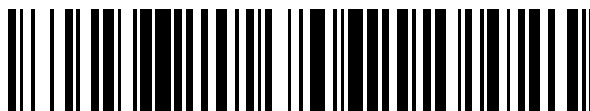


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 856**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/28** (2006.01)  
**A61K 38/19** (2006.01)  
**A61K 38/18** (2006.01)  
**A61K 38/21** (2006.01)  
**A61K 38/26** (2006.01)  
**A61P 3/10** (2006.01)  
**A61K 31/22** (2006.01)  
**A61K 31/202** (2006.01)  
**A61K 9/20** (2006.01)  
**A61K 9/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.08.2006 E 14151469 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 2722054**

54 Título: **Métodos y composiciones para la administración oral de proteínas**

30 Prioridad:

**06.09.2005 US 713716 P**

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

**01.06.2018**

73 Titular/es:

**ORAMED PHARMACEUTICALS INC. (100.0%)  
C/o Nadav Kidron 2 Elza Street  
93706 Jerusalem, IL**

72 Inventor/es:

**KIDRON, MIRIAM**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**Observaciones :**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 670 856 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**

Métodos y composiciones para la administración oral de proteínas

**Campo de la invención**

5 Esta invención proporciona composiciones que comprenden una proteína y un ácido graso omega-3, y un método para administrar la misma.

**Antecedentes de la invención**

10 Debido a la mejora de la biotecnología, ha aumentado considerablemente la accesibilidad de los péptidos biológicamente activos a la industria farmacéutica. Sin embargo, un factor limitante en el desarrollo de fármacos peptídicos es la relativa ineficacia cuando se administra por vía oral. Casi todos los fármacos peptídicos se administran parenteralmente, aunque los fármacos peptídicos parenteralmente administrados están a menudo conectados con una baja aceptación del paciente.

15 La insulina es un medicamento usado para tratar pacientes que padecen diabetes, y es el único tratamiento para la diabetes mellitus dependiente de insulina. La Diabetes Mellitus se caracteriza por un estado patológico de deficiencia absoluta o relativa de insulina, que da lugar a hiperglucemia, y es una de las principales amenazas para la salud humana en el siglo 21. La cifra global de personas con diabetes se va a incrementar a 220 millones en 2010, y a 300 millones en 2025. La diabetes tipo I es causada principalmente por el fracaso del páncreas para producir insulina. La diabetes tipo II, implica una falta de respuesta del cuerpo a la acción de la insulina.

20 Aproximadamente el 20%-30% de todos los diabéticos usan inyecciones diarias de insulina para mantener sus niveles de glucosa. Se estima que un 10% de todos los diabéticos son totalmente dependientes de las inyecciones de insulina.

25 En la actualidad, la única vía de administración es la inyección. La inyección diaria de insulina causa un gran sufrimiento para los pacientes. Se conoce la existencia de efectos secundarios como la lipodistrofia en el lugar de la inyección, lipoatrofia, lipohipertrofia, e hipoglucemia ocasional. Además, la administración subcutánea de insulina no proporciona típicamente la regulación continua fina del metabolismo que se produce normalmente con la insulina secretada del páncreas directamente en el hígado a través de la vena portal. La patente 5.206.219 de E.E.U.U. describe medicamentos proteínicos formulados en un medio que incluye un solvente de poliol y un solvente lipídico. Onuki *et al.*, International Journal of Pharmaceutics 198 (2000) 147-156, describe los efectos *in vivo* del ácido docosahexanoico altamente purificado en la absorción rectal de insulina. WO 00/24424 describe absorbefacientes transmucosales que incluyen ácido graso insaturado polivalente y un gel polimérico. Silve-Cunha *et al.*, International Journal of Pharmaceutics 158 (1997) 79-89, describe emulsiones de insulina que contienen una proteasa y un potenciador de la absorción.

30

La presente invención aborda la necesidad de una solución alternativa para la administración de insulina.

**Resumen de la invención**

35 Se describen en esta memoria composiciones que comprenden una proteína y un ácido graso omega-3, un método para tratar la diabetes mellitus, que comprende administrar la misma, y métodos para la administración oral de una proteína con una actividad enzimática, que comprende la administración por vía oral de la misma.

En una realización, se describe en esta memoria una composición que comprende una proteína de insulina y un ácido graso omega-3.

40 En una realización, se describe en esta memoria un método para administración oral de una proteína con una actividad enzimática a un sujeto, a través de la cual una fracción sustancial de la proteína retiene la actividad enzimática después de la absorción a través de una barrera mucosa intestinal del sujeto, que comprende administrar por vía oral al sujeto una composición farmacéutica que comprende la proteína y un ácido graso omega-3, administrando de este modo por vía oral una proteína con una actividad enzimática a un sujeto.

45 En otra realización, se describe en esta memoria un método para tratar la diabetes mellitus en un sujeto, que comprende administrar por vía oral al sujeto una composición farmacéutica que comprende insulina y un ácido graso omega-3, tratando de este modo la diabetes mellitus.

**Descripción detallada de la invención**

50 Esta invención proporciona composiciones que comprenden una proteína y un ácido graso omega-3, a proteína que tiene un peso molecular de hasta 100.000 Daltons, comprendiendo también las composiciones un inhibidor de tripsina y EDTA.

En una realización, la proteína es una enzima. En algunas realizaciones, la proteína es un ligando del receptor, transportador, o una proteína de almacenamiento. En una realización, la proteína es una proteína estructural.

- En algunas realizaciones, la enzima es una oxidoreductasa, transferasa, hidrolasa, liasa, isomerasa, o ligasa. En algunas realizaciones, las oxidoreductasas actúan sobre el grupo donador aldehído o el oxo, sobre grupos donadores CH-CH, sobre los grupos donadores CH-NH(2), sobre los grupos donadores CH-NH, sobre NADH o NADPH, sobre los grupos donadores CH-OH, sobre compuestos de nitrógeno como donadores, sobre un grupo donador de azufre, sobre un grupo donador hemo, sobre difenoles y sustancias relacionadas como donadores, sobre un peróxido como aceptor, sobre hidrógeno como donador, o donadores individuales con la incorporación de oxígeno molecular, sobre donadores apareados, sobre superóxido como aceptor, iones metálicos oxidantes, sobre grupos CH o CH(2), sobre proteínas de hierro-azufre como donadores, sobre flavodoxina reducida como donador, sobre fósforo o arsénico en donadores, o sobre x-H e y-H para formar un enlace x-y.
- 5
- En algunas realizaciones, las transferasas son aciltransferasas o glicosiltransferasas. En algunas realizaciones, las transferasas transfieren restos de aldehído o cetona. En algunas realizaciones, las transferasas transfieren grupos alquilo o arilo, distintos de grupos metilo. En algunas realizaciones, las transferasas transfieren grupos que contienen nitrógeno, fósforo, azufre o selenio.
- 10
- En algunas realizaciones, las hidrolasas son glicosilasas o actúan sobre enlaces éter, sobre enlaces peptídicos, sobre enlaces carbono-nitrógeno, distintos de enlaces peptídicos, sobre anhídridos ácidos, sobre enlaces carbono-carbono, sobre enlaces haluro, sobre enlaces fósforo-nitrógeno, sobre enlaces azufre-nitrógeno, sobre enlaces carbono-fósforo, sobre enlaces azufre-azufre, o sobre enlaces carbono-azufre.
- 15
- En algunas realizaciones, las liasas son liasas carbono-carbono, liasas carbono-oxígeno, liasas carbono-nitrógeno, liasas carbono-azufre, liasas carbono-haluro, liasas fósforo-oxígeno, u otras liasas.
- 20
- En algunas realizaciones, las isomerasas son racemasas o epimerasas, cis-trans-isomerasas, oxidorreductasas intramoleculares, transferasas intramoleculares, liasas intramoleculares, u otras isomerasas.
- En algunas realizaciones, las ligasas forman enlaces carbono-azufre, enlaces carbono-nitrógeno, enlaces carbono-carbono, enlaces de ésteres fosfóricos, o enlaces nitrógeno-metal.
- 25
- En algunas realizaciones, las proteínas transportadoras son anexinas, transportadores de casete de unión a ATP, hemoglobina, ATPasas, canales de calcio, canales de potasio, canales de sodio, o portadores de soluto.
- En algunas realizaciones, las proteínas de almacenamiento comprenden albúminas, lactoglobulinas, caseína, ovomucina, ferritina, fosvitina, lactoferrina, o vitelogenina. En una realización, las albúminas comprenden avidina, ovoalbúmina, albúmina sérica, parvalbúmina, proteína c-reactiva, prealbúmina, conalbúmina, ricina, lactalbúmina, metemalbúmina, o transtirretina.
- 30
- En algunas realizaciones, las proteínas estructurales comprenden amiloide, colágeno, elastina o fibrilina.
- En algunas realizaciones, la proteína es una proteína viral, proteína bacteriana, proteína de invertebrado, o proteína de vertebrado. En algunas realizaciones, la proteína es una proteína recombinante. En una realización, la proteína es una proteína recombinante. En una realización, la proteína recombinante es una proteína recombinante humana.
- 35
- En una realización, la presente invención proporciona una composición que comprende una proteína de insulina y un ácido graso omega-3. Como se proporciona en esta memoria (Ejemplos), tales composiciones tienen utilidad en la administración oral de insulina, a través de la cual la insulina es absorbida por los intestinos dentro del torrente sanguíneo en una forma activa.
- En otra realización, la presente invención proporciona una composición que comprende una proteína con actividad enzimática y un ácido graso omega-3.
- 40
- En una realización, la insulina de métodos y composiciones de la presente invención es insulina humana. En otra realización, la insulina es una insulina recombinante. En otra realización, la insulina es una insulina recombinante humana. En otra realización, la insulina es insulina bovina. En otra realización, la insulina es una insulina porcina. En otra realización, la insulina es una insulina de ballena. En otra realización, la insulina es un complejo metálico de insulina (p. ej., un complejo de zinc de insulina, insulina zinc protamina, o zinc globina).
- 45
- En otra realización, la insulina es insulina regular. En otra realización, la insulina es insulina de acción rápida. En otra realización, la insulina es insulina lenta. En otra realización, la insulina es insulina semilenta. En otra realización, la insulina es insulina Ultralenta. En otra realización, la insulina es insulina NPH. En otra realización, la insulina es insulina glargina. En otra realización, la insulina es insulina lispro. En otra realización, la insulina es insulina aspart. En otra realización, la insulina es una combinación de dos o más de cualquiera de los tipos de insulina anteriores. En otra realización, la insulina es cualquier otro tipo de insulina conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.
- 50
- En una realización, la cantidad de insulina utilizada en métodos y composiciones de la presente invención es 0,5-3 unidades (u)/kg en seres humanos. En una realización, las unidades usadas para medir insulina en métodos y composiciones de la presente invención son Unidades de Insulina USP. En una realización, las unidades usadas

para medir insulina son miligramos. En otra realización, una Unidad de Insulina USP es equivalente a 45,5 mg de insulina.

5 En otra realización, la cantidad de insulina es 0,1-1 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,2-1 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,3-1 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,5-1 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,1-2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,2-2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,3-2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,5-2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,7-2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1-2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1,2-2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1-1,2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1-1,5 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1-2,5 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1-3 u/kg. En otra realización, la cantidad es 2-3 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1-5 u/kg. En otra realización, la cantidad es 2-5 u/kg. En otra realización, la cantidad es 3-5 u/kg.

10 En otra realización, la cantidad de insulina es 0,1 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,3 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,4 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,5 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,6 u/kg. En otra realización, la cantidad es 0,8 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1,2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1,4 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1,6 u/kg. En otra realización, la cantidad es 1,8 u/kg. En otra realización, la cantidad es 2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 2,2 u/kg. En otra realización, la cantidad es 2,5 u/kg. En otra realización, la cantidad es 3 u/kg.

15 En otra realización, la cantidad de insulina es 1-10 u. En otra realización, la cantidad es 2-10 u. En otra realización, la cantidad es 3-10 u. En otra realización, la cantidad es 5-10 u. En otra realización, la cantidad es 1-20 u. En otra realización, la cantidad es 2-20 u. En otra realización, la cantidad es 3-20 u. En otra realización, la cantidad es 5-20 u. En otra realización, la cantidad es 7-20 u. En otra realización, la cantidad es 10-20 u. En otra realización, la cantidad es 10-15 u. En otra realización, la cantidad es 10-25 u. En otra realización, la cantidad es 10-12 u. En otra realización, la cantidad es 10-15 u. En otra realización, la cantidad es 10-25 u. En otra realización, la cantidad es 10-30 u. En otra realización, la cantidad es 20-30 u. En otra realización, la cantidad es 10-50 u. En otra realización, la cantidad es 20-50 u. En otra realización, la cantidad es 30-50 u. En otra realización, la cantidad es 20-100 u. En otra realización, la cantidad es 30-100 u. En otra realización, la cantidad es 100-150 u. En otra realización, la cantidad es 100-250 u. En otra realización, la cantidad es 100-300 u. En otra realización, la cantidad es 200-300 u. En otra realización, la cantidad es 100-500 u. En otra realización, la cantidad es 200-500 u. En otra realización, la cantidad es 300-500 u. En otra realización, la cantidad es 200-1000 u. En otra realización, la cantidad es 300-1000 u.

20 En otra realización, la cantidad de insulina es 1 u. En otra realización, la cantidad es 2 u. En otra realización, la cantidad es 3 u. En otra realización, la cantidad es 4 u. En otra realización, la cantidad es 5 u. En otra realización, la cantidad es 6 u. En otra realización, la cantidad es 8 u. En otra realización, la cantidad es 10 u. En otra realización, la cantidad es 12 u. En otra realización, la cantidad es 14 u. En otra realización, la cantidad es 16 u. En otra realización, la cantidad es 18 u. En otra realización, la cantidad es 20 u. En otra realización, la cantidad es 22 u. En otra realización, la cantidad es 25 u. En otra realización, la cantidad es 30 u. En otra realización, la cantidad es 50 u. En otra realización, la cantidad es 80 u. En otra realización, la cantidad es 100 u. En otra realización, la cantidad es 120 u. En otra realización, la cantidad es 140 u. En otra realización, la cantidad es 160 u. En otra realización, la cantidad es 180 u. En otra realización, la cantidad es 200 u. En otra realización, la cantidad es 300 u. En otra realización, la cantidad es 500 u.

25 En otra realización, el uso de formas de dosificación de liberación sostenida (p. ej., liberación sostenida por microencapsulación) permite que se reduzca la frecuencia del tratamiento a una vez o dos veces al día. En otra realización, la dosificación de insulina se aumenta de forma relacionada con la disminución de la frecuencia de administración.

Cada cantidad de insulina representa una realización separada de la presente invención.

30 Los métodos de medir los niveles de insulina son bien conocidos en la técnica. En una realización, los niveles de insulina recombinante se miden usando un kit de radioinmunoensayo (RIA) de insulina humana, p. ej., el kit fabricado por Linco Research Inc, (St. Charles, Missouri). En otra realización, se miden también los niveles de péptido C, para determinar las contribuciones relativas de la insulina endógena y exógena con los aumentos observados en los niveles de insulina. En otra realización, se usan los kits ELISA de insulina. En otra realización, se miden los niveles de insulina por cualquier otro método conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

35 En algunas realizaciones, el ácido graso omega-3 se puede encontrar en fuentes vegetales como las semillas de chia, perilla, lino, nueces, verdolaga, arándano rojo, espino, y cáñamo. En algunas realizaciones, los ácidos grasos omega-3 también se pueden encontrar en el fruto de la palma de acai. En otra realización, el ácido graso omega-3 se ha proporcionado en forma de un ácido graso omega-3 sintético. En una realización, el ácido graso de métodos y composiciones de la presente invención se ha proporcionado a la composición en forma de aceite de canola. En otra realización, el ácido graso omega-3 se ha proporcionado en forma de aceite de linaza. En otra realización, el ácido graso omega-3 se ha proporcionado en forma de cualquier otra fuente rica en ácido graso omega-3 conocida en la

técnica. En otra realización, el ácido graso omega-3 se ha proporcionado en forma de un ácido graso omega-3 sintético. Cada forma de ácidos grasos omega-3 representa una realización separada de la presente invención.

5 En otra realización, el ácido graso omega-3 de métodos y composiciones de la presente invención es un ácido graso omega-3 poliinsaturado. En otra realización, el ácido graso omega-3 es DHA, un ácido graso de 22 carbonos, polinsaturado omega-3 también denominado ácido 4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoico. En otra realización, el ácido graso omega-3 es ácido  $\alpha$ -linoléico (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 otra 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 eicosahexenoico (también denominado "EPA"; 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 otra realización, el ácido graso omega-3 es cualquier otro ácido graso omega-3 conocido en la técnica. Cada ácido graso omega-3 representa una realización separada de la presente invención.

Las composiciones de la presente invención comprenden un inhibidor de una proteasa. Como se proporciona en esta memoria, los inhibidores de proteasas aumentan la capacidad de los ácidos grasos omega-3 de proteger la insulina y facilitan su absorción en el intestino. El inhibidor de proteasa es un inhibidor de tripsina.

20 En una realización, el inhibidor de proteasa es inhibidor de tripsina de soja (SBTI). En otra realización, el inhibidor de proteasa es AEBSF-HCl. En otra realización, el inhibidor es ácido (épsilon)-aminocaproico. En otra realización, el inhibidor es (alfa) 1-antiquimotripsina. En otra realización, el inhibidor es antipaína. En otra realización, el inhibidor es antitrombina III. En otra realización, el inhibidor es (alfa) 1 antitripsina (inhibidor de proteinasa [alfa] 1). En otra realización, el inhibidor es APMSF-HCl (4-amidinofenil-metano sulfonil-fluoruro). En otra realización, el inhibidor es aprotinina. En otra realización, el inhibidor es benzamidina-HCl. En otra realización, el inhibidor es quimostatina. En otra realización, el inhibidor es DFP (diisopropilfluoro-fosfato). En otra realización, el inhibidor es leupeptina. En otra realización, el inhibidor es PEFABLOCK® SC (hidrocloruro de 4-(2-aminoetil)-bencenosulfonil fluoruro). En otra realización, el inhibidor es PMSF (fenilmetil sulfonil fluoruro). En otra realización, el inhibidor es TLCK (1-cloro-3-tosilamido-7 amino-2 heptanona HCl). En otra realización, el inhibidor es TPCK (1-cloro-3-tosilamido-4-fenil-2-butanona). En otra realización, el inhibidor es inhibidor de tripsina de clara de huevo (Ovomucoide). En otra realización, el inhibidor es inhibidor de tripsina de soja. En otra realización, el inhibidor es aprotinina. En otra realización, el inhibidor es pentamidina isetonato. En otra realización, el inhibidor es pepstatina. En otra realización, el inhibidor es guanidinio. En otra realización, el inhibidor es alfa2-macroglobulina. En otra realización, el inhibidor es un agente quelante de zinc. En otra realización, el inhibidor es yodoacetato. En otra realización, el inhibidor es zinc. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

35 En otra realización, la cantidad de inhibidor de proteasa utilizado en métodos y composiciones de la presente invención es 0,1 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad de inhibidor de proteasa es 0,2 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 0,3 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 0,4 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 0,6 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 0,8 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 1 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 1,5 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 2 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 2,5 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 3 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 5 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 7 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 10 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 12 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 15 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 20 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 30 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 50 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 70 mg/unidad de dosificación. En otra composición, la cantidad es 100 mg/unidad de dosificación.

50 En otra realización, la cantidad de inhibidor de proteasa es 0,1-1 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad de inhibidor de proteasa es 0,2-1 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,3-1 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,5-1 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,1-2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,2-2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,3-2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,5-2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 1-2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 1-10 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 2-10 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 3-10 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 5-10 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 1-20 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 2-20 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 3-20 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 5-20 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 10-20 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 10-100 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 20-100 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 30-100 mg/unidad de dosificación. En otra realización,

la cantidad es 50-100 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 10-200 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 20-200 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 30-200 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 50-200 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 100-200 mg/unidad de dosificación.

- 5 En otra realización, la cantidad de inhibidor de proteasa utilizada en métodos y composiciones de la presente invención es 1000 k.i.u. (unidades de inactivador de calicreína)/pastilla. En otra realización, la cantidad es 10 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 12 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 15 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 20 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 30 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 40 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 50 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 70 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 100 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 150 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 200 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 300 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 500 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 700 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 1500 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 3000 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 4000 k.i.u./unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 5000 k.i.u./unidad de dosificación.

Cada cantidad de inhibidor de proteasa representa una realización separada de la presente invención.

- 20 En otra realización, la proteasa a la que se dirige el inhibidor de proteasa de métodos y composiciones de la presente invención es una serín proteasa. En otra realización, la proteasa es tripsina. En otra realización, la proteasa es quimotripsina. En otra realización, la proteasa es carboxipeptidasa. En otra realización, la proteasa es aminopeptidasa. En otra realización, la proteasa es cualquier otra proteasa que funciona en el duodeno o el intestino delgado. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.

- 25 Las composiciones de la presente invención comprenden una sustancia que aumenta la absorción de la insulina a través de una barrera mucosa intestinal. Tal sustancia se denomina en esta memoria un "potenciador". Como se proporciona en esta memoria, los potenciadores, cuando se usan junto con los ácidos grasos omega-3, aumentan la capacidad de la insulina para absorberse en el intestino.

El potenciador es ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). En una realización preferida, el EDTA es EDTA sódico.

- 30 En otra realización, la cantidad de potenciador utilizado en métodos y composiciones de la presente invención es 0,1 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad de potenciador es 0,2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,3 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,4 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,6 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,8 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 1 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 1,5 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 2,5 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 3 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 5 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 7 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 10 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 12 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 15 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 20 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 30 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 50 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 70 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 100 mg/unidad de dosificación.

- 45 En otra realización, la cantidad de potenciador es 0,1-1 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad de potenciador es 0,2-1 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,3-1 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,5-1 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,1-2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,2-2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,3-2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 0,5-2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 1-2 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 1-10 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 2-10 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 3-10 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 5-10 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 1-20 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 2-20 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 3-20 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 5-20 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 10-20 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 10-100 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 20-100 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 30-100 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 50-100 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 10-200 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 20-200 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 30-200 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 50-200 mg/unidad de dosificación. En otra realización, la cantidad es 100-200 mg/unidad de dosificación.

Cada tipo y cantidad de potenciador representa una realización separada de la presente invención.

En otra realización, las composiciones de la presente invención comprenden además un recubrimiento que inhibe la digestión de la composición en el estómago de un sujeto.

5 En una realización, el recubrimiento inhibe la digestión de la composición en el estómago de un sujeto. En una realización, las formas de dosificación recubiertas de la presente invención liberan el fármaco cuando el pH se mueve hacia un rango alcalino. En una realización, el recubrimiento es una monocapa, en donde en otras realizaciones, el recubrimiento se aplica en multicapas. En una realización, el recubrimiento es un polímero bioadhesivo que se une selectivamente a la mucosa intestinal y, por lo tanto, permite la liberación del fármaco en el sitio de unión. En una realización, el recubrimiento entérico es un recubrimiento de película entérica. En alguna  
10 realización, el recubrimiento comprende polisacárido biodegradable, chitosán, aquateric acuoso, aquacoat ECD, azo polímero, ftalato acetato de celulosa, trimelitato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetil celulosa, gelatina, ftalato de polivinil acetato, hidrogel, pulsincap, o una combinación de los mismos. En una realización, se usará un recubrimiento sensible al pH de acuerdo con el sitio y/o perfil de liberación deseado, como conocen los expertos en la técnica.

15 En una realización, el recubrimiento es un recubrimiento entérico. Los métodos para el recubrimiento entérico se conocen bien en la técnica, y se describen, por ejemplo, en Siepmann F, Siepmann J et al, Blends of aqueous polymer dispersions used for pellet coating: importance of the particle size. J. Control Release 2005; 105(3): 226-39; y Huyghebaert N, Vermeire A, Remon JP. In vitro evaluation of coating polymers for enteric coating and human ileal targeting. Int. J. Pharm. 2005; 298(1): 26-37. Cada método representa una realización separada de la presente invención.

20 En otra realización, se usa Eudragit®, un polímero acrílico, como recubrimiento entérico. El uso de polímeros acrílicos para el recubrimiento de preparaciones farmacéuticas se conoce bien en la técnica. Se ha demostrado que los polímeros acrílicos Eudragit® son seguros y no son absorbidos ni metabolizados por el cuerpo, sino que se eliminan.

25 En otra realización, el recubrimiento es un recubrimiento de gelatina. En otra realización, se usa la microencapsulación para proteger la insulina frente a la descomposición en el estómago. Los métodos para aplicar un revestimiento de gelatina y para la microencapsulación son bien conocidos en la técnica. Cada método representa una realización separada de la presente invención.

30 En otra realización, el recubrimiento es un recubrimiento de película. En otra realización, el recubrimiento es etilcelulosa. En otra realización, el recubrimiento es una dispersión a base de agua de etilcelulosa, p. ej., hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)E15. En otra realización, el recubrimiento es un recubrimiento gastro-resistente, p. ej., un polímero que contiene grupos de ácido carboxílico como un resto funcional. En otra realización, el recubrimiento es una matriz monolítica. En otra realización, el recubrimiento es un éter de celulosa (p. ej., hipromelosa (HPMC)). Cada tipo de recubrimiento representa una realización separada de la presente invención.

35 En otra realización, se usa una forma de dosificación multiparticulada para inhibir la digestión de la composición en el estómago.

Cada tipo de recubrimiento, forma de dosificación, etc. que inhibe la digestión de la composición en el estómago representa una realización separada de la presente invención.

40 En otra realización, la presente invención proporciona un método para administración oral de una proteína con una actividad enzimática a un sujeto, mediante el cual una fracción sustancial de la proteína retiene la actividad enzimática después de la absorción a través de una barrera mucosa intestinal del sujeto, que comprende administrar por vía oral al sujeto una composición farmacéutica que comprende la proteína y un ácido graso omega-3, administrando así por vía oral una proteína con actividad enzimática a un sujeto.

45 En una realización, la proteína es una proteína recombinante. En una realización, la proteína es una insulina. En otra realización, la proteína es un glucagón. En otra realización, la proteína es un interferón gamma. En otra realización, la proteína es un interferón alfa. En otra realización, la proteína es una hormona del crecimiento. En otra realización, la proteína es una eritropoyetina. En otra realización, la proteína es el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF). En otra realización, la proteína es cualquier otra proteína conocida en la técnica.

50 En otra realización, la proteína es una hormona del crecimiento. En una realización, la hormona del crecimiento es somatotropina. En otra realización, la hormona del crecimiento es el factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-I). En otra realización, la hormona del crecimiento es cualquier otra hormona del crecimiento conocida en la técnica.

55 En otra realización, la proteína tiene un peso molecular (PM) de 1-50 kilodalton (kDa). En otra realización, el PM es 1-45 kDa. En otra realización, el PM es 1-40 kDa. En otra realización, el PM es 1-35 kDa. En otra realización, el PM es 1-30 kDa. En otra realización, el PM es 1-25 kDa. En otra realización, el PM es 1-20 kDa. En otra realización, el PM es 10-50 kDa. En otra realización, el PM es 15-50 kDa. En otra realización, el PM es 20-50 kDa. En otra realización, el PM es 25-50 kDa. En otra realización, el PM es 30-50 kDa. En otra realización, el PM es 35-50 kDa. En otra realización, el PM es 1-100 kDa. En otra realización, el PM es 1-90 kDa. En otra realización, el PM es 1-80

- kDa. En otra realización, el PM es 1-70 kDa. En otra realización, el PM es 1-60 kDa. En otra realización, el PM es 10-100 kDa. En otra realización, el PM es 15-100 kDa. En otra realización, el PM es 20-100 kDa. En otra realización, el PM es 25-100 kDa. En otra realización, el PM es 30-100 kDa. En otra realización, el PM es 10-80 kDa. En otra realización, el PM es 15-80 kDa. En otra realización, el PM es 20-80 kDa. En otra realización, el PM es 25-80 kDa.
- 5 En otra realización, el PM es 30-80 kDa. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.
- En otra realización, el PM es menor de 20 kDa. En otra realización, el PM es menor de 25 kDa. En otra realización, el PM es menor de 30 kDa. En otra realización, el PM es menor de 35 kDa. En otra realización, el PM es menor de 40 kDa. En otra realización, el PM es menor de 45 kDa. En otra realización, el PM es menor de 50 kDa. En otra realización, el PM es menor de 55 kDa. En otra realización, el PM es menor de 60 kDa. En otra realización, el PM es menor de 65 kDa. En otra realización, el PM es menor de 70 kDa. En otra realización, el PM es menor de 75 kDa. En otra realización, el PM es menor de 80 kDa. En otra realización, el PM es menor de 85 kDa. En otra realización, el PM es menor de 90 kDa. En otra realización, el PM es menor de 95 kDa. En otra realización, el PM es menor de 100 kDa.
- 10
- 15 Los pesos moleculares de algunas de las proteínas mencionadas anteriormente son los siguientes: insulina-6 kilodalton (kDa); glucagón-3,5 kDa; interferón, 28 kDa; hormona del crecimiento- 21,5-47 kDa; albúmina sérica humana- 69 kDa; eritropoyetina- 34 kDa; G-CSF- 30-34 kDa. Por lo tanto, en una realización, el peso molecular de estas proteínas es apropiado para la administración por métodos de la presente invención.
- 20 En otra realización, los métodos y composiciones de la presente invención se usan para administrar una albúmina sérica humana. La albúmina sérica humana no se considera, en una realización, que sea un componente farmacéuticamente activo; sin embargo, se puede usar en el contexto de la presente invención como un transportador terapéuticamente beneficioso para un componente activo.
- Cada tipo de proteína representa una realización separada de la presente invención.
- 25 En otra realización, la presente invención proporciona un método para tratar la diabetes mellitus en un sujeto, que comprende administrar por vía oral al sujeto una composición farmacéutica que comprende una insulina y un ácido graso omega-3, tratando de este modo la diabetes mellitus.
- 30 En una realización, la diabetes mellitus es diabetes Tipo I. En otra realización, la diabetes mellitus es diabetes Tipo II. En otra realización, la diabetes mellitus es diabetes insulino-dependiente. En otra realización, la diabetes mellitus es diabetes no insulino-dependiente. En otra realización, la diabetes mellitus es cualquier otro tipo de diabetes conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.
- 35 En una realización, se administran tres tratamientos al día de la composición de insulina. En otra realización, se administran dos tratamientos al día. En otra realización, se administran cuatro tratamientos al día. En otra realización, se administra un tratamiento al día. En otra realización, se administran más de cuatro tratamientos al día. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.
- 40 Cualquiera de los métodos de la presente invención puede utilizar, en varias realizaciones, cualquiera de las composiciones de la presente invención.
- 45 En otra realización, la presente invención proporciona una composición para la administración oral de insulina, que comprende una proteína de insulina y un ácido graso omega-3, mediante la cual una fracción sustancial de insulina retiene la actividad enzimática después de la absorción a través de una barrera mucosa intestinal del sujeto.
- 50 En una realización, la presente invención proporciona una composición para administración oral de una proteína, que comprende una proteína de insulina y un ácido graso omega-3, mediante la cual una fracción sustancial de la proteína retiene la actividad enzimática después de la absorción a través de una barrera mucosa intestinal del sujeto.
- 55 En una realización, la presente invención proporciona el uso de una proteína y un ácido graso omega-3 en la fabricación de un medicamento para la administración oral de una proteína con una actividad enzimática a un sujeto, mediante el cual una fracción sustancial de la proteína retiene la actividad enzimática después de la absorción a través de una barrera mucosa intestinal del sujeto.
- En una realización, la presente invención proporciona el uso de una proteína de insulina y un ácido graso omega-3 en la fabricación de un medicamento para tratar la diabetes mellitus en un sujeto.
- En una realización, los métodos y composiciones de la presente invención tienen la ventaja de imitar más de cerca la secreción fisiológica de insulina por parte del páncreas. Cuando la insulina se secreta en la vena porta, el hígado está expuesto a una mayor concentración de insulina que los tejidos periféricos. De manera similar, la insulina administrada de acuerdo con la presente invención alcanza el intestino y se absorbe en el cuerpo a través del intestino y a través del sistema portal al hígado. Esta ruta de absorción se parece de este modo a la secreción fisiológica del páncreas, permitiendo, en esta realización, un delicado control del nivel de glucosa en sangre y de las



- 5 actividades metabólicas del hígado y de los órganos periféricos controlados por la insulina. Por el contrario, cuando se administra insulina a pacientes diabéticos con insuficiencia insulínica a través del sistema venoso periférico, la concentración de insulina en la vena porta es similar a la de la circulación periférica, lo que produce hipoinsulinemia en la vena porta y el hígado, e hiperinsulinemia en el sistema venoso periférico. Esto da lugar, en una realización, a un patrón anormal de disposición de glucosa.
- En otra realización, diferentes constituyentes de las composiciones de la presente invención se absorben a diferentes velocidades desde la luz intestinal a la corriente sanguínea. La absorción del ácido biliar, en una realización, es significativamente más rápida que la absorción de insulina.
- 10 Por esta razón, en otra realización, se toma un régimen farmacológico que implica la ingestión de un par de píldoras a intervalos espaciados, p. ej., una segunda píldora que contiene una mayor concentración de potenciador en un intervalo definido (p. ej., 30 minutos) después de la primera píldora. En otra realización, algunos de los constituyentes están microencapsulados para potenciar la absorción de la insulina en el sistema.
- En una realización, un protocolo de tratamiento de la presente invención es terapéutico. En otra realización, el protocolo es profiláctico. Cada posibilidad representa una realización separada de la presente invención.
- 15 En otra realización, los vehículos/diluyentes sólidos para usar en métodos y composiciones de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, una goma, un almidón (p. ej., almidón de maíz, almidón pre-gelatinizado), un azúcar (p. ej., lactosa, manitol, sacarosa, dextrosa), un material celulósico (p. ej., celulosa microcristalina), un acrilato (p. ej., polimetilacrilato), carbonato de calcio, óxido de magnesio, talco, o mezclas de los mismos.
- 20 En otra realización, las composiciones comprenden además aglutinantes (p. ej., acacia, almidón de maíz, gelatina, carbómero, etil celulosa, goma guar, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metil celulosa, povidona), agentes desintegrantes (p. ej., almidón de maíz, fécula de patata, ácido alginico, dióxido de silicio, croscarmelosa sódica, crospovidona, goma guar, glicolato de almidón sódico), tampones (p. ej., Tris-HCl, acetato, fosfato) de diversos pHs y fuerzas iónicas, aditivos como albúmina o gelatina para prevenir la absorción a superficies, detergentes (p. ej., Tween 20, Tween 80, Pluronic F68, sales de ácido biliar), inhibidores de proteasa, tensioactivos (p. ej., lauril sulfato sódico), potenciadores de permeabilización, agentes solubilizantes (p. ej., glicerol, polietilén glicerol), anti-oxidantes (p. ej., ácido ascórbico, metabisulfito sódico, hidroxianisol butilado), estabilizantes (p. ej., hidroxipropil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa), agentes que aumentan la viscosidad (p. ej., carbómero, dióxido de silicio coloidal, etil celulosa, goma guar), edulcorantes (p. ej., aspartamo, ácido cítrico), conservantes (p. ej., timerosal, alcohol bencílico, parabenos), lubricantes (p. ej., ácido esteárico, estearato de magnesio, polietilén glicol, lauril sulfato sódico), aditivos fluidos (p. ej., dióxido de silicio coloidal), plastificantes (p. ej., dietil ftalato, trietil citrato), emulsionantes (p. ej., carbómero, hidroxipropil celulosa, lauril sulfato sódico), recubrimientos poliméricos (p. ej., poloxámeros o poloxaminas), agentes de recubrimiento y formadores de película (p. ej., etil celulosa, acrilatos, polimetacrilatos) y/o adyuvantes. Cada uno de los excipientes anteriores representa una realización separada de la presente invención.
- 25 30 35 En algunas realizaciones, las formas de dosificación de la presente invención se formulan para lograr un perfil de liberación inmediata, un perfil de liberación prolongada, o un perfil de liberación retardada. En algunas realizaciones, el perfil de liberación de la composición se determina usando excipientes específicos que sirven, por ejemplo, como aglutinantes, desintegregantes, rellenos, o materiales de recubrimiento. En una realización, la composición se formulará para lograr un perfil de liberación particular como es conocido por un experto en la técnica.
- 40 En una realización, la composición se formula como una forma de dosificación oral. En una realización, la composición es una forma de dosificación oral sólida que comprende pastillas, pastillas masticables o cápsulas. En una realización las cápsulas son cápsulas de gelatina blanda.
- 45 En otras realizaciones, los recubrimientos de liberación controlada o sostenida utilizados en métodos y composiciones de la presente invención incluyen formulación en depósitos lipófilos (p. ej., ácidos grasos, ceras, aceites).
- 50 Las composiciones también incluyen, en otra realización, la incorporación del material activo en y sobre preparaciones particuladas de compuestos poliméricos como ácido poliláctico, ácido poliglicólico, hidrogeles, etc., o sobre liposomas, microemulsiones, micelas, vesículas unilamelares o multilamelares, eritrocitos fantasma, o esferoplastos). Tales composiciones influirán en el estado físico, la solubilidad, la estabilidad, la velocidad de liberación *in vivo*, y la velocidad de aclaramiento *in vivo*. En otra realización, las composiciones particuladas de los ingredientes activos se recubren con polímeros (p. ej., poloxámeros o poloxaminas).
- 55 En otra realización, las composiciones que contienen la insulina y el ácido graso omega-3 se administran en una vesícula, p. ej., un liposoma (véase Langer, Science 249: 1527-1533 (1990); Treat et al., en Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pg. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, *ibid.*, pg. 317-327; véase en general *ibid.*).

5 La preparación de composiciones farmacéuticas que contienen un componente activo, por ejemplo, mediante procesos de mezcla, granulación, o formación de pastillas, se entiende bien en la técnica. El ingrediente terapéutico activo a menudo se mezcla con excipientes que son farmacéuticamente aceptables y compatibles con el ingrediente activo. Para la administración oral, los ingredientes activos de composiciones de la presente invención se mezclan con aditivos habituales para este fin, como vehículos, estabilizantes o diluyentes inertes, y se convierten por métodos habituales en formas adecuadas para la administración, como pastillas, pastillas recubiertas, cápsulas de gelatina dura o blanda, soluciones acuosas, alcohólicas u oleosas.

Cada uno de los aditivos, excipientes, formulaciones y métodos de administración anteriores representa una realización separada de la presente invención.

10 En una realización, el término “tratar” se refiere a curar una enfermedad. En otra realización, “tratar” se refiere a prevenir una enfermedad. En otra realización, “tratar” se refiere a reducir la incidencia de una enfermedad. En otra realización, “tratar” se refiere a la mejora de los síntomas de una enfermedad. En otra realización, “tratar” se refiere a inducir la remisión. En otra realización “tratar” se refiere a ralentizar la progresión de una enfermedad.

**Sección de detalles experimentales**

15 Ejemplo 1

Protección de la insulina de proteasas y administración exitosa a través del duodeno en perros

Materiales y métodos experimentales

Formulación

20 El día de la dosificación, se preparó una formulación que contenía 100 miligramos (mg) de EDTA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), 100 de inhibidor de tripsina de soja (SBTI; Sigma), 5 mg de insulina (cristalina recombinante) disueltos en 2 mililitros (ml) de aceite de pescado y se insertó en una cápsula de gelatina transparente.

Resultados

25 Para probar si la insulina se puede proteger de las proteasas y se puede absorber a través del duodeno, se administró una composición que contenía insulina, SBTI, EDTA y aceite de pescado directamente al duodeno de un perro Beagle de 8,8 kg. Se midió la glucosa en sangre cada 10 minutos después de la administración. Como se muestra a continuación en la Tabla 1, los niveles de glucosa en sangre se redujeron significativamente en respuesta a la insulina.

Por lo tanto, las composiciones que comprenden un ácido graso omega-3 pueden proteger la insulina de las proteasas en el intestino delgado y permitir la absorción directa de la insulina administrada por vía oral.

30 Tabla 1. Concentraciones de glucosa en sangre después de la administración de insulina al duodeno en el experimento #1.

Tiempo (min)	Glucosa en miligramos/decilitro (mg/dl)
-5	67
0	71
10	77
20	62
30	42
40	26
50	41
60	36
75	35
90	51
105	64

120	75
-----	----

Ejemplo 2

Materiales y métodos experimentales

Formulación

- 5 4 días antes de la dosificación, se preparó una formulación que contenía 125 mg de EDTA, 100 mg de SBTI, y 5 mg de insulina en 2 ml de aceite de pescado en una cápsula de gelatina. La formulación se almacenó en la nevera (4°C) hasta la dosificación.

Resultados

- 10 En el siguiente experimento, se preparó una formulación de SBTI, EDTA y aceite de pescado 4 días antes de la dosificación, luego se administró directamente al duodeno de un perro Beagle de 9,0 kg. Como se muestra a continuación en la Tabla 2, los niveles de glucosa en sangre se redujeron significativamente en respuesta a la insulina.

- 15 Estos resultados confirman los resultados del Ejemplo 1, que muestran que las composiciones que comprenden un ácido graso omega-3 pueden proteger la insulina de las proteasas en el intestino delgado y permitir la absorción directa de la insulina administrada por vía oral. Además, estos resultados muestran que las composiciones de la presente invención se pueden almacenar después de la reconstitución sin perder potencia.

Tabla 2. Concentraciones de glucosa en sangre después de la administración de insulina al duodeno en el experimento #2.

Tiempo (min)	Glucosa en miligramos/decilitro (mg/dl)
-5	69
0	68
10	64
20	38
30	19
40	31
50	39
60	55
75	66
90	75
105	75
120	73

20 Ejemplo 3

Administración oral de píldoras que contienen insulina y ácidos grasos omega-3

Preparación de los núcleos de las pastillas

Los núcleos de pastillas que contienen insulina y ácidos grasos omega-3 se preparan usando métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, los nucleos de pastillas se pueden preparar como se describe en el Ejemplo 1.

25 Recubrimiento

El recubrimiento puede ser cualquier recubrimiento de liberación retardada conocido en la técnica. Por ejemplo, el recubrimiento puede ser un polímero compuesto de los siguientes ingredientes:

- 4 mg de Eudragit L-100 (Polímero de Ésteres Acrílicos y Metacrílicos)

- 4 mg Talco NF

5 - 0,4 mg de Polietilenglicol 6000 NF

En una realización, se prepara una solución de polímero entérico recubierto disolviendo el polímero en una mezcla de cloruro de metileno + alcohol isopropílico. Las pastillas se recubren pulverizando la solución dentro de un recipiente ligeramente calentado bajo agitación constante. Los vapores de solvente se aspiran continuamente.

Medida de niveles y actividad de insulina recombinante en plasma de sujetos

10 Se usa un kit de radioinmunoensayo (RIA) de insulina humana (Linco Research Inc, St. Charles, Missouri) para medir niveles de insulina recombinante. También se miden los niveles de péptido C, para determinar las contribuciones relativas de la insulina endógena y exógena con los aumentos observados en los niveles de insulina.

Resultados

15 Una mezcla de EDTA, SBTI, e insulina disuelta en aceite de pescado se formula en núcleos de pastillas o cápsulas, se recubren con un recubrimiento entérico o recubrimiento de gelatina, y se administra a sujetos humanos. Se miden los niveles de glucosa en sangre de los sujetos de forma periódica como se describe en los Ejemplos previos. Además, se examinan los niveles plasmáticos de insulina recombinante y su actividad en los sujetos. Se demuestra que las píldoras recubiertas administran insulina funcional a los sujetos, y la insulina reduce significativamente sus niveles de glucosa en sangre, lo que demuestra que la insulina se puede suministrar al torrente sanguíneo mediante administración oral. Se ensayan diferentes tipos de recubrimientos de liberación retardada disponibles en el mercado para determinar qué recubrimiento proporciona el mejor suministro de insulina, y se usa este recubrimiento en los Ejemplos posteriores.

Ejemplo 4

Optimización de la fuente de ácidos grasos omega-3

25 Se comparan diversos ácidos grasos omega-3 o fuentes de ácidos grasos omega-3 (p. ej., los enumerados anteriormente en la especificación) por su capacidad para conservar la insulina después de la administración oral en métodos y composiciones de la presente invención. Las pastillas o cápsulas de insulina se formulan como se describe en los Ejemplos anteriores, excepto que la insulina se disuelve en la fuente alternativa en lugar de en aceite de pescado. Se usa la fuente de ácidos grasos omega-3 más eficaz en los Ejemplos posteriores.

30 Ejemplo 5

Optimización de inhibidores de proteasas

35 Se comparan diversos inhibidores de proteasas (ya sean no tóxicos o que tienen un perfil de toxicidad aceptable; p. ej., los enumerados anteriormente en la especificación) por su capacidad para conservar la insulina después de la administración oral en métodos y composiciones de la presente invención. Las pastillas o cápsulas de insulina se formulan como se describe en los Ejemplos anteriores, excepto que los inhibidores de proteasas alternativos se sustituyen por SBTI. Las cantidades de inhibidores de proteasas también son variadas, para determinar las cantidades óptimas. Se usa la cantidad de inhibidor de proteasa más eficaz en los Ejemplos posteriores.

Ejemplo 6

Optimización del potenciador

40 Se comparan diversos potenciadores (p. ej., los enumerados anteriormente en la especificación) por su capacidad para facilitar la absorción de insulina después de la administración oral en métodos y composiciones de la presente invención. Las pastillas o cápsulas de insulina se formulan como se describe en los Ejemplos anteriores, excepto que los potenciadores alternativos se sustituyen por EDTA. Las cantidades de potenciadores también se varían, para determinar las cantidades óptimas. Se usa la cantidad de potenciador más eficaz en los Ejemplos posteriores.

45 Ejemplo 7

Optimización del tipo y cantidad de insulina

Se comparan diversos tipos y cantidades de insulina (p. ej., los enumerados anteriormente en la especificación) por su capacidad de regular el azúcar en sangre en métodos y composiciones de la presente invención. Las pastillas o

cápsulas de insulina se formulan como se describe en los Ejemplos anteriores, excepto que el tipo y la cantidad de insulina alternativos se varían. Se usa la cantidad y tipo de insulina más eficaces en los ensayos clínicos.

Los siguientes párrafos numerados (párr.) contienen enunciados de amplias combinaciones de las características técnicas de la invención divulgadas en esta memoria:

- 5 1. Una composición que comprende una proteína que tiene un peso molecular de hasta 100.000 Daltons y un ácido graso omega-3.
2. La composición del párr. 1, en donde dicha proteína es insulina.
3. La composición del párr. 1, en donde dicho ácido graso omega-3 se deriva del aceite de pescado.
4. La composición del párr. 1, que comprende además un inhibidor de una proteasa.
- 10 5. La composición del párr. 4, en donde dicho inhibidor es el inhibidor de tripsina de soja (SBTI).
6. La composición del párr. 4, en donde dicho inhibidor es AEBSF-HCl; ácido (epsilon)-aminocaproico; (alfa)1-antitripsina; antipaina; antitrombina III; (alfa)1-antitripsina (inhibidor de proteinasa-[alfa]1); APMSF-HCl (4-amidinofenil-metano-sulfonil fluoruro); sprotinina; Benzamidina-HCl; quimostatina; DFP (diisopropilfluoro-fosfato); leupeptina; PEFABLOC® SC (hidrocloruro de 4-(2-aminoetil)-bencenosulfonil fluoruro); PMSF (fenilmetil sulfonil fluoruro); TLCK (1-cloro-3-tosilamido-7-amino-2-heptanona HCl); TPCK (1-cloro-3-tosilamido-4-fenil-2-butanona); inhibidor de tripsina de clara de huevo (Ovomucoide); inhibidor de tripsina de soja; aprotinina; pentamidina isetonato; pepstatina; guanidinio; alfa2-macroglobulina; un agente quelante de zinc; yodoacetato; o zinc.
- 15 7. La composición del párr. 4, en donde dicha proteasa es una serín proteasa.
- 20 8. La composición del párr. 4, en donde dicha proteasa es tripsina.
9. La composición del párr. 1, que comprende además una sustancia que aumenta la absorción de dicha proteína de insulina a través de la barrera mucosa intestinal.
10. La composición del párr. 9, en donde dicha sustancia es EDTA.
- 25 11. La composición del párr. 9, en donde dicha sustancia es un ácido biliar o una sal de metal alcalino del mismo.
12. La composición del párr. 11, en donde dicho ácido biliar es ácido cólico, ácido quenodeoxicólico, ácido taurocólico, ácido tauroquenodeoxicólico, ácido glicocólico, ácido glicokenocólico, ácido 3.beta.-monohidroxilcólico, ácido litocólico, ácido 3.alfa.-hidroxi-12-ketocólico, ácido 3.beta.-hidroxi-12-ketocólico, ácido 12.alfa.-3.beta.dihidrocólico, o ácido ursodesoxicólico.
- 30 13. La composición del párr. 1, que comprende además un recubrimiento que inhibe la digestión de dicha composición en un estómago de un sujeto.
14. La composición del párr. 13, en donde dicho recubrimiento es un recubrimiento entérico o recubrimiento de gelatina.
- 35 15. Un método para la administración oral de una proteína que tiene un peso molecular de hasta 100.000 Daltons a un sujeto, mediante el cual una fracción sustancial de dicha proteína retiene su actividad después de la absorción, a través de una barrera mucosa intestinal de dicho sujeto, que comprende administrar por vía oral a dicho sujeto una composición farmacéutica que comprende dicha proteína y un ácido graso omega-3.
16. El método del párr. 15, en donde dicha proteína es una enzima.
- 40 17. El método del párr. 15, en donde dicha proteína es insulina.
18. El método del párr. 15, en donde dicha proteína es un glucagón, un interferón gamma, un interferón alfa, una hormona del crecimiento, una eritropoyetina, o el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF).
19. El método del párr. 15, en donde dicha proteína tiene un peso molecular de 1-50 kilodaltons.
- 45 20. El método del párr. 15, en donde dicha proteína es un ligando receptor, proteína de transporte, proteína de almacenamiento o una combinación de las mismas.

21. El método del párr. 15, en donde dicha composición comprende además ácido graso omega-3 derivado de aceite de pescado.
22. El método del párr. 15, en donde dicha composición farmacéutica comprende además un inhibidor de proteasa.
- 5 23. El método del párr. 22, en donde dicho inhibidor es inhibidor de tripsina de soja (SBTI).
24. El método del párr. 22, en donde dicho inhibidor es AEBSF-HCl; ácido (epsilon)-aminocaproico; (alfa)1-antiquimotripsina; antipaina; antitrombina III; (alfa)1-antitripsina (inhibidor de proteinasa-[alfa]1); APMSF-HCl (4-amidinofenil-metano-sulfonil-fluoruro); sprotinina; benzamidina-HCl; quimostatina; DFP (diisopropilfluoro-fosfato); leupeptina; PEFABLOC® SC (hidrocloruro de 4-(2-aminoetil)-bencenosulfonil fluoruro); PMSF (fenilmetil sulfonil fluoruro); TLCK (1-cloro-3-tosilamido-7-amino-2-heptanona HCl); TPCK (1-cloro-3-tosilamido-4-fenil-2-butanona); inhibidor de tripsina de clara de huevo (Ovomucoide); inhibidor de tripsina de soja; aprotinina; pentamidina isetionato; pepstatina; guanidinio; alfa2-macroglobulina; un agente quelante de zinc; yodoacetato; o zinc.
- 10 25. El método del párr. 22, en donde dicha proteasa es una serín proteasa.
- 15 26. El método del párr. 22, en donde dicha proteasa es tripsina.
27. El método del párr. 15, en donde dicha composición farmacéutica comprende además una sustancia que aumenta la absorción de dicha proteína a través de una barrera mucosa intestinal.
28. El método del párr. 27, en donde dicha sustancia es EDTA.
29. El método del párr. 27, en donde dicha sustancia es un ácido biliar o una sal de metal alcalino del mismo.
- 20 30. El método del párr. 29, en donde dicho ácido biliar es ácido cólico, ácido quenodeoxicólico, ácido taurocólico, ácido tauroquenodeoxicólico, ácido glicocólico, ácido glicoquenocólico, ácido 3.beta.-monohidroxilcólico, ácido litocólico, ácido 3.alfa.-hidroxi-12-ketocólico, ácido 3.beta.-hidroxi-12-ketocólico, ácido 12.alfa.-3.beta.-dihidrocólico, o ácido ursodesoxicólico.
- 25 31. El método del párr. 15, en donde dicha composición farmacéutica comprende además un recubrimiento que inhibe la digestión de dicha composición en un estómago de un sujeto.
32. El método del párr. 31, en donde dicho recubrimiento es un recubrimiento entérico o recubrimiento de gelatina.
33. Un método para tratar la diabetes mellitus en un sujeto, que comprende administrar por vía oral a dicho sujeto una composición farmacéutica que comprende insulina y un ácido graso omega-3, tratando por lo tanto la diabetes mellitus.
- 30 34. El método del párr. 33, en donde dicha composición comprende además ácido graso omega-3 derivado de aceite de pescado.
- 35 35. El método del párr. 33, en donde dicha composición farmacéutica comprende además un inhibidor de una proteasa.
36. El método del párr. 35, en donde dicho inhibidor es inhibidor de tripsina de soja (SBTI).
37. El método del párr. 35, en donde dicho inhibidor es AEBSF-HCl; ácido (epsilon)-aminocaproico; (alfa)1-antiquimotripsina; antipaina; antitrombina III; (alfa)1-antitripsina (inhibidor de proteinasa-[alfa]1); APMSF-HCl (4-amidinofenil-metano sulfonil-fluoruro); sprotinina; benzamidina-HCl; quimostatina; DFP (diisopropilfluoro-fosfato); leupeptina; PEFABLOC® SC (hidrocloruro de 4-(2-aminoetil)-bencenosulfonil fluoruro); PMSF (fenilmetil sulfonil fluoruro); TLCK (1-cloro-3-tosilamido-7-amino-2-heptanona HCl); TPCK (1-cloro-3-tosilamido-4-fenil-2-butanona); inhibidor de tripsina de clara de huevo (Ovomucoide); inhibidor de tripsina de soja; aprotinina; pentamidina isetionato; pepstatina; guanidinio; alfa2-macroglobulina; un agente quelante de zinc; yodoacetato; o zinc.
- 40 38. El método del párr. 35, en donde dicha proteasa es una serín proteasa.
- 45 39. El método del párr. 35, en donde dicha proteasa es tripsina.
40. El método del párr. 33, en donde dicha composición farmacéutica comprende además una sustancia que aumenta la absorción de dicha proteína de insulina a través de una barrera mucosa intestinal.
41. El método del párr. 40, en donde dicha sustancia es EDTA.

42. El método del párr. 40, en donde dicha sustancia es un ácido biliar o una sal de metal alcalino del mismo.
43. El método del párr. 42, en donde dicho ácido biliar es ácido cólico, ácido quenodeoxicólico, ácido taurocólico, ácido tauroquenodeoxicólico, ácido glicocólico, ácido glicoquenocólico, ácido 3.beta.-monohidroxiclórico, ácido litocólico, ácido 3.alfa.-hidroxi-12-ketocólico, ácido 3.beta.-hidroxi-12-ketocólico, ácido 12.alfa.-3.beta.-dihidrocólico, o ácido ursodesoxicólico.
44. El método del párr. 33, en donde dicha composición farmacéutica comprende además un recubrimiento que inhibe la digestión de dicha composición en un estómago de un sujeto.
45. El método del párr. 41, en donde dicho recubrimiento es un recubrimiento entérico o recubrimiento de gelatina.

5

10

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición que comprende una proteína que tiene un peso molecular de hasta 100.000 Daltons, un inhibidor de tripsina, un ácido graso omega-3, y EDTA.
- 5 2. La composición de la reivindicación 1, en donde el ácido graso omega-3 está en forma de un aceite de pescado.
3. La composición de la reivindicación 1, en donde dicho ácido graso omega-3 se deriva de aceite de pescado.
4. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 3, en donde dicho inhibidor es inhibidor de tripsina de soja (SBTI).
- 10 5. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 3, en donde dicho inhibidor se selecciona del grupo que consiste en: AEBSF-HCl; ácido (épsilon)-aminocaproico; (alfa)1-antiquimotripsina; antipaína; antitrombina III; (alfa)1-antitripsina (inhibidor de proteinasa-[alfa]1); APMSF-HCl (4-amidinofenil-metano sulfonil-fluoruro); aprotinina; benzamidina-HCl; quimostatina; DFP (diisopropilfluoro-fosfato); leupeptina; PEFABLOC® SC (hidrocloruro de 4-(2-aminoetil)-bencenosulfonil fluoruro); PMSF (fenilmetil sulfonil fluoruro); TLCK (1-cloro-3-tosilamido-7-amino-2-heptanona HCl); TPCK (1-cloro-3-tosilamido-4-fenil-2-butanona); inhibidor de tripsina de clara de huevo (Ovomucoide); inhibidor de tripsina de soja; aprotinina; pentamidina isetonato; pepstatina; guanidinio; alfa2-macroglobulina; un agente quelante de zinc; yodoacetato; y zinc.
- 15 6. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 5, que comprende además un recubrimiento que inhibe la digestión de dicha composición en un estómago de un sujeto.
7. La composición de la reivindicación 6, en donde dicho recubrimiento es un recubrimiento entérico.
- 20 8. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 5, que comprende además un recubrimiento entérico.
9. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 8, en donde dicha proteína es una enzima.
10. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 8, en donde dicha proteína se selecciona del grupo que consiste en glucagón, interferón gamma, interferón alfa, hormona del crecimiento, eritropoyetina, y factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF).
- 25 11. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 8, en donde dicha proteína tiene un peso molecular de 1-50 kilodaltons.
12. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 8, en donde dicha proteína es un ligando receptor, proteína de transporte, proteína de almacenamiento o una combinación de las mismas.
- 30 13. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 12, para la administración oral de dicha proteína a un sujeto, a través de una barrera mucosa intestinal de dicho sujeto.
14. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 12, para usar en un método para tratar la diabetes mellitus en un sujeto, en donde la proteína es insulina.