



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 348 303**

51 Int. Cl.:

A61K 38/28 (2006.01)

A61K 47/22 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/107 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04812757 .5**

96 Fecha de presentación : **02.12.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1706128**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.10.2006**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas y procedimientos de tratamiento con insulina.**

30 Prioridad: **08.12.2003 US 527728 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.12.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.12.2010

73 Titular/es: **Cpex Pharmaceuticals, Inc.**
2 Holland Way
Exeter, Nh 03833, US

72 Inventor/es: **Reppucci, Carl y**
Gyurik, Robert, J.

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 348 303 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

La presente invención se refiere a composiciones y procedimientos para el suministro de insulina, y más particularmente para el suministro de insulina distinto de mediante inyección, a través de la piel, a membranas de diversas membranas nasales.

5 La insulina se usa generalmente para tratar pacientes que sufren de diabetes. En general, la insulina se suministra a un paciente mediante inyección.

La Patente de EE.UU. 5.023.252 describe una composición para suministro de insulina mediante una vía distinta de mediante inyección. Más particularmente, dicha patente describe el uso de composiciones que incluyen potenciadores de permeación para el suministro de insu-
10 lina a través de la piel y membranas de cavidades del cuerpo sin requerir una inyección.

La presente invención está dirigida a una mejora en dichas composiciones y al uso de las mismas.

De acuerdo con la invención, se proporciona una composición farmacéutica para suministro nasal que comprende: (A) insulina; (B) un potenciador de permeación tal como se descri-
15 be más adelante; y (C) un vehículo líquido en el que la composición está en un pH ácido.

El solicitante ha encontrado que cuando se usa una composición que contiene una combinación de insulina y potenciador de permeación, se obtienen resultados mejorados cuando la composición está en un pH ácido.

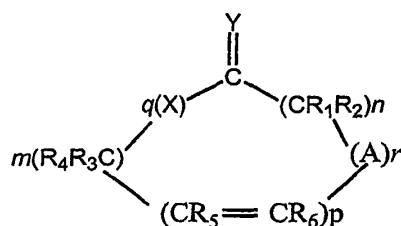
Se propone tratar un paciente que necesite de insulina con una combinación de insulina, un potenciador de permeación, y un vehículo líquido; conteniendo la combinación un pH
20 ácido no mayor de 4,5. Preferiblemente, el pH de la composición no es mayor de 4 ni por debajo de 2. El pH es preferiblemente al menos de 2.

En general, el pH de la composición es al menos de 2 y no mayor de 4,5. En una realización preferida, el pH no es mayor de 4. Un intervalo preferido de pH es desde 2,5 hasta 3,8.
25 En una realización preferida, el pH es aproximadamente de 3.

El pH de la composición puede mantenerse mediante el uso de un tampón adecuado. La selección de un tampón para mantener el pH deseado se considera que está dentro del ámbito de los expertos en la técnica en base a las directrices establecidas en la presente memoria. Como ejemplos representativos de tampones adecuados pueden mencionarse el
30 tampón de ácido cítrico, tampón de fosfato, y similares, tal como es en el uso común y también adecuado para formulaciones médicas.

En general, el potenciador de permeación que se usa es uno que potencia la permeación de la composición de insulina a través de la mucosa nasal.

En una composición que contiene una cantidad eficaz de insulina, el potenciador de
35 permeación es un compuesto de la estructura:



5

en la que X e Y son oxígeno, azufre o un grupo imino de la estructura



- 10 o =N-R, con la condición de que cuando Y es el grupo imino, X es es un grupo imino, y cuando Y es azufre, X es azufre o un grupo imino, A es un grupo que tiene la estructura



- 15 en la que X e Y son tal como se han definido anteriormente, m y n son números enteros que tienen un valor de desde 1 hasta 20 y la suma de m+n no es mayor de 25, p es un número entero que tiene un valor de 0 ó 1, q es un número entero que tiene un valor de 0 ó 1, r es un número entero que tiene un valor de 0 ó 1, y cada R, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ es independientemente hidrógeno o un grupo alquilo que tiene desde 1 hasta 6 átomos de carbono los cuales pueden ser de cadena recta o ramificada, con la condición de que solamente uno de R₁ a R₆ puede ser un grupo alquilo, con la condición de que cuando p, q y r tienen un valor de 0 e Y es oxígeno, m+n es al menos 11, y con la condición adicional de que cuando X es un grupo imino, q es igual a 1, Y es oxígeno, y p y r son 0, en cuyo caso m+n es al menos 11, y dicho compuesto potenciará la velocidad de paso del fármaco a través de membranas del cuerpo. En adelante, en la presente memoria a estos compuestos se hará referencia como potenciadores. Cuando R, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ o R₆ es alquilo, este puede ser metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, amilo, hexilo, y similares. Dichos potenciadores de permeación se describen en la Patente de EE.UU. 5.023.252 y la Patente de EE.UU. 5.731.303.

- 25 Preferiblemente, los compuestos de esta invención son las lactonas cíclicas (compuestos en los que tanto X como Y son oxígeno, q es 1 y r es 0), los diésteres cíclicos (los compuestos en los que tanto X como Y son oxígeno, y tanto q como r son 1), y las cetonas cíclicas (los compuestos en los que tanto q como r son 0 e Y es oxígeno). En los diésteres cíclicos m+n es preferiblemente al menos 3. En las cetonas cíclicas m+n es preferiblemente desde 11 hasta 15 y p es preferiblemente 0.

30

A los potenciadores de la fórmula estructural anterior se hace referencia a los mismos en la presente memoria como “potenciadores Hsieh” y se encuentran descritos, por ejemplo, en las Patentes de EE.UU. No. 5.023.252 y 5.731.303 anteriormente mencionadas (denominados en la presente memoria más adelante como “Patentes Hsieh”). Dichos potenciadores son lipofílicos y son “compatibles con membranas”, lo que significa que no causan daño a la membrana sobre la cual se aplica la composición de la presente invención (denominada en adelante en la presente memoria como “membrana diana”). Dichos potenciadores producen igualmente un bajo nivel de irritabilidad o no irritabilidad a la membrana diana y, de hecho, sirven como un emoliente.

Los potenciadores preferidos para uso en la presente invención son potenciadores macrocíclicos. El término “macrocíclico” se usa en la presente memoria para referirse a compuestos cíclicos que tienen al menos 12 carbonos en el anillo. Los ejemplos de potenciadores macrocíclicos preferidos para uso en la presente invención incluyen: (A) cetonas macrocíclicas, por ejemplo, 3-metilciclopentadecanona (muscona), 9-cicloheptadecen-1-ona (civetona), ciclohexadecanona, y ciclopentadecanona (normuscona); y (B) ésteres macrocíclicos, por ejemplo, pentadecalactonas tales como oxaciclohexadecan-2-ona (ciclopentadecanolida, ω -pentadecalactona).

La oxaciclohexadecan-2-ona y ciclopentadecanona son especialmente preferidas.

El potenciador está presente en la composición en una concentración eficaz para potenciar la penetración de la insulina, a ser suministrada, a través de la membrana. Deberían tenerse en cuenta diversas consideraciones en la determinación de la cantidad de potenciador a usar. Dichas consideraciones incluyen, por ejemplo, la cantidad de flujo (velocidad de paso a través de la membrana) logrado y la estabilidad y compatibilidad de los componentes en las formulaciones. Generalmente, el potenciador se usa en una cantidad de aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 25% en peso de la composición, más generalmente en una cantidad de aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 15% en peso de la composición, y en realizaciones preferidas en una cantidad de aproximadamente 0,5 hasta aproximadamente 15% en peso de la composición.

El vehículo líquido está presente en la composición en una concentración eficaz para servir como un vehículo adecuado para las composiciones de la presente invención. En general, el vehículo se usa en una cantidad de aproximadamente 40 hasta aproximadamente 98% en peso de la composición y en realizaciones preferidas en una cantidad de aproximadamente 50 hasta aproximadamente 98% en peso de la composición.

Las composiciones de insulina de la presente invención se suministran preferiblemente como un spray nasal. En una realización de este tipo, el vehículo líquido preferido es agua,

estando la insulina dispersada o disuelta en el agua en una cantidad eficaz terapéuticamente.

En una realización preferida, el potenciador de permeación está emulsificado en la fase acuosa que contiene la insulina. La emulsificación puede llevarse a cabo mediante el uso de uno o más tensioactivos adecuados. La selección de un tensioactivo adecuado se considera que entra dentro del ámbito de los expertos en la práctica de la presente invención en base a las directrices de la presente memoria. Esencialmente, puede usarse cualquier tensioactivo o mezcla de tensioactivos adecuado en la práctica de la presente invención, incluyendo, por ejemplo, tensioactivos aniónicos, catiónicos, y no iónicos. Los tensioactivos preferidos son tensioactivos no iónicos, siendo particularmente preferidos aquellos que tienen un balance hidrófilo-lipófilo (HLB) de desde aproximadamente 7 hasta aproximadamente 14. Los ejemplos de dichos tensioactivos no iónicos son glicéridos de maíz PEG-60, monoestearato de sorbitano PEG-20, fenoxi-poli(etileno)etanol, monooleato de sorbitano, y similares. Son especialmente preferidos los tensioactivos recopilados tales como los descritos en compendios tales como el Food Chemical Codex, National Formulary, U.S. Pharmacopeia, y el Code of Federal Regulations. Se prefiere que el diámetro promedio de las gotitas de la emulsión sea desde aproximadamente 500 nm hasta aproximadamente 20 μm y más preferiblemente desde aproximadamente 1 μm hasta aproximadamente 10 μm . En general, el tensioactivo está presente en una cantidad no mayor de aproximadamente 2% en peso de la composición y más generalmente no mayor de aproximadamente 0,5% en peso de la composición.

En una realización preferida, la fase emulsificada o discontinua que contiene el potenciador de permeación está en la forma de gotitas. En general, las gotitas más pequeñas confieren mayor estabilidad. Las gotitas más grandes pueden causar inestabilidad y disminuir el periodo de almacenamiento. En realizaciones preferidas, el tamaño de la gotita varía desde 0,1 μm hasta 20 μm y preferiblemente desde 0,1 μm hasta 5 μm .

En general, las composiciones que contienen insulina se almacenan en un refrigerador y dicha refrigeración puede dar como resultado la cristalización del inhibidor de permeación. Con el fin de inhibir o prevenir dicha cristalización, en una realización preferida, la composición incluye uno o más inhibidores de cristalización para inhibir la cristalización del potenciador de permeación. La cristalización, si se deja que se produzca, transforma a la emulsión en inestable y tiene un efecto adverso sobre el periodo de almacenamiento. Los inhibidores de cristalización preferidos funcionan rebajando la temperatura a la cual el compuesto implicado cristaliza. Los ejemplos de dichos inhibidores de cristalización incluyen aceites naturales, sustancias oleosas, ceras, ésteres, e hidrocarburos. Los ejemplos de aceites naturales o sustancias oleosas incluyen acetato de Vitamina E, palmitato de octilo, aceite de sésamo, aceite de soja, aceite de cártamo, aceite de aguacate, aceite de palma, y aceite de semilla de algodón. La se-

lección de un inhibidor de cristalización adecuado se considera que entra dentro del ámbito de los expertos en la técnica a partir de las directrices de la presente memoria. Los inhibidores de cristalización preferidos funcionan rebajando la temperatura a la cual el potenciador de permeación cristaliza.

5 Los inhibidores que son capaces de rebajar la temperatura de cristalización del compuesto implicado por debajo de aproximadamente 25°C son particularmente preferidos, siendo especialmente preferidos los capaces de rebajar la temperatura de cristalización del compuesto implicado hasta por debajo de aproximadamente 5°C. Los ejemplos de inhibidores de cristali-
10 zación especialmente preferidos para uso en la inhibición de la cristalización de oxaciclohexadecan-2-ona incluyen hexadecano, mirsitato de isopropilo, palmitato de octilo, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, y acetato de Vitamina E, cada uno de los cuales puede usarse en preparaciones farmacéuticas.

El inhibidor de cristalización está presente en la composición en una concentración eficaz para inhibir la cristalización del potenciador de permeación. En general, el inhibidor de cris-
15 talización está presente en una cantidad de aproximadamente 0,001 hasta aproximadamente 5% en peso de la composición, más generalmente en una cantidad de desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 1% en peso de la composición. El inhibidor de cristalización es uno preferiblemente usado cuando el potenciador tiene una temperatura de cristalización por encima de aproximadamente 0 grados Centígrados. En particular, por ejemplo, un inhibidor de cris-
20 talización se usa preferiblemente cuando el potenciador es pentadecalactona y/o ciclohexadecanona, puesto que estos cristalizan por encima de la temperatura ambiente.

La composición de la presente invención se suministra generalmente mediante un aplicador de spray nasal. Si se desea una aplicación intra-nasal, la composición puede introducirse en un dispositivo de dosificación de spray intra-nasal o atomizador y aplicarse mediante
25 pulverización del mismo dentro de los orificios de la nariz de un paciente para suministro a la membrana de la mucosa de los orificios de la nariz. Se aplica una cantidad suficiente para lograr los niveles de fármaco localizado o sistémico deseados. Para spray intra-nasal, típicamente se aplica hasta aproximadamente 200 microlitros, siendo preferida una aplicación de aproximadamente 50 hasta aproximadamente 150 microlitros. Pueden dosificarse uno o más
30 orificios de la nariz y la aplicación puede hacerse tan frecuente como se desee o tan frecuente como sea necesario. En realizaciones preferidas, el aplicador de spray nasal se selecciona para que proporcione gotitas de la composición de un tamaño medio de desde aproximadamente 10 µm hasta aproximadamente 200 µm. Más generalmente, el tamaño de la gotita es desde aproximadamente 30 µm hasta aproximadamente 100 µm.

35 La composición de spray de insulina de la invención se usa, generalmente, en un

régimen de dosificación que depende del paciente a tratar. De acuerdo con ello, la frecuencia del uso y la cantidad de la dosis puede variar de un paciente a otro paciente. En general, la dosificación es en una cantidad (la cantidad internalizada después de absorción por la mucosa) de desde aproximadamente 3 IU hasta aproximadamente 15 IU y la frecuencia de dosis es 3 a 4 veces al día. Tal como es conocido en la técnica, el tratamiento de una enfermedad tal como la diabetes mediante terapia con insulina varía de un paciente a otro paciente, y en base al conocimiento de la terapia con insulina y a las directrices de la presente memoria, un experto en la técnica puede seleccionar el régimen de dosificación y la dosis para un paciente o pacientes particulares.

La composición de la presente invención comprende insulina. La insulina está presente en la composición en una cantidad eficaz terapéuticamente. En general, la insulina está presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 15% en peso de la composición, más generalmente en una cantidad de aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 10% en peso de la composición. En una realización, la insulina está presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 5% en peso de la composición.

Aunque una realización preferida es una composición preformulada, entra igualmente dentro del ámbito de la presente invención el que un paciente pueda ser tratado con la combinación descrita anteriormente en la presente memoria que no esté preformulada, es decir, la insulina en vehículo líquido y el potenciador pueden mezclarse en el momento de la aplicación, tal como el mezclado se produce en un atomizador en el momento en que se pulveriza la composición.

Los Ejemplos ilustran realizaciones preferidas de la invención y no han de considerarse como limitativos.

EJEMPLO 1

Se prepararon cuatro emulsiones de insulina acuosas separadas de la presente invención (formulaciones A, B, C y D), de acuerdo con las formulaciones descritas en la tabla a continuación. El componente CPE-215 es el compuesto propiedad del Solicitante y también conocido como Ciclopentadecanolido; facilita la migración de la insulina a través de la mucosa nasal.

	Formulación de insulina para experimento con cerdo			
Código:	A	B	C	D
Reactivos	%	%	%	%
Insulina	0,1	1,0	1,0	1,0
CPE-215	-	2,0	2,0	2,0
Aceite de semilla de algodón	-	1,0	1,0	0,7
Glicerina	-	-	-	2,0
Laurato de sorbitano (a.k.a. Crill 1; un tensioactivo)	-	0,6	0,6	-
Polisorbitano 20 (a.k.a. Crillet 1; un tensioactivo)	-	0,7	0,7	-
Permulen TR2	-	-	-	0,1
H ₂ O	99,1	94,3	93,2	93,7
TEA	-	-	-	0,5
HCl (5 N)	-	-	0,2	-
NaOH (1 N)	-	-	1,3	-
Acido cítrico (1 H ₂ O)	0,6	0,3	-	-
Citrato sódico (2 H ₂ O)	0,2	0,1	-	-
Cloruro de benzalconio	-	-	-	0,003
	100	100	100	100
pH:	3,19	3,53	7,32	8,07

EJEMPLO 2

Los niveles en sangre de C-péptido pueden indicar si una persona produce o no insulina y aproximadamente en cuanta cantidad. Inicialmente la insulina es sintetizada en el páncreas como proinsulina. En esta forma, las cadenas alfa y beta de la insulina activa están ligadas a una tercera cadena polipéptida denominada el péptido de conexión, o C-péptido, en forma abreviada. Dado que tanto las moléculas de insulina como de C-péptido son secretadas, por cada molécula de insulina en la sangre, existe una de C-péptido. En consecuencia, pueden medirse los niveles de C-péptido en la sangre y usarse como un indicador de la producción de insulina en aquellos casos en que existe presente insulina exógena (procedente de inyección) y está mezclada con insulina endógena (la producida por el cuerpo) una situación que haría insensata una medición de la propia insulina. El ensayo de C-péptido puede igualmente usarse

para ayudar a evaluar si el alto nivel de glucosa en sangre es debido a una producción de insulina reducida o a una retención de glucosa reducida por las células. Existe poco o nada de C-péptido en la sangre de humanos diabéticos de tipo 1, y los niveles de C-péptido en los diabéticos de tipo 2 puede ser reducido o normal. Las concentraciones de C-péptido en no diabéticos son del orden de 0,5-3,0 ng/ml.

Una evaluación de las composiciones de esta invención se llevó a cabo *in vivo* tal como se describe más adelante.

Farmacocinéticas y farmacodinámicas en minicerdos del Yucatán de formulaciones de CPE-215/insulina intranasal

Este estudio se llevó a cabo de acuerdo con la NIH "Guide For the Care and Use of Laboratory Animals" y el Federal Animal Welfare Act, y siguiendo un protocolo aprobado por la University of New Hampshire Institutional Animal Care and Use Committee. Este objetivo del estudio fue evaluar y caracterizar la eficacia farmacocinética y farmacodinámica de las formulaciones de insulina después de suministro intranasal a minicerdos del Yucatán.

Previamente, se había determinado, en sabuesos (Hseih, 1993), que el Ciclopentadecanolido facilita la migración de insulina a través de la mucosa nasal. Con el fin de verificar esto en minicerdos, como una etapa hacia la evaluación en voluntarios humanos, las formulaciones se evaluaron para determinar los niveles en sangre de insulina y las glucodinámicas.

Materiales, Procedimientos y Formulaciones

Las formulaciones ensayadas fueron emulsiones de insulina acuosas, conteniendo insulina recombinante de grado humano farmacéuticas, obtenidas de Diosynth, Inc., una división de Akzo Nobel, Inc. Estas formulaciones variaron ligeramente en composición; sin embargo, cada una contenía insulina al 1% p/p, y CPE-215 al 2% p/p. Estas formulaciones se dispensaron a partir de atomizadores nasales, desarrollados para humanos por Valois of America. Se dispensaron dos pulverizaciones de 100 microlitros cada una a cerdos que previamente habían sido canulados con un catéter yugular permanente. Cada spray de 100 microlitros dispensó 1 miligramo, o aproximadamente 25 IU de insulina. Se usó un prolongador del actuador, proporcionado también por Valois of America, cuya necesidad (para suministrar la formulación a la superficie de absorción de la región del vestíbulo y del turbinado laberíntico) se determinó en un estudio piloto preliminar. El mismo actuador, que dispensó 100 microlitros, se usó con el prolongador unido. Estas dosis suministradas intranasalmente se compararon con tres unidades de insulina administradas subcutáneamente (SQ) como un control positivo.

Protocolo animal

Se adquirieron cuatro puercos miniatura del Yucatán hembras (cerdos) del UNH Miniature Swine Research Farm. Durante el estudio, los cerdos se alojaron en una habitación de investigación animal controlada ambientalmente (temperatura $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ y ciclo de 12 horas de luz/oscuridad), alimentados con alimento para cerdos de investigación comercial, y con libre acceso al agua en cualquier momento. Los cerdos fueron hembras del Yucatán de 21 semanas de edad:

Cerdo #1, Marca 121-5; Peso al comienzo del estudio: 16,8 kg; DOB 11/26/02

Cerdo #2, Marca 121-4; Peso al comienzo del estudio: 22,3 kg; DOB 11/26/02 (Nota: #1 y #2 son de la misma camada)

Cerdo #3, Marca 122-7; Peso al comienzo del estudio: 18,3 kg; DOB 12/1/02

Cerdo #4, Marca 122-9; Peso al comienzo del estudio: 15,5 kg; DOB 12/1/02 (Nota: #3 y #4 son de la misma camada).

Metodología de caracterización

Los animales se prepararon para el estudio con la implantación quirúrgica de un catéter yugular 4 a 6 días antes del comienzo del estudio. Después de sedación fuerte con una dosis intramuscular de xilazina y ketamina, a los animales se les colocó una mascarilla y se mantuvo para efectuar anestesia quirúrgica profunda con inhalación de isoflurano anestésico y oxígeno. Con los animales en recumbencia dorsal, se les practicó una incisión en la piel en el pliegue yugular derecho, seguido de disección roma de los tejidos subcutáneos y conjuntivo perivascular con el fin de exponer la vena yugular derecha craneal a la entrada torácica. Se insertó una longitud de 0,1 cm de orificio de tubo de catéter intravenoso Tygon® a través de una pequeña incisión en la vena pinzada y posicionada caudalmente de la vena cava anterior (aproximadamente 12 a 15 cm a partir de la incisión en la yugular). El catéter se transfixió a la vena y se suturaron los tejidos subcutáneos profundos. La vena yugular craneal se ligó al catéter con sutura de polipropileno. El extremo libre del catéter se dirigió mediante disección roma a través del subcutis al dorso interescapular, se empujó a través de una pequeña incisión en la piel, y se transfixió a la piel con sutura de polipropileno. El catéter se cerró con un dispositivo de interrupción de jeringuilla y se llenó con una preparación anti-trombótica. La preparación anti-trombótica estaba formada por 60% (p/v) de polivinilpirrolidona (10.000 de p.mol., PVP-10) y solución salina fisiológica/heparina sódica (50.000 unidades de heparina por 100 ml). La incisión en el subcutis y la piel en el pliegue yugular se cerraron con suturas absorbible sintética y de polipropileno, respectivamente. Los animales se vendaron de manera confortable para proteger el catéter y la incisión de la piel y se cubrieron con una vestidura para trabajo con catéter para perros. Se

administró butorphanol intramuscular como un analgésico inmediatamente y 12 horas después de la cirugía.

Diseño del estudio

5 En el momento de la dosificación, los cerdos fueron retenidos en una banda de suspensión. Después de esto, los cerdos quedaron libres de moverse en torno a sus pocilgas individuales respectivas y únicamente fueron retenidos temporalmente sus movimientos en alojamientos cerrados en la parte frontal de la pocilga con una puerta de madera movable en el momento de la toma de muestra de sangre. Cada cerdo se dosificó dos veces con cada una de las
10 cuatro formulaciones diferentes a lo largo de un período de dos semanas con al menos 18 horas entre tratamientos. La dosificación intranasal (Formulación B, C, D) implicó la dispensación de 100 µl de una emulsión de insulina al 1% a través de un dosificador de aerosol (actuador intranasal de tipo humano), una vez en cada orificio de la nariz (dosis total 50 IU), o dosificación subcutánea (Formulación A), 120,0 µl de una solución estéril tamponada usando una
15 jeringuilla estéril de 1 cm³ (3 IU) equipada con una aguja de galga 22. Se controlaron los intervalos de tiempo de dosificación entre cerdos, siendo estos aproximadamente de cinco minutos.

Las muestras de sangre venosa de la línea basal se recogieron justamente antes de la administración de insulina intranasal o SQ y, a continuación, se tomaron muestras de sangre a los 0 (justamente antes del tratamiento), 15, 30, 45, 60, 90, 120, y 180 minutos después de la
20 aplicación. La extracción se realizó con una separación aproximada de cinco minutos entre cerdos, ajustándose el intervalo con relación al tiempo de dosificación dentro de un minuto del tiempo diana. Cada cerdo se monitorizó con un glucómetro comercial manual en cada momento de recogida de la sangre con el fin de asegurar la salud del animal.

La sangre se recogió en tubos de vidrio con heparina sódica. El plasma se recuperó y
25 almacenó a -20°C hasta que se analizó para determinar la insulina, el C-péptido, y la glucosa. Transcurrieron ocho días de tratamiento, con cada uno de los cuatro cerdos tratados cada día. Los cerdos se cruzaron (dos cuadrados latinos idénticos sucesivos) recibiendo cada cerdo un tratamiento diferente cada día, de acuerdo con el esquema siguiente:

30 Esquema de tratamiento

<u>D = Día</u>	<u>P = Cerdo</u>	<u>Tratamientos</u>
D1 = 3/25/03	P1 = Cerdo 121-5	A = Subcutáneo 120 µl (3 IU)
D2 = 3/26/03	P2 = Cerdo 121-4	B = Forma IN 013-44-2 pH 3,5
D3 = 3/27/03	P3 = Cerdo 122-7	C = Forma IN 013-44-3 pH 7,32
35 D4 = 3/28/03	P4 = Cerdo 122-9	D = Forma IN 013-45 pH 8,0

D = DíaP = CerdoTratamientos

D5 = 4/1/03

D6 = 4/2/03

D7 = 4/3/03

D8 = 4/4/03

5

Tratamientos/Días

Día	Cerdo 1	Cerdo 2	Cerdo 3	Cerdo 4
1	A	B	C	D
2	B	C	D	A
3	C	D	A	B
4	D	A	B	C
5	A	B	C	D
6	B	C	D	A
7	C	D	A	B
8	D	A	B	C

10 Recogida de muestras y procedimientos de ensayo

El plasma heparinizado se analizó para determinar la concentración de insulina usando un ensayo RIA comercial para insulina (Linco Research, Inc.; Human Insulin Specific RIA Kit, Cat# HI-14K). La insulina se registró en micro Unidades Internacionales/mililitro de plasma (μ U/ml). El C-péptido se analizó con un kit comercial específico para C-péptido porcino (Linco Research, Inc.; Porcine C-Peptide RIA Kit, Cat# PCP-22k) y se registró en unidades de ng/ml.

15

La glucosa se midió en el momento de la recogida usando un Glucómetro (Lifescan (J&J) One Touch Fast Take™), y en el laboratorio usando un ensayo enzimático comercial (Sigma Diagnostics, Procedure 315) y se midió en mg/dl.

20 Desviación del protocolo

No se produjeron desviaciones del protocolo.

Resultados para la glucosa

Los resultados mostraron buena reducción en los valores de glucosa en sangre, tal como se midió en sangre mediante el procedimiento enzimático de la hexoquinasa, y son proporcionados históricamente para este control positivo, insulina SQ; la dosis SQ alcanzó un nivel de

25

glucosa mínimo a un promedio de 30 minutos post Rx. Para la Formulación B intranasal, se observó excelente reducción glucodinámica con un inicio más rápido, 15 minutos o más rápidamente a la cubeta, pero de duración más corta (90-120 min.) que la SQ (180 min.). La Formulación C tuvo un inicio rápido similar a la B, pero de menor magnitud. La Formulación D estuvo exenta de actividad glucodinámica apreciable. La reproducibilidad, tanto intradosis como de día a día, fue buena (sin varianzas de ningún tratamiento significativamente diferenciadas, $p < 0.05$). (Véase Figura 1).

El ensayo de glucosa enzimático está en buena correlación con los resultados del glucómetro correspondiente realizados en el momento de la recogida de sangre ($r = 0,9575$; $p < 0,0001$).

Resultados para la insulina

Los resultados mostraron buenos niveles en sangre de insulina para la Formulación A, el control positivo SQ, con el valor promedio con un pico a los 15 minutos con un $C_{\text{máx}}$ promedio de 59,85 $\mu\text{U/ml}$. (Véase Figura 2).

La Formulación B mostró niveles en sangre mucho más altos que cualquier otra formulación, con un pico a los 15 minutos con un $C_{\text{máx}}$ promedio de 182,4 $\mu\text{U/ml}$. (Véase Figura 2).

La Formulación C mostró niveles en sangre más bajos que o bien A o bien B, lo que indica un suministro reducido de insulina a pH fisiológico comparado con la forma ácida, que tiene un $C_{\text{máx}}$ de 64,59 $\mu\text{U/ml}$ a los 15 minutos. (Véase Figura 2).

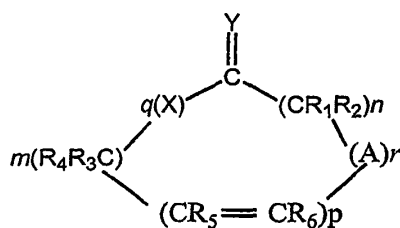
La Formulación D mostró pequeños cambios sobre los niveles de la línea basal en ayunas. No se observó $C_{\text{máx}}$. (Véase Figura 2).

Resultados para el C-péptido

El C-péptido, para animales no tratadas, en ayunas (tiempo cero), mostró un promedio de 0,35 ng/ml ($n=36$). El inicio de la acción de los cuatro tratamientos fue similar a las curvas respectivas obtenidas para los glucodinámicos. El tratamiento B tiene un inicio más rápido de depresión del C-péptido, seguido del A, a continuación el C, y a continuación el D. El tratamiento A tenía la depresión más larga del C-péptido, aproximadamente 3 horas, en tanto que los otros tratamientos tenían niveles normales en este tiempo, lo cual refleja la reasunción de la producción de insulina endógena.

Reivindicaciones

1. Una composición farmacéutica en una forma adecuada para suministro nasal a un paciente que comprende: una cantidad eficaz terapéuticamente de insulina, un potenciador de permeación, y un vehículo líquido; estando dicha composición a un pH ácido, pero no mayor de un pH de 4,5, y siendo dicho potenciador de permeación un potenciador Hsieh que tiene la estructura siguiente:



en la que X e Y son oxígeno, azufre o un grupo imino de la estructura



o =N-R, con la condición de que cuando Y es el grupo imino, X es un grupo imino, y cuando Y es azufre, X es azufre o un grupo imino, A es un grupo que tiene la estructura



en la que X e Y son tal como se han definido anteriormente, m y n son números enteros que tienen un valor de desde 1 hasta 20 y la suma de m+n no es mayor de 25, p es un número entero que tiene un valor de 0 ó 1, q es un número entero que tiene un valor de 0 ó 1, r es un número entero que tiene un valor de 0 ó 1, y cada R, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ es independientemente hidrógeno o un grupo alquilo que tiene desde 1 hasta 6 átomos de carbono los cuales pueden ser de cadena recta o ramificada, con la condición de que solamente uno de R₁ a R₆ puede ser un grupo alquilo, con la condición de que cuando p, q y r tienen un valor de 0 e Y es oxígeno, m+n es al menos 11, y con la condición adicional de que cuando X es un grupo imino, q es igual a 1, Y es oxígeno, y p y r son 0, en cuyo caso m+n es al menos 11.

2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que dicho pH ácido es desde 2 hasta 4.

3. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además un inhibidor de la cristalización.

4. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que dicha composición está en la forma de una emulsión en la que el potenciador Hsieh está emulsificado en una fase acuosa que incluye la insulina.

5 5. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que dicho potenciador Hsieh es un potenciador de permeación macrocíclico.

6. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que dicho potenciador Hsieh es ciclopentadecalactona o ciclohexadecanona.

10 7. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que dicho potenciador de permeación está emulsificado dentro de dicha fase acuosa mediante un tensioactivo que tiene un HLB de desde 7 hasta 14.

8. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además un inhibidor de la cristalización capaz de rebajar la temperatura de cristalización de dicho potenciador de permeación por debajo de 25°C.

15 9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, en la que dicho inhibidor de la cristalización es capaz de rebajar la temperatura de cristalización de dicho potenciador de permeación por debajo de 5°C.

10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la que dicho inhibidor de la cristalización está seleccionado entre el grupo constituido por aceites naturales, sustancias oleosas, ceras, ésteres, e hidrocarburos.

20 11. Una composición farmacéutica de acuerdo cualquiera de las reivindicaciones 1-10, para uso en el tratamiento de un paciente con insulina.

12. Un producto que comprende un aplicador de spray nasal, dispositivo de dosificación de spray intra-nasal, o atomizador que incluye una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

25

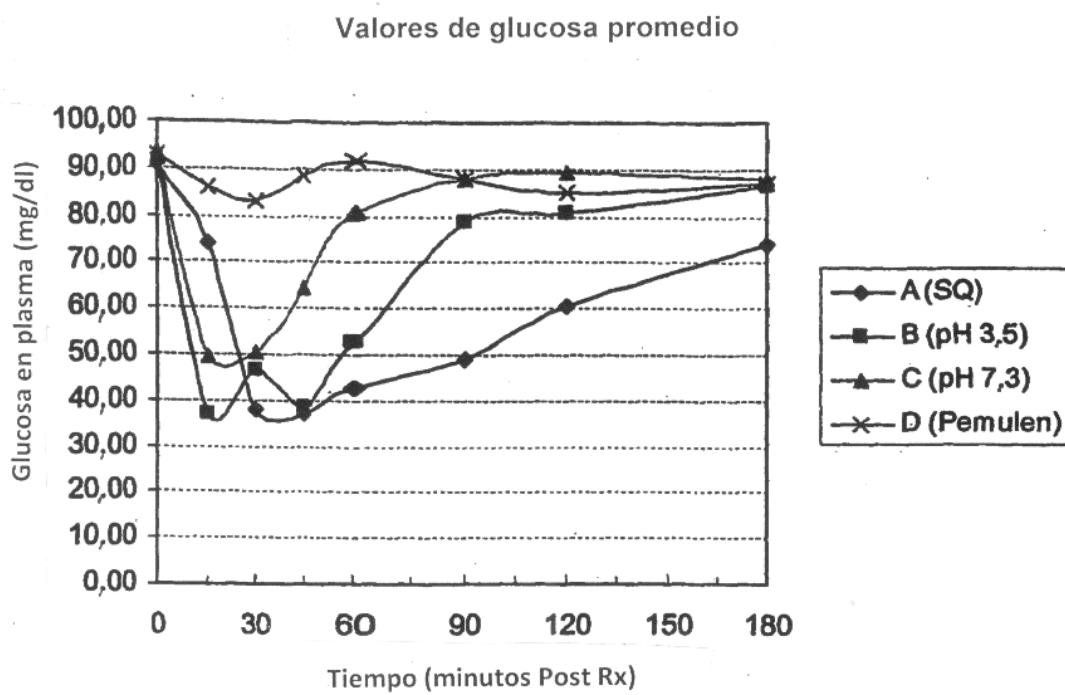


Figura 1. Valores de glucosa promedio (n=8)

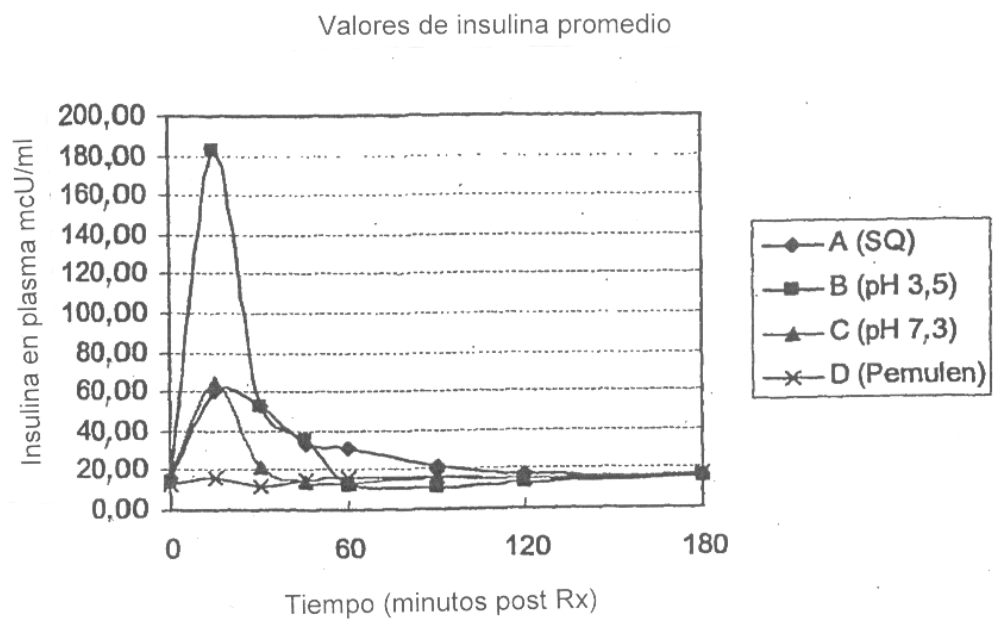


Figura 2 Valores de isulina promedio