	-	-	1	1	1
Alergia estacional	-	-	-	1	-
Rinitis	-	-	-	1	-
Aumento del apetito	-	-	-	-	1

Tabla 3. Hechos adversos comparativos de GLP-1: administración IV frente a pulmonar

Hechos adversos	IV [†] (16,7 mg)	IV [†] (50 mg)	Pulmonar* (1,5 mg)
Malestar	42 %	100 %	17 %
Náuseas	33 %	83 %	0 %
Sudoración profusa	17 %	67 %	0 %

[†]Vilsboll *et al. Diabetes Care*, junio de 2000; * $C_{m\acute{a}x}$ comparable.

Las Tablas 2 y 3 muestran que no hubo hechos adversos graves ni no graves informados por los sujetos del estudio que recibieron el GLP-1 por inhalación pulmonar. Los hechos adversos más comúnmente informados fueron aquellos asociados con la inhalación de un polvo seco, tos e irritación de garganta. Sorprendentemente, de los pacientes tratados por inhalación pulmonar, ninguno informó sobre náuseas o disforia, y no hubo vómitos asociados con ninguno de los sujetos. Los inventores también encontraron que la administración pulmonar de GLP-1 en una formulación de polvo seco no inhibió la evacuación gástrica en los sujetos anteriores (datos no mostrados). La inhibición de la evacuación gástrica es un efecto secundario no deseado que se encuentra comúnmente asociado con las formulaciones convencionales inyectadas de GLP-1.

En resumen, GLP-1/FDKP en polvo clínico contenía hasta el 15 % en peso de GLP-1, proporcionando una dosis máxima de 1,5 mg de GLP-1 en 10 mg de polvo. Las mediciones de cascada de Andersen indicaron que del 35 al 70 % de las partículas tenía diámetros aerodinámicos < 5,8 μm . Una dosis de 1,5 mg de GLP-1 produjo concentraciones pico medias > 300 pmol/l de GLP-1 activo en el punto temporal del primer muestreo (3 min); produjo concentraciones de insulina pico medias de 375 pmol/l en el primer punto temporal medido (6 min); redujo la glucosa media en plasma en ayunas de 85 a 70 mg/dl 20 min después de la dosificación; y fue bien tolerado, y no causó

náuseas ni vómitos.

EJEMPLO 2

5 Comparación entre la administración pulmonar de GLP-1 y exenatida, y la administración subcutánea de exenatida a ratas Zucker macho diabéticas y obesas

Se ha dedicado un gran esfuerzo en el desarrollo de análogos de GLP-1 con semividas en circulación más prolongadas para conseguir un tratamiento clínicamente útil. Como se demuestra en el presente documento, la administración pulmonar de GLP-1 (amida de GLP-1 (7-36)) también proporciona una actividad clínicamente significativa. Por lo tanto, fue de interés comparar estas dos metodologías.

Preparación de partículas de FDKP

Se disolvieron fumaril-dicetopiperazina (FDKP) y polisorbato 80 en amoniaco acuoso diluido, obteniéndose una solución que contiene FDKP al 2,5 % en peso y polisorbato 80 al 0,05 % en peso. A continuación, se mezcló la solución de FDKP con una solución de ácido acético que contenía polisorbato 80 para formar partículas. Las partículas se lavaron y se concentraron por filtración de flujo tangencial para conseguir aproximadamente el 11 % de sólidos en peso.

Preparación de solución madre de GLP-1

Se preparó una solución madre de GLP-1 al 10 % en peso en agua desionizada mediante la combinación de 60 mg de sólidos de GLP-1 (péptido al 86,6 %) con 451 mg de agua desionizada. Se añadieron 8 µl de ácido acético glacial para disolver el péptido.

Preparación de partículas de GLP-1/FDKP

Se transfirió una porción de 1 g de la suspensión madre de FDKP (108 mg de partículas) a un tubo de polipropileno de 2 ml. Se añadió la cantidad apropiada de solución madre de GLP-1 (Tabla 1) a la suspensión y se mezcló suavemente. Se ajustó el pH de la suspensión de pH ~3,5 a pH ~4,5 mediante la adición de una alícuota de 1 µl de hidróxido de amonio al 50 % (v/v). A continuación, se sedimentó la suspensión de partículas de GLP-1/FDKP en nitrógeno líquido y se liofilizó. Los polvos secos se analizaron por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y se encontraron comparables a los valores teóricos.

Preparación de solución madre de exenatida

Se preparó una solución madre de exendina al 10 % en peso en ácido acético al 2 % en peso mediante la combinación de 281 mg de sólidos de exendina (péptido al 88,9 %) con 2.219 mg de ácido acético al 2 % en peso.

Preparación de partículas de exenatida/FDKP

Se transfirió una porción de 1.533 g de la suspensión madre de partículas de FDKP (171 mg de partículas) a un vial de vidrio de 4 ml. Se añadió una porción de 304 mg de solución madre de exendina a la suspensión y se mezcló suavemente. Se ajustó el pH de la suspensión de pH ~3,7 a pH ~4,5 mediante la adición de alícuotas de 3-5 µl de hidróxido de amonio al 25 % (v/v). A continuación, se sedimentó la suspensión de partículas de exenatida/FDKP en nitrógeno líquido y se liofilizó. Los polvos secos se analizaron por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y se encontraron comparables a los valores teóricos.

50 Evaluación farmacocinética y farmacodinámica en ratas

Se asignaron ratas macho diabéticas y obesas (ZDF) (5/grupo) a uno de cuatro grupos de ensayo. Luego, se mantuvieron los animales en ayunas durante la noche, y se administró glucosa (1 g/kg) por inyección intraperitoneal inmediatamente antes de la dosificación del artículo de ensayo. Los animales del grupo de control recibieron aire por insuflación pulmonar. Los animales del Grupo 1 recibieron exenatida (0,3 mg) en solución salina (0,1 ml) mediante inyecciones subcutáneas (SC). Los animales del Grupo 2 recibieron exenatida/FDKP al 15 % en peso (2 mg) por insuflación pulmonar. Los animales del Grupo 3 recibieron GLP-1/FDKP al 15 % en peso (2 mg) por insuflación pulmonar. Se extrajeron muestras sanguíneas de la cola antes de la dosificación y a los 15, 30, 45, 60, 90, 120, 240, y 480 min de la dosificación. Se recogió plasma. Se determinaron las concentraciones de glucosa en sangre y de GLP-1 en plasma o de exenatida en plasma.

La farmacocinética de la exenatida se presenta en la FIG. 7A. Estos datos mostraron que la exenatida se absorbe rápidamente tras la insuflación de exenatida/FDKP en polvo. La biodisponibilidad de la exenatida inhalada fue del 94 % en comparación con la inyección subcutánea. Esto puede indicar que la administración pulmonar es particularmente ventajosa para la exenatida. El tiempo transcurrido hasta alcanzarse las concentraciones máximas en circulación de exenatida ($T_{m\acute{a}x}$) fue de 30 min en las ratas que recibieron exenatida subcutánea en comparación

con < 15 min en las ratas que recibieron exenatida inhalada. Este $T_{m\acute{a}x}$ fue similar al de GLP-1/FDKP insuflado (datos no mostrados).

5 En la FIG. 8, se presenta la farmacodinámica comparativa. Estos datos mostraron los cambios en la glucosa en sangre para los cuatro grupos de ensayo. Las excursiones de la glucosa tras el ensayo de tolerancia a la glucosa fueron menores en los animales que recibieron exenatida/FDKP inhalada en comparación con los animales que recibieron exenatida SC. Dado que la exposición a la exenatida fue comparable en ambos grupos (FIG. 7), dichos datos sugieren que el tiempo más corto para alcanzar las concentraciones pico de exenatida en el grupo de exenatida/FDKP proporcionó un mejor control de la glucosa. Además, las excursiones de glucosa fueron comparables en los animales que recibieron bien GLP-1/FDKP o exenatida/FDKP. Estos datos son sorprendentes debido a que la semivida de la exenatida en circulación (89 min) es considerablemente mayor que la del GLP-1 (15 min). De hecho, se desarrolló exenatida para maximizar la semivida en circulación con el fin de aumentar la eficacia. Dichos datos sugieren que la semivida en circulación más larga de la exenatida no ofrece ninguna ventaja en el control de la hiperglucemia al usar la administración pulmonar. Por otra parte, la administración pulmonar de cualquier molécula proporcionó un control de la glucosa en sangre superior al de la exenatida SC.

La FIG. 7 representa las concentraciones medias de exendina en plasma en ratas ZDF macho que recibieron la formulación de exendina-4/FDKP en polvo administrada por insuflación pulmonar en comparación con la exendina-4 subcutánea. Los cuadrados negros representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de exendina-4/FDKP en polvo. Los cuadrados blancos representan la respuesta tras la administración de exendina-4 por vía subcutánea. Los datos se representan como \pm desviación estándar. Los datos muestran que las ratas que recibieron los polvos por insuflación proporcionando dosis de GLP-1 de 0,12; 0,17 y 0,36 mg produjeron concentraciones máximas en plasma de GLP-1 ($T_{m\acute{a}x}$) de 2,3; 4,9 y 10,2 nM y exposiciones (AUC) de 57,1 nM•min, 92,6 nM•min y 227,9 nM•min, respectivamente ($t_{m\acute{a}x} = 10$ min, $t_{1/2} = 10$ min). En un ensayo de tolerancia a la glucosa intraperitoneal llevado a cabo después de 4 días consecutivos de dosificación de 0,3 mg de GLP-1 al día, los animales tratados presentaron concentraciones de glucosa significativamente inferiores a las del grupo de control ($p < 0,05$). A los 30 minutos de la exposición, la glucosa se aumentó en un 47 % en los animales de control, pero solo en un 17 % en los animales tratados.

30 La FIG. 8 representa el cambio en la glucosa en sangre con respecto a la línea basal en ratas ZDF macho que recibieron bien control de aire, exendina-4/FDKP en polvo o GLP-1/FDKP en polvo a través de insuflación pulmonar en comparación con la exendina-4 subcutánea y la exendina-4 administrada por insuflación pulmonar. Los diamantes negros representan la respuesta tras la insuflación pulmonar de exendina-4/FDKP en polvo. Los círculos negros representan la respuesta tras la administración de la exendina-4 subcutánea. Los triángulos negros representan la respuesta tras la administración de GLP-1/FDKP en polvo. Los cuadrados negros representan la respuesta tras la insuflación pulmonar solo de aire. Los cuadrados blancos representan la respuesta dada por 2 mg de GLP-1/FDKP administrados a las ratas por insuflación seguidos de un 2 mg de exendina-4/FDKP en polvo también administrados por insuflación.

40 EJEMPLO 3

Preparación de oxintomodulina/FDKP en polvo

La oxintomodulina, también conocida como el glucagón-37, es un péptido que consiste en 37 restos de aminoácidos. El péptido se fabricó y se adquirió en American Peptide Company, Inc., de Sunnyvale, CA. Se mezclaron partículas de FDKP en suspensión con una solución de oxintomodulina y, a continuación, se sometieron a congelación ultrarrápida en forma de microgránulos en nitrógeno líquido y se liofilizaron, produciéndose polvos de muestra.

Se prepararon seis polvos con un contenido de péptido diana entre el 5 % y el 30 %. El contenido de péptido real determinado por HPLC fue de entre el 4,4 % y el 28,5 %. Las propiedades aerodinámicas del polvo que contenía el péptido al 10 % se analizaron usando el impacto en cascada.

A continuación, se mezcló la solución de FDKP con una solución de ácido acético que contenía polisorbato 80 para formar partículas. Se lavaron las partículas y se concentraron por filtración de flujo tangencial hasta lograr aproximadamente un 11 % de sólidos en peso.

Se pesó la suspensión de partículas de FDKP (1.885 mg x 11,14 % de sólidos = 210 mg de partículas de FDKP) en un vial de vidrio transparente de 4 ml. El vial se tapó y se mezcló usando un agitador magnético para evitar la sedimentación. Se añadió solución de oxintomodulina (909 mg de péptido al 10 % en ácido acético al 2 % en peso) al vial y se dejó mezclar. La proporción de la composición final fue de aproximadamente 30:70 de oxintomodulina:partículas de FDKP. La suspensión de oxintomodulina/FDKP tenía un pH inicial de 4,00, que se ajustó a pH 4,48 mediante la adición de incrementos de 2-10 μ l de hidróxido de amonio/agua 1:4 (v/v). Se sedimentó la suspensión en una pequeña placa de cristalización que contenía nitrógeno líquido. Se colocó la placa en un liofilizador y se liofilizó a 0,026 kPa (200 mTorr). Se elevó la temperatura de almacenamiento de -45 °C a 25 °C a 0,2 °C/min y después se mantuvo a 25 °C durante aproximadamente 10 horas. Se transfirió el polvo resultante a un vial de vidrio transparente de 4 ml. La producción total del polvo después de la transferencia al vial fue de 309 mg

(103 %). Se ensayaron las muestras en cuanto al contenido de oxintomodulina mediante la dilución de la preparación de oxintomodulina en bicarbonato de sodio y ensayando mediante cromatografía líquida de alta presión en un sistema de separación Waters 2695 usando agua desionizada con ácido trifluoroacético (TFA) al 0,1 % y acetonitrilo con TFA al 0,1 % como fases móviles, con la detección de la longitud de onda configurada a 220 y

5 280 nm. Los datos se analizaron usando un programa informático WATERS EMPOWER™.

Evaluación farmacocinética y farmacodinámica en ratas

Se asignaron ratas macho ZDF (10/grupo) a uno de cuatro grupos de ensayo. Los animales de un grupo recibieron oxintomodulina por inyección intravenosa. Los animales de los otros tres grupos recibieron oxintomodulina al

10 5 %/FDKP en polvo (que contenía 0,15 mg de oxintomodulina), oxintomodulina al 15 %/FDKP en polvo (que contenía 0,45 mg de oxintomodulina) o oxintomodulina al 30 %/FDKP en polvo (que contenía 0,9 mg de oxintomodulina) por insuflación pulmonar. Se extrajeron muestras sanguíneas de la cola antes de la dosificación y en diversos puntos temporales después de la dosificación para la medición de las concentraciones de oxintomodulina en plasma (FIG. 9A). El consumo de alimentos también se controló en diversos puntos temporales

15 después de la dosificación de oxintomodulina (Fig. 9B).

La FIG. 9A es un gráfico que compara las concentraciones de oxintomodulina en plasma tras la administración de una formulación de polvo seco inhalable en diversas cantidades en ratas ZDF macho y ratas de control que recibieron oxintomodulina por inyección intravenosa. Dichos datos muestran que la oxintomodulina se absorbe

20 rápidamente tras la insuflación de oxintomodulina/FDKP en polvo. El tiempo transcurrido hasta alcanzarse las concentraciones pico máximas de oxintomodulina en circulación ($T_{máx}$) fue inferior a 15 min en las ratas que recibieron oxintomodulina inhalado. El presente estudio muestra que la semivida de la oxintomodulina es de aproximadamente 22 a aproximadamente 25 min después de la administración pulmonar.

La FIG. 9B es un gráfico de barras que muestra el consumo acumulativo de alimentos en ratas ZDF macho tratadas con oxintomodulina intravenosa u oxintomodulina/FDKP en polvo administrado por insuflación pulmonar en comparación con los animales de control que recibieron una corriente de aire. Los datos muestran que la administración pulmonar de oxintomodulina/FDKP redujo el consumo de alimentos en mayor medida que bien la oxintomodulina intravenosa o el control de aire con una sola dosis.

30 En un conjunto similar de experimentos, las ratas recibieron una corriente de aire como control (Grupo 1) u oxintomodulina al 30 %/FDKP en polvo por insuflación pulmonar. Las ratas que recibieron oxintomodulina/FDKP en polvo para inhalación recibieron dosis bien de 0,15 mg de oxintomodulina (como 0,5 mg de oxintomodulina/FDKP en polvo; Grupo 2), 0,45 mg de oxintomodulina (como 1,5 mg de oxintomodulina/FDKP en polvo, Grupo 3) o 0,9 mg de oxintomodulina (como 3 mg de oxintomodulina/FDKP en polvo, Grupo 4), preparadas como se ha descrito

35 anteriormente. Los estudios se realizaron en ratas ZDF en ayunas durante 24 horas antes del inicio del experimento. Se dejó que las ratas comieran tras recibir la dosis experimental. Se administró una cantidad predeterminada de comida a las ratas y se midió la cantidad de alimento consumida por las ratas en diversos momentos tras el inicio del experimento. Se administró la formulación de oxintomodulina/FDKP en polvo seco a las ratas por insuflación pulmonar, y se realizaron las mediciones de alimento y la extracción de muestras sanguíneas en varios puntos

40 temporales posteriores a la dosificación.

Las FIG. 10A y 10B muestran las concentraciones de oxintomodulina en circulación para todos los animales del ensayo y el cambio en el consumo de alimento con respecto al control, respectivamente. Las ratas que recibieron

45 oxintomodulina consumieron significativamente menos alimento que las ratas de control durante hasta 6 horas después de la dosificación. Las dosis más altas de oxintomodulina parecieron suprimir el apetito más significativamente que las dosis más bajas, lo que indica que la supresión del apetito depende de la dosis, ya que las ratas que recibieron la dosis más alta consumieron la menor cantidad de alimento en todos los puntos temporales medidos tras la dosificación.

50 Las concentraciones máximas de oxintomodulina en sangre se detectaron a los 10 a 30 min y la concentración máxima de oxintomodulina fue dependiente de la dosis, pues las ratas que recibieron 1,5 mg de oxintomodulina tuvieron una concentración en plasma máxima de 311 $\mu\text{g/ml}$ y las ratas que recibieron dosis de 3 mg de oxintomodulina tuvieron una concentración en plasma máxima de 660 $\mu\text{g/ml}$. La semivida ($t_{1/2}$) de oxintomodulina en las ratas Sprague Dawley tras la administración por insuflación pulmonar varió de aproximadamente 25 a 51 min.

EJEMPLO 4

Administración de GLP-1 en un polvo seco inhalable a pacientes diabéticos de tipo 2.

60 Se realizó un ensayo clínico de fase 1 de GLP-1/FDKP en polvo para inhalación en pacientes que padecían diabetes mellitus de tipo 2 para evaluar los niveles de glucosa de los pacientes antes y después del tratamiento con formulación de polvo seco de GLP-1 por inhalación pulmonar. Dichos estudios se realizaron de acuerdo con el Ejemplo 1 y como se ha descrito en el presente documento. Se preparó GLP-1 en polvo para inhalación como se

65 describe en la solicitud de patente de EE.UU. Nº 11/735.957, cuya divulgación se incorpora en el presente documento por referencia. El polvo seco para inhalación contenía 1,5 mg de amida de GLP-1 (7-36) humana en un

total de 10 mg de formulación de polvo seco que contenía FDKP en un cartucho monodosis. Para dicho estudio, se mantuvieron en ayunas 20 pacientes con diabetes de tipo 2, incluyendo hombres adultos y mujeres posmenopáusicas, durante una noche y se mantuvieron en ayunas durante un período de 4 horas después de la administración de GLP-1 en polvo para inhalación. La formulación de polvo seco se administró usando el inhalador de polvo seco MEDTONE® (MannKind Corporation), que se describe en la solicitud de patente de EE.UU. N° 10/655.153, cuya divulgación se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

Se extrajeron muestras sanguíneas para evaluar los niveles de glucosa en suero de los pacientes tratados 30 min antes de la dosificación, en la dosificación (tiempo 0) y aproximadamente 2, 4, 9, 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 240 minutos después de la administración de GLP-1. Se analizaron los niveles de glucosa en suero para cada muestra.

La FIG. 11 es un gráfico que muestra los resultados de dichos estudios y representa los valores de glucosa obtenidos de seis pacientes en ayunas con diabetes de tipo 2 tras la administración de una sola dosis de una formulación de polvo seco inhalable que contenía GLP-1 en diversos puntos temporales. Los valores de glucosa para el total de los seis pacientes disminuyeron tras la administración de GLP-1 y se mantuvieron bajos durante al menos 4 horas después de la administración al finalizar el estudio.

La FIG. 12 es un gráfico que muestra los valores medios de glucosa para el grupo de seis pacientes en ayunas con diabetes de tipo 2 cuyos valores de glucosa se muestran en la FIG. 11. En la FIG. 12, los valores de glucosa se expresan como el cambio medio de los niveles de glucosa desde el punto temporal cero (dosificación) para el total de los seis pacientes. La FIG. 12 muestra que se alcanza una caída de la glucosa media de aproximadamente 1 mmol/l, que equivale aproximadamente a de aproximadamente 18 mg/dl a aproximadamente 20 mg/dl, en el punto temporal de 30 min. Esta caída media en los niveles de glucosa dura 120 minutos. Los cambios son mayores en los sujetos con glucemia basal mayor y más prolongada, mientras que en 2 de los 6 sujetos, los sujetos con la glucosa en sangre en ayunas de la línea basal más baja, solo mostraron una reducción transitoria de los niveles de glucosa en dicha franja temporal (datos no mostrados). Se observó que aquellos con mayor glucosa en ayunas, por lo general, no tienen la misma respuesta de la insulina que los que tienen valores más bajos, por lo que al ser estimulados, los sujetos con mayor glucosa en ayunas, por lo general, presentan una mayor respuesta que aquellos cuyo valor de glucosa es más cercano al normal.

EJEMPLO 5

Modelo de distribución de primer paso de GLP-1 intacto al cerebro y al hígado

Se calculó la distribución de primer paso de GLP-1 a través de la circulación sistémica después de la administración pulmonar y la administración de bolo intravenoso para determinar la eficacia de la administración para ambos métodos de administración de GLP-1. Se desarrolló un modelo basado en las siguientes premisas: (1) la absorción de GLP-1 desde los pulmones y en las venas pulmonares presentó una cinética de orden cero; (2) la distribución de GLP-1 hacia el cerebro y en el cerebro se produce instantáneamente; y (3) la eliminación de GLP-1 de la distribución cerebral y hepática está impulsada solo por el flujo de sangre basal. Partiendo de dichas premisas, el análisis para determinar la cantidad de GLP-1 en el cerebro y el hígado se basó en los datos publicados con respecto a la extracción de GLP-1 por ciertos tejidos y órganos (Deacon, C. F. *et al.* "Glucagon-like peptide 1 undergoes differential tissue-specific metabolism in the anesthetized pig". American Physiological Society, 1996, páginas E458-E464), y la distribución del flujo sanguíneo en el organismo y la velocidad debida al gasto cardiaco de estudios en seres humanos ("Guyton Textbook of Physiology", X edición; W. B. Saunders, 2000, página 176). En un sujeto normal (70 kg) que tiene parámetros fisiológicos normales tales como la presión arterial en reposo, el caudal basal hacia el cerebro y el hígado es de 700 ml/min y 1.350 ml/min, respectivamente. Basándose en el gasto cardiaco, la distribución del flujo sanguíneo por el organismo se ha calculado en un 14 % para el cerebro, un 27 % para el hígado y un 59 % para el resto de los tejidos corporales (Guyton).

Con el uso de los parámetros anteriormente mencionados, se determinaron las cantidades relativas de GLP-1 que se distribuirían por el cerebro y el hígado para una dosis de 1 mg administrada por vía pulmonar e intravenosa. Se dividió un mg de GLP-1 entre 60 segundos, y el número resultante se multiplicó por la distribución del flujo del 14 % para el cerebro. Por lo tanto, cada segundo, aparece una fracción de la dosis en el cerebro. A partir de los datos disponibles que indican que la sangre del cerebro equivale a 150 ml y la velocidad de eliminación es de 700 ml/min, los cálculos de liquidación de GLP-1 producen aproximadamente 12 ml/segundo, lo que equivale a aproximadamente al 8 % del volumen sanguíneo eliminado del cerebro por segundo. En los estudios intravenosos en cerdos publicados por Deacon *et al.*, el 40 % del GLP-1 se metabolizó de forma instantánea en la vena y el 10 % también se metabolizó en la sangre desoxigenada del pulmón. Por consiguiente, se restó el 40 % seguido de otro 10 % del GLP-1 total de la cantidad total administrada en los cálculos con respecto al análisis de datos intravenosos.

Para las cantidades de GLP-1 estimadas en el hígado, se adoptaron las mismas premisas de degradación para las vías de administración intravenosa y pulmonar, con un 40 %, seguido de otra pérdida de la cantidad total del 10 % para la dosis IV. Se supuso que el veintisiete por ciento del GLP-1 restante se distribuyó hacia el hígado, pasando el 75 % de la sangre primero a través del lecho de la vena porta. Se supuso una distribución instantánea de la sangre en el hígado. Los cálculos fueron los siguientes: se dividió un mg de GLP-1 entre 60 segundos, se restó el 40 %,

seguido de otro 10 % del GLP-1 total de la cantidad total administrada con respecto al análisis de datos intravenosos. Se supuso una degradación nula para la administración pulmonar. Los números resultantes se multiplicaron por la distribución del flujo del 27 % en el hígado, por ambas vías de administración, pasando el 75 % de dichas cantidad primero a través del lecho de la vena porta. En los estudios intravenosos en cerdos publicados por Deacon *et al*, se informó de un 20 % de extracción por el lecho de la vena porta.; por lo tanto, el 75 % de la cantidad de GLP-1 se redujo en un 20 % antes de introducirse en el hígado. Por lo tanto, la cantidad total de GLP-1 que aparece en el hígado cada segundo se compone de una fracción que se ha sometido al metabolismo en el lecho de la vena porta. A partir de los datos disponibles que indican que el volumen sanguíneo del hígado equivale a 750 ml y la velocidad de eliminación es de 1.350 ml/minuto, los cálculos de eliminación de GLP-1 producen aproximadamente 22,5 ml/segundo, lo que equivale a la eliminación de aproximadamente el 3 % del volumen sanguíneo del hígado por segundo. Deacon *et al*. informaron de una degradación del 45 % en el hígado, por consiguiente, se restó el 45 % del GLP-1 total de la cantidad total que aparece en el hígado, y el resto se sumó a la cantidad total restante.

15 Los resultados de los cálculos descritos anteriormente se presentan en las Tablas 4 y 5. A continuación, se muestra la distribución calculada de GLP-1 en el cerebro y el hígado después de la administración pulmonar (Tabla 4):

Tabla 4. Administración pulmonar de 1 mg de GLP-1

Tiempo en segundos	Cerebro (µg)	Hígado (µg)
1	2,3	2,10
5	9,94	9,91
60	29,0	58,9

20 En la siguiente Tabla 5, se muestran los resultados que ilustran la distribución de GLP-1 después de una administración en bolo intravenoso:

Tabla 5. Administración en bolo intravenoso de 1 mg de GLP-1 durante 1 minuto

Tiempo en segundos	Cerebro (µg)	Hígado (µg)
1	1,26	1,14
5	5,37	5,35
60	15,6	31,7

25 Los datos anteriores son ejemplos representativos de la distribución de GLP-1 hacia tejidos específicos del organismo tras la degradación de GLP-1 por enzimas endógenas. En base a las determinaciones anteriores, las cantidades de GLP-1 en el cerebro y el hígado tras la administración pulmonar son de aproximadamente 1,82 a aproximadamente 1,86 veces superiores a las cantidades de GLP-1 tras la administración intravenosa en bolo. Por lo tanto, los datos indican que la administración pulmonar de GLP-1 puede ser una vía más eficaz de administración en comparación con la administración intravenosa de GLP-1, pues la cantidad de GLP-1 en diversos momentos posteriores a la administración sería de aproximadamente el doble de la cantidad obtenida con la administración intravenosa. Por lo tanto, el tratamiento de una enfermedad o un trastorno que comprende GLP-1 mediante la administración pulmonar requeriría cantidades totales inferiores, o casi la mitad de la dosis intravenosa de GLP-1 que se requiere para producir los mismos o similares efectos.

EJEMPLO 6

Los estudios del presente ejemplo se realizaron para medir los parámetros farmacocinéticos de varios agentes activos mediante la administración subcutánea y en formulaciones que comprenden una FDKP, sal disódica de FDKP, DKP sustituida con succinilo (SDKP, también denominada en el presente documento Compuesto 1) o DKP monosustituida con fumarilo asimétrica (también denominada en el presente documento Compuesto 2) a ratas ZDF administradas por insuflación pulmonar. Se dividieron las ratas en 8 grupos y se asignaron cinco ratas a cada grupo. Cada rata del Grupo 1 recibió una dosis de 0,3 mg de exendina-4 en solución salina tamponada con fosfato mediante la instilación de líquido pulmonar; el Grupo 2 recibió 0,3 mg de exendina-4 en solución salina tamponada con fosfato por inyección subcutánea.

Las ratas de los Grupos 3-8 recibieron su dosis de agente activo o exendina-4 por insuflación pulmonar de la siguiente manera: las ratas del Grupo 3 recibieron una formulación de 2 mg de GLP-1/FDKP por insuflación pulmonar, seguidos de una dosis de 2 mg de exendina-4; el Grupo 4 recibió una formulación de exendina-4/FDKP; las ratas del Grupo 5 recibieron una dosis de 3 mg de exendina-4 formulada como una carga del 9,2 % en una sal disódica de FDKP; las ratas del Grupo 6 recibieron una dosis de 2 mg de exendina-4 formulada como una carga del 13,4 % en una sal disódica de FDKP; las ratas del Grupo 7 recibieron una dosis de 2 mg de exendina-4 formulada como una carga del 14,5 % en SDKP, y las ratas del Grupo 8 recibieron una dosis de 2 mg de exendina-4 formulada como una carga del 13,1 % en DKP monosustituida con fumarilo asimétrica .

La dosificación de los animales se produjo en el transcurso de dos días para abarcar el gran número de sujetos. Se administraron los diversos artículos de ensayo a los animales y se tomaron muestras sanguíneas en distintos momentos después de la dosificación. Se midieron las concentraciones de exendina-4 en aislados de plasma; cuyos resultados se proporcionan en la FIG. 13. Como se muestra en el gráfico, las ratas tratadas del Grupo 4, que recibieron exendina-4 en una formulación que contenía FDKP, presentaron altos niveles de exendina-4 en sangre antes de 30 min y a niveles más altos que las ratas del Grupo 2, que recibieron exendina-4 por vía subcutánea. En todos los grupos, los niveles de exendina-4 disminuyeron bruscamente en aproximadamente una hora después de la administración.

La administración de exendina-4/FDKP por insuflación pulmonar en ratas ZDF tiene $C_{m\acute{a}x}$ normalizada con respecto a la dosis, AUC y biodisponibilidad similares a la exendina-4 administrada como una inyección subcutánea. La exendina-4/FDKP administrada por insuflación pulmonar mostró una semivida mayor del doble en comparación con la exendina-4 por inyección subcutánea. La exendina-4 administrada como en forma de una DKP monosustituida con fumarilo o una formulación de SDKP mostró $C_{m\acute{a}x}$ normalizada con respecto a la dosis, AUC y biodisponibilidad inferiores a las observadas con la inyección subcutánea (aproximadamente un 50 % inferiores), pero niveles más altos que la instilación pulmonar.

Tras una noche de ayunas, las ratas ZDF fueron sometidas a una provocación de glucosa mediante inyección intraperitoneal (IPGTT). El tratamiento con exendina-4/FDKP mostró una mayor reducción de los niveles de glucosa en sangre después de la IPGTT en comparación con la exendina-4 por vía subcutánea. En comparación con los animales de control de aire, los niveles de glucosa en sangre se redujeron significativamente tras una IPGTT durante 30 y 60 min en los animales que recibieron exendina-4 mediante inyección subcutánea y exendina-4/FDKP en polvo mediante administración pulmonar, respectivamente. Las ratas ZDF del Grupo 3 tratadas con exendina-4/FDKP y GLP-1 por insuflación pulmonar tras el tratamiento con la administración de glucosa intraperitoneal (IPGTT), sorprendentemente, mostraron niveles inferiores de glucosa en sangre tras la IPGTT en comparación con cualquier tratamiento solo a los 30 min de la dosis (-28 % frente al -24 %).

EJEMPLO 7

Los estudios del presente ejemplo se realizaron para medir el perfil farmacocinético y farmacodinámico de formulaciones de péptido YY (3-36) por administración pulmonar a ratas ZDF en comparación con las inyecciones intravenosas.

Preparación de la formulación de PYY/FDKP para la administración pulmonar: el péptido YY (3-36) (PYY) usado en los presentes experimentos se obtuvo en American Peptide y se adsorbió sobre partículas de FDKP en función del pH. Se preparó una solución madre de péptido al 10 % pesando 85,15 mg de PYY en un vial transparente de 8 ml y añadiendo ácido acético acuoso al 2 % hasta un peso final de 762 mg. Se mezcló el péptido suavemente hasta obtener una solución transparente. Se añadió suspensión de FDKP (4.968 mg, que contenía 424 mg de partículas de FDKP preformadas) al vial que contenía la solución de PYY, formándose una suspensión de partículas de PYY/FDKP. Se colocó la muestra en una placa con agitador magnético y se mezcló bien durante todo el experimento. Se usó un microelectrodo de pH para monitorizar el pH de la mezcla. Se usaron alícuotas de 2-3 μ l de una solución acuosa de amoniaco al 14-15 % para aumentar en incrementos el pH de la muestra. Se retiraron volúmenes de muestra (75 μ l para el análisis del sobrenadante; 10 μ l de suspensión) a cada punto de pH. Se transfirieron las muestras para el análisis de sobrenadante a tubos de 1,5 ml con filtro de 0,22 μ m y se centrifugaron. Se transfirieron la suspensión y las muestras de sobrenadante filtrado a viales de un muestreador automático de HPLC que contenían 990 μ l de solución de bicarbonato de sodio 50 mM. Se analizaron las muestras diluidas por HPLC para evaluar las características de las preparaciones. Los experimentos indicaron que, por ejemplo, se puede adsorber un 10,2 % de la solución de PYY sobre partículas de FDKP a pH 4,5. En dicha preparación particular, por ejemplo, el contenido de PYY del polvo resultante se determinó por HPLC, resultando ser del 14,5 % (p/p). Las mediciones en cascada de las características aerodinámicas del polvo mostraron una fracción respirable del 52 % con un cartucho del 98 % que se vaciaba al descargarse a través del inhalador de polvo seco MEDTONE® (MannKind Corporation). En base a los resultados anteriores, se realizaron múltiples preparaciones de muestras de PYY/FDKP en polvo, incluyendo, PYY al 5 %, 10 %, 15 % y 20 %.

Estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos: en los presentes experimentos, se usaron ratas ZDF hembra y se dividieron en 7 grupos; se asignaron cinco ratas a cada grupo, excepto al Grupo 1, que tenía 3 ratas. Se mantuvieron las ratas en ayunas durante 24 horas antes de administrarles la dosis asignada y se les proporcionó comida inmediatamente después de la dosificación, dejando que comieran a voluntad durante el período del experimento. Cada rata del Grupo 1 recibió una dosis IV de 0,6 mg de PYY en solución salina tamponada con fosfato; las ratas del Grupo 2 recibieron 1,0 mg de PYY de instilación de líquido pulmonar; las ratas del Grupo 3 fueron designados como el control, y recibieron una corriente de aire; las ratas de los Grupos 4-7 recibieron una formulación de polvo seco para inhalación administrada por insuflación pulmonar de la siguiente manera: las ratas del Grupo 4 recibieron 0,15 mg de PYY en una formulación en polvo de 3 mg de PYY/FDKP de carga de PYY al 5 % (p/p); las ratas del Grupo 5 recibieron 0,3 mg de PYY en una formulación en polvo de 3 mg de PYY/FDKP de una carga de PYY al 10 % (p/p); las ratas del Grupo 6 recibieron 0,45 mg de PYY en una formulación en polvo de 3 mg

de PYY/FDKP de carga de PYY al 15 % (p/p); las ratas del Grupo 7 recibieron 0,6 mg de PYY en una formulación en polvo de 3 mg de PYY/FDKP de carga de PYY al 20 % (p/p).

Se midió el consumo de alimento de cada rata a los 30, 60, 90, 120 y 240 min, y a las 24 h de la dosificación. Se determinaron las concentraciones de PYY en plasma y las concentraciones de glucosa para cada rata a partir de muestras de sangre tomadas de las ratas antes de la dosificación y a los 5, 10, 20, 30, 45, 60 y 90 min de la dosificación. Los resultados de dichos experimentos se muestran en las FIG. 14-16 y en la siguiente Tabla 6. La FIG. 14 es un gráfico de barras de los datos representativos de los experimentos que miden el consumo de alimento en ratas ZDF hembras que recibieron formulaciones de PYY mediante administración intravenosa y administración pulmonar en una formulación que comprendía una fumaril-dicetopiperazina a diversas dosis. Los datos muestran que el consumo de alimento se redujo para todas las ratas tratadas con PYY en comparación con el control, a excepción del Grupo 2, que recibió PYY por instilación. La reducción del consumo de alimento por parte de las ratas fue estadísticamente significativa para las ratas tratadas por insuflación pulmonar a los 30, 60, 90 y 120 min de la dosificación de PYY en comparación con el control. Los datos en la FIG. 14 también muestran que mientras que la administración IV (Grupo 1) es relativamente eficaz en la reducción del consumo de alimento en las ratas, la misma cantidad de PYY (0,6 mg) administrada por vía pulmonar en una formulación de FDKP (Grupo 7) fue más eficaz en la reducción de la cantidad de ingesta de alimentos o la supresión del apetito durante un período de tiempo más prolongado. Todas las ratas tratadas con PYY que recibieron PYY-FDKP en polvo por vía pulmonar consumieron menos alimento en comparación con los controles.

La FIG. 15 muestra los niveles de glucosa en sangre medidos en las ratas ZDF hembra que recibieron formulaciones de PYY por administración IV; por administración pulmonar con diversas formulaciones que comprendían una fumaril-dicetopiperazina y las ratas de control de aire. Los datos indican que los niveles de glucosa en sangre de las ratas tratadas con PYY por insuflación pulmonar se mantuvieron relativamente similares a los controles, excepto para las ratas del Grupo 1, que fueron tratadas con PYY IV. Las ratas del Grupo 1 mostraron un nivel de glucosa en sangre inicial inferior en comparación con las otras ratas hasta aproximadamente 15 min después de la dosificación.

La FIG 16 representa los datos representativos de los experimentos que miden la concentración de PYY en plasma en las ratas ZDF hembra que recibieron formulaciones de PYY mediante administración IV; por administración pulmonar con diversas formulaciones que comprendían una fumaril-dicetopiperazina, y las ratas de control de aire tomadas en diversos momentos después de la administración. Dichas mediciones también se representan en la Tabla 6. Los datos muestran que las ratas del Grupo 1 que recibieron PYY IV alcanzaron una concentración de PYY en plasma más alta (30,7 µg/ml) que las ratas tratadas por insuflación pulmonar. La concentración pico en plasma ($T_{m\acute{a}x}$) para PYY fue de aproximadamente 5 min para las ratas de los Grupos 1, 6 y 7, y de 10 min para las ratas del Grupo 2, 4 y 5. Los datos muestran que todas las ratas tratadas por insuflación pulmonar con una formulación de PYY/FDKP resultaron tener cantidades mensurables de PYY en sus muestras de plasma, sin embargo, las ratas del Grupo 7 resultaron tener la mayor concentración de PYY en plasma (4,9 µg/ml) y los valores se mantuvieron más altos que los otros grupos hasta aproximadamente 35 min después de la dosificación. Los datos también indican que la concentración de PYY en plasma administrada por insuflación pulmonar depende de la dosis. Aunque la administración por inyección IV condujo a una mayor concentración en plasma venoso de PYY que la administración pulmonar de PYY/FDKP a las dosis usadas, se logró la mayor supresión del consumo de alimento con la administración pulmonar de PYY/FDKP.

Tabla 6

Número de grupo de ratas	$T_{1/2}$ (min)	$T_{m\acute{a}x}$ (min)	$C_{m\acute{a}x}$ (µg/ml)	AUC todos/D (min/ml)	BA (%)
1	13	5	30,7	0,61	100 %
2	22	10	1,7	0,06	11
4	23	10	0,51	0,10	16
5	30	10	1,33	0,15	25
6	26	5	2,79	0,20	33
7	22	5	4,90	0,22	36

La FIG. 17 ilustra la eficacia del presente sistema de administración de fármacos medida para varios agentes activos, incluyendo la insulina, la exendina, la oxintomodulina y el PYY, y ejemplificada en el presente documento. En concreto, la FIG. 17 demuestra la relación entre la exposición al fármaco y el efecto biológico del sistema de administración de fármacos pulmonar en comparación con la administración IV y SC de los agentes activos anteriormente mencionados. Los datos de la FIG. 17 indican que el presente sistema de administración de fármacos pulmonar proporciona un mayor efecto biológico con cantidades menores de exposición al fármaco que la administración intravenosa o subcutánea. Por lo tanto, se pueden requerir menores cantidades de exposición al fármaco para obtenerse un efecto similar o superior de un fármaco deseado en comparación con las terapias convencionales. Por lo tanto, en una realización, un método de administración de un agente activo, incluyendo péptidos tales como GLP-1, oxintomodulina, PYY, para el tratamiento de enfermedades, incluyendo la diabetes, la hiperglucemia y la obesidad comprende administrar a un sujeto en necesidad de un tratamiento una formulación inhalable que comprende uno o más agentes activos y una dicetopiperazina mediante el que se observa un efecto

terapéutico con una menor exposición al agente activo de la necesaria para lograr un efecto similar con otros modos de administración. En una realización, los agentes activos incluyen péptidos, proteínas, lipoquinas.

EJEMPLO 8

5

Evaluación de la actividad de GLP-1 en la diabetes mellitus de tipo 2 postprandial

El fin del presente estudio era evaluar el efecto de una formulación de polvo seco de GLP-1 sobre la concentración de glucosa postprandial y evaluar su seguridad, incluyendo los hechos adversos, la actividad de GLP-1, la respuesta a la insulina y la evacuación gástrica.

10

Diseño experimental: el estudio se dividió en dos períodos y se incluyeron 20 pacientes diagnosticados de diabetes de tipo 2 con edades comprendidas entre los 20 y 64 años. El período 1 fue un ensayo de etiqueta descubierta, de una sola dosis, en el que 15 de los pacientes recibieron una formulación de polvo seco que comprendía 1,5 mg de GLP-1 en FDKP administrada después de haber ayunado durante la noche. Como control, 5 sujetos recibieron FDKP en polvo para inhalación después de ayunar durante la noche. El período 2 se realizó tras completarse el período 1. En esta parte del estudio, los pacientes recibieron 4 tratamientos secuenciales, cada uno con un desafío de comida que consistía en 475 Kcal y se marcaron con ^{13}C -octanoato como marcador. El estudio se diseñó como un estudio de desafío de comida, cruzado, de doble ciego, de doble simulación, en el que se administraron solución salina como control y exenatida en forma de inyección 15 minutos antes de una comida, y se administraron formulaciones de polvo seco de GLP-1 inhalable o placebo que consistía en una formulación de polvo seco sin GLP-1 inmediatamente antes de la comida y se repitió 30 minutos después de la comida. Los cuatro tratamientos fueron los siguientes: el tratamiento 1 consistió en todos los pacientes que recibieron un placebo de 1,5 mg de formulación de polvo seco sin GLP-1. En el tratamiento 2, todos los pacientes recibieron una dosis de 1,5 mg de GLP-1 en una formulación de polvo seco que comprendía FDKP. En el tratamiento 3, todos los pacientes recibieron dos dosis de 1,5 mg de GLP-1 en una formulación de polvo seco que comprendía FDKP, una dosis inmediatamente antes de la comida y una dosis 30 minutos después de la comida. En el tratamiento 4, los pacientes recibieron 10 μg de exenatida por inyección subcutánea. Se tomaron muestras de sangre de cada paciente en diversos momentos antes y después de la dosificación, y se analizaron en cuanto a varios parámetros, incluyendo la concentración de GLP-1, la respuesta de insulina, la concentración de glucosa y la evacuación gástrica. Los resultados del presente estudio se representan en las FIG. 18-20.

15

20

25

30

La FIG. 18 representa los niveles medios de GLP-1 en sangre por grupo de tratamiento como se ha descrito anteriormente. Los datos demuestran que los pacientes que recibieron la formulación de polvo seco que comprendía 1,5 mg de GLP-1 en FDKP tenían niveles significativamente más altos de GLP-1 en sangre poco después de la administración como se muestra en los grupos A, B y C, y que los niveles de GLP-1 disminuyeron notablemente después de la administración en individuos alimentados o en ayunas. No hubo niveles medibles de GLP-1 en el grupo tratado con exenatida (Grupo D) ni en los controles (Grupo E) que recibieron la formulación de polvo seco.

35

La FIG. 19 representa los niveles de insulina de los pacientes en el estudio antes o después del tratamiento. Los datos muestran que se produjo insulina endógena en todos los pacientes después del tratamiento incluyendo los pacientes tratados con placebo en los estudios de desafío de alimento (Grupo B), a excepción de los pacientes del grupo de control en ayunas (Grupo C), que recibieron el placebo. Sin embargo, la respuesta de la insulina fue más significativa en los pacientes que recibieron GLP-1 en una composición de polvo seco que comprendía FDKP, en los que la respuesta de la insulina se observó inmediatamente después del tratamiento en los grupos tanto alimentados como en ayunas (grupos D-F). En los sujetos en ayunas, la liberación pico media de insulina endógena fue de aproximadamente 60 $\mu\text{U}/\text{ml}$ después de la administración de GLP-1 por vía pulmonar (Grupo E). Los resultados también mostraron que los niveles de glucosa se redujeron en los pacientes tratados con la formulación de polvo seco de GLP-1. La administración de la formulación de polvo seco de GLP-1 resultó en un aumento retardado de la glucosa en sangre y una reducción de la exposición global (AUC) a la glucosa. Tanto el aumento retardado como la exposición reducida fueron más pronunciados en los sujetos que recibieron una segunda administración de GLP-1 en polvo para inhalación (datos no mostrados). La magnitud de la liberación de insulina varió entre los pacientes, mostrando algunos niveles bajos pero fisiológicamente relevantes de insulina, mientras que otros presentaron liberaciones de insulina mucho mayores. A pesar de la diferencia en la respuesta de la insulina entre los pacientes, la respuesta de la glucosa fue similar. Esta diferencia en la respuesta de la insulina puede reflejar las variaciones en el grado de resistencia a la insulina y la progresión de la enfermedad. La evaluación de dicha respuesta se puede usar como un indicador de diagnóstico de la progresión de la enfermedad, indicando las liberaciones mayores (que carecían de una mayor eficacia en el control de los niveles de glucosa en sangre) una mayor resistencia a la insulina y la progresión de la enfermedad.

40

45

50

55

60

La FIG. 20 representa el porcentaje de evacuación gástrica por grupos de tratamiento. Los pacientes del Grupo A (pacientes con tratamiento 3) y del Grupo B (pacientes con tratamiento 2) tuvieron características o porcentajes de evacuación gástrica similares a los pacientes de control que se muestran en el Grupo D (pacientes tratados con placebo de una formulación de polvo seco que comprendía FDKP sin GLP-1). Los datos también muestran que los pacientes tratados con exenatida incluso a una dosis de 10 μg mostraron un retraso o una inhibición significativa de la evacuación gástrica en comparación con los controles. Más del 90 % del ^{13}C del ^{13}C -octanoato ingerido no fue

65

absorbido en el organismo 4 horas después de la comida. Por el contrario, menos del 60 % del ^{13}C -octanoato ingerido no fue absorbido en pacientes tratados con GLP-1/FDKP inhalado a las 4 horas después de la comida. Los datos también demuestran que el presente sistema de administración de agentes activos que comprende FDKP y GLP-1 carece de la inhibición de la evacuación gástrica; induce una liberación rápida de insulina después de la administración de GLP-1 y causa una reducción de los niveles de AUC de la glucosa.

EJEMPLO 9

La respuesta a la administración de GLP-1 depende de los niveles de glucosa de la línea basal

En el presente ejemplo, se presentan los datos de los estudios presentados en los Ejemplos 1 y 8 descritos anteriormente, en los que se administró GLP-1 a sujetos normales en ayunas, y a sujetos con diabetes de tipo 2 (DMT2). Todos los sujetos eran no fumadores con una función pulmonar normal. Los sujetos recibieron 1,5 mg de GLP-1 en una formulación que comprendía FDKP por inhalación mientras estaban en ayunas. En el primer estudio, 6 sujetos normales recibieron GLP-1. En el segundo estudio, 15 sujetos con DMT2 recibieron GLP-1 y 5 sujetos con DMT2 recibieron placebo. Se midieron los niveles de glucosa en sangre en todos los sujetos como se describe en los Ejemplos 1 y 8 anteriores, y los datos se presentan en la FIG. 21.

En sujetos normales, los controles mostraron niveles de glucosa de la línea basal que variaron de aproximadamente 4 mmol/l a aproximadamente 5 mmol/l durante todo el experimento. El GLP-1 administrado por inhalación produjo una reducción transitoria de la glucosa de 0,8 mmol/l. Los niveles mínimos de glucosa se produjeron aproximadamente 15 minutos después de la inhalación de la formulación de GLP-1. Tras la reducción de los niveles de glucosa, los niveles de glucosa volvieron a los niveles de la línea basal por 1 h. La duración de la respuesta fue mucho más prolongada que el $t_{1/2}$ de GLP-1 (≤ 2 min).

La respuesta de GLP-1 en sujetos con DMT2 dependió de la concentración de glucosa en sangre. De los 15 sujetos con DMT2 que recibieron GLP-1, 11 tuvieron concentraciones de glucosa en plasma de la línea basal (BIGlu) superiores a 9 mmol/l y 4 tuvieron BIGlu inferior a 9 mmol/l. Los sujetos con niveles de glucosa en sangre inferiores a 9 mmol/l tuvieron una disminución media máxima de 0,75 mmol/l. El tiempo para alcanzar el mínimo fue de aproximadamente media hora. Aunque los valores de glucosa se reestablecieron, no habían alcanzado los niveles basales después de 4 horas. Los sujetos con niveles de glucosa en sangre superiores a 9 mmol/l tuvieron una reducción de 1,2 mmol/l de la glucosa. La duración de la respuesta fue más prolongada, ya que el mínimo se produjo 45 minutos después de la inhalación, sin restablecerse de los niveles mínimos. Los sujetos tratados con placebo no tuvieron ningún cambio en la glucosa durante las 2 primeras horas después de la inhalación.

Los datos muestran que la inhalación de GLP-1 en una formulación que comprende una dicetopiperazina produce un pico o aumento pronunciado de la insulina en plasma en los sujetos ensayados, lo que indica la producción de insulina endógena en las células β pancreáticas. Este rápido impulso de insulina puede producir una reducción de larga duración y más pronunciada en la concentración de glucosa en plasma en sujetos con DMT2 que tengan niveles más elevados de glucosa en plasma en ayunas.

Los valores numéricos expuestos en los ejemplos específicos se presentan con la mayor exactitud posible. Sin embargo, cualquier valor numérico contiene de forma inherente ciertos errores que se producen necesariamente como consecuencia de la desviación estándar encontrada en sus respectivas mediciones de ensayo.

Los términos "un", "una", "uno", "el", "la", "los" y los referentes similares usados en el contexto de la descripción de la invención (especialmente, en el contexto de las siguientes reivindicaciones) se deben interpretar que incluyen tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o lo contradiga claramente el contexto. La citación de intervalos de valores en el presente documento solo pretende servir como un método abreviado para referirse individualmente a cada valor por separado perteneciente al intervalo. A menos que se indique lo contrario en el presente documento, cada valor individual se incorpora en la memoria descriptiva como si se citara individualmente en el presente documento. Todos los métodos descritos en el presente documento se pueden realizar por cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en el presente documento o lo contradiga claramente el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o expresión ilustrativa (por ejemplo, "tal como") proporcionado en el presente documento simplemente pretende aclarar mejor la invención, y no plantea una limitación al alcance de la invención reivindicada de otro modo. Ninguna expresión de la memoria descriptiva se debería interpretar como indicadora de un elemento no reivindicado esencial para la práctica de la invención.

Las agrupaciones de elementos o realizaciones alternativos de la invención desveladas en el presente documento no deben interpretarse como limitaciones.

En el presente documento, se describen ciertas realizaciones de la presente invención, incluyendo el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la misma. Por supuesto, las variaciones de dichas realizaciones descritas serán evidentes para los expertos habituales en la materia tras la lectura de la descripción anterior.

Como se desvela en el presente documento, la expresión de transición “que consiste en” excluye cualquier elemento, etapa o ingrediente no especificado; la expresión de transición “que consiste esencialmente en” limita el alcance a los materiales o las etapas especificados y a aquellos que no afectan de manera material a la/s característica/s básica/s y nueva/s.

5

Listado de secuencias

10 <110> MannKind Corporation
Costello, Donald
Richardson, Peter
Baughman, Robert A.
Marino, Mark T.

15 <120> Método de tratamiento de la hiperglucemia con GLP-1

<130> 1951300-00113

20 <140> PCTUS1020448
<141> 08-01-2010

<150> 61/143.358 <151> 08-01-2009

<150> 12/258.340 <151> 24-10-2008

25 <150> 60/982.368 <151> 24-10-2007

<150> 60/985.620 <151> 05-11-2007

30 <150> 61/033.740 <151> 04-03-2008

<160>2

<170> PatentIn versión 3.5

35 <210> 1
<211>31
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

40 <400> 1

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

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

45 <210>2
<211> 30
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 2

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly

1 5 10 15

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

5 <110> MannKind Corporation
Costello, Donald
Richardson, Peter

Baughman, Robert A.
Marino, Mark T.

10 <120> Método de tratamiento de la hiperglucemia con GLP-1

<130> 1951300-00113

15 <150> 61/143.358 <151> 08-01-2009

<150> 12/258.340 <151> 24-10-2008

<150> 60/982.368 <151> 24-10-2007

20 <150> 60/985.620 <151> 05-11-2007

<150> 61/033.740 <151> 04-03-2008

25 <160>2

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211>31

30 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

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

35 <210> 2

<211> 30

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

40 <400>2

ES 2 529 100 T3

His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

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

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una formulación de polvo seco inhalable para su uso en el tratamiento de la hiperglucemia, en donde la formulación se administra a un sujeto humano que tiene una concentración de glucosa en sangre en ayunas superior a 9 mmol/l y la formulación comprende micropartículas de entre 0,5 µm y 100 µm de diámetro que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) y una dicetopiperazina.
- 10 2. La formulación de polvo seco inhalable para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el sujeto es un mamífero que tiene diabetes mellitus de tipo 2.
- 15 3. La formulación de polvo seco inhalable para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la formulación de polvo seco inhalable comprende GLP-1 en una cantidad de 0,02 mg a 3 mg de GLP-1 en la formulación.
- 20 4. La formulación de polvo seco inhalable para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la formulación de polvo seco inhalable comprende además un inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV).
- 25 5. La formulación de polvo seco inhalable para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la dicetopiperazina es 2,5-diceto-3,6-di(4-X-aminobutil)piperazina, en la que X se selecciona del grupo que consiste en succinilo, glutarilo, maleílo y fumarilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
6. La formulación de polvo seco inhalable para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la molécula de GLP-1 se selecciona del grupo que consiste en GLP-1 nativo, un metabolito de GLP-1, un análogo de GLP-1, un derivado de GLP-1, un análogo de GLP-1 de acción prolongada, un mimético de GLP-1, un análogo peptídico de GLP-1 o un análogo de GLP-1 biosintético, o combinaciones de los mismos, y en la que dicha molécula de GLP-1 tiene al menos una actividad biológica de GLP-1 nativo.
7. La formulación de polvo seco inhalable para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el sujeto humano es un paciente diabético de tipo 2 y en donde la formulación es para administración pulmonar.
- 30 8. La formulación de polvo seco inhalable para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde los niveles de glucosa se van a reducir en 0,1 mmol/l a 3 mmol/l durante un período de aproximadamente cuatro horas después de la administración de dicha formulación inhalable a dicho paciente diabético de tipo 2.
- 35 9. La formulación de polvo seco inhalable para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la formulación inhalable se va a administrar a dicho paciente diabético de tipo 2 prandial, preprandial o postprandialmente, o en ayunas.
- 40 10. La formulación de polvo seco inhalable para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la formulación de GLP-1 comprende de 0,02 mg a 3 mg de GLP-1 en la formulación.
- 45 11. La formulación de polvo seco inhalable para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la dicetopiperazina es 2,5-diceto-3,6-di(4-X-aminobutil)piperazina, en la que X se selecciona del grupo que consiste en succinilo, glutarilo, maleílo y fumarilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo
12. La formulación de polvo seco inhalable para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que el paciente diabético de tipo 2 tiene un nivel de glucosa en sangre en ayunas superior a 10 u 11 mmol/l.

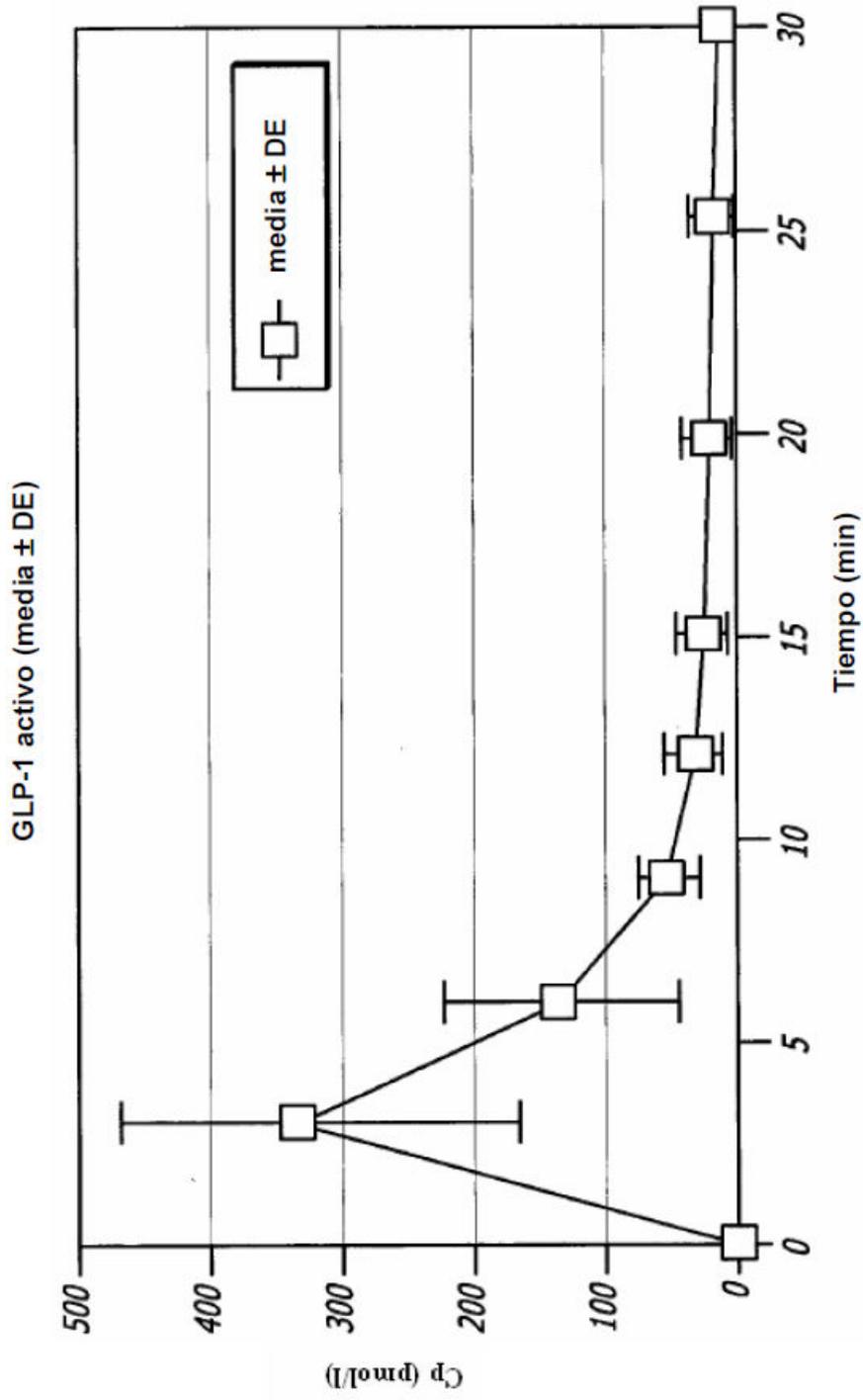


FIG. 1

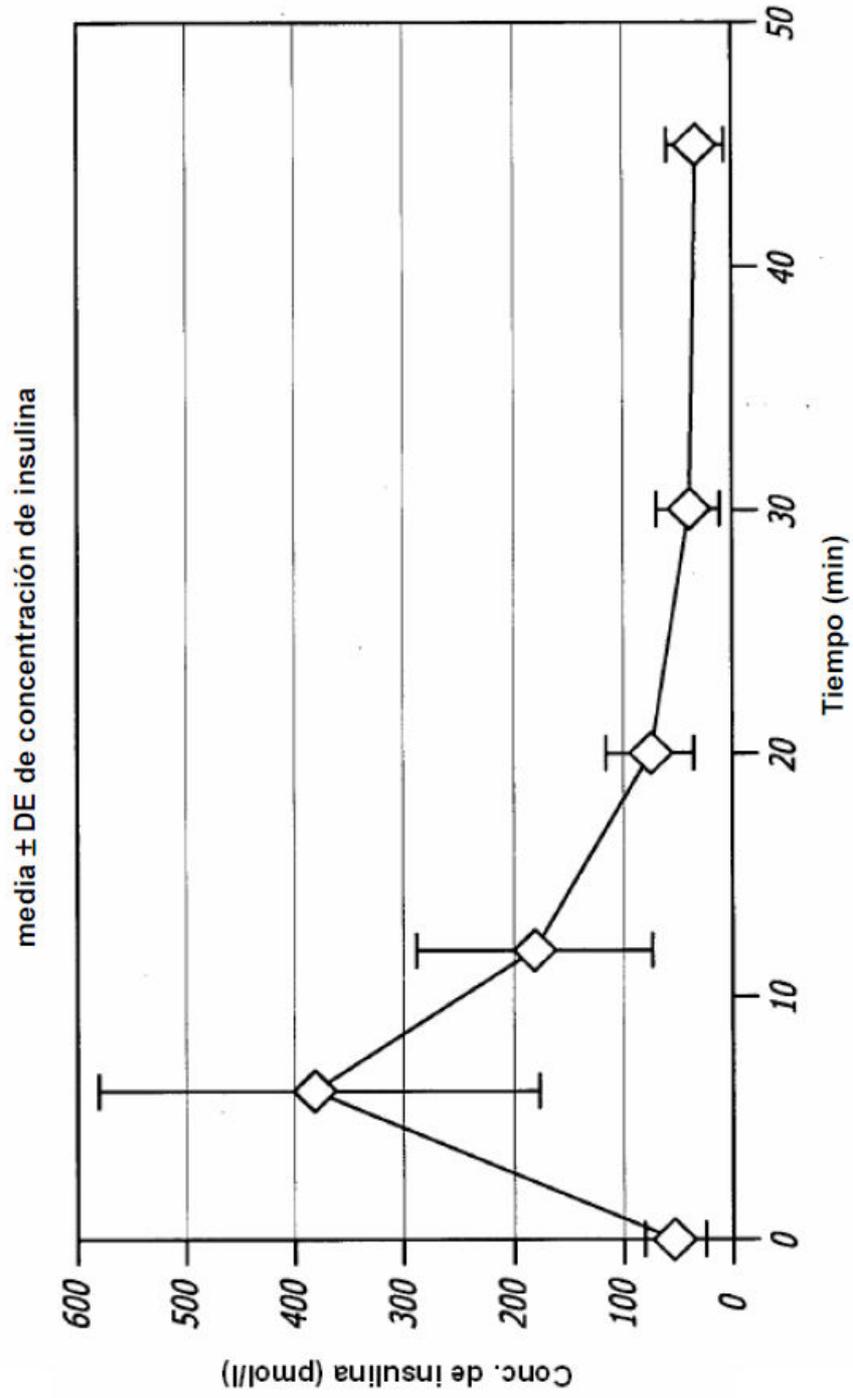


FIG. 2A

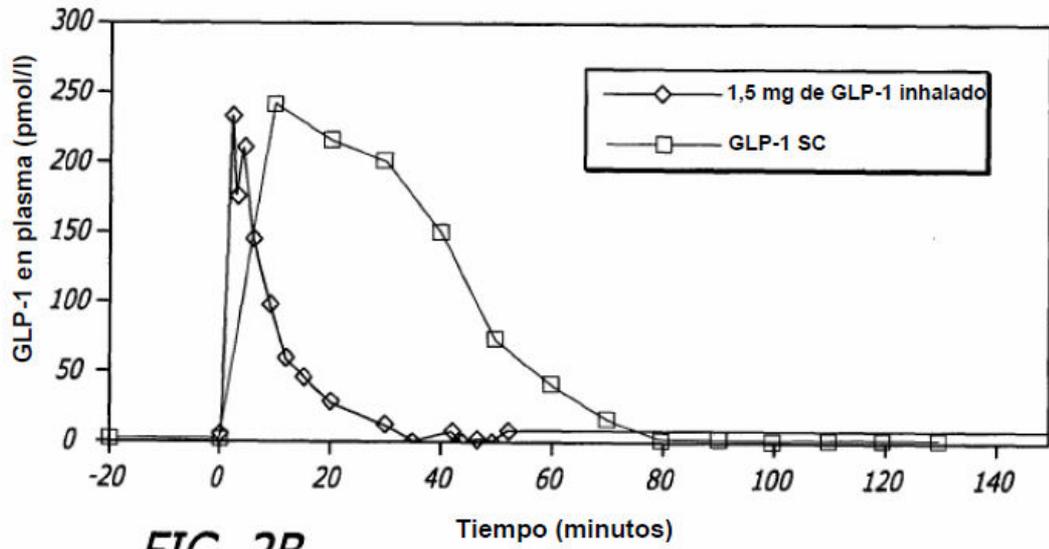


FIG. 2B

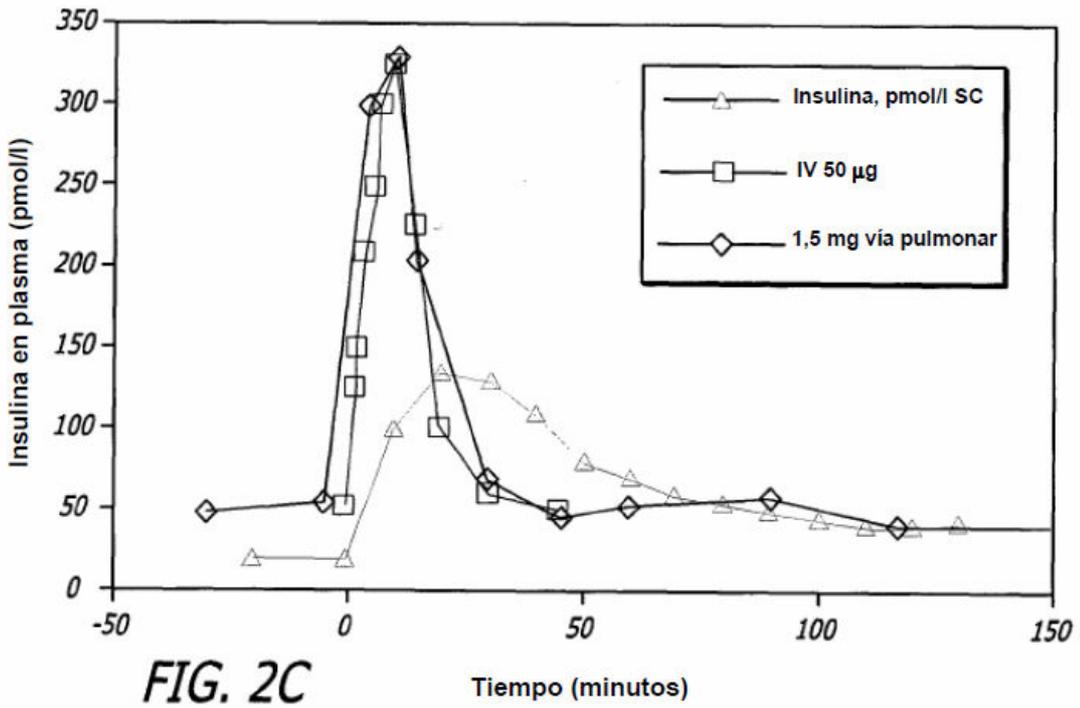


FIG. 2C

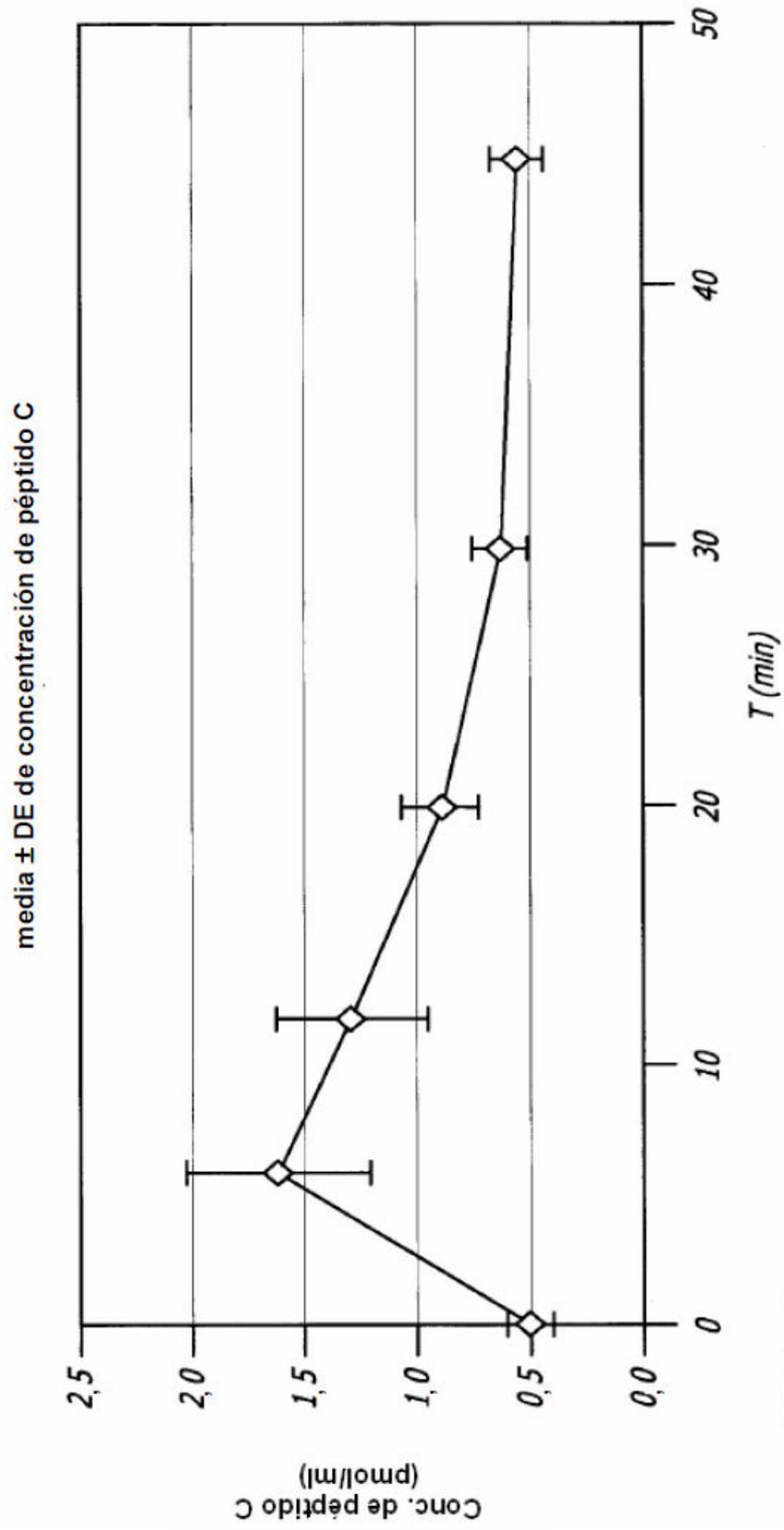


FIG. 3

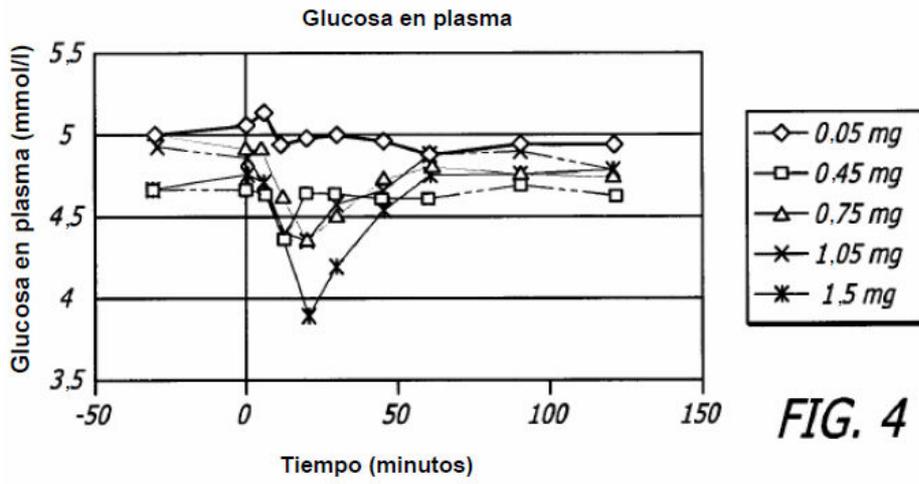


FIG. 4

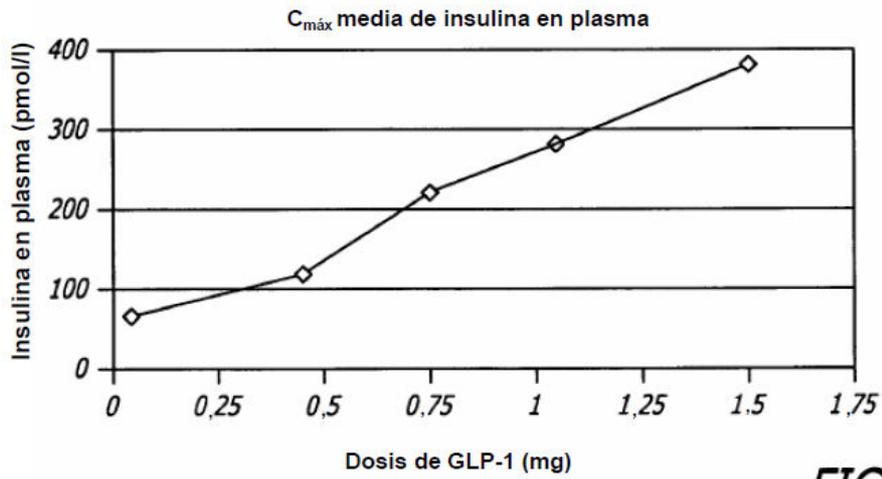
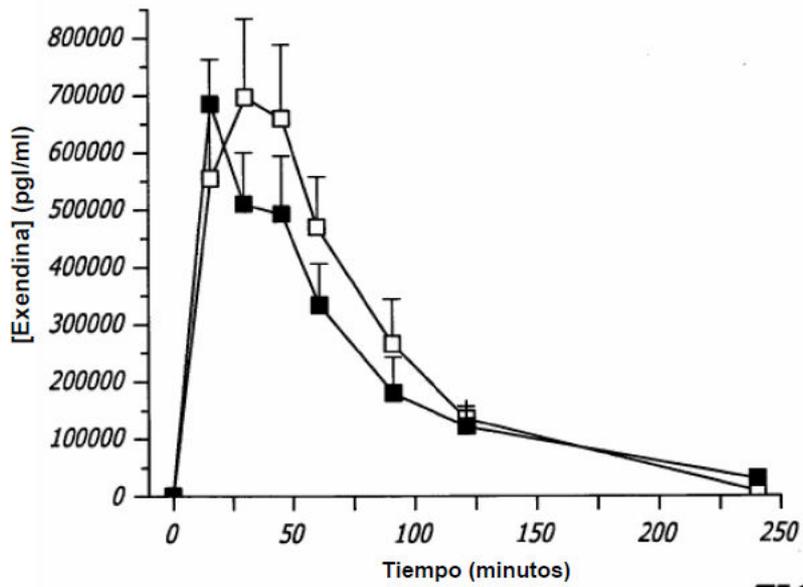
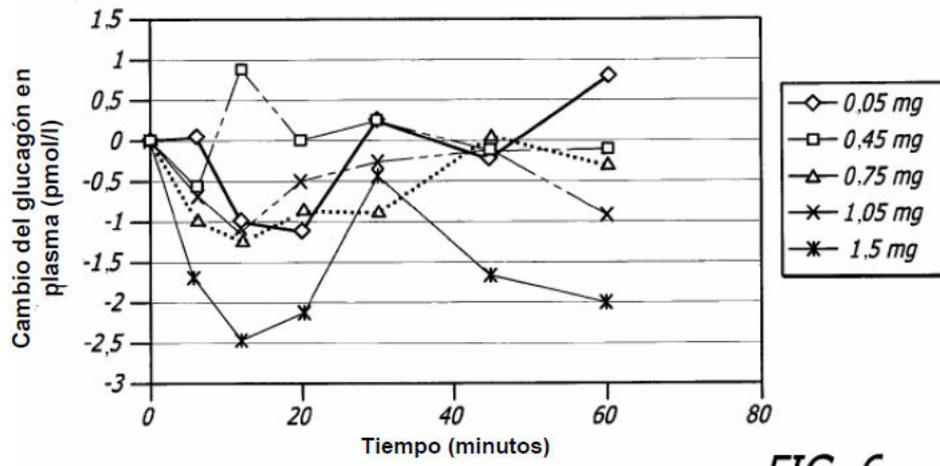


FIG. 5



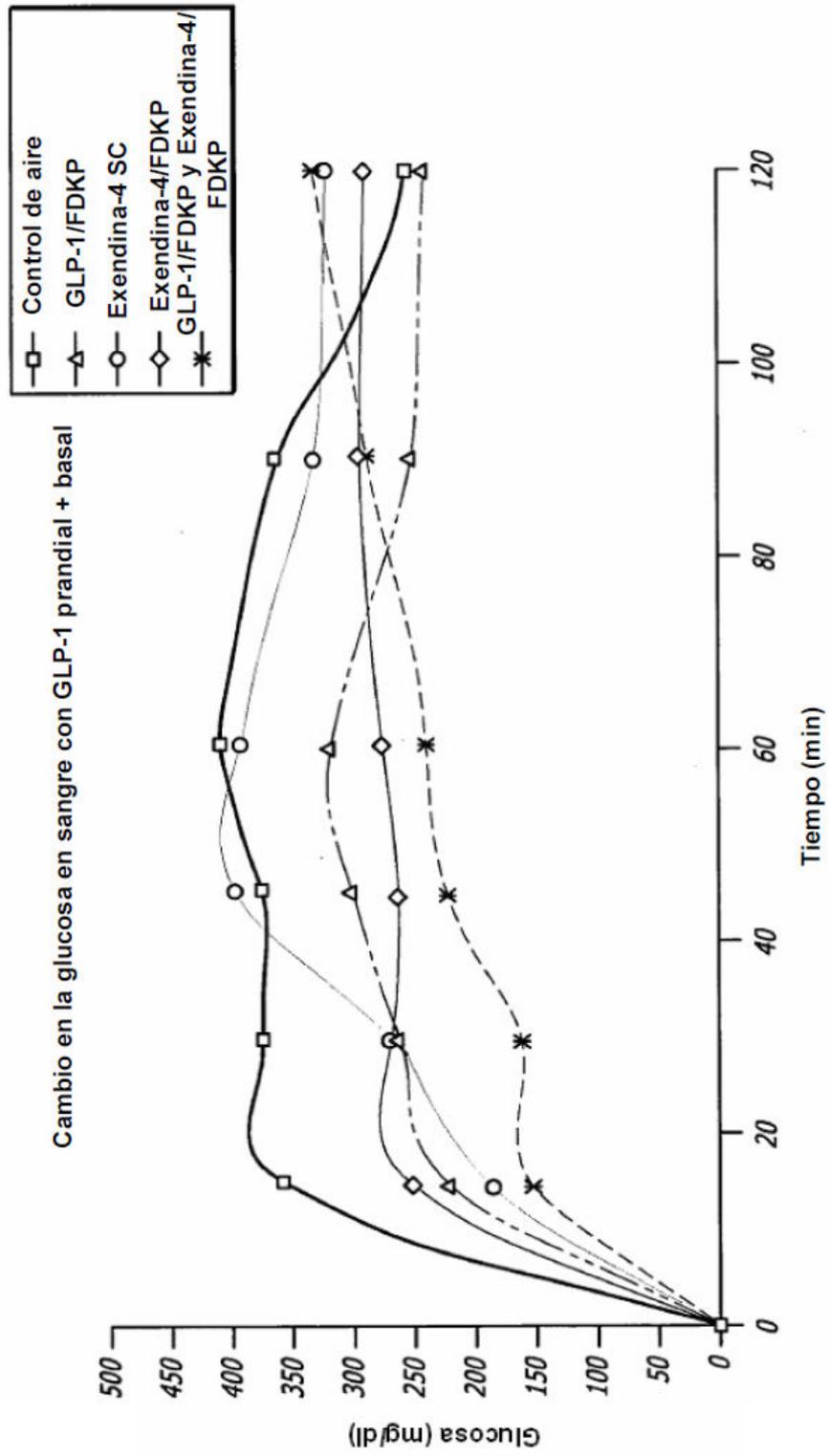


FIG. 8

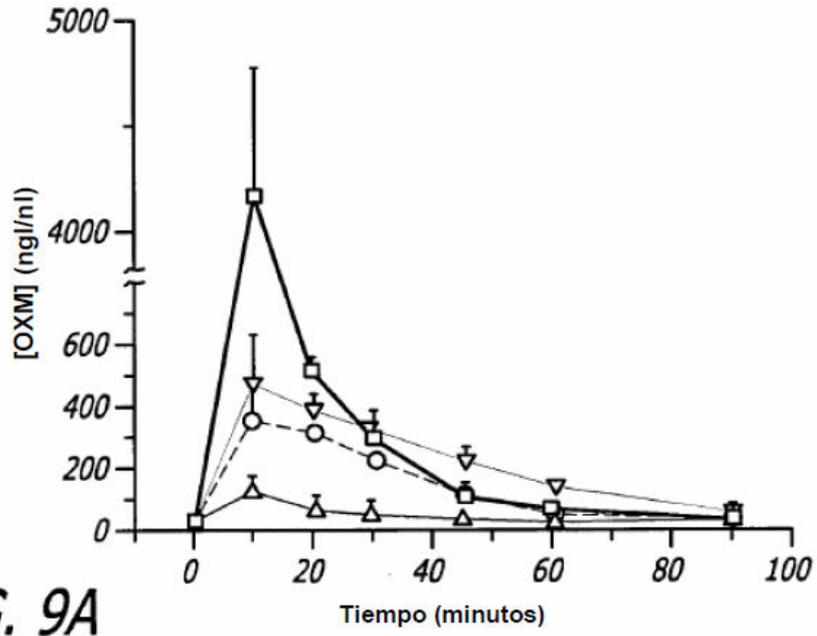


FIG. 9A

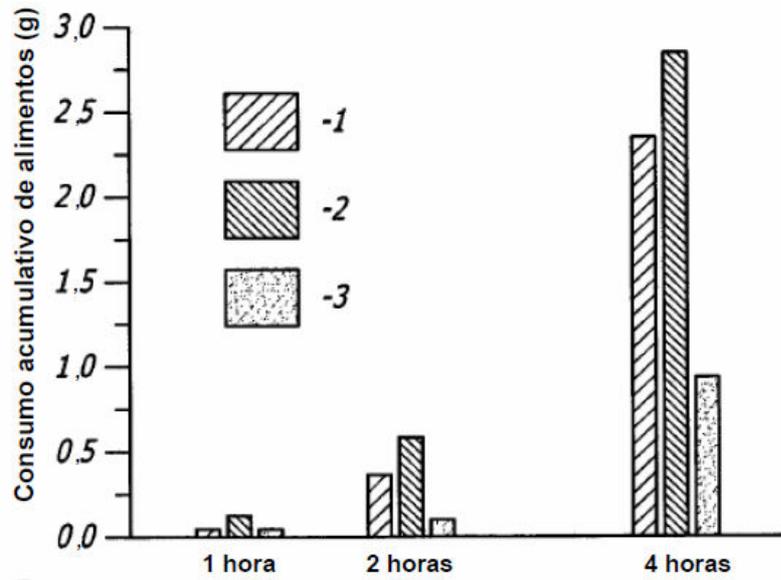


FIG. 9B

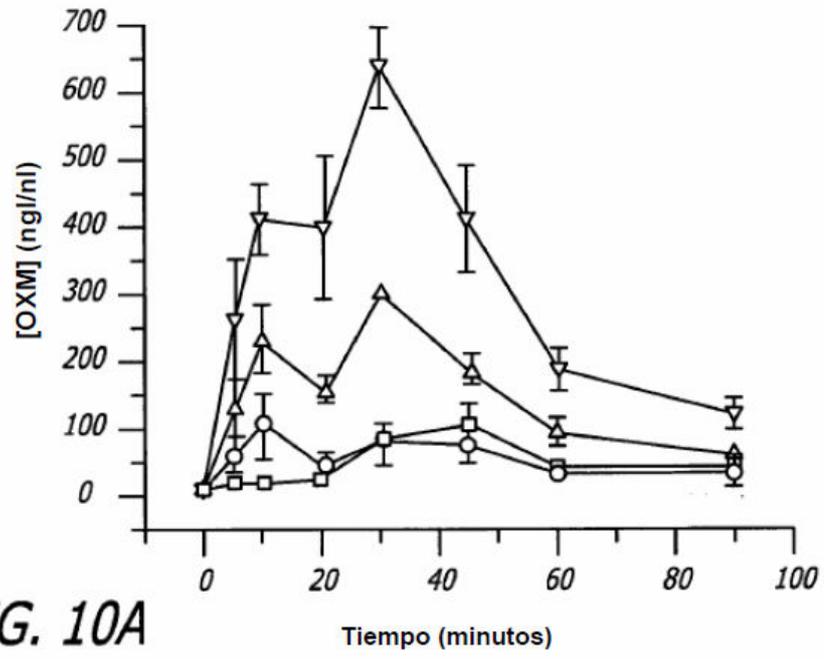


FIG. 10A

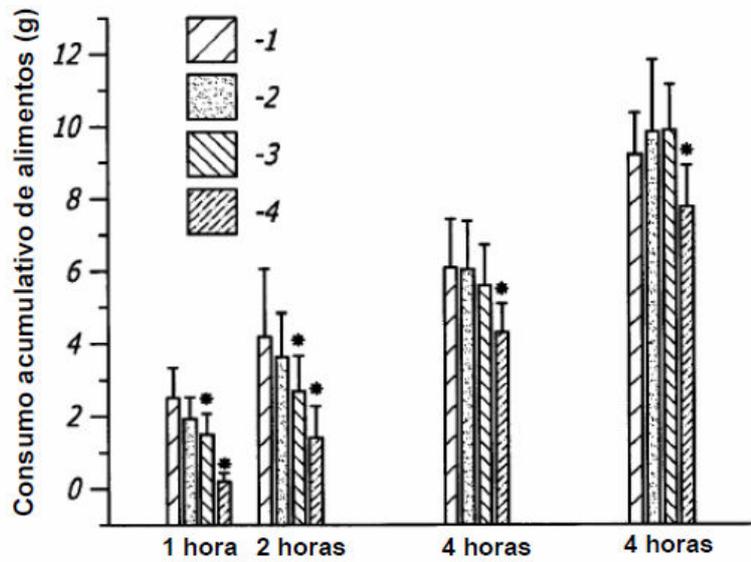


FIG. 10B

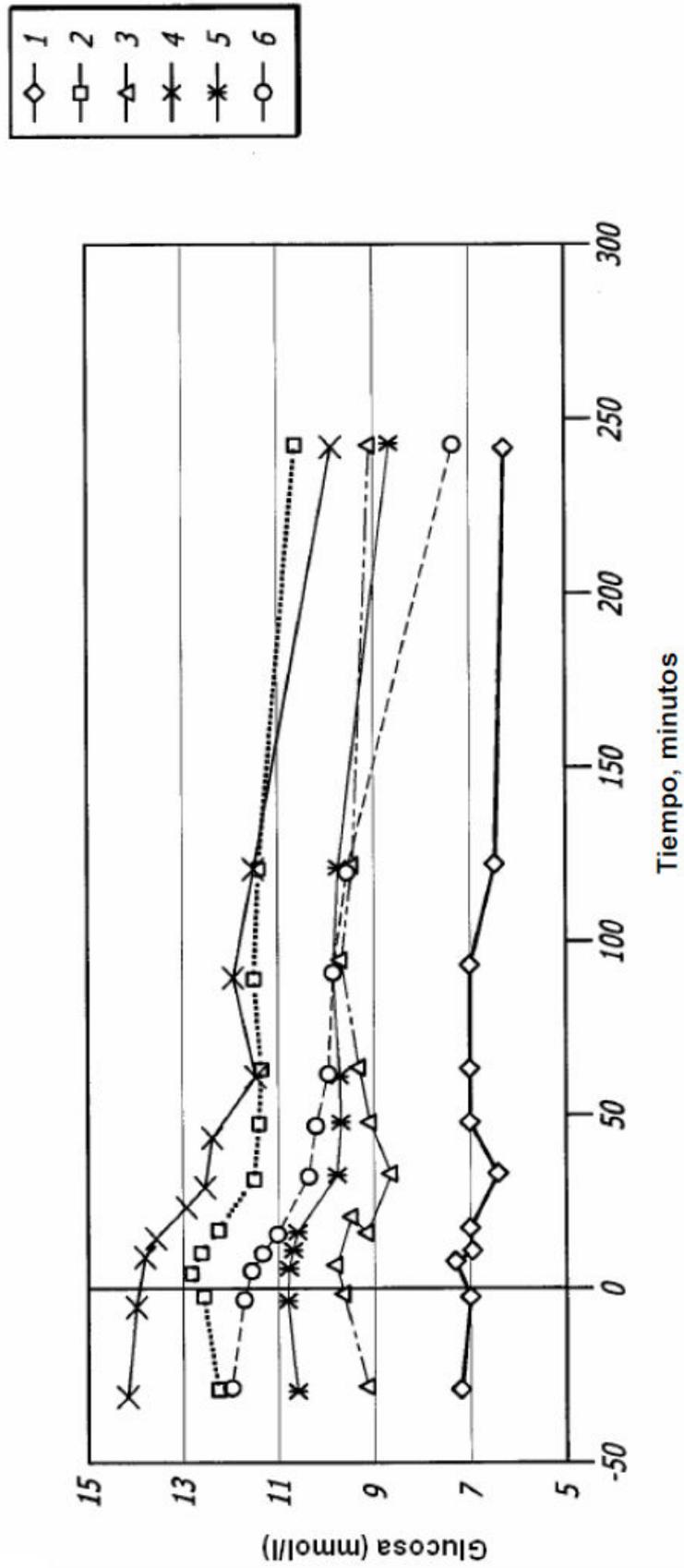


FIG. 11

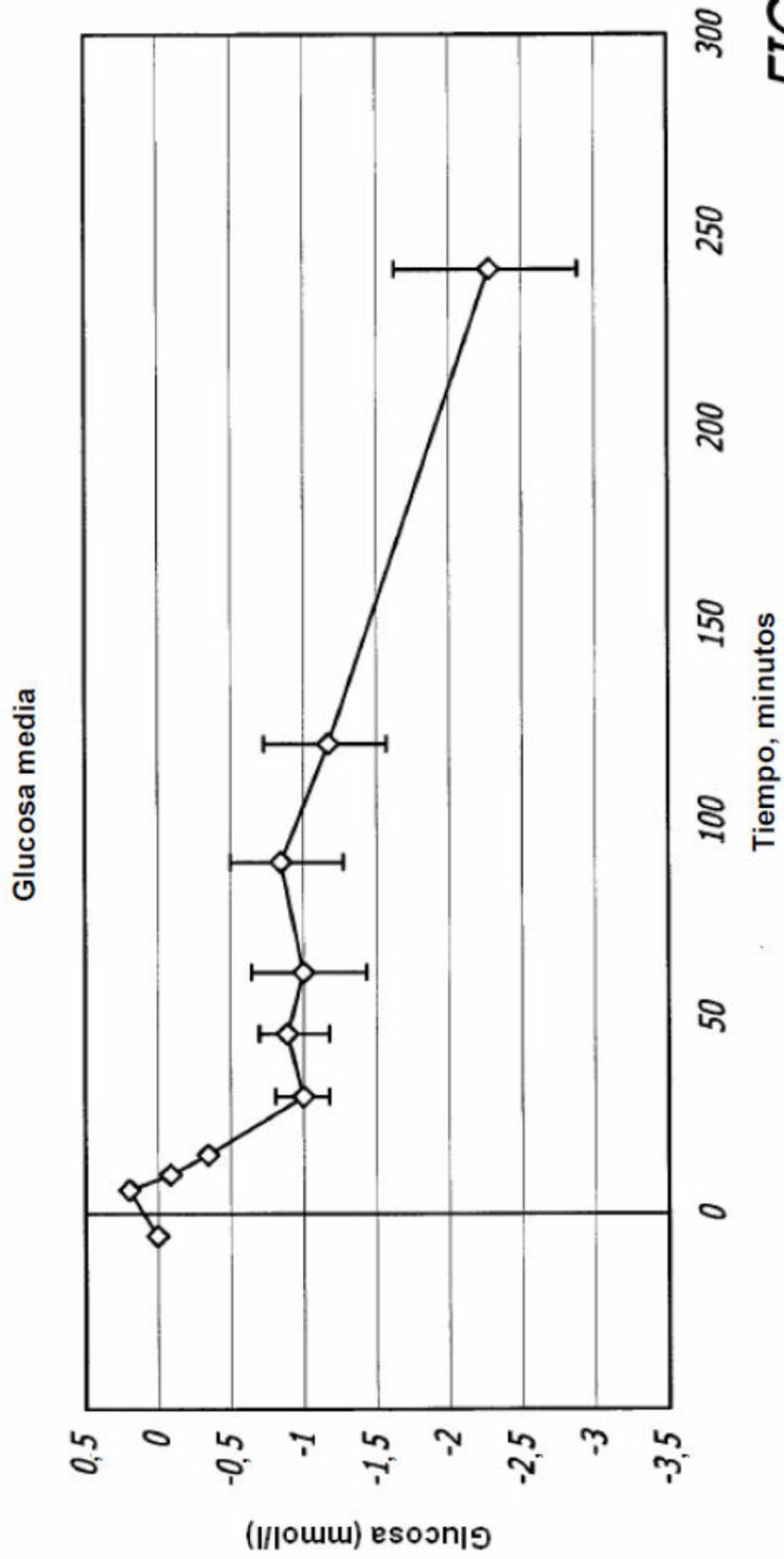


FIG. 12

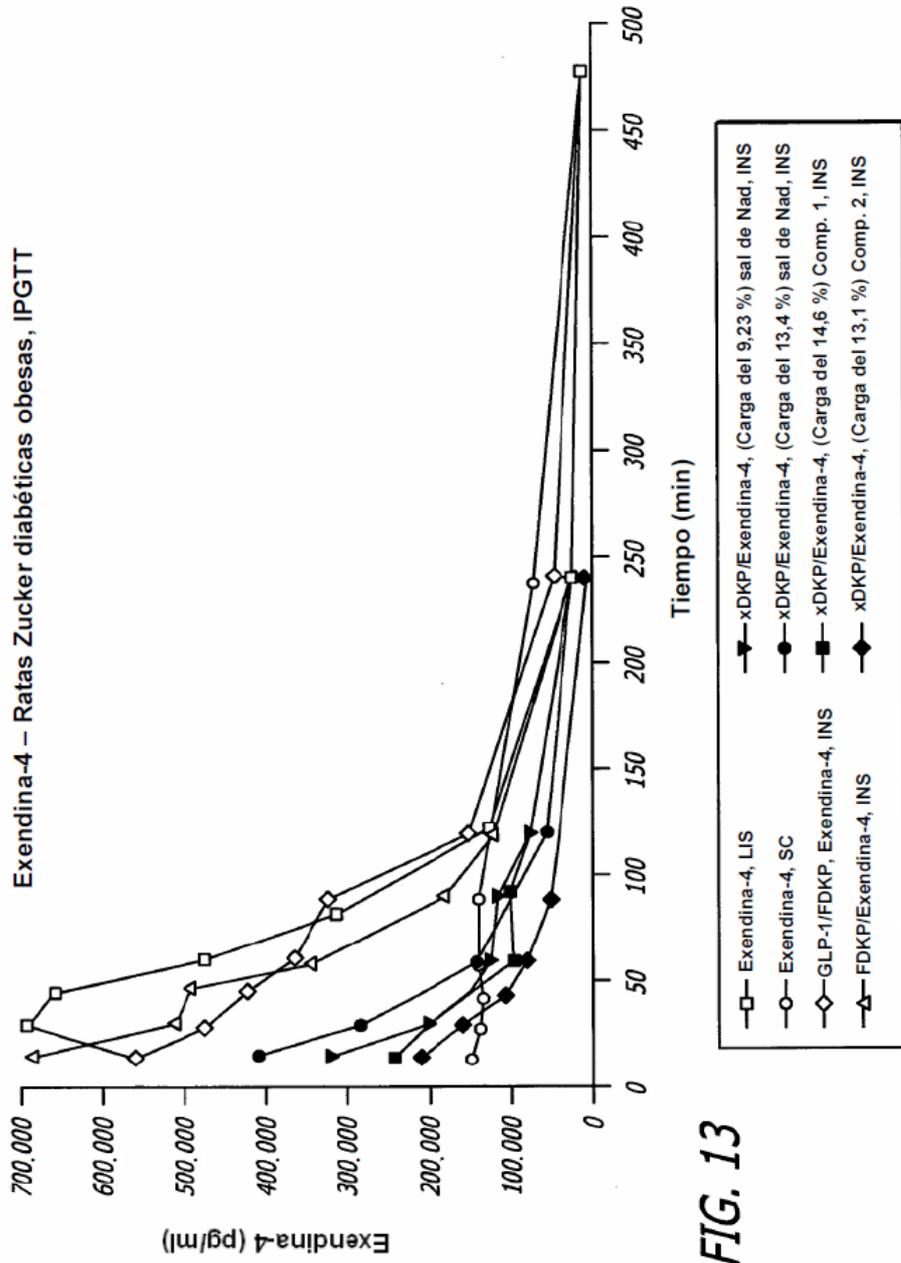


FIG. 13

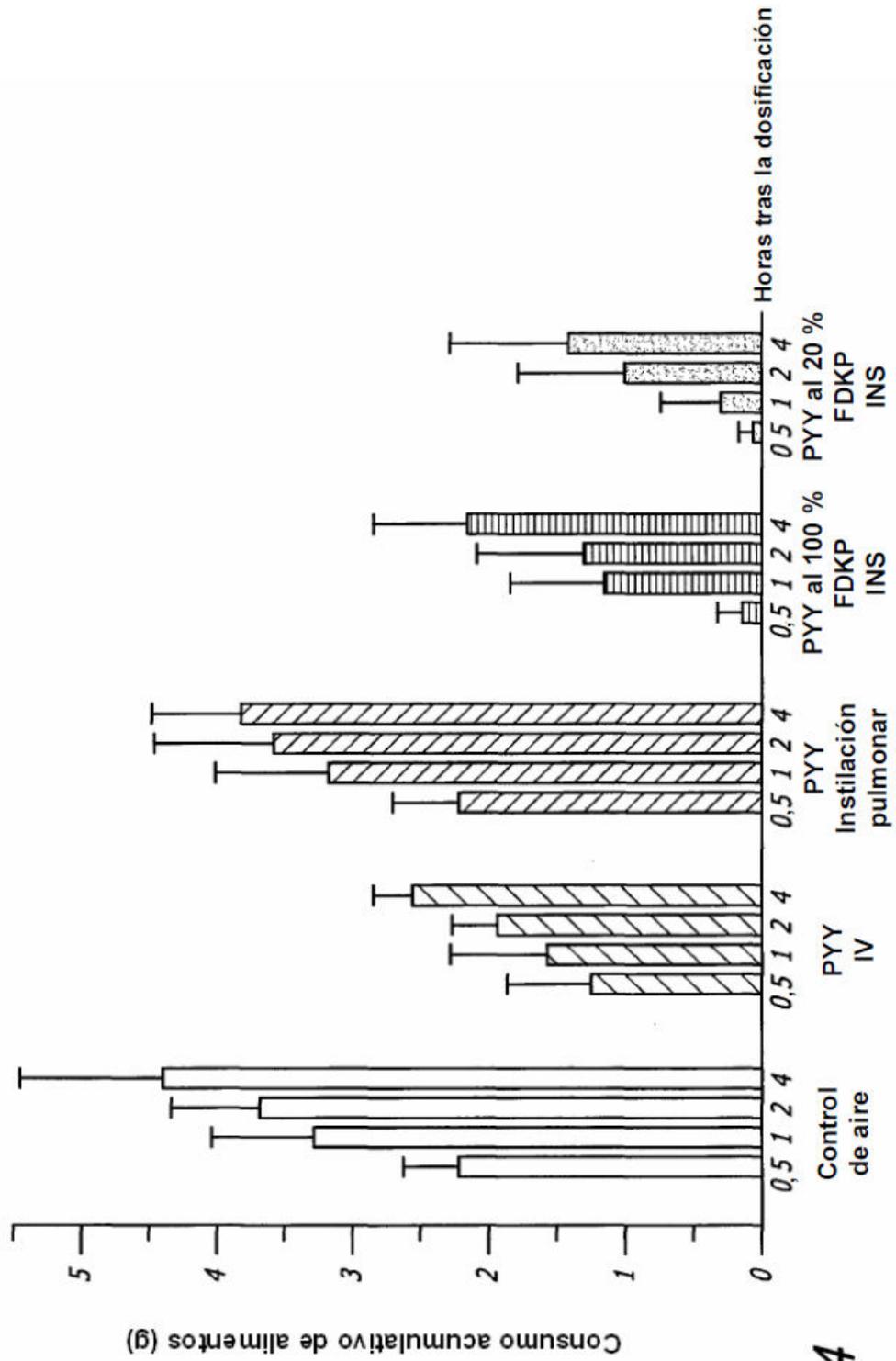


FIG. 14

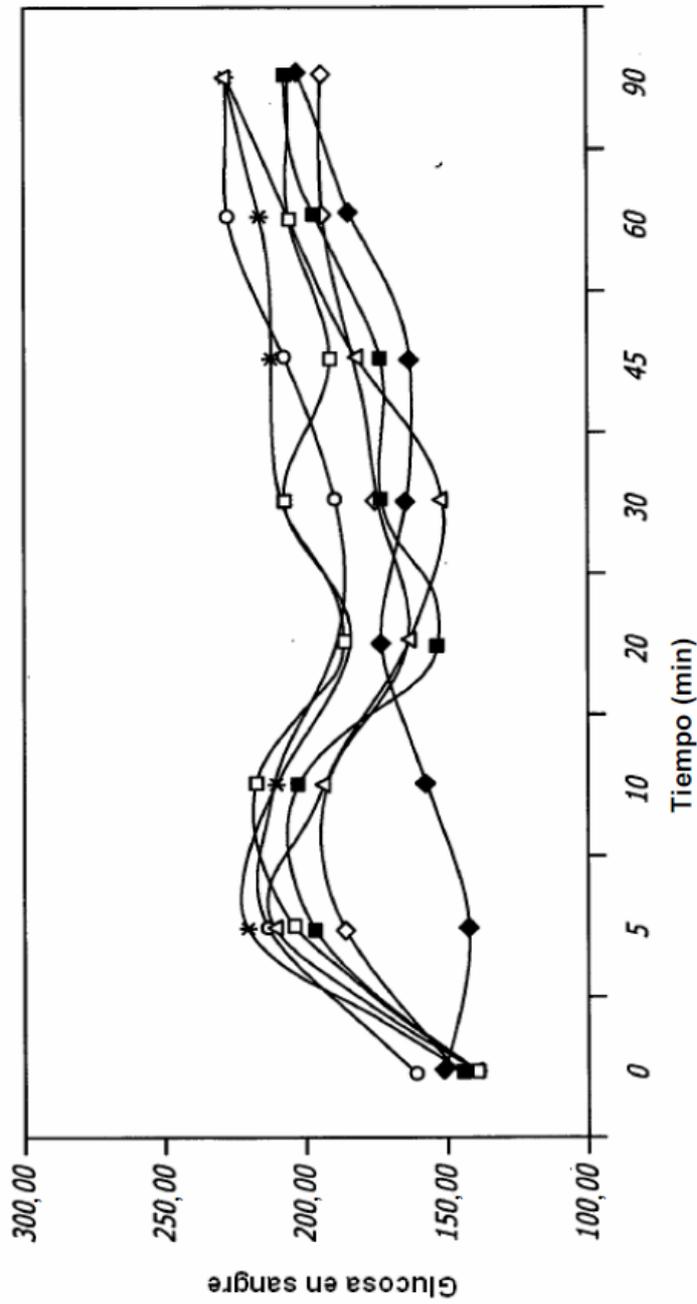
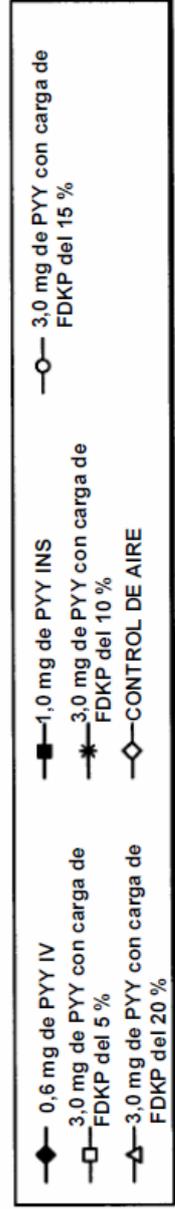


FIG. 15



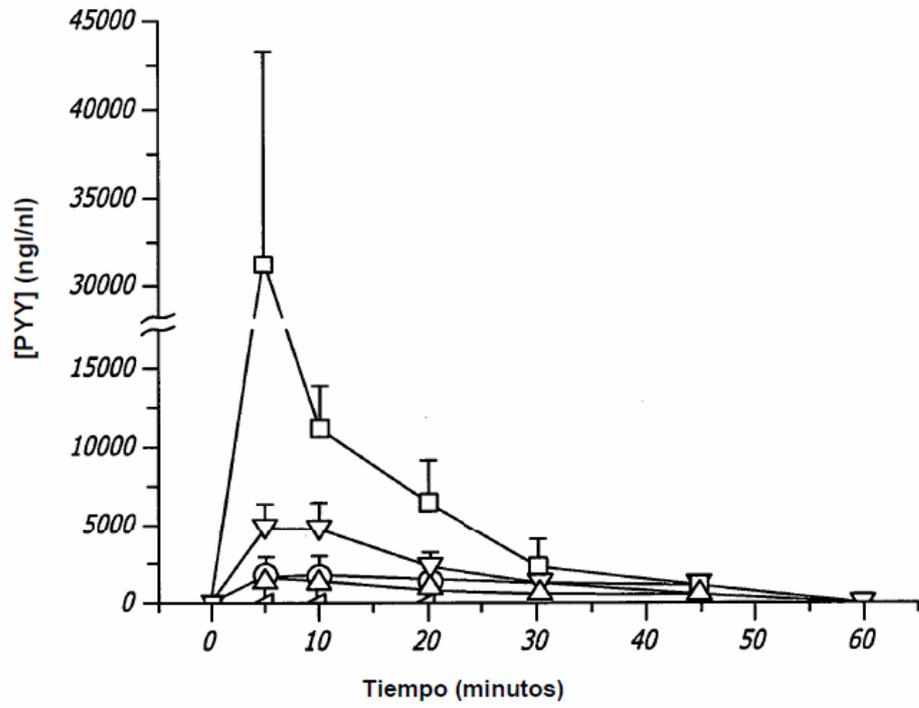
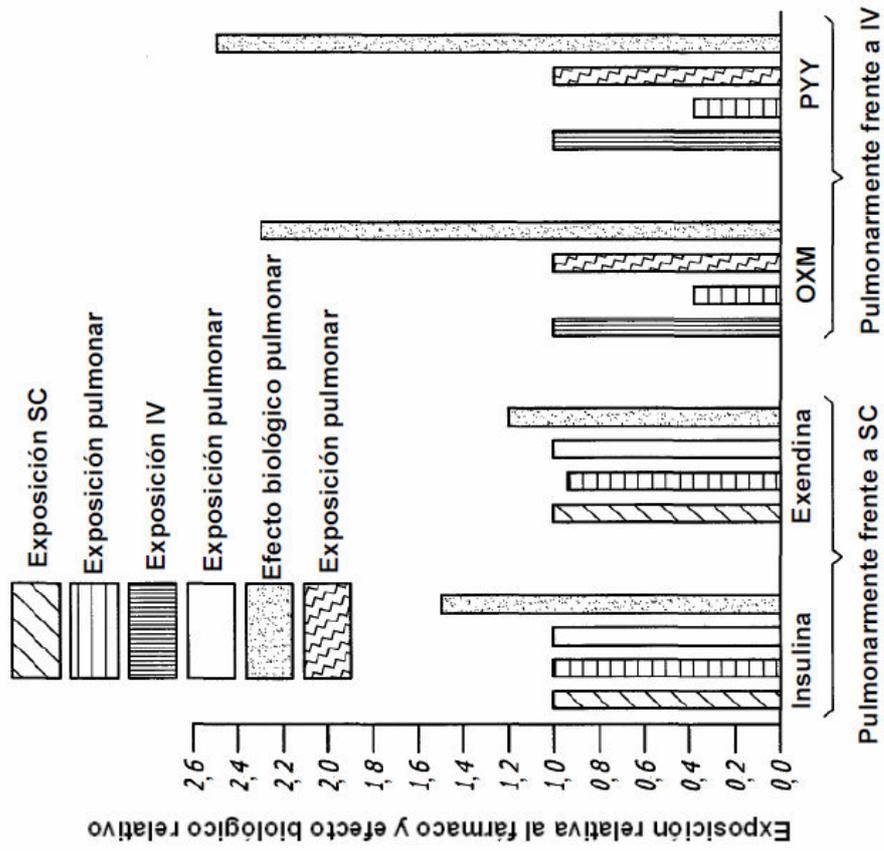


FIG. 16

FIG. 17



Niveles medios de GLP-1 por grupo de tratamiento

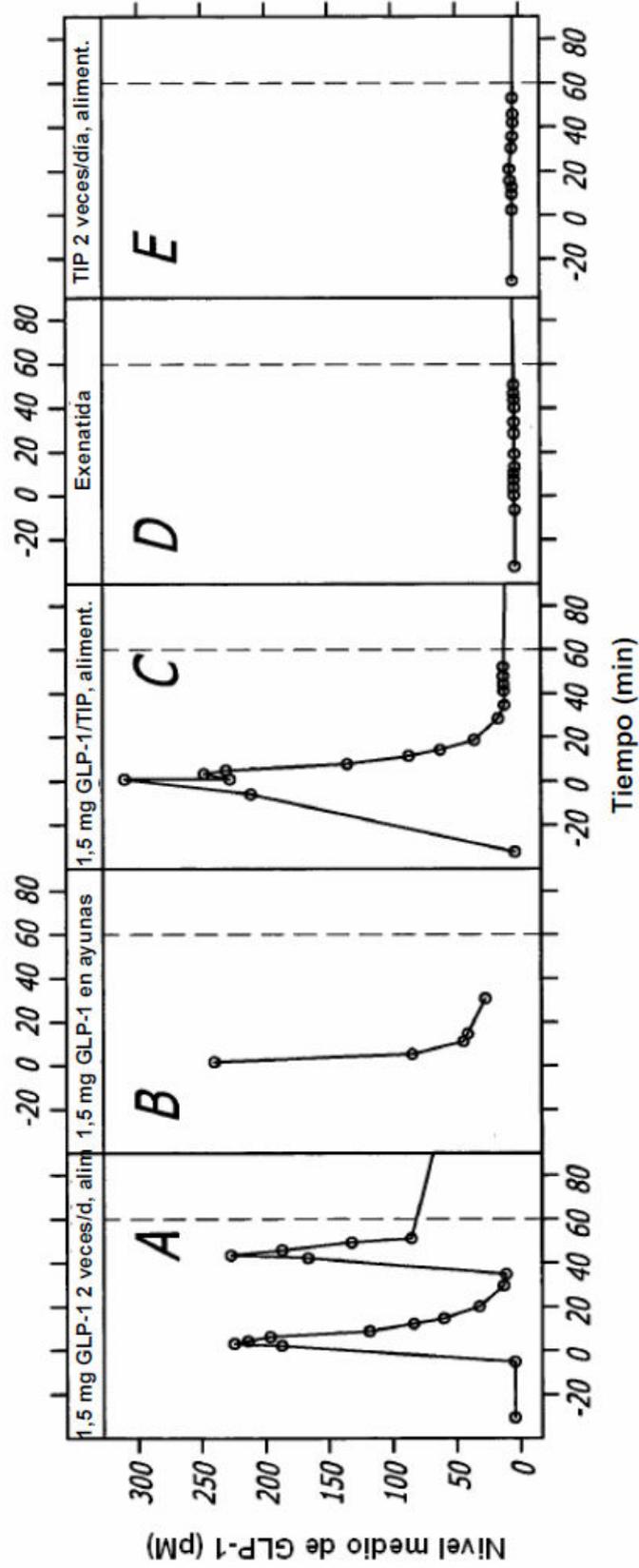


FIG. 18

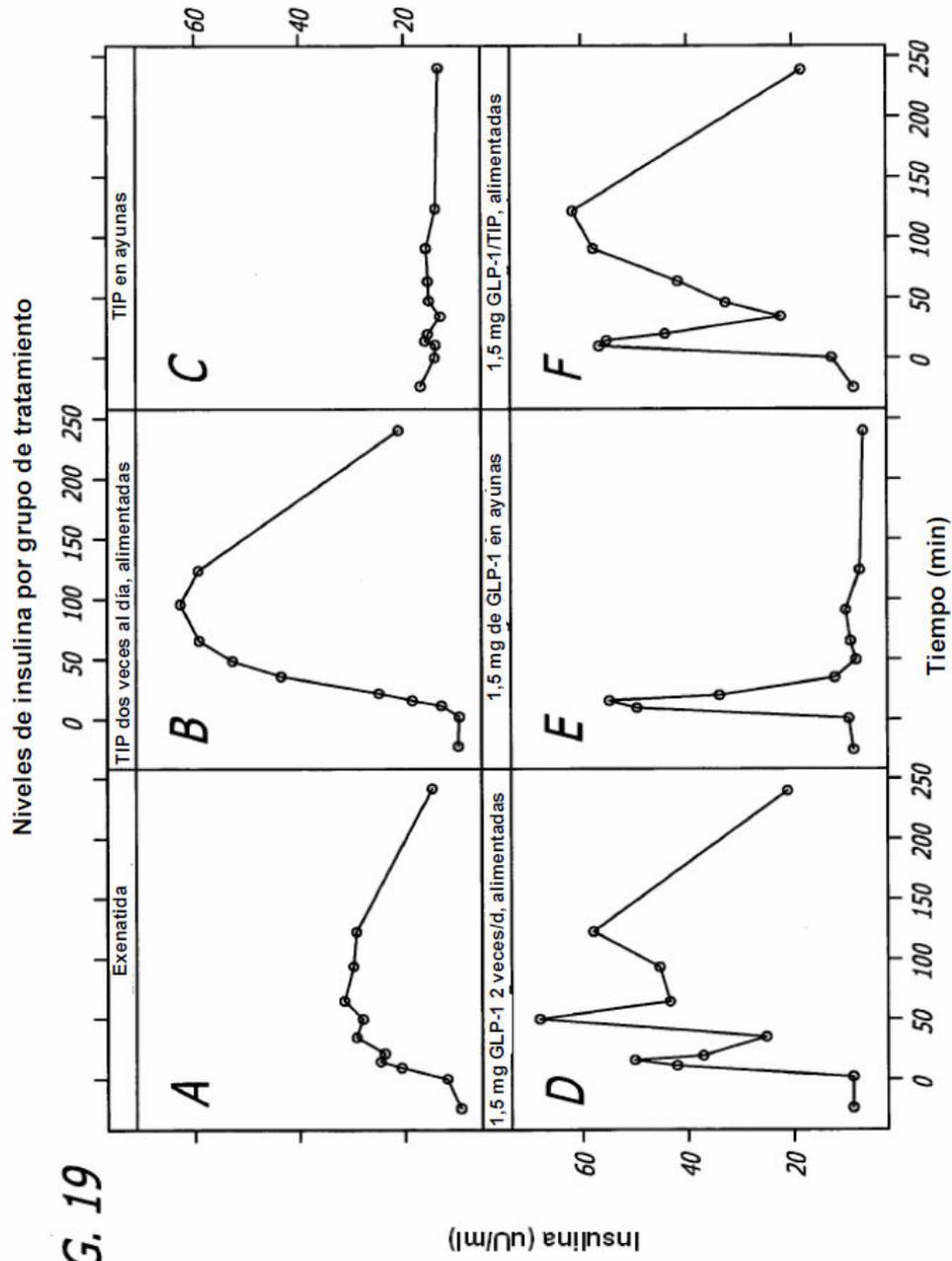


FIG. 19

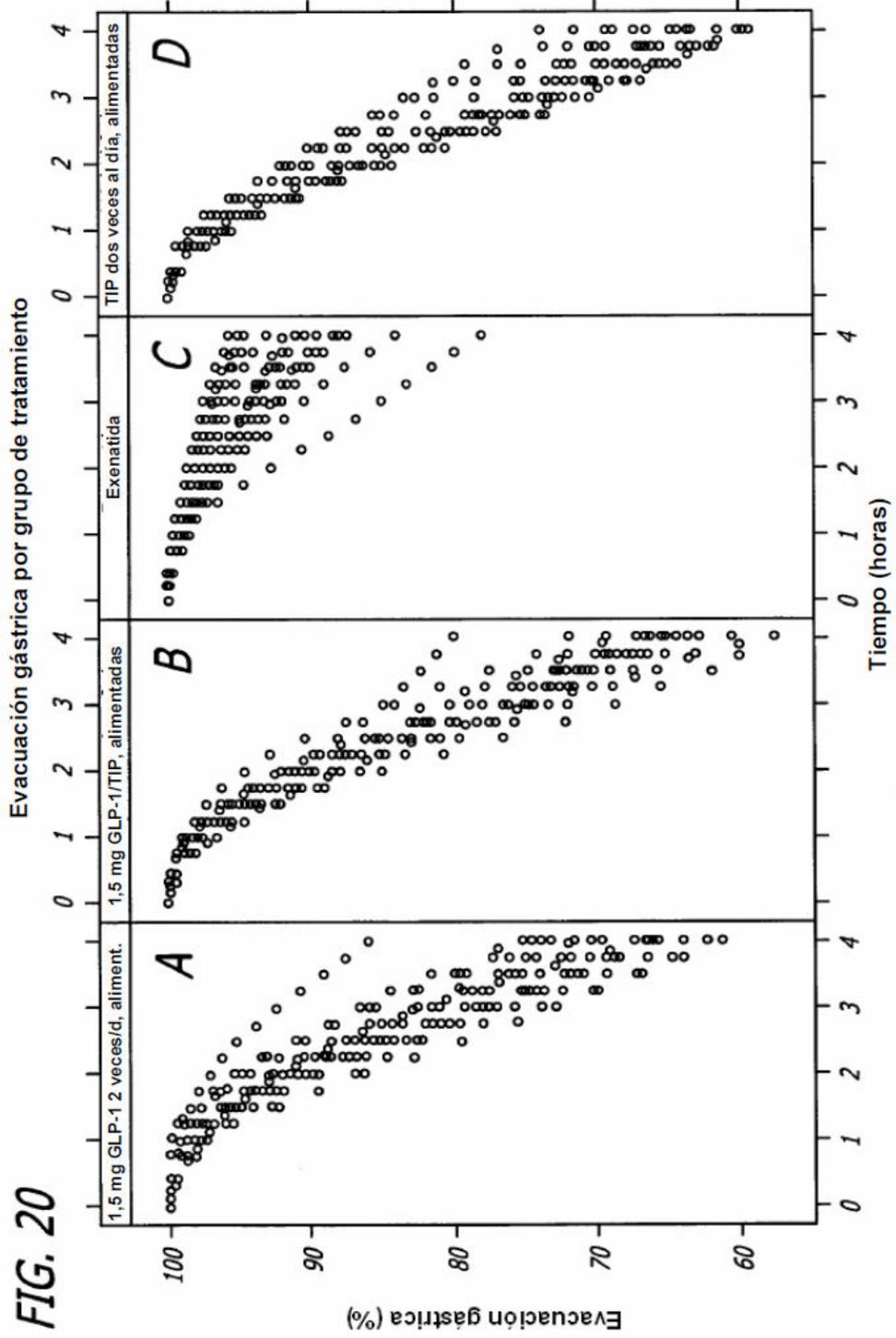


FIG. 21

