

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 644 962**

51 Int. Cl.:

A61K 38/26 (2006.01)
A61K 38/28 (2006.01)
A61K 38/55 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
A61K 9/50 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.01.2013 PCT/IL2013/050007**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **11.07.2013 WO13102899**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2013 E 13733831 (5)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.08.2017 EP 2800579**

54 Título: **Cápsulas que contiene composiciones líquidas basadas en aceite de agentes terapéuticos combinados para tratar la diabetes**

30 Prioridad:

03.01.2012 US 201261631339 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.12.2017

73 Titular/es:

**ORAMED LTD. (100.0%)
Givat Ram 2/5 High Tech Park P.O. Box 39098
91390 Jerusalem, IL**

72 Inventor/es:

KIDRON, MIRIAM

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 644 962 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

Cápsulas que contiene composiciones líquidas basadas en aceite de agentes terapéuticos combinados para tratar la diabetes

Campo de la invención

- 5 Se describen en la presente memoria métodos y composiciones para tratar la diabetes mellitus.

Antecedentes

10 La diabetes, específicamente la variedad de tipo II (NIDDM), ha surgido en el siglo veintiuno como una epidemia de proporciones globales. Numerosas complicaciones a largo plazo, que incluyen las que afectan a riñones, piernas, pies, ojos, corazón, nervios y circulación sanguínea, pueden ser resultado de la diabetes no controlada. La prevención de estas afecciones requiere el tratamiento integral, que requiere la modificación del estilo de vida y medicación. Están disponibles una serie de fármacos antidiabéticos eficaces y en general son seguros y bien tolerados. Todas los medicamentos se convierten en menos eficaces cuando la enfermedad avanza, y la mayoría de los pacientes finalmente requieren insulina. La mayoría de los medicamentos están asociados con riesgos de hipoglucemia y aumento de peso, aunque no alteran el inexorable avance de la diabetes.

15 Los autores de la presente invención están desarrollando formulaciones administradas por vía oral para fármacos basados en proteínas tales como la insulina (Ziv et al. 1994; Nissan et al. 2000, Kidron et al. 2004, Eldor et al. 2010B, Eldor et al. 2010C). Uno de dichos productos de insulina oral está programado para probar en ensayos en fase II y actualmente se está revisando su estado de PEI.

20 La hormona incretina péptido similar al glucagón de tipo 1 (GLP-1), secretado en minutos después de ingerir alimento, está asociada con la inducción de la liberación de insulina. Las terapias basadas en GLP-1 son opciones de tratamiento para la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) que actúan a través de una variedad de mecanismos complementarios. El aspecto más curioso de las incretinas es el hecho de que producen la liberación de insulina de una forma dependiente de glucosa y se cree que tienen un riesgo bajo de inducir hipoglucemia. Además, parece que las incretinas son neutras para el peso (o reductoras de peso), preservan la masa de células beta y posiblemente también inducen la neogénesis de células que segregan insulina.

25 Sin embargo, el uso clínico del GLP-1 natural está limitado debido a su rápida inactivación enzimática que da como resultado una semivida de 2-3 minutos. Para superar este obstáculo, se han diseñado y ensayado péptidos resistentes a la degradación de acción prolongada, tanto naturales como sintéticos, denominados análogos o agentes miméticos de GLP-1.

30 Hasta la fecha, los análogos de GLP-1 solo están disponibles como formas farmacéuticas inyectables. Los autores de la presente invención están desarrollando una cápsula del análogo de GLP-1 exenatida oral. Un primer ensayo en seres humanos (n=4) probando la seguridad en seres humanos demostró que retenía la funcionalidad biológica de la exenatida administrada por vía oral (Eldor et al. 2010A).

35 El documento US 2011/014247 A describe composiciones que incluyen una proteína y al menos dos inhibidores de proteasa. El documento WO 2009/136392 A describe composiciones que comprenden Byetta, aceite de pescado y un inhibidor de proteasa. El documento US 2004/097410 A describe un método de preparación de una formulación de insulina en aceite administrada por vía oral. El documento EP 0351651 A describe la absorción en el torrente sanguíneo de insulina administrada por vía no parenteral.

Resumen

40 Según el conocimiento de los autores de la invención, no se han probado formulaciones de insulina oral en combinación con formulaciones de análogo de GLP-1 oral. Los datos proporcionados en la presente invención ilustran una interacción cooperativa fuerte, no reconocida previamente, entre estos componentes cuando se formulan como se describe en la presente memoria. Esto permite un potente efecto antidiabético en una forma conveniente que facilita la observancia del paciente y también imita el metabolismo fisiológico de primer paso de la insulina y GLP-1. Estos resultados proporcionan una ruta a una clase completamente nueva de modalidades terapéuticas.

45 Los términos "proteína" y "péptido" se usan de forma intercambiable en la presente memoria. Ninguno de los términos pretende conferir una limitación del número de aminoácidos presente, excepto donde se indique explícitamente una limitación.

50 Breve descripción de los dibujos

Las siguientes figuras son a modo de ejemplo ilustrativo y no se pretende que se tomen como limitantes de la invención reivindicada.

Figura 1. Ensayo de diferentes formulaciones emulsionantes. La puntuación de acumulación de espuma era de 1-5,

donde 1 indica que no hay espuma, y 5 indica que no hay líquido visible debido a la espuma. Para el ensayo de suspensión, los números 1-5 indican separación de fase completa; separación de fase parcial con algunas burbujas de aceite más grandes; consistencia lechosa, burbuja de aceite pequeña; no hay burbujas inicialmente, con posterior separación de fase; y emulsión estable, respectivamente.

- 5 Figuras 2A y 2B. Perfiles de glucosa en la sangre después de administración de formulaciones de insulina oral que contienen diferentes emulsionantes. 2A: Formulación A (superior izquierda), B (inferior izquierda), C (superior derecha) y D (inferior derecha), 2B: Formulaciones E (izquierda) y F (derecha).

Figura 3. Perfiles de glucosa en la sangre después de administración de exenatida oral e insulina oral a cerdos. Cerdos comerciales en ayunas se trataron con 150 mcg de exenatida, 8 mg de insulina o la combinación de los mismos, 30 minutos antes de la ingestión calórica. Se extrajeron muestras de 1 ml de sangre periódicamente a lo largo del periodo de observación de 180 minutos para determinar las concentraciones de glucosa.

Descripción detallada de las realizaciones

Se proporciona en la presente memoria una composición farmacéutica para el suministro oral, que comprende una formulación líquida basada en aceite, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite una insulina, un análogo de GLP-1, un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago.

Otra realización proporciona una composición farmacéutica oral multicomponentes, que comprende: (a) una primera formulación líquida basada en aceite, comprendiendo la primera formulación líquida basada en aceite una insulina, un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes; y (b) una segunda formulación líquida basada en aceite, comprendiendo la segunda formulación líquida basada en aceite un análogo de GLP-1, un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes; en donde cada una de la primera formulación líquida basada en aceite y la segunda formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. En algunas realizaciones, las dos formulaciones líquidas pueden estar en formas farmacéuticas separadas. En otras realizaciones, las dos formulaciones líquidas están en la misma forma farmacéutica; por ejemplo, en compartimientos encerrados separados dentro de la misma píldora.

"Líquido" como se usa en la presente memoria se refiere a una fase que fluye libremente y tiene un volumen constante en condiciones ambiente. El aceite de pescado, por ejemplo, es un líquido en condiciones ambiente. El término incluye soluciones, suspensiones basadas en aceite y combinaciones de las mismas. En realizaciones alternativas, el término se puede referir a una composición que tiene una viscosidad dentro del intervalo de 1-1000 milipascal.segundo, inclusive, a 20°C.

En algunas realizaciones, los diferentes componentes de la composición farmacéutica multicomponentes están indicados para la coadministración juntos. "Coadministración" en relación con esto, se puede referir a la administración simultánea o, en otra realización, a la administración en el espacio de 30 minutos uno de otro. En otras realizaciones más, los diferentes componentes están indicados para la administración en un orden particular, separados por un intervalo de tiempo fijado que típicamente será 30 minutos o menos. Por ejemplo, la forma farmacéutica que contiene insulina puede estar indicada para la administración 2-10 minutos después de la forma farmacéutica que contiene exenatida; en otras realizaciones, 10-20 minutos después de la forma farmacéutica que contiene exenatida; en otras realizaciones, 20-30 minutos después de la forma farmacéutica que contiene exenatida; y en otras realizaciones, 30-60 minutos después de la forma farmacéutica que contiene exenatida. Las formas farmacéuticas orales tales como las proporcionadas en la presente memoria se prestan a la administración secuencial más que a las formas farmacéuticas inyectadas, puesto que los regímenes que requieren inyecciones repetidas es probable que estén asociadas con tasas de observancia bajas.

De acuerdo con otros aspectos, se proporciona un medicamento de combinación para el tratamiento de la diabetes tipo 2, comprendiendo dicho medicamento de combinación

- 45 - insulina, al menos un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, y
 - un análogo de GLP-1 del grupo que consiste en exenatida, liraglutida, AC3174, taspoglutida, lixisenatida, semaglutida, albiglutida, exendina-9, LY2189265 y CJC-1134-PC,

todos comprendidos conjuntamente en una formulación líquida basada en aceite en una forma farmacéutica para suministro oral.

50 Proteínas de insulina y análogos de GLP-1

Las proteínas de insulina y los análogos de GLP-1 para usar como se describe en la presente memoria, en algunas realizaciones, se aíslan antes de su introducción en las composiciones farmacéuticas prescritas. "Aislado" en relación con esto excluye la provisión de la insulina y/o el análogo de GLP-1 como una preparación tisular homogeneizada u otra forma que contiene cantidades sustanciales de proteínas contaminantes. Un ejemplo de una proteína o péptido aislado es una proteína o péptido recombinante. Una realización alternativa es una proteína o

péptido sintético.

Un experto en la técnica apreciará a la luz de la presente descripción que son adecuados diferentes tipos de insulina para los métodos y composiciones descritos. Las proteínas de insulina de ejemplo incluyen, pero no se limitan a tanto proteínas de insulina de tipo natural como mutadas, incluyendo insulina humana sintética, insulina bovina sintética, insulina porcina sintética, insulina de ballena sintética y complejos metálicos de insulina tales como complejos de cinc de insulina, insulina-protamina-cinc, y globina-cinc.

También se pueden usar diferentes tipos de insulina, por ejemplo, insulina de acción rápida, insulina lenta, insulina semilenta, insulina ultralenta, insulina NPH, insulina glargina, insulina lispro, insulina aspart o combinaciones de dos o más de los tipos anteriores de insulina.

En algunas realizaciones, la insulina de los métodos y composiciones descritos es insulina humana de tipo natural (Uniprot ID P01308). En algunas realizaciones, la insulina humana se produce como una proteína recombinante en células bacterianas. En otras realizaciones la insulina humana se produce de forma sintética.

Los análogos de GLP-1 se denominan también en la técnica miméticos de GLP-1. Un experto en la técnica apreciará que las composiciones descritas pueden incluir al menos uno de los siguientes análogos de GLP-1: exenatida (Byetta™; nº CAS 141732-76-5; SEQ ID NO: 4), lixisenatida (nº CAS 320367-13-3), liraglutida (nº CAS 204656-20-2), exendina-9 (nº CAS 133514-43-9), AC3174 ([Leu(14)]exendina-4, Amylin Pharmaceuticals, Inc.), tasoglutida (nº CAS 275371-94-3), albiglutida (nº CAS 782500-75-8), semaglutida (nº CAS 910463-68-2), LY2189265 (dulaglutide™; nº CAS 923950-08-7), y CJC-1134-PC (un análogo de Exendina-4 conjugado con la albúmina humana recombinante fabricado por ConjuChem™). Todos los registros CAS con entrada el 19 de diciembre, 2011. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el método o composición descritos usa cualquiera de los análogos de GLP-1 citados antes. En otras realizaciones, se selecciona uno de los análogos de GLP-1 citados antes. Los expertos en la técnica apreciarán a la luz de los hallazgos descritos en la presente memoria, que también se pueden usar otros análogos de GLP-1.

La proteínas de insulina y GLP-1 terapéuticas adecuadas para usar en la presente invención incluyen derivados que están modificados (es decir, por unión covalente de un resto no aminoácido a la proteína). Por ejemplo, pero no a modo de limitación, las proteínas incluyen proteínas que se han modificado, p. ej., por glucosilación, acetilación, PEGilación, fosforilación, amidación o derivatización por grupos protectores/bloqueadores conocidos. Se puede unir PEG de alto PM a proteínas terapéuticas con o sin un conector multifuncional sea por conjugación específica de sitio del PEG a su extremo N o C o por grupos epsilon-amino presentes en restos de lisina. Además, el derivado puede contener uno o más aminoácidos no clásicos, por ejemplo isómeros D de los aminoácidos comunes, ácido 2,4-diaminobutírico, ácido α -amino-isobutírico, ácido A-aminobutírico, Abu, ácido 2-amino butírico, γ -Abu, ϵ -Ahx, ácido 6-amino-hexanoico, Aib, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 3-amino-propiónico, ornitina, norleucina, norvalina, hidroxiprolina, sarcosina, citrulina, homocitrulina, ácido cisteico, t-butilglicina, t-butilalanina, fenilglicina, ciclohexilalanina, β -alanina, fluoro-aminoácidos, aminoácidos diseñados tales como β -metil-aminoácidos, α -metil-aminoácidos, y $N\alpha$ -metil-aminoácidos.

Emulsionantes

En algunas realizaciones, en una formulación líquida basada en aceite usada en los métodos y composiciones farmacéuticas descritos, o en otras realizaciones, cada una de las formulaciones líquidas basadas en aceite que está presente, comprende además un componente proporcionado como una mezcla de (a) un monoacilglicerol (monoglicérido), un diacilglicerol (diglicérido), un triacilglicerol (triglicérido), o una mezcla de los mismos; y (b) un éster de polietilenglicol (PEG) de un ácido graso. En relación con esto, cada uno de los términos "monoacilglicerol", "diacilglicerol" y "triacilglicerol" no es necesario que se refiera a un solo compuesto, sino más bien puede incluir mezclas de compuestos, por ejemplo mezclas de monoacilgliceroles, diacilgliceroles o triacilgliceroles que tienen ácidos grasos de diferentes longitudes. En algunas realizaciones preferidas, los monoacilgliceroles, diacilgliceroles, o triacilgliceroles usados en los métodos y composiciones descritos, por ejemplo los usados en los ésteres de PEG generales, son de una fuente que es Generalmente reconocida como segura (GRAS).

Los ejemplos de fuentes GRAS son aceite de coco, aceite de maíz, aceite de cacahuete, aceite de soja, Myvacet 9-45 (monoglicéridos diacetilados de ácidos grasos C-18).

Una realización más específica de (a) es una mezcla de monoacilgliceroles, diacilgliceroles y triacilgliceroles C₈-C₁₈. Una realización más específica del componente (b) es una mezcla de monoésteres y diésteres de PEG de una mezcla de ácidos grasos C₈-C₁₈.

En otras realizaciones más específicas, la formulación líquida comprende además un PEG libre.

En realizaciones alternativas, la formulación líquida basada en aceite usada en los métodos y composiciones farmacéuticas descritos, o en otras realizaciones, cada una de las formulaciones líquidas basadas en aceite que está presente, comprende además un éster de PEG de un monoacilglicerol, un diacilglicerol, un triacilglicerol, o una mezcla de los mismos. En relación con esto, cada uno de los términos "monoacilglicerol", "diacilglicerol" y "triacilglicerol" no es necesario que se refiera a un solo compuesto, sino más bien puede incluir mezclas de

compuestos, por ejemplo mezclas de monoacilglicerol, diacilglicerol o triacilglicerol que tienen ácidos grasos de diferentes longitudes. En realizaciones más específicas, está presente un detergente no iónico adicional, por ejemplo un detergente basado en polisorbato, además del éster de PEG. En otras realizaciones más específicas, también está presente un PEG libre. En realizaciones todavía más específicas, están presentes tanto un detergente no iónico adicional como un PEG libre.

En una realización todavía más específica de los métodos y composiciones descritos, una formulación líquida usada en la presente memoria comprende: (a) una mezcla de monoacilglicerol, diacilglicerol y triacilglicerol C_8-C_{18} ; (b) monoésteres y diésteres de PEG-32 de una mezcla de ácidos grasos C_8-C_{18} ; y (c) PEG-32 libre. Incluso más específicamente, la relación en peso/peso del componente (a) a los componentes (b) + (c) es entre 10:90-30:70 inclusive; más específicamente entre 15:85-25:75 inclusive; más específicamente 20:80. En algunas realizaciones, los componentes (a)-(c) juntos constituyen 8-16% en peso/peso inclusive, de la formulación líquida basada en aceite. En realizaciones más específicas, la cantidad es 9-15% inclusive. En realizaciones más específicas, la cantidad es 10-14% inclusive. En realizaciones más específicas, la cantidad es 11-13% inclusive. En realizaciones más específicas, la cantidad es 12%.

En otras realizaciones, una formulación líquida basada en aceite usada en los métodos y composiciones farmacéuticas descritos comprende además un componente autoemulsionante, que puede ser o no una de las mezclas de componentes descritas en los párrafos precedentes. "Componente autoemulsionante" en algunas realizaciones se refiere a un componente que forma espontáneamente una emulsión. Típicamente, dichos componentes formarán una emulsión en contacto con el medio acuoso, formando una dispersión fina, es decir, una microemulsión (SMEDDS). Algunas realizaciones de dichos componentes comprenden una mezcla de triacilglicerol y un equilibrio hidrófilo/lipófilo alto (HLB; véase Griffin WC: "Calculation of HLB Values of Non-Ionic Surfactants," *J Soc Cosmetic Chemists* 5:259 (1954)). Otras realizaciones del componente autoemulsionante tienen una consistencia cerosa, semisólida.

Preferiblemente, el HLB de un componente autoemulsionante usado en los métodos y composiciones descritos es 10 o mayor. En otras realizaciones, es entre 11-19 inclusive. En otras realizaciones, es entre 12-18 inclusive. En otras realizaciones, es entre 12-17 inclusive. En otras realizaciones, es entre 12-16 inclusive, lo cual es indicativo de un emulsionante de aceite en agua (Ac/Ag). En otras realizaciones, es entre 13-15 inclusive. En otras realizaciones, es 14. Realizaciones todavía más específicas de los componentes autoemulsionantes tienen un HLB de 12-16 inclusive y comprenden triacilglicerol de cadena media y larga conjugados con PEG, triacilglicerol libres y PEG libre. En otras realizaciones, el componente autoemulsionante tiene un HLB de 12-16 inclusive y consiste en una mezcla de triacilglicerol de cadena media y larga conjugados con PEG, triacilglicerol libres y PEG libre. En otras realizaciones, el componente autoemulsionante tiene un HLB de 14 y comprende triacilglicerol de cadena media y larga conjugados con PEG, triacilglicerol libres y PEG libre. En otras realizaciones, el componente autoemulsionante tiene un HLB de 14 y consiste en una mezcla de triacilglicerol de cadena media y larga conjugados con PEG, triacilglicerol libres y PEG libre.

Algunas realizaciones más específicas usan componentes autoemulsionantes que comprenden (a) un monoacilglicerol, un diacilglicerol, un triacilglicerol, o una mezcla de los mismos; y (b) un éster de polietilenglicol (PEG) de un ácido graso. En relación con esto, cada uno de los términos "monoacilglicerol", "diacilglicerol" y "triacilglicerol" no es necesario que se refiera a un solo compuesto, sino más bien puede incluir mezclas de compuestos, por ejemplo mezclas de monoacilglicerol, diacilglicerol o triacilglicerol que tienen ácidos grasos de diferentes longitudes. Una realización más específica es una mezcla de monoacilglicerol, diacilglicerol, y triacilglicerol C_8-C_{18} .

Una realización más específica del componente (b) es una mezcla de monoésteres y diésteres PEG de una mezcla de ácidos grasos C_8-C_{18} .

En otras realizaciones más específicas, el componente autoemulsionante comprende además moléculas de PEG libres.

Las longitudes preferidas de los restos de PEG para usar en las composiciones y métodos descritos contienen entre 5-100 monómeros. En realizaciones más específicas, el PEG puede contener entre 15-50 monómeros. En realizaciones todavía más específicas, el PEG puede contener entre 25-40 monómeros. En realizaciones más específicas, el PEG puede contener 32 monómeros.

En una realización todavía más específica de los métodos y composiciones descritos, un componente autoemulsionante usado en la presente memoria comprende: (a) una mezcla de monoacilglicerol, diacilglicerol y triacilglicerol C_8-C_{18} ; (b) monoésteres y diésteres de PEG-32 de una mezcla de ácidos grasos C_8-C_{18} ; y (c) PEG-32 libre; y la relación en peso/peso del componente (a) a los componentes (b) + (c) es 20:80. En algunas realizaciones, dicho componente constituye 8-16% en peso/peso inclusive de la formulación líquida basada en aceite. En realizaciones más específicas, la cantidad es 9-15% inclusive. En realizaciones más específicas, la cantidad es 10-14% inclusive. En realizaciones más específicas, la cantidad es 11-13% inclusive. En realizaciones más específicas, la cantidad es 12%.

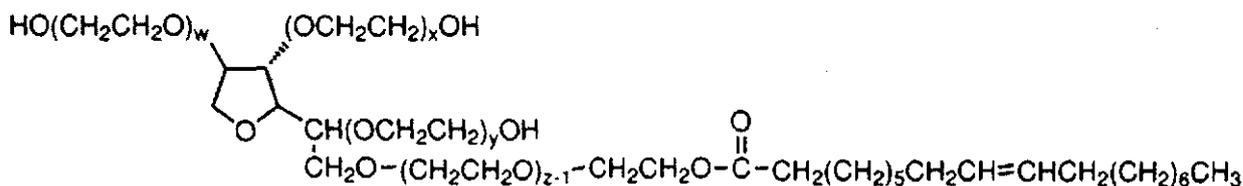
Los ejemplos de componentes autoemulsionantes que cumplen las especificaciones anteriores son Gelucire™ 44/14, Gelucire™ 53/10 y Gelucire™ 50/13. Un ejemplo particularmente preferido es Gelucire™ 44/14. Los sufijos 44 y 14 se refieren respectivamente a su punto de fusión y su equilibrio hidrófilo/lipófilo (HLB). Gelucire™ 44/14 (Gattefossé SAS, Saint-Priest, Francia) se obtiene por poliglucólisis de aceite de coco hidrogenado (triacilglicérols de cadena media y larga) con PEG-32. Tiene un equilibrio hidrófilo/lipófilo de 14. Está compuesto de una mezcla definida de mono-, di- y triacilglicérols C₈-C₁₈ (20% en p/p); mono- y diésteres de PEG-32 y PEG-32 libre (80% en p/p). El ácido graso principal presente es el ácido láurico, que da cuenta de 45% en promedio del contenido total de ácidos grasos. Es una dispersión sólida compuesta de una fracción de éster de PEG en una fase laminar de 120 Å con una conformación helicoidal y una fracción de acilglicérol en un empaquetamiento hexagonal. Los productos principales de la lipólisis gastrointestinal simulada de Gelucire™ 44/14 son mono y diésteres de PEG-32.

Detergentes no iónicos

En algunas realizaciones, la formulación líquida basada en aceite usada en los métodos y composiciones farmacéuticas descritos comprende además un detergente no iónico además del componente autoemulsionante. En algunas realizaciones, el detergente no iónico se selecciona del grupo que consisten en polisorbato-20, polisorbato-40, polisorbato-80, laurmacrogol 400, estearato de polioxilo 40, aceite de ricino hidrogenado polioxietilénico 10, 50 y 60, monoestearato de glicerol, polisorbato 40, 60, 65 y 80, éster de ácido graso y sacarosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, n-octilglucósido, n-dodecilglucósido, n-dodecilmaltósido, octanoil-N-metilglucamida, decanoil-N-metilglucamida, Triton™-X-100, Triton™-X-114, Tesit™, Isotridecípoli(etilenglicol éter)_n, 3-[(3-colamidopropil)dimetilaminio]-1-propanosulfonato (CHAPS), 3-[(3-colamidopropil)dimetilaminio]-2-hidroxil-1-propanosulfonato (CHAPSO), y N-dodecil=N,N-dimetil-3-amonio-1-propanosulfonato. En otras realizaciones, se selecciona uno de los detergentes no iónicos citados antes.

En algunas realizaciones más específicas, un detergente no iónico usado en los métodos y composiciones descritos es un detergente basado en polisorbato. Los ejemplos de detergente basado en polisorbato son detergentes obtenidos por unión covalente de sorbitán polietoxilado a un ácido graso. Realizaciones más específicas de detergentes basados en polisorbato son polisorbato-20, polisorbato-40 y polisorbato-80.

Por ejemplo, el polisorbato 80 (Tween-80) es un detergente no iónico, suave, obtenido a partir de sorbitán polietoxilado y ácido oleico y que tiene la siguiente estructura:



$$\text{Suma de } w + x + y + z = 20$$

En el caso del polisorbato 80, el resto mostrado en el lado derecho es una mezcla de ácidos grasos, que contienen 60-70% de ácido oleico (representado), siendo el resto principalmente ácidos linoleico, palmítico y esteárico.

En una realización más específica, el polisorbato 80 constituye 3-10% en peso/peso inclusive de una formulación líquida basada en aceite usada en los métodos y composiciones descritos. En una realización más específica, el porcentaje es 4-8% inclusive. En una realización más específica, el porcentaje es 5%.

Dosificaciones

Alternativamente o además, la insulina o análogo de GLP-1 presente en las composiciones descritas o usado en los métodos descritos, está presente en una cantidad subclínica. La expresión "cantidad subclínica" en este contexto se refiere a una cantidad menor de la que es necesaria para producir un efecto fisiológico deseado completo, por ejemplo, el control de los niveles de glucosa en la sangre posprandiales, en el contexto de su formulación y el paciente. Por consiguiente, una dosis subclínica de insulina sería menor que la requerida usando formulaciones similares a las descritas en la presente memoria que contienen insulina pero carecen de un análogo de GLP-1; o, en una realización más específica, una formulación idéntica excepto por la ausencia del análogo de GLP-1. Igualmente, una dosis subclínica de un análogo de GLP-1 sería menor de la que es necesaria usando formulaciones similares a las descritas en la presente memoria que contienen un análogo de GLP-1 pero carecen de insulina; o en una realización más específica, una formulación idéntica excepto por la ausencia de la insulina.

Los expertos en la técnica apreciarán, a la luz de la presente descripción, que la caracterización de una dosis como subclínica dependerá del peso y estado de salud (incluyendo la resistencia a la insulina, si es relevante) del paciente, las circunstancias de la administración, coadministración de otros medicamentos para la diabetes, la robustez del principio activo y los excipientes, y el efecto fisiológico deseado. Por ejemplo, los estudios hasta la fecha de formulaciones orales similares a las descritas en la presente memoria, pero que contienen solo insulina,

han mostrado que 8 mg de una formulación oral encapsulada en combinación con un inhibidor de proteasa y EDTA, en aceite de pescado (similar a la descrita en la presente memoria pero que carece de exenatida) es una dosis subclínica para pacientes diabéticos tipo 2 humanos, adultos, en ayunas, si el objetivo es un cambio robusto en los niveles de glucosa en la sangre; mientras que 16 mg es una dosis clínica en las mismas circunstancias. Las dosis de la misma formulación necesarias para lograr la modulación de fluctuaciones de glucosa posprandiales en los mismos pacientes no se han determinado, pero es probable que sean ligeramente más altas. Sin embargo, dosis tales como estas también dependen de la potencia de la formulación, y por lo tanto el umbral de dosis clínica puede ser ligeramente inferior si se usa un inhibidor de proteasa más potente, por ejemplo. La determinación de una dosis subclínica para un conjunto particular de circunstancias, por ejemplo por ensayo empírico, está en la experiencia del experto en la técnica.

En realizaciones más específicas, la cantidad subclínica de insulina de los métodos y composiciones descritos es entre 6-16 mg inclusive para un paciente adulto que tiene diabetes mellitus, por ejemplo diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), por ejemplo, para prevenir las fluctuaciones de glucosa posprandial cuando se administra entre 30-60 minutos (min) antes de una comida, en realizaciones más específicas 30 min, 45 min o 60 min antes de una comida. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 6-14 mg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 6-12 mg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 6-10 mg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 8 mg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 12 mg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 8-16 mg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 8-14 mg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 8-12 mg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 8-10 mg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 16 mg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 10-16 mg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 10-14 mg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 10-18 mg inclusive.

En otras realizaciones, la cantidad subclínica de insulina de los métodos y composiciones descritos es entre 0,06-0,16 mg/kg (miligramos por kilogramo de peso corporal) inclusive para un paciente adulto que tiene DMT2, por ejemplo, para prevenir las fluctuaciones de glucosa posprandial cuando se administra antes de una comida. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,06-0,14 mg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,06-0,12 mg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,06-0,10 mg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 0,08 mg/kg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 0,12 mg/kg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 0,16 mg/kg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,08-0,16 mg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,08-0,14 mg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,08-0,12 mg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,08-0,10 mg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,10-0,16 mg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,10-0,18 mg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,10-0,14 mg/kg inclusive.

En otras realizaciones más, la cantidad subclínica de insulina es una cantidad que corresponde a una de las cantidades o intervalos anteriores para un adulto, ajustado por peso corporal para un paciente pediátrico. En otras realizaciones, la insulina está presente en una cantidad subclínica ajustada para un paciente pediátrico, y el análogo de GLP-1 también está presente en una cantidad subclínica ajustada para un paciente pediátrico.

Las cantidades anteriores pueden ser para insulina humana de tipo natural, o en otra realización para uno de los otros tipos de insulina conocidos en la técnica.

En otras realizaciones más específicas, está presente una cantidad subclínica de un análogo de GLP-1 en una forma farmacéutica de los métodos y composiciones descritos. En algunas realizaciones, 150 microgramos (mcg), 200 mcg, 250 mcg o 300 mcg se considera una dosis subclínica para sujetos humanos adultos con DMT2 por ejemplo, para prevenir las fluctuaciones de glucosa posprandial cuando se administra 30-60 min antes de una comida, en realizaciones más específicas 30 min, 45 min o 60 min antes de una comida. En otras realizaciones, la cantidad subclínica de análogo de GLP-1 es entre 100-400 mcg inclusive para un paciente adulto que tiene DMT2. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 100-300 mcg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 100-250 mcg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 100-200 mcg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 100-150 mcg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 100 mcg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 150 mcg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 200 mcg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 250 mcg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 300 mcg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 150-400 mcg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 150-300 mcg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 150-250 mcg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 150-200 mcg inclusive.

En otras realizaciones, la cantidad subclínica de análogo de GLP-1 de los métodos y composiciones descritos es entre 0,100-0,400 mcg/kg inclusive para un paciente adulto que tiene DT2, por ejemplo, para prevenir las fluctuaciones de glucosa posprandial cuando se administra antes de una comida. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,100-0,300 mcg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,100-0,250 mcg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,100-0,200 mcg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es entre 0,100-0,150 mcg/kg inclusive. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 0,100 mcg/kg. En otras realizaciones, la cantidad subclínica es 0,150 mcg/kg. En otras realizaciones, la

mcg de exenatida. En otras realizaciones, la forma farmacéutica descrita contiene 12-16 mg de insulina inclusive y 200-400 mcg de exenatida. En otras realizaciones, la forma farmacéutica descrita contiene 6-16 mg de insulina inclusive y 200-400 mcg de exenatida.

5 En otras realizaciones, la forma farmacéutica descrita contiene 8-16 mg de insulina inclusive y 150-300 mcg de exenatida.

En otras realizaciones, el paciente que recibe la composición farmacéutica descrita recibe un agente terapéutico para la DM tipo molécula pequeña tal como metformina y/o una tiazolidinadiona (TZD). En otras realizaciones, el paciente no recibe un agente terapéutico para la DM tipo molécula pequeña. Se cree que las composiciones descritas son eficaces en cualquier caso.

10 Inhibidores de proteasa

Como se usa en la presente memoria, la expresión "inhibidor de proteasa" se refiere a cualquier agente capaz de inhibir la acción de la tripsina sobre un sustrato. La capacidad de un agente para inhibir la tripsina se puede medir usando ensayos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, en un ensayo típico, una unidad corresponde a la cantidad de inhibidor que reduce la actividad de la tripsina por una unidad de éster de etilo de la benzoil-L-arginina (BAEE-U). Una BAEE-U es la cantidad de enzima que aumenta la absorbancia a 253 nm en 0,001 por minuto a pH 7,6 y 25°C. Véase, por ejemplo, K. Ozawa, M. Laskowski, 1966, *J. Biol. Chem.* 241:3955; and Y. Birk, 1976, *Meth. Enzymol.* 45:700.

Algunos inhibidores de tripsina conocidos en la técnica son específicos para la tripsina, mientras que otros inhiben la tripsina y otras proteasas tales como la quimotripsina. Los inhibidores de tripsina se pueden obtener de fuentes vegetales animales o vegetales: por ejemplo, soja, maíz, judía de lima y otras judías, calabaza, girasol, páncreas y pulmón bovino y de otros animales, clara de huevo de gallina y pavo, fórmulas infantiles basadas en soja y sangre de mamífero. Los inhibidores de tripsina también pueden ser de origen microbiano; por ejemplo, anitpaína; véase, por ejemplo, H. Umezawa, 1976, *Meth. Enzymol.* 45, 678. Un inhibidor de tripsina también puede ser un mimético de arginina o lisina u otro compuesto sintético: por ejemplo arilguanidina, benzamidina, 3,4-dicloroisocumarina, diisopropilfluorofosfato, mesilato de gabexato o fluoruro de fenilmetanosulfonilo. Como se usa en la presente memoria, un mimético de arginina o lisina es un compuesto capaz de unirse al bolsillo P¹ de la tripsina y/o interferir con la función del sitio activo de la tripsina.

En algunas realizaciones, el inhibidor de tripsina usado en métodos y composiciones de la presente invención se selecciona del grupo que consiste en inhibidor de tripsina de judía de lima, aprotinina, (también conocido como inhibidor de tripsina pancreático o inhibidor de tripsina pancreático básico [BPTI]; Uniprot N° P00974 [entrada en la base de datos el 2 de enero, 2013]), inhibidor Kazal (inhibidor de tripsina secretora pancreática), ovomucoid, Alfa 1-antitripsina, globulina fijadora de cortisol, Centerin ([SERPINA9/GCET1 (transcrito 1 expresado en células B del centro germinal)], PI-6 (Sun et al. 1995), PI-8 (Sprecher et al. 1995), Bomapina, una serpina de clado A [por ejemplo Serpina3 (ID de gen de NCBI: 12; entrada en la base de datos el 27 de diciembre, 2012), Serpina6 (ID de gen de NCBI: 866; entrada en la base de datos el 27 de diciembre, 2012), Serpina12 (ID de gen de NCBI: 145264; entrada en la base de datos el 27 de diciembre, 2012); Serpina10 (ID de gen de NCBI: 51156; entrada en la base de datos el 27 de diciembre, 2012); Serpina7 (ID de gen de NCBI: 6906; entrada en la base de datos el 27 de diciembre, 2012); Serpina9 (ID de gen de NCBI: 327657; entrada en la base de datos el 27 de diciembre, 2012); Serpina11 (ID de gen de NCBI: 256394; entrada en la base de datos el 27 de diciembre, 2012); Serpina13 (ID de gen de NCBI: 388007; entrada en la base de datos el 27 de diciembre, 2012); Serpina2 (ID de gen de NCBI: 390502; entrada en la base de datos el 27 de diciembre, 2012); y Serpina4 (ID de gen de NCBI: 5104; entrada en la base de datos el 27 de diciembre, 2012)] Yukopin (Serpina12; Gene ID: 89777; entrada en la base de datos el 27 de diciembre, 2012), antipaína, benzamidina, 3,4-dicloroisocumarina, diisopropilfluorofosfato, y mesilato de gabexato. En otras realizaciones, se selecciona más de uno, por ejemplo 2, 3 o 4, de los inhibidores anteriores.

45 Una secuencia precursora representativa de la aprotinina es:

MKMSRLCLSV ALLVLLGTLA ASTPGCDTSN QAKAQRPDFC LEPPYTGPKK
ARIIRYFYNA KAGLCQTFVY GGCRAKRNNF KSAEDCMRTC GGAIGPWENL (SEQ ID
NO: 1).

De estos 100 restos, los restos 1-21 son el péptido señal, 22-35 y 94-100 son propéptidos y la cadena madura BBI está compuesta de los restos 36-93 (58 AA).

50 En otras realizaciones, el inhibidor de tripsina se obtiene de la soja. Los inhibidores de tripsina derivados de soja (Glycine max) están fácilmente disponibles y se considera que son seguros para el consumo humano. Incluyen, pero no se limitan a SBTI, KTI (inhibidor de tripsina Kunitz), por ejemplo KT13, y BBI (inhibidor Bowman-Birk; Uniprot número P01055 [entrada en la base de datos el 3 de enero, 2013]). SBTI está compuesto de KTI, que inhibe la tripsina, y BBI, que inhibe la tripsina y quimotripsina. Dichos inhibidores de tripsina están disponibles, por ejemplo,

en Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo., EE.UU.

Una secuencia precursora representativa de BBI es:

MVVLKVCIVL LFLVGGTTSV NLRISKIGLL MKSDHQHSND DESSKPCCDQ
 CACTKSNPPQ CRCSDMRLNS CIISACKSCIC ALSYPAQCFC VDTITDFCYLP
 CKPSEDDKEN (SEQ ID NO: 2).

- 5 De estos 110 restos, los restos 1-19 son el péptido señal, 20-39 son un propéptido y la cadena madura BBI está compuesta de los restos 40-110 (71 AA).

KTI3 tiene el número Uniprot P01070 (entrada en la base de datos el 3 de enero, 2013). Una secuencia precursora representativa de KTI3 es:

MKSTHFLFL FCAFTTSYLP SAIADFLVDN EGNPLENGGT YYILSDITAF
 GGIRAAPTGN ERCPLTVVQS RNELDKGIGT IISSPYRIRF IAEGIIPLSLK
 FDSFAVIMLC VGIPTWSVV EDLPEGPAVK IGENKDAMDG WFRLEKRVSDD
 LFNNYKLVFC PQQAEDDKCG DIGISIDHDD GTRRLVVSKN KPLVVQIFQKL
 DKESLAKKNH GLSRSE (SEQ ID NO: 3)

- 10 De la secuencia anterior, los restos 1-24 son el péptido señal, 206-216 son un propéptido y la cadena madura KTI está compuesta de los restos 25-205 (181 AA).

- 15 En otras realizaciones, un método o composición farmacéutica oral descrita en la presente memoria usa dos inhibidores de tripsina. En otras realizaciones, están presente más de dos inhibidores de tripsina. En otras realizaciones, están presente tres inhibidores de tripsina. En otras realizaciones, están presente cuatro inhibidores de tripsina. En otras realizaciones, dos de los inhibidores de tripsina son SBTI y aprotinina. En otras realizaciones, los únicos dos inhibidores de tripsina son SBTI y aprotinina. En otras realizaciones más, los únicos dos inhibidores de tripsina son BBI aislado y aprotinina aislada.

- 20 En otras realizaciones, está presente un inhibidor de quimotripsina junto con un inhibidor de tripsina. En otras realizaciones, cuando el inhibidor de quimotripsina es también un inhibidor de tripsina, también está presente otro inhibidor de tripsina. Los ejemplos no limitantes de un inhibidor de tripsina y un inhibidor de tripsina/quimotripsina son KTI aislado, que inhibe la tripsina, y BBI aislado (inhibidor Bowman-Birk), que inhibe la tripsina y quimotripsina; estos están presentes juntos en la composición, en algunas realizaciones.

Agentes quelantes de cationes divalentes

- 25 El agente quelante de cationes divalentes usado en los métodos y composiciones descritos es, en una realización, cualquier compuesto fisiológicamente aceptable que tiene una alta afinidad por al menos uno de iones calcio, magnesio y manganeso. En otra realización, el agente quelante se selecciona del grupo que consiste en citrato o una de sus sales; ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) o una de sus sales (por ejemplo EDTA de disodio y EDTA de calcio y disodio); EGTA (ácido etilenglicoltetraacético) o una de sus sales; ácido dietilentriaminapentaacético (DTPA) o una de sus sales; y BAPTA (ácido 1,2-bis(o-aminofenoxi)etano-N,N,N',N'-tetraacético) o una de sus sales.
 30 En otras realizaciones, se usa uno de los agentes quelantes citados antes. En realizaciones más específicas, el agente quelante es EDTA.

Aceites

- 35 Las composiciones farmacéuticas y métodos descritos en la presente memoria usan uno o más aceites como la base de su fase líquida. En algunas realizaciones, el aceite puede ser cualquier aceite fisiológicamente aceptable que sea líquido a temperatura ambiente.

- 40 En realizaciones más específicas, el aceite comprende un ácido graso omega-3. En otras realizaciones, el ácido graso omega-3 es un ácido graso poliinsaturado omega-3. En otra realización, el ácido graso omega-3 es DHA, un ácido graso, poliinsaturado, omega-3, de 22 carbonos, denominado también ácido 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico. En otra realización, el ácido graso omega-3 es ácido α -linolénico (ácido 9,12,15-octadecatrienoico). En otra realización, el ácido graso omega-3 es ácido estearidónico (ácido 6,9,12,15-octadecatetraenoico). En otra realización, el ácido graso omega-3 es ácido eicosatrienoico (ETA; ácido 11,14,17-eicosatrienoico). En otra realización, el ácido graso omega-3 es ácido eicosatetraenoico (ácido 8,11,14,17-

eicosatetraenoico). En una realización, el ácido graso omega-3 es ácido eicosapentaenoico (EPA; ácido 5,8,11,14,17-eicosapentaenoico). En otra realización, el ácido graso omega-3 es ácido eicosahexaenoico (también denominado ácido 5,7,9,11,14,17-eicosahexaenoico). En otra realización, el ácido graso omega-3 es ácido docosapentaenoico (DPA; ácido 7, 10, 13, 16, 19-docosapentaenoico). En otra realización, el ácido graso omega-3 es ácido tetracosahexaenoico (ácido 6,9,12,15,18,21-tetracosahexaenoico).

En otras realizaciones, el aceite es un aceite natural que comprende un ácido graso omega-3. En realizaciones más específicas, el aceite se selecciona del grupo que consiste en un aceite de pescado, aceite de canola, aceite de semilla de lino, aceite de algas y aceite de semilla de cáñamo. En realizaciones más específicas, el aceite es un aceite de pescado. Se han ensayado varios tipos de aceite de pescado en las composiciones descritas en la presente memoria y se ha encontrado que funcionan todos igualmente bien.

Formulaciones específicas representativas

En realizaciones todavía más específicas, una formulación líquida en el método o composición descritos comprende insulina, exenatida, Gelucire 44/14, EDTA, SBTI, aprotinina y aceite de pescado. En otras realizaciones, la formulación líquida consiste esencialmente en insulina, exenatida, Gelucire 44/14, EDTA, SBTI, aprotinina y aceite de pescado. "Consiste esencialmente en" para este propósito indica que la formulación líquida no contiene ningún otro componente que afecte de forma apreciable a sus características fisiológicas. En otras realizaciones, la formulación líquida consiste en insulina, exenatida, Gelucire 44/14, EDTA, SBTI, aprotinina y aceite de pescado. En otras realizaciones incluso más específicas, las cantidades de insulina, exenatida, EDTA, SBTI, aprotinina y aceite de pescado por forma farmacéutica son 8-16 mg, 150-300 mcg, 100-200 mg, 50-100 mg, 20-30 mg, y 0,4-0,7 ml, respectivamente, y la cantidad de Gelucire 44/14 es 8-16%. En realizaciones todavía más específicas, las cantidades de insulina, exenatida, EDTA, SBTI, aprotinina y aceite de pescado por forma farmacéutica son 8-16 mg, 150-300 mcg, 150 mg, 75 mg, 24 mg, y 0,5-0,7 ml, respectivamente, y la cantidad de Gelucire 44/14 es 8-16%. En otras realizaciones, la composición anterior comprende además un detergente no iónico. En realizaciones más específicas, el detergente no iónico es un detergente basado en polisorbato. En realizaciones incluso más específicas, el detergente basado en polisorbato es polisorbato 80. Preferiblemente, el polisorbato 80 constituye 3-10% en peso/peso inclusive de la formulación líquida basada en aceite. En otras realizaciones, la composición anterior se recubre mediante un recubrimiento que resiste la degradación en el estómago.

En realizaciones todavía más específicas, una formulación líquida usada en el método o composición descritos comprende insulina, exenatida, un componente autoemulsionante, EDTA, SBTI, aprotinina y aceite de pescado. En otras realizaciones, la formulación líquida consiste esencialmente en insulina, exenatida, un componente autoemulsionante, EDTA, SBTI, aprotinina y aceite de pescado. "Consiste esencialmente en" para este propósito indica que la formulación líquida no contiene ningún otro componente que afecte de forma apreciable a sus características fisiológicas. En otras realizaciones, la formulación líquida consiste en insulina, exenatida, un componente autoemulsionante, EDTA, SBTI, aprotinina y aceite de pescado. En otras realizaciones incluso más específicas, las cantidades de insulina, exenatida, EDTA, SBTI, aprotinina y aceite de pescado por forma farmacéutica son 8-16 mg, 150-300 mcg, 100-200 mg, 50-100 mg, 20-30 mg, y 0,4-0,7 ml, respectivamente, y la cantidad del componente autoemulsionante es 8-16%. En realizaciones todavía más específicas, las cantidades de insulina, exenatida, EDTA, SBTI, aprotinina y aceite de pescado por forma farmacéutica son 8-16 mg, 150-300 mcg, 150 mg, 75 mg, 24 mg, and 0,5-0,7 ml, respectivamente, y la cantidad del componente autoemulsionante es 8-16%. En otras realizaciones, la composición anterior comprende además un detergente no iónico. En realizaciones más específicas, el detergente no iónico es un detergente basado en polisorbato. En realizaciones incluso más específicas, el detergente basado en polisorbato es polisorbato 80. Preferiblemente, el polisorbato 80 constituye 3-10% en peso/peso inclusive de la formulación líquida basada en aceite. En otras realizaciones, la composición anterior se recubre mediante un recubrimiento que resiste la degradación en el estómago.

Los porcentajes en "peso/peso" a los que se hace referencia en la presente memoria usan la cantidad de base de aceite en la formulación, por ejemplo aceite de pescado, como el denominador; por lo tanto, 60 mg de Gelucire en 500 mg aceite de pescado se considera como 12% en p/p, independientemente del peso de los otros componentes. Igualmente, 50 mg de Tween-80 mezclado con 500 mg aceite de pescado se considera como 10% de Tween-80.

En otras realizaciones, una formulación líquida usada en el método o composición descritos está exenta de agua. Si está presente más de una formulación líquida, por ejemplo, en una composición multicomponentes, cada formulación líquida puede estar exenta de agua. "Exenta de agua" se refiere en algunas realizaciones, a una formulación en la que no se han añadido deliberadamente componentes acuosos. No excluye la presencia de cantidades en trazas de agua que han sido absorbidas de la atmósfera en sus componentes. En otra realización, la formulación líquida está exenta de componentes acuosos. Si está presente más de una formulación líquida, por ejemplo, en una composición multicomponentes, cada formulación líquida puede estar exenta de componentes acuosos. En otras realizaciones más, uno o más aceites son los únicos componentes líquidos de cada una de las una o más formulaciones líquidas. En otra realización más, el aceite de pescado es el único componente líquido de cada una de las una o más formulaciones líquidas.

Recubrimientos

- Los expertos en la materia apreciarán, dada la presente descripción, que se pueden usar diferentes recubrimientos sensibles al pH en los métodos y composiciones descritos. En algunas realizaciones, se puede usar cualquier recubrimiento que inhiba la digestión de la composición en el estómago de un sujeto. Típicamente, dichos recubrimientos no se disolverán en jugos gástricos humanos en el espacio de 2 horas, y se disolverán en el espacio de 30 minutos en fluido duodenal.
- 5 En otras realizaciones, el recubrimiento comprende un polisacárido biodegradable. En otras realizaciones, se usa un hidrogel. En otras realizaciones, el recubrimiento comprende uno de los siguientes excipientes: quitosán, un recubrimiento Aquacoat ECD, un polímero azo-reticulado, acetato ftalato de celulosa, acetato trimelitato de celulosa (CAT), acetato butirato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa o poli(acetato ftalato de vinilo).
- 10 En otras realizaciones, se usa un sistema de liberación en el tiempo tal como Pulsincap™.
- En realizaciones preferidas, las formas farmacéuticas recubiertas descritas en la presente memoria liberan el núcleo (que contiene la formulación basada en aceite) cuando el pH alcanza el intervalo encontrado en los intestinos, que es relativamente alcalino respecto al del estómago. En realizaciones más específicas, el recubrimiento comprende un polímero sensible al pH. En varias realizaciones, se pueden usar recubrimientos monocapa o multicapas.
- 15 En una realización, el recubrimiento es un recubrimiento entérico. Los métodos para el recubrimiento entérico son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Siepmann F et al. 2005). En realizaciones más específicas, se usa un recubrimiento de Eudragit™, como el recubrimiento entérico. Los recubrimientos de Eudragit™ son polímeros acrílicos, cuyo uso es bien conocido en la técnica.
- 20 En otra realización, se usa la microencapsulación como un recubrimiento resistente al estómago en las composiciones descritas en la presente memoria. Los métodos para la microencapsulación son bien conocidos en la técnica, y se describen, entre otros, en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos nº 2011/0305768.
- En otras realizaciones, el recubrimiento es una cápsula. Las cápsulas de gelatina son las más preferidas. Los métodos para insertar una formulación basada en aceite en una cápsula de gelatina también son bien conocidos en la técnica.
- 25 **Composiciones farmacéuticas y métodos para hacerlas**
- En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica descrita en la presente memoria, para el tratamiento de la diabetes mellitus, por ejemplo, la diabetes mellitus tipo 2, en un ser humano.
- En otro aspecto más, se proporciona un uso de una combinación de los ingredientes descritos en la presente memoria en la preparación de un medicamento para tratar la diabetes mellitus en un ser humano.
- 30 Otro aspecto más, proporciona un método para tratar la diabetes mellitus en un ser humano, comprendiendo el método la etapa opcional de seleccionar un sujeto mediante el diagnóstico de la diabetes mellitus, seguido de la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una composición farmacéutica descrita en la presente memoria, tratando así la diabetes mellitus en un ser humano.
- 35 Otro aspecto más, proporciona un método de fabricación de una composición farmacéutica, que comprende las etapas de fundir un componente autoemulsionante, céreo; añadir el componente fundido a aceite de pescado, opcionalmente enfriar la mezcla resultante; añadir al aceite EDTA, SBTI en forma de polvo, aprotinina en forma de polvo, insulina cristalina y exenatida en forma de polvo, en algunas realizaciones en el orden citado; y mezclar y homogeneizar el líquido resultante, en algunas realizaciones en un molino de rodillos.
- 40 Otro aspecto más proporciona un método de fabricación de una composición farmacéutica, que comprende las etapas de fundir un componente autoemulsionante, céreo; añadir el componente fundido a aceite de pescado, opcionalmente enfriar la mezcla resultante; añadir al aceite EDTA, SBTI aislado en forma de polvo, KT13 aislado en forma de polvo, insulina cristalina y exenatida en forma de polvo, en algunas realizaciones en el orden citado; y mezclar y homogeneizar el líquido resultante, en algunas realizaciones en un molino de rodillos.
- 45 Otro aspecto más proporciona un método de fabricación de una composición farmacéutica, que comprende las etapas de fundir un componente autoemulsionante, céreo; añadir el componente fundido a aceite de pescado, opcionalmente enfriar la mezcla resultante; añadir al aceite EDTA, KT13 aislado en forma de polvo, aprotinina en forma de polvo, insulina cristalina y exenatida en forma de polvo, en algunas realizaciones en el orden citado; y mezclar y homogeneizar el líquido resultante, en algunas realizaciones en un molino de rodillos.
- 50 Otro aspecto más proporciona un uso de una combinación de ingredientes descritos en lo que antecede en la preparación de un medicamento para tratar la diabetes inestable, también conocida como labilidad glucémica (Ryan et al., 2004) en un ser humano. Otro aspecto más proporciona un método para tratar la diabetes inestable, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una composición farmacéutica como se ha descrito en lo que antecede, tratando así la diabetes inestable.
- Se proporciona en otra realización un uso de una combinación de ingredientes descritos en lo que antecede, en la

- preparación de un medicamento para tratar un nivel elevado de glucosa en la sangre en ayunas en un ser humano. Se proporciona en otra realización un método para tratar un nivel elevado de glucosa en la sangre en ayunas, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una composición farmacéutica descrita en lo que antecede, tratando de esta forma un nivel elevado de glucosa en la sangre en ayunas. En algunas realizaciones preferidas, el sujeto es un sujeto humano. En varias realizaciones, el nivel elevado de glucosa en la sangre en ayunas se considera que existe en un sujeto que tiene un nivel de glucohemoglobina [HgA1c] de 8-10% o un nivel de azúcar en el plasma en ayunas de 100 a 125 mg/dl o de 5,6 a 6,9 mmol/l.
- 5 Se describe en la presente memoria, en otra realización, un método para tratar el colesterol total elevado, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una composición farmacéutica descrita en lo que antecede, tratando de esta forma el colesterol total elevado.
- 10 También se describe en la presente memoria, un método para tratar la hipertrigliceridemia, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una composición farmacéutica descrita en lo que antecede, tratando de esta forma la hipertrigliceridemia.
- También se describe en la presente memoria, un método para tratar la apolipoproteína B (ApoB) en el suero elevada, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una composición farmacéutica descrita en lo que antecede.
- 15 También se describe en la presente memoria, un método para tratar una relación de colesterol total/HDL elevada, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una composición farmacéutica descrita en lo que antecede.
- 20 También se describe en la presente memoria, un método para tratar una relación de apolipoproteína B/apolipoproteína A1 elevada, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una composición farmacéutica descrita en lo que antecede, tratando de esta forma una relación de apolipoproteína B/apolipoproteína A1 elevada.
- Los métodos para medir cada uno de los parámetros de lípidos mencionados antes son bien conocidos para los expertos en la técnica. Se describen métodos de ejemplo, entre otros en Chiquette E et al. y Martinez-Colubi M et al.
- 25 También se describe en la presente memoria, un método para tratar una potenciación deteriorada de las respuestas vasodilatadoras inducidas por insulina en un sujeto con síndrome metabólico, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una composición farmacéutica descrita en lo que antecede, tratando de esta forma una potenciación deteriorada de las respuestas vasodilatadoras inducidas por insulina, en un sujeto con síndrome metabólico. Los métodos para medir las respuestas vasodilatadoras inducidas por insulina se conocen en la técnica, e incluyen, por ejemplo, medir las respuestas del flujo sanguíneo (por ejemplo en el antebrazo) a la acetilcolina (ACh) y nitroprusiato sódico (SNP) (Tesauro et al).
- 30 El síndrome metabólico se considera que está presente si están presentes al menos tres de los siguientes factores:
1. Una cintura grande (obesidad abdominal).
 2. Un nivel de triglicéridos alto (o un nivel de triglicéridos alto en ausencia de medicación para tratar los triglicéridos altos).
 3. Un nivel de colesterol HDL bajo (o colesterol HDL bajo en ausencia de medicación para tratar el colesterol HDL bajo).
 4. Hipertensión (o hipertensión en ausencia de medicación para tratar la hipertensión).
 5. Azúcar en sangre en ayunas alto (o azúcar en sangre en ayunas alto en ausencia de medicación para tratar el azúcar en sangre en ayunas alto).
- 40 También se describe en la presente memoria, un método para tratar la esteatohepatitis no alcohólica en un sujeto con síndrome metabólico, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una composición farmacéutica descrita en la presente memoria, tratando de esta forma la esteatohepatitis no alcohólica en un sujeto con síndrome metabólico. Los métodos de diagnóstico y medición de la esteatohepatitis no alcohólica son bien conocidos en la técnica, e incluyen, por ejemplo, medir los niveles plasmáticos de aspartato transaminasa (AST), niveles plasmáticos de alanina transaminasa (ALT), niveles de ARNm hepáticos de genes implicados en la lipogénesis, y niveles de diacilglicerol aciltransferasa-2 (DGAT2) en el hígado (Miyashita T et al).
- 45 También se describe en la presente memoria, un método para tratar el colesterol total elevado, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite una insulina, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. También se describe en la
- 50

5 presente memoria, un método para tratar el colesterol total elevado, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite un análogo de GLP-1, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. El aceite, insulina, análogo de GLP-1, inhibidor(es) de tripsina, agente quelante, recubrimiento y otros ingredientes opcionales de las composiciones anteriores, pueden ser cualquiera de los descritos en la presente memoria; cada alternativa se puede combinar libremente para formar realizaciones discretas de la invención descritas en la presente memoria.

10 También se describe en la presente memoria, un método para tratar la hipertrigliceridemia, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite una insulina, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. También se describe en la presente memoria, un método para tratar la hipertrigliceridemia, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite un análogo de GLP-1, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. El aceite, insulina, análogo de GLP-1, inhibidor(es) de tripsina, agente quelante, recubrimiento y otros ingredientes opcionales de las composiciones anteriores, pueden ser cualquiera de los descritos en la presente memoria; cada alternativa se puede combinar libremente para formar realizaciones discretas de la invención descritas en la presente memoria.

25 También se describe en la presente memoria, un método para tratar la ApoB en el suero elevada, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite una insulina, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. También se describe en la presente memoria, un método para tratar la ApoB en el suero elevada, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite un análogo de GLP-1, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. El aceite, insulina, análogo de GLP-1, inhibidor(es) de tripsina, agente quelante, recubrimiento y otros ingredientes opcionales de las composiciones anteriores, pueden ser cualquiera de los descritos en la presente memoria; cada alternativa se puede combinar libremente para formar realizaciones discretas de la invención descritas en la presente memoria.

35 También se describe en la presente memoria, un método para tratar una relación de colesterol total/HDL elevada, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite una insulina, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. También se describe en la presente memoria, un método para tratar una relación de colesterol total/HDL elevada, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite un análogo de GLP-1, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. El aceite, insulina, análogo de GLP-1, inhibidor(es) de tripsina, agente quelante, recubrimiento y otros ingredientes opcionales de las composiciones anteriores, pueden ser cualquiera de los descritos en la presente memoria; cada alternativa se puede combinar libremente para formar realizaciones discretas de la invención descritas en la presente memoria.

50 También se describe en la presente memoria, un método para tratar una relación de apolipoproteína B/apolipoproteína A1 elevada, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite una insulina, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. También se describe en la presente memoria, un método para tratar una relación de apolipoproteína B/apolipoproteína A1 elevada, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite un análogo de GLP-1, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. El aceite, insulina, análogo de GLP-1, inhibidor(es) de tripsina, agente quelante, recubrimiento y otros ingredientes opcionales de las composiciones anteriores, pueden ser cualquiera de los descritos en la presente memoria; cada alternativa se puede combinar libremente para formar realizaciones discretas de la invención descritas en la presente memoria.

También se describe en la presente memoria, un método para tratar una potenciación deteriorada de las respuestas vasodilatadoras inducidas por insulina en un sujeto con síndrome metabólico, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite una insulina, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. También se describe en la presente memoria, un método para tratar una potenciación deteriorada de las respuestas vasodilatadoras inducidas por insulina en un sujeto con síndrome metabólico, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite un análogo de GLP-1, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. El aceite, insulina, análogo de GLP-1, inhibidor(es) de tripsina, agente quelante, recubrimiento y otros ingredientes opcionales de las composiciones anteriores, pueden ser cualquiera de los descritos en la presente memoria; cada alternativa se puede combinar libremente para formar realizaciones discretas de la invención descritas en la presente memoria.

También se describe en la presente memoria, un método para tratar la esteatohepatitis no alcohólica en un sujeto con síndrome metabólico, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite una insulina, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. También se describe en la presente memoria, un método para tratar la esteatohepatitis no alcohólica en un sujeto con síndrome metabólico, comprendiendo el método la etapa de administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una formulación líquida basada en aceite oral, comprendiendo la formulación líquida basada en aceite un análogo de GLP-1, un, o en otra realización más de un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde la formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento o cápsula que resiste la degradación en el estómago. El aceite, insulina, análogo de GLP-1, inhibidor(es) de tripsina, agente quelante, recubrimiento y otros ingredientes opcionales de las composiciones anteriores, pueden ser cualquiera de los descritos en la presente memoria; cada alternativa se puede combinar libremente para formar realizaciones discretas de la invención descritas en la presente memoria.

Dondequiera que se presenten alternativas para características separables individuales tales como, por ejemplo, una proteína de insulina o su dosificación, un análogo de GLP-1 o su dosificación, un inhibidor de proteasa, un agente quelante, un emulsionante, o un recubrimiento, en la presente memoria como "realizaciones" debe entenderse que dichas alternativas pueden combinarse libremente para formar realizaciones discretas de la invención descritas en la presente memoria.

La invención se ilustra además por los siguientes ejemplos y las figuras, de los cuales se pueden extraer más realizaciones y ventajas. Se pretende que estos ejemplos ilustren la invención pero no que limiten su alcance.

Sección experimental detallada

Ejemplo 1: Identificación de emulsionantes eficaces para preparaciones de proteína/aceite de pescado terapéuticas homogéneas

Se encontró que las formulaciones previas de insulina en aceite de pescado presentan precipitación con el paso del tiempo; por lo tanto no eran conveniente para la preparación de formas farmacéuticas a gran escala. Se ensayaron nuevas formulaciones que contenían 3,375 g de SBTI por 22,5 g de aceite de pescado y que contenían los siguientes emulsionantes: lecitina (secuencia de ensayo 1), Polisorbato 80 (Tween-80) (secuencia 2) o Gelucire® 44/14 (secuencia 3), solos o en combinación entre sí o monoestearato de glicerol (GMS) (Figura 1). Posteriormente, las formulaciones más prometedoras (indicadas con un asterisco) se produjeron de nuevo por fusión de Gelucire® (que era un sólido céreo a temperatura ambiente), adición después del mismo al aceite de pescado. Después de enfriar la mezcla, se añadieron los componentes sólidos en forma de polvo en el siguiente orden: EDTA, SBTI, aptrotinina e insulina; y el líquido resultante se mezcló y homogeneizó en un molino de rodillos.

Ejemplo 2: Ensayo in vivo de diferentes formulaciones de emulsionantes

50 Materiales y métodos experimentales

Formulaciones

Las formulaciones ensayadas en los experimentos 2A y 2B se muestran a continuación en la tabla 1. Los porcentajes de emulsionantes se expresan en peso/peso con respecto al peso de los líquidos presentes.

Tabla 1

Nombre de la formulación	Emulsionantes	Otros ingredientes
Experimento 2A		
GMS 2%	GMS 2% solo	3,375 g de SBTI, 6,75 mg de EDTA, 1,08 mg de aprotinina, 0,39 mg de insulina humana, 22,5 g. de aceite de pescado
2%-2%	2% de GMS, 2% de lecitina	Igual que antes.
2%-10%	2% de GMS, 10% de lecitina	Igual que antes.
10% lec.	10% de lecitina solo	Igual que antes.
Experimento 2B		
A	5% de lecitina, 2% de GMS	Igual que antes.
B	3% de lecitina, 12% de Gelucire 44/14	Igual que antes.
C	6% de lecitina, 12% de Gelucire 44/14	Igual que antes.
D	5% de Tween-80, 12% de Gelucire 44/14	Igual que antes.
E	10% de Tween-80, 12% de Gelucire 44/14	Igual que antes.
F	12% de Gelucire 44/14 solo	Igual que antes.

Cría de animales

- 5 Salud animal: se usaron solo cerdos sanos, certificado por un veterinario clínico para el estudio. Alojamiento: Aislados cuando tienen el CVC y agrupados en otros momentos. Lecho: hormigón + virutas de madera. Iluminación: ciclo de luz de 12-12 h. Temperatura: 19-25 °C

Identificación

Cada animal se identificó de forma única por etiquetas en las orejas.

Diseño experimental

- 10 Los animales se privaron de alimento 24-36 h antes del ensayo. El acceso al agua era a voluntad.

- 15 Los animales se anestesiaron con ketamina 20 mg/kg + xilazina 20 mg/kg. Los cerdos en ayunas y anestesiados se colocaron sobre su lado izquierdo antes de administrar las formulaciones líquidas mediante guía endoscópica, directamente al duodeno. Después de inyección de la formulación, se inyectó 1 ml de aceite de pescado, seguido de 10 ml de aire, para lavar el aparato, asegurando así la administración de la formulación entera. Después los cerdos se devolvieron a su corral para la recuperación completa del tratamiento de anestesia, que requirió 10-15 min. Se extrajeron periódicamente muestras de sangre (0,5 ml de las cuales se analizaron) del catéter de la línea central (CVC) a lo largo del siguiente periodo de vigilancia de 240 min. Se determinaron las concentraciones de glucosa en la sangre de cada muestra, en cada tiempo de medición. Los cochinitos se trataron por vía intravenosa con gentamicina (100 mg/10 kg) después de cada día del experimento para evitar la infección. En los casos en los que las concentraciones de glucosa disminuyeron por debajo de 30 mg/dl, se dio a los cochinitos comida comercial para cerdos, y se vigilaron las concentraciones de glucosa a continuación durante 30 minutos adicionales.

- 20 Se impuso un periodo de lavado de al menos 2 días entre los días de ensayo.

Resultados

- 25 Se ensayó la actividad in vivo de 10 formulaciones de insulina-aceite de pescado con diferentes emulsionantes en los niveles de glucosa en la sangre en 2 experimentos separados. Los resultados se describen a continuación.

Tabla 2. Resultados del experimento 2A. Los tres números en cada celda indican el valor inicial, el valor más bajo y final (20 mg/dl). "Bajo" indica un valor menor de 20 mg/dl.

Formulación	Cerdo 1	Cerdo 2	Cerdo 3	Cerdo 4	Cerdo 5 (estoma)	Puntuación
GMS 2%	78 → 48 → 65	72 → bajo → bajo	63 → 23 → 28	67 → 32 → 60	55 → 21 → 58	3
2% de GMS, 2% de lecitina	82 → Bajo → 65	78 → 45 → 76	85 → 30 → 68	78 → 23 → 61		2
2% de GMS, 10% de lecitina	76 → Bajo → 77	76 → bajo → 21	76 → bajo → bajo	74 → bajo → 70		4
10% de lecitina	51 → 63 → 71	50 → bajo → bajo	57 → bajo → bajo	61 → bajo → bajo		5

Los resultados del experimento 2B se indican en la figura 2.

Ejemplo 3: Una combinación de insulina oral/exenatida oral reduce fuertemente los niveles de glucosa en la sangre y previene las fluctuaciones de glucosa posprandial

Material y métodos experimentales

5 Animales

Se usaron cerdos sanos de 25-30 kg, 3-4 meses de edad.

Diseño experimental

Se privó de alimento a los cerdos durante 24-36 horas antes de inicio del estudio. Los CVC se sustituyeron cada cinco días, salvo que las circunstancias requirieran la sustitución más temprano. Los animales se anestesiaron por administración de isoflurano mediante una máscara antes de intubación de la tráquea y conexión al respirador (2 litros de O₂ por minuto y 3-5% de isoflurano, cuando fuera necesario), después se colocaron sobre su costado izquierdo y se administraron cápsulas directamente al duodeno, usando una cesta endoscópica mediante guía endoscópica. Cuando se administraron la insulina oral y la exenatida oral, la exenatida oral se suministró primero, seguido de la insulina oral en el espacio de 2-10 minutos. Los cerdos se devolvieron a su corral para dejar que se recuperaran completamente del tratamiento anestésico y 30 minutos después de la administración de la cápsula se les dio 10 g/kg de leche en polvo comercial para cerdo (Denkavip Premium (Denkavit)) preparado en un volumen igual de agua. Las comidas típicamente se consumieron en el espacio de 7-15 minutos. Se extrajeron periódicamente muestras de sangre del CVC para el ensayo de la concentración de glucosa a lo largo del siguiente periodo de vigilancia de 240 min. Los cochinitos se trataron por vía intravenosa con gentamicina (100 mg/10 kg) después de cada día de experimento para evitar la infección. En los casos en los que las concentraciones de glucosa disminuyeron por debajo de 30 mg/dl, se dio a los cochinitos comida comercial para cerdos, y se vigilaron las concentraciones de glucosa a continuación durante 30 minutos adicionales. Los cerdos de control no se trataron. Se usaron tres cerdos, cada uno de los cuales recibió cada formulación un número de veces. El número de ensayos era n=5 para la insulina oral, n=5 para la exenatida oral, n=7 para la combinación y n=6 para el control.

25 Formulaciones

La formulación de insulina oral contenía 8 mg de insulina, 12% de Gelucire 44/14, 150 mg de EDTA, 75 mg de SBTI, y 24 mg de aprotinina en 0,5-0,7 ml de aceite de pescado. El líquido se recubrió mediante una cápsula de recubrimiento entérico, de gel blando. La forma farmacéutica se fabricó en Swiss Caps AG.

30 La formulación de exenatida oral contenía 150 microgramos (mcg) de exenatida, 150 mg de EDTA, 75 mg de SBTI, y 24 mg de aprotinina en 0,5-0,7 ml de aceite de pescado. El líquido se recubrió mediante una cápsula de recubrimiento entérico, de gel blando. La forma farmacéutica se fabricó en Swiss Caps AG.

Análisis estadístico

Los p valores se calcularon usando una prueba t unilateral de datos emparejados.

Resultados

35 Como se esperaba, los cerdos tratados con placebo experimentaron fluctuaciones de glucosa después de la ingestión calórica. Los cerdos tratados con exenatida oral 30 minutos antes de la ingestión calórica evitaron las fluctuaciones de glucosa a lo largo de 150 minutos después de la ingestión calórica (figura 3). La insulina oral también detuvo las fluctuaciones de glucosa, pero no previno totalmente una subida de las concentraciones de glucosa en la sangre a lo largo de todo el periodo de vigilancia. Se observó un fuerte efecto mayor tras el tratamiento combinado con exenatida oral e insulina oral. Además de prevenir completamente las fluctuaciones de glucosa, el tratamiento combinado redujo las concentraciones de glucosa a un mínimo de más de 50% por debajo de los valores iniciales durante todo el periodo desde el tiempo de medición de 70 minutos hasta el final de la sesión de vigilancia de 180 minutos. La diferencia en los niveles de glucosa en la sangre era estadísticamente significativa comparado con el no tratamiento o tratamiento con insulina o exenatida solos (p valores: combinación frente a control: $5,3 \times 10^{-5}$; combinación frente a insulina oral: 0,00015, y combinaciones frente a exenatida oral: $1,6 \times 10^{-5}$).

Ejemplo 4: Ensayo de una combinación de insulina oral/exenatida oral en sujetos humanos

Se administra a voluntarios, diabéticos o no diabéticos, antes de una comida, una o más formas farmacéuticas que tienen un recubrimiento o cápsula sensible al pH, que contienen una formulación líquida que contiene uno o más inhibidores de proteasa, EDTA, insulina y exenatida. Una formulación representativa es 50-200 mg por cápsula de SBTI; 20-30 mg por cápsula de aprotinina; 75-200 mg de EDTA; 8-32 mg por cápsula de insulina; 150-600 mcg por cápsula de exenatida; y 0,5 - 0,7 ml de aceite de pescado, opcionalmente con un emulsionante (p. ej., 8-20% de Gelucire® 44/14). En otros experimentos, se administraron a los sujetos dos formulaciones líquidas encapsuladas, una que contenía inhibidor(es) de proteasa, EDTA, e insulina y la otra que contenía inhibidor(es) de proteasa, EDTA, y exenatida. Una formulación representativa es una primera cápsula que contiene uno o más inhibidores de

proteasa, EDTA e insulina en una formulación líquida, opcionalmente con un emulsionante (p. ej., Gelucire® 44/14), junto con una segunda cápsula que contiene inhibidores de proteasa, emulsionante, EDTA y exenatida en una formulación líquida, opcionalmente con un emulsionante (p. ej., Gelucire® 44/14).

5 Los sujetos se estimulan con una carga de glucosa oral de 75 g después de la administración de la cápsula (por ejemplo 30-60 minutos después) y posteriormente se vigilan los parámetros fisiológicos relevantes por recolección de muestras de sangre.

El siguiente protocolo es un protocolo de ejemplo que se puede usar. Los expertos en la técnica apreciarán que se pueden modificar detalles no esenciales del protocolo sin comprometer su capacidad por proporcionar la información deseada.

10 Esquema general

Etapa I: La etapa I consiste en dos segmentos. El segmento 1 evaluará la seguridad, tolerabilidad y la farmacocinética/farmacodinamia (PK/PD) del aumento de la dosis de la exenatida oral en ocho (8) voluntarios sanos. En el primer segmento, las dos dosis menores de exenatida oral (150 y 300 µg de exenatida) se ensayarán aleatoriamente entre todos los sujetos sanos, en ayunas. Si se consideran seguras, se autorizará el aumento de la
15 dosis adicional (450 y 600 µg de exenatida) en el segmento 2. La dosis más alta tolerable se administrará entonces a los sujetos 60 minutos antes de una comida estándar (Consulta 5).

Etapa II: Esta etapa evaluará la respuesta del paciente con DMT2 al aumento de dosis de exenatida cuando se suministra 60 min antes de una comida estándar. Se incluirán controles con placebo en el estudio, así como el
20 tratamiento con un control activo de Byetta® (5 µg) suministrado por vía subcutánea 30 min antes de una comida estándar. Además, los sujetos con DMT2 se tratarán con una cápsula oral de insulina que contiene 16 mg de insulina y con una combinación de insulina oral/exenatida oral, en dos consultas del estudio independientes, 60 minutos antes de una comida estándar.

Además de la exenatida y/o insulina, todas las formulaciones contenían 75 mg de SBTI, 24 mg de aprotinina y 150 mg de EDTA, todos en aceite de pescado, en cápsulas con recubrimiento entérico.

25 Interpretación:

Se calculará y comparará el AUC de las reducciones de glucosa y fluctuación de insulina entre los diferentes tratamientos.

Población del estudio:

Sanos: Individuos sanos, varones.

30 DMT2: La presencia de DMT2 se determina por los criterios de la OMS. Los sujetos pueden ser de cualquier género, entre 18 y 60 años de edad, con control glucémico estable, que opcionalmente toman medicación antidiabetes oral (p. ej., metformina y/o TZD), y no embarazadas o lactantes. Los sujetos continuarán con sus medicamentos y posologías habituales hasta la noche anterior al estudio. Los pacientes reanudarán su medicación habitual después de completarse cada sesión del estudio (el mismo día). Aparte de la diabetes, los sujetos deben tener un buen
35 estado de salud, con niveles de enzimas hepáticas estables (inferior a 2x el intervalo superior normal)

Procedimientos

Etapa I: El segmento I de la fase de tratamiento consistirá en dos consultas, que evalúan 150 µg y 300 µg de exenatida oral frente al tratamiento con placebo en sujetos sanos, administrados por la mañana después de un ayuno de 8 h. El aumento de dosis adicional al segmento II será autorizado si se demuestran seguridad y
40 tolerabilidad y que no hay efectos secundarios graves. En el segmento II, se administrará a los sujetos en ayunas 450 y/o 600 µg de exenatida oral y/o placebo a individuos en ayunas (Apéndice 1). La dosis tolerable más alta se suministrará entonces 60 minutos antes de la ingestión de una comida estándar.

A cada administración de dosis le seguirá un periodo de lavado de al menos 72 horas.

Fase de selección:

45 Se pueden llevar a cabo las siguientes evaluaciones:

- Anamnesis
- Exploración física
- Antecedentes farmacéuticos
- ECG

- Signos vitales (presión sanguínea, frecuencia cardíaca). Los signos vitales se medirán en posición sentada después de al menos 5 minutos de reposo.

- Evaluaciones de laboratorio clínico (bioquímica, hematología, HgA1C)

Fase de tratamiento:

5 1. Las muestras de sangre se obtendrán a los -45, -30, -15, 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150 min, donde tiempo=0 es el momento en el que se ingiere la cápsula, y se lleva a cabo ensayo de glucosa, insulina, péptido C, así como contenido de análogo de GLP-1.

2. Se servirá una comida estándar 60 minutos después de la administración de la exenatida oral a pacientes sanos solo en la consulta 5.

10 3. Se pueden evaluar los síntomas gastrointestinales.

Etapa II:

15 Se administrarán 300 y 600 microgramos de exenatida, o las dos dosis más altas tolerables determinadas en la etapa I, en paralelo y en combinación con 16 mg de insulina, por ejemplo como 16 mg combinados con 300 microgramos, 60 minutos antes de una comida estándar. En las consultas del estudio en las que se administra una inyección de Byetta® (5 µg), se servirá una comida 30 minutos después de la administración de la dosis.

Fase de selección:

Igual que para la etapa I.

Fase de tratamiento:

20 1. Las muestras de sangre se extraerán a los -15, 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150 y 240 min, donde tiempo=0 es el momento en el que se ingiere la cápsula, y se lleva a cabo ensayo de glucosa, insulina, péptido C, así como niveles de análogo de GLP-1 ($C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$ y/o AUC)

2. Se servirá una comida estándar 60 minutos después de la administración oral o 30 minutos después de la administración subcutánea de Byetta®.

3. Se pueden evaluar los síntomas gastrointestinales.

25 Tratamientos (suministrados en un orden aleatorio):

a. 300 o 600 mcg de exenatida oral o placebo o 5 mcg de exenatida subcutánea

b. 300 o 600 mcg de exenatida oral o placebo o 5 mcg de exenatida subcutánea

c. 300 o 600 mcg de exenatida oral o placebo o 5 mcg de exenatida subcutánea

d. 16 mg de insulina oral

30 e. 300 mcg de exenatida oral + 16 mg de insulina oral

Evaluaciones de seguridad:

- Se recogerán los acontecimientos adversos a lo largo del estudio empezando en el momento en el que el sujeto firma el formulario de consentimiento hasta el final de las evaluaciones del estudio.

35 - Se registrarán los medicamentos/tratamientos concomitantes a lo largo de la duración del estudio, empezando en el momento en el que el sujeto firma el consentimiento informado.

- Los signos vitales (presión sanguínea, frecuencia cardíaca) se medirán en posición sentada después de al menos 5 minutos de reposo en los siguientes tiempos:

- Selección

- Aproximadamente 20 minutos antes de la administración del fármaco del estudio

40 - Aproximadamente 1 y 2,5 horas después de la administración del fármaco del estudio

- Las evaluaciones de laboratorio clínico (química, hematología) se llevarán a cabo en la selección y al final del estudio o interrupción temprana.

- Exploración física en la selección y al final del estudio o interrupción temprana.

- Electrocardiogramas (ECG) en la selección. Se llevará a cabo un ECG al final del estudio o interrupción temprana, solamente si el investigador considera que es necesario.

Ejemplo 5: Ensayo de una combinación de insulina oral/exenatida oral en el tratamiento de la diabetes inestable

- 5 Se hace el seguimiento de sujetos con niveles de glucosa en ayunas elevados (por ejemplo, sujetos que tienen un nivel de glucohemoglobina [HgA1c] de 8-10% o un nivel de azúcar en plasma en ayunas de 100 a 125 mg/dl o de 5,6 a 6,9 mmol/l) durante varios días usando una monitorización continua de glucosa (CGM) con enmascaramiento para establecer un valor inicial. Durante varios días posteriores se les administra una formulación descrita en la presente memoria, opcionalmente antes de comidas. El CGM con enmascaramiento se lleve a cabo para determinar la eficacia de las formulaciones.
- 10 En las reivindicaciones, la palabra “comprenden”, y variaciones de la misma tales como “comprende”, “que comprende” y similares, indican que los componentes citados están incluidos, pero no en general la exclusión de otros componentes.

Referencias

- Chiquette E y col. Treatment with exenatide once weekly or twice daily for 30 weeks is associated with changes in several cardiovascular risk markers. *Vasc Health Risk Manag.* 2012;8:621-9.
- Eldor R, Kidron M, Arbit E. A single-blind, two-period study to assess the safety and pharmacodynamics of an orally delivered GLP-1 analog (exenatide) in healthy subjects. American Diabetes Association 70th Annual Scientific Sessions, June 25-29, 2010A, Orlando, Florida.
- Eldor R, Kidron M, Arbit E. Open-label study to assess the safety and pharmacodynamics of five oral insulin formulations in healthy subjects. *Diabetes Obes Metab.* Mar 2010B;12(3):219-223.
- Eldor R, Kidron M, Greenberg-Shushlav Y, Arbit E. Novel glucagon-like peptide-1 analog delivered orally reduces postprandial glucose excursions in porcine and canine models. *J Diabetes Sci Technol.* 2010C; 4(6):1516-1523.
- Kidron M, Dinh S, Menachem Y, y col. A novel per-oral insulin formulation: proof of concept study in non-diabetic subjects. *Diabet Med.* Apr 2004;21(4):354-357.
- Martinez-Colubi M y col. Switching to darunavir/ritonavir monotherapy (DRV/r mx): effect on kidney function and lipid profile. *J Int AIDS Soc.* 2012 Nov 11;15(6):18348. doi: 10.7448/IAS.15.6.18348. y col.
- Miyashita T y col., Hepatoprotective effect of tamoxifen on steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in mouse models. *J Toxicol Sci.* 2012;37(5):931-42
- Ryan EA, Shandro T, Green K y col. Assessment of the severity of hypoglycemia and glycemic lability in type 1 diabetic subjects undergoing islet transplantation. *Diabetes.* 2004 Apr;53(4):955-62.
- Siepmann I, Siepmann J y col., Blends of aqueous polymer dispersions used for pellet coating: importance of the particle size. *J Control Release* 2005; 105(3): 226-39.
- Sun J., Rose J. B., Bird P. (1995) *J. Biol. Chem.* 270, 16089–16096.
- Nissan A, Ziv E, Kidron M, y col. Intestinal absorption of low molecular weight heparin in animals and human subjects. *Haemostasis.* Sep-Oct 2000;30(5):225-232.
- Sprecher CA, Morgenstern KA, Mathewes S, Dahlen JR, Schrader SK, Foster DC, Kisiel W. *J Biol Chem.* 1995 Dec 15;270(50):29854-61.

Tesauro et al. Effects of GLP-1 on Forearm Vasodilator Function and Glucose Disposal During Hyperinsulinemia in the Metabolic Syndrome. *Diabetes Care*. 2012 Oct 15.

Ziv E, Kidron M, Raz I, et al. Oral administration of insulin in solid form to nondiabetic and diabetic dogs. *J Pharm Sci*. Jun 1994;83(6):792-794.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Oramed, Ltd

5 <120> Métodos y composiciones para tratar diabetes
 <130> ORAM 2093/7.2
 <150> 61/631,339
 <151> 03-01-2012

10 <160> 4
 <170> PatentIn versión 3.5

15 <210> 1
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

20 <400> 1
 Met Lys Met Ser Arg Leu Cys Leu Ser Val Ala Leu Leu Val Leu Leu
 1 5 10 15
 Gly Thr Leu Ala Ala Ser Thr Pro Gly Cys Asp Thr Ser Asn Gln Ala
 20 25 30
 Lys Ala Gln Arg Pro Asp Phe Cys Leu Glu Pro Pro Tyr Thr Gly Pro
 35 40 45
 Cys Lys Ala Arg Ile Ile Arg Tyr Phe Tyr Asn Ala Lys Ala Gly Leu
 50 55 60
 Cys Gln Thr Phe Val Tyr Gly Gly Cys Arg Ala Lys Arg Asn Asn Phe
 65 70 75 80
 Lys Ser Ala Glu Asp Cys Met Arg Thr Cys Gly Gly Ala Ile Gly Pro
 85 90 95
 Trp Glu Asn Leu
 100

25 <210> 2
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Glycine max

<400> 2
 Met Val Val Leu Lys Val Cys Leu Val Leu Leu Phe Leu Val Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Thr Ser Ala Asn Leu Arg Leu Ser Lys Leu Gly Leu Leu Met Lys
 20 25 30

30

ES 2 644 962 T3

Ser Asp His Gln His Ser Asn Asp Asp Glu Ser Ser Lys Pro Cys Cys
 35 40 45

Asp Gln Cys Ala Cys Thr Lys Ser Asn Pro Pro Gln Cys Arg Cys Ser
 50 55 60

Asp Met Arg Leu Asn Ser Cys His Ser Ala Cys Lys Ser Cys Ile Cys
 65 70 75 80

Ala Leu Ser Tyr Pro Ala Gln Cys Phe Cys Val Asp Ile Thr Asp Phe
 85 90 95

Cys Tyr Glu Pro Cys Lys Pro Ser Glu Asp Asp Lys Glu Asn
 100 105 110

<210> 3
 <211> 216
 5 <212> PRT
 <213> Glycine max

<400> 3
 Met Lys Ser Thr Ile Phe Phe Leu Phe Leu Phe Cys Ala Phe Thr Thr
 1 5 10 15

Ser Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Ala Asp Phe Val Leu Asp Asn Glu Gly
 20 25 30

Asn Pro Leu Glu Asn Gly Gly Thr Tyr Tyr Ile Leu Ser Asp Ile Thr
 35 40 45

Ala Phe Gly Gly Ile Arg Ala Ala Pro Thr Gly Asn Glu Arg Cys Pro
 50 55 60

Leu Thr Val Val Gln Ser Arg Asn Glu Leu Asp Lys Gly Ile Gly Thr
 65 70 75 80

Ile Ile Ser Ser Pro Tyr Arg Ile Arg Phe Ile Ala Glu Gly His Pro
 85 90 95

Leu Ser Leu Lys Phe Asp Ser Phe Ala Val Ile Met Leu Cys Val Gly
 100 105 110

Ile Pro Thr Glu Trp Ser Val Val Glu Asp Leu Pro Glu Gly Pro Ala
 115 120 125

Val Lys Ile Gly Glu Asn Lys Asp Ala Met Asp Gly Trp Phe Arg Leu
 130 135 140

10

ES 2 644 962 T3

Glu Arg Val Ser Asp Asp Glu Phe Asn Asn Tyr Lys Leu Val Phe Cys
 145 150 155 160

Pro Gln Gln Ala Glu Asp Asp Lys Cys Gly Asp Ile Gly Ile Ser Ile
 165 170 175

Asp His Asp Asp Gly Thr Arg Arg Leu Val Val Ser Lys Asn Lys Pro
 180 185 190

Leu Val Val Gln Phe Gln Lys Leu Asp Lys Glu Ser Leu Ala Lys Lys
 195 200 205

Asn His Gly Leu Ser Arg Ser Glu
 210 215

<210> 4

<211> 39

5 <212> PRT

<213> Heloderma suspectum

<220>

<221> característica miscelánea

10 <222> (39)..(39)

<223> el residuo está aminado en el C terminal

<400> 4

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

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

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

15

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica oral, comprendiendo la composición
 - (a) una formulación líquida basada en aceite, comprendiendo dicha composición farmacéutica oral una insulina, un análogo de GLP-1, un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde dicha formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento que resiste la degradación en el estómago;
 - o
 - (b) una combinación de i) una primera formulación líquida basada en aceite, comprendiendo dicha primera formulación líquida basada en aceite una insulina, un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes; y ii) una segunda formulación líquida basada en aceite, comprendiendo dicha segunda formulación líquida basada en aceite un análogo de GLP-1, un inhibidor de tripsina y un agente quelante de cationes divalentes, en donde cada una de dicha primera formulación líquida basada en aceite y dicha segunda formulación líquida basada en aceite está rodeada por un recubrimiento que resiste la degradación en el estómago.
2. La composición farmacéutica oral de la reivindicación 1, en donde dicha formulación líquida basada en aceite, o tanto dicha primera formulación líquida basada en aceite como dicha segunda formulación líquida basada en aceite, comprende además un componente proporcionado como una mezcla de (a) un monoacilglicerol, un diacilglicerol, un triacilglicerol, o una mezcla de los mismos; y (b) un éster de polietilenglicol (PEG) de un ácido graso.
3. La composición farmacéutica oral de la reivindicación 1, en donde dicha formulación líquida basada en aceite, o tanto dicha primera formulación líquida basada en aceite como dicha segunda formulación líquida basada en aceite, comprende además un componente autoemulsionante.
4. La composición farmacéutica oral de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde dicha insulina está presente en una cantidad entre 4-12 mg inclusive para un paciente adulto o una cantidad correspondiente por peso corporal para un paciente pediátrico.
5. La composición farmacéutica oral de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde dicho análogo de GLP-1 está presente en una cantidad entre 100-300 microgramos inclusive para un paciente adulto o una cantidad correspondiente por peso corporal para un paciente pediátrico.
6. La composición farmacéutica oral de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicho inhibidor de tripsina se selecciona del grupo que consiste en inhibidor de la tripsina de soja (SBTI), inhibidor Bowman-Birk (BBI) y aprotinina.
7. La composición farmacéutica oral de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que además comprende un segundo inhibidor de tripsina.
8. La composición farmacéutica oral de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde dicha agente quelante es EDTA.
9. La composición farmacéutica oral de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde dicho aceite es aceite de pescado.
10. La composición farmacéutica oral de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde dicha formulación líquida basada en aceite está exenta de agua.
11. La composición farmacéutica oral de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde dicho análogo de GLP-1 es exenatida.
12. La composición farmacéutica oral de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde dicho recubrimiento es una cápsula sensible al pH.
13. La composición farmacéutica oral de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, para usar para reducir la fluctuación de glucosa preprandial en un ser humano o no humano que tiene diabetes mellitus tipo 2.
14. La composición farmacéutica oral para el uso de la reivindicación 13, en donde dicha insulina está presente en una cantidad entre 4-12 mg inclusive, dicho análogo de GLP-1 es exenatida, y dicha exenatida está presente en una cantidad de 100-300 microgramos inclusive.
15. La composición farmacéutica oral de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, para usar en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en un ser humano o animal no humano.

Secuencia de ensayo	Ensayo n°	Lecitina	GMS	Tween 80	Gelucire 44/14	densidad	Acumulación de espuma	Ensayo de la suspensión en agua	Sedimentación	Viabilidad de la decisión	Eficacia (1=inferior)
I Lecitina	a	5%					3	1-2	fuerte, después de 2 horas	abortado 18 horas después de preparación debido a la sedimentación	
	b*	5%	2%			1,0658	2	2	no visible	enviado para ensayo	a determinar
	c	10%					4	n.e.	n.e.	abortado debido a la acumulación de espuma	
II Tween 80	a			2%			1	n.e.	fuerte, después de 1 hora	abortado 2 horas después de preparación debido a la sedimentación	
	b			4%			1	n.e.	fuerte, después de 1 hora	abortado 2 horas después de preparación debido a la sedimentación	
	c			20%			1	n.e.	fuerte, después de 1 hora	abortado 2 horas después de preparación debido a la sedimentación	
	d			10%			1	n.e.	fuerte, después de 1 hora	abortado 2 horas después de preparación debido a la sedimentación	
	e		2%				1	2-3	moderada, después de 1 hora	abortado 18 horas después de preparación debido a la sedimentación	
	f		2%	4%			1	2-3	moderada, después de 1 hora	abortado 18 horas después de preparación debido a la sedimentación	
	g		2%	20%			1	n.e.	fuerte, después de 1 hora	abortado 2 horas después de preparación debido a la sedimentación	
	h		2%	10%			1	3	moderada, después de 1 hora	abortado 18 horas después de preparación debido a la sedimentación	

Figura 1

III Gelucire 44/14	a							1	n.e.	n.e.	abortado inmediatamente después de preparación debido a baja viscosidad	
	b				2%			1	1-2	estable después de 18 horas	abortado después de 18 horas debido a menor viscosidad que IIIj	
	c				8%			1	2	estable después de 18 horas	abortado después de 18 horas debido a menor viscosidad que IIIj	
	d*	3			12%	1,0443		1	1-2	una capa de aceite muy fina (1 mm) visible después de 18 horas.	enviado para ensayo	2
	e*	6			12%	1,0565		1	1-2	una capa de aceite muy fina (1 mm) visible después de 18 horas.	enviado para ensayo	
	g*			5	12%	1,0604		1	2-3	una capa de aceite muy fina (1 mm) visible después de 18 horas.	enviado para ensayo	4
	h*			10	12%	1,0599		1	2-3	una capa de aceite muy fina (1 mm) visible después de 18 horas.	enviado para ensayo	4
	j*				12%	1,0644		1	3,5	estable después de 18 horas	enviado para ensayo	2

Continuación de la Figura 1

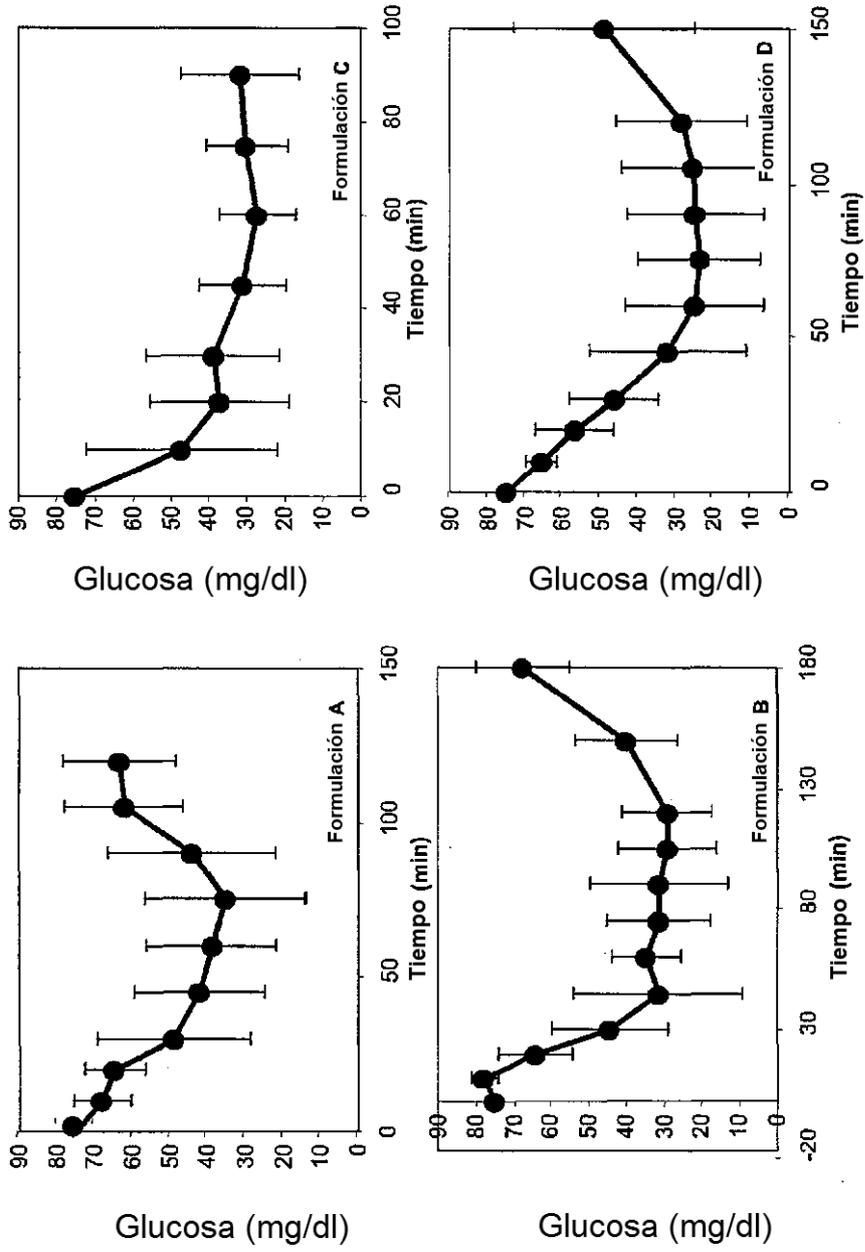


Figura 2A

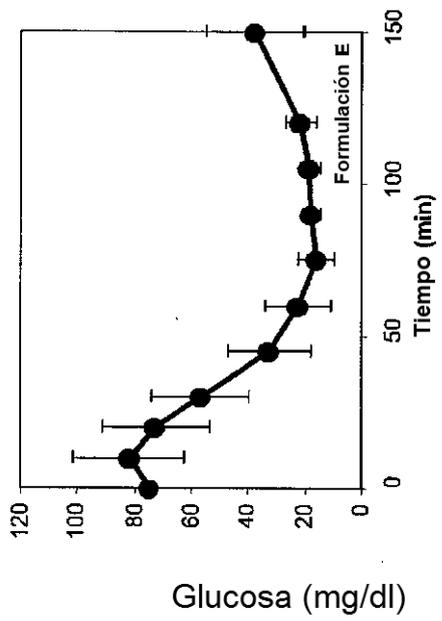
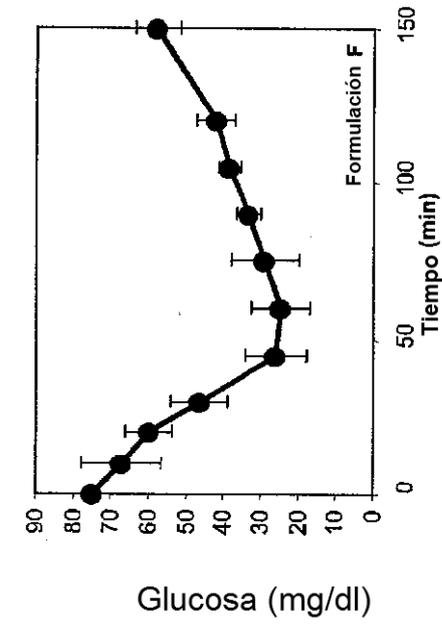


Figura 2B

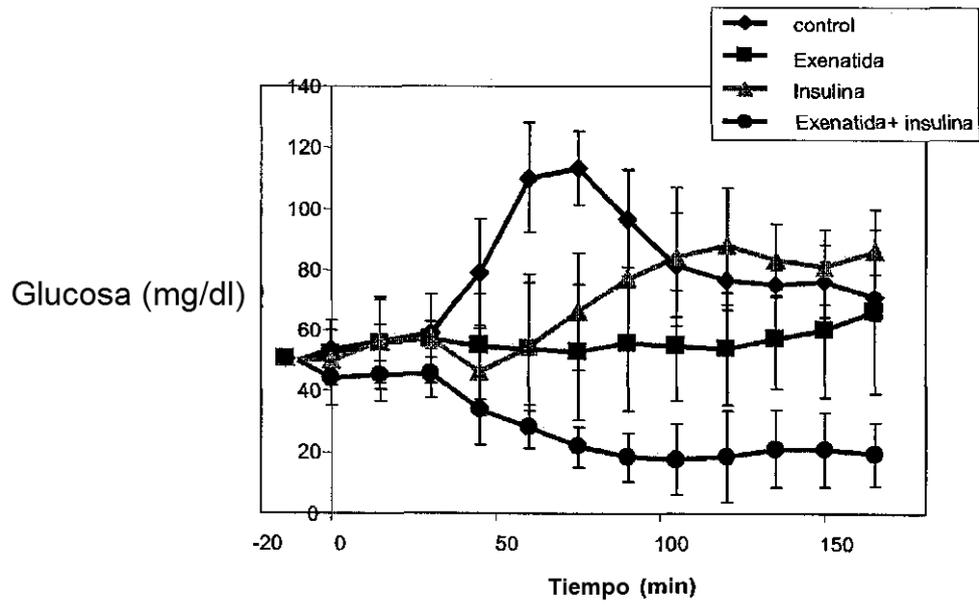


Figura 3